

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18499

研究課題名（和文）歯髄炎におけるHMGB1とネクロプトーシスの関連の解明とその制御

研究課題名（英文）Analysis of the relationship between HMGB1 and necroptosis in dental pulpitis

研究代表者

橋本 健太郎（Hashimoto, Kentaro）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：80825662

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：HMGB1の炎症性メディエーター産生誘導能や炎症歯髄でのHMGB1発現の関連を調べるために、株化マウス歯乳頭細胞（MDP）を用いて各種温度で処理した細胞上清をMDPに添加した。その結果52℃の処理においてHMGB1タンパク質の萌出の増加、症性サイトカインであるInterleukin-6（IL6）の遺伝子発現の増加を認め、NF- κ B p65のリン酸化の亢進を認めた。これにより、歯髄組織が一時的であっても高熱にさらされると、HMGB1を含むDAMPsが誘導され、産生されたHMGB1が、NF κ Bのリン酸化を介して炎症性メディエーター産生を誘導している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

健康寿命の伸ばすためには歯の保存が必要である。歯を長期間にわたって口腔内で保存するためには歯髄の保存が重要である。歯髄炎・歯髄壊死は歯髄を失う原因である。通常の歯髄炎ではう蝕によっておこるが、う蝕のない歯においても歯髄炎や歯髄壊死を認めることがある。High mobility group box 1(HMGB1)と呼ばれる核内タンパク質はダメージを受けた細胞から放出され炎症を修飾する。この研究ではHMGB1と歯髄細胞の炎症との関連について調べた。この研究は歯髄における非感染性の炎症のメカニズムの一端を解明する一助となり将来歯髄炎を抑制する治療戦略の創生につながる事が期待できる。

研究成果の概要（英文）：To investigate the induction of inflammatory mediator production by HMGB1 and the expression of HMGB1 in inflamed dental pulp, mouse dental papilla cells (MDP) were treated at various temperatures, and the resulting cell supernatants were added to MDP. As a result, an increase in the release of HMGB1 protein and the upregulation of Interleukin-6 (IL6), an inflammatory cytokine, gene expression were observed at 52°C treatment. Additionally, an enhancement of NF- κ B p65 phosphorylation was observed. These findings suggest that even temporary exposure of dental pulp tissue to high temperatures induces the production of DAMPs, including HMGB1, and the produced HMGB1 may induce the production of inflammatory mediators through the phosphorylation of NF- κ B.

研究分野：歯髄

キーワード：HMGB1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯を口腔内で長期に保存するためには歯髄の保存が重要である。歯髄が炎症を起こし不可逆性歯髄炎となると抜髄を行う必要がある。通常の歯髄炎は主にう蝕に继发し、細菌感染によって誘発される生体防御反応がその主体である。しかしあきらかな細菌感染がない歯にも生じることがある。支台歯形成、咬合性外傷、矯正治療の後に発症する歯髄炎は、細菌感染ではなく物理的侵襲が原因と考えられているがその発症メカニズムはいまだ不明である。

High mobility group box 1 (HMGB1)は、関節リウマチや全身性エリテマトーデス、アテローム性動脈硬化症といった非感染性疾患への関与が報告されている。HMGB1 は非ヒストン性核タンパク質であり、pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) や damage or danger-associated molecular patterns (DAMPs)の刺激により細胞から放出される。HMGB1 は Toll-like 受容体(TLR)2,4 など に結合し、NF- κ B を活性化し炎症を惹起する。歯髄における HMGB1 の発現、あるいは歯髄炎発症時での HMGB1 の発現増加などの報告がある。しかし、非細菌性歯髄炎と HMGB1 の関連についてはいまだに明らかでない。

2. 研究の目的

培養歯髄細胞に対する HMGB1 の炎症性メディエーター産生誘導能や炎症歯髄での HMGB1 発現、さらにはこれらとネクロプトーシスとの関連等の解析から歯髄疾患と HMGB1 の関連を追究することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) HMGB1 タンパク質発現

株化マウス歯髄細胞 (mouse dental papillae cells: MDPs) を 37、52、75 にて 10 分処理した細胞及び培養上清の HMGB1 のタンパク質発現を western blotting にて検討した。

また添加後 24 時間の上清中の HMGB1 タンパク量を ELISA (HMGB1 ELISA Kit Exp, シノテスト) にて検討した。

(2) 炎症性サイトカインの発現

52 にて 10 分処理した細胞の培養上清を添加後、6 時間後に mRNA を抽出し、Interleukin-6 (IL6)、を特異的プライマーを用いて定量 PCR で検討した。

(3) NF κ B のリン酸化

52 で処理した細胞上清を添加後のリン酸化 p65 の発現を western blotting にて検討した。

4. 研究成果

(1) HMGB1 タンパク質発現

その結果 MDPs において 37 では細胞内のみ HMGB1 を認めたが、52、75 ではその培養上清中においても HMGB1 を認めた。MDPs の培養ディッシュへの接着能は、52 および 75 処理で失われ、死滅していた。

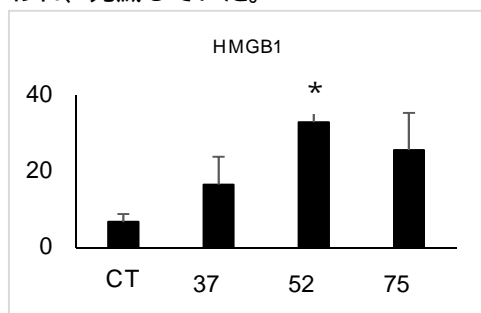


図1 各温度で処理後の細胞上清添加後の HMGB1 タンパク量

ELISA にて測定したところ 52 で処理した細胞上清を添加後 24 時間で HMGB1 の放出量が増加した。

(2) 炎症性サイトカインの発現

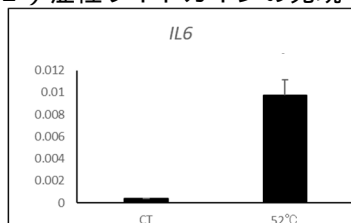
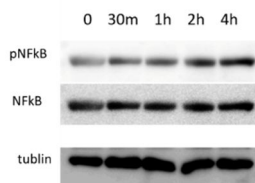


図2 NCS 添加後の炎症性サイトカインの発現遺伝子発現

炎症性サイトカインの遺伝子発現は NCS 添加後 6 時間で優位に上昇した。

(3) NFκB のリン酸化



52 で処理した培養上清を MDPs に添加したところ、リン酸化 NF-κB p65 の発現の亢進が認められた。

以上の結果より、歯髄組織が一時的であっても高熱にさらされると、HMGB1 を含む DAMPs が誘導され、産生された HMGB1 が、NFκB のリン酸化を介して炎症性メディエーター産生を誘導している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Adel Sherif, Hashimoto Kentaro, Kawashima Nobuyuki, Wada Takahiro, Uo Motohiro, Okiji Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Biocompatibility and pro-mineralization effect of tristrontium aluminate cement for endodontic use	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Dental Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jds.2021.12.018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 THEIN Htoo Shwe Sin, HASHIMOTO Kentaro, KAWASHIMA Nobuyuki, NODA Sonoko, OKIJI Takashi	4. 巻 41
2. 論文標題 Evaluation of the anti-inflammatory effects of surface-reaction-type pre-reacted glass-ionomer filler containing root canal sealer in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Dental Materials Journal	6. 最初と最後の頁 150 ~ 158
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4012/dmj.2021-139	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kawashima Nobuyuki, Hashimoto Kentaro, Kuramoto Masashi, Bakhit Alamuddin, Wakabayashi Yasumiko, Okiji Takashi	4. 巻 13
2. 論文標題 A Novel Bioactive Endodontic Sealer Containing Surface-Reaction-Type Prereacted Glass-Ionomer Filler Induces Osteoblast Differentiation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 4477 ~ 4477
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ma13204477	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------