

令和 5 年 4 月 21 日現在

機関番号：15301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K23054

研究課題名(和文) HMGB1が歯周病に及ぼす免疫学的影響の解明とその制御による新規歯周病治療の検討

研究課題名(英文) Immunological Effects of HMGB1 on Periodontal Disease and Novel Periodontal Disease Treatment by HMGB1 Regulation

研究代表者

井手口 英隆 (Ideguchi, Hidetaka)

岡山大学・医歯薬学域・助教

研究者番号：80779421

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：HMGB1は、炎症性メディエーターとしてサイトカインの産生を促進し、急性および慢性の様々な炎症性疾患に関与する重要な分子である。歯周炎においては、抗HMGB1抗体が炎症と歯槽骨吸収を抑制することが報告されているが、その詳細なメカニズムについては未だ不明である。本研究では、多くの炎症性疾患の病態において重要な役割を担うマクロファージとHMGB1の関連に着目して、HMGB1が歯周組織に及ぼす免疫学的な影響をin-vivoとin-vitroで検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、歯周炎組織においてHMGB1を抑制すると、マクロファージのM1タイプへの分化が減少した。また、歯周炎組織中の炎症性サイトカインの遺伝子発現は減少し、歯槽骨吸収は抑制された。これは、HMGB1の歯周炎の病態における複雑な免疫学的メカニズムを解明する一助となる。

研究成果の概要(英文)：HMGB1 is important molecule involved in various acute and chronic inflammatory diseases by promoting cytokine production as inflammatory mediator. In periodontitis, anti-HMGB1 antibodies have been reported to suppress inflammation and alveolar bone resorption, but the detailed mechanism remains unclear. In this study, we focused on the association between macrophage and HMGB1, which plays an important role in the pathogenesis of many inflammatory diseases, and investigated the immunological effects of HMGB1 on periodontal tissue in-vivo and in-vitro.

研究分野：歯周病学

キーワード：HMGB1 歯周炎 M1マクロファージ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

High Mobility Group Box 1(HMGB1)は真核生物に存在する非ヒストン性タンパク質であり、組織の損傷や壊死によって細胞外へ放出されて炎症性サイトカインの発現を増強する。近年、様々な炎症性疾患における HMGB1 の関与が報告されており、特に脳血管疾患や神経因性疼痛などに対して、HMGB1 中和抗体を用いた創薬研究が盛んに行われている。

歯周炎は、歯周病原細菌に起因した炎症反応に対して過度な免疫応答が生じることで組織破壊が進行する慢性炎症性疾患である。我々は、HMGB1 中和抗体を歯周炎モデルマウスに投与することで、歯周病の進行が抑制されることを明らかにした。しかし、その詳細なメカニズムは不明である。本研究では、歯周炎の病態における HMGB1 の免疫学的な役割を明らかにするために、HMGB1 が歯周炎組織の免疫細胞に及ぼす影響を多面的に調べる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、歯周炎の病態における HMGB1 の詳細な役割を免疫学的に解明するとともに、様々な全身疾患において創薬研究が進んでいる HMGB1 中和抗体の歯周病への応用を検討することである。

3. 研究の方法

HMGB1 が免疫細胞の分化に及ぼす影響の検討【In vitro】

野生型マウスの骨髄から単球と T 細胞を抽出する。それぞれの免疫細胞を炎症誘導性フェノタイプに分化させる培養系に、リコンビナント HMGB1 と Lipopolysaccharide を添加する。その後、培養した細胞をフローサイトメトリー解析し、M1 マクロファージまたは Th17 細胞への分化度を調べる。また、それぞれの細胞上清を ELISA 解析し、炎症性サイトカインの分泌を調べる。

HMGB1 が歯周炎組織における免疫細胞の分布に及ぼす影響の検討【In vivo】

歯周炎モデルマウスを作製し、HMGB1 中和抗体を腹腔内に投与する。その後、3日と7日後に歯周炎組織を回収して以下の解析を行う。1.骨標本を作製して、骨吸収の進行度を調べる。2.フローサイトメトリー解析を行い、M1 マクロファージと Th17 細胞の割合を調べる。3.定量 RT-PCR 解析を行い、炎症性サイトカインの遺伝子発現を調べる。4.免疫染色を行い、歯周炎組織における M1 マクロファージと Th17 細胞の局在を調べる。これらの解析結果をもとに、HMGB1 が免疫細胞の分化制御を介して歯周炎の進行に及ぼす影響を検討する。

4. 研究成果

はじめに、HMGB1 が M1 M ϕ の分化に及ぼす影響を検討した。その結果、*in-vitro* で HMGB1 が骨髄由来 M ϕ を M1 タイプに分化させ、*in-vivo* においても、HMGB1 を抑制すると腹腔内の M ϕ の M1 M ϕ の割合が減少した(図1)。

次に、歯周炎組織において HMGB1 が M1 M ϕ の分化に及ぼす影響を検討した。歯周炎モデルマウスにおいて、HMGB1 を抑制すると、歯周炎の発症から3日後で歯周炎組織における M1 M ϕ の数と割合が有意に減少した。また、HMGB1 を抑制すると、歯周炎組織で最も血管が多い歯肉結合組織における M1 M ϕ の局在は減少した。(図2)

最後に、HMGB1 が歯周炎組織の炎症反応に及ぼす影響を検討した。その結果、歯周炎組織で HMGB1 を抑制すると、*Il-6* と *Cxcl2* の遺伝子発現が減少した。(図3)

本研究の一連の結果から、歯周炎の急性期において、HMGB1 は M ϕ を M1 タイプに分化させることで、過剰な免疫応答を引き起こす起分子の1つとなっていることが示唆された。

Figure 1

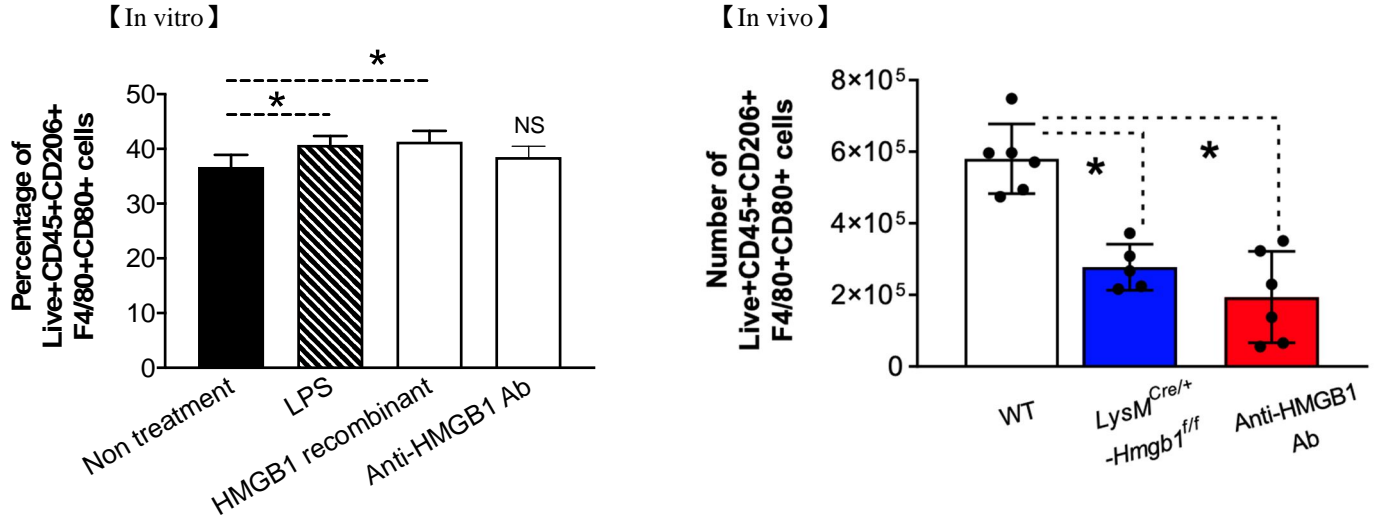


Figure 2

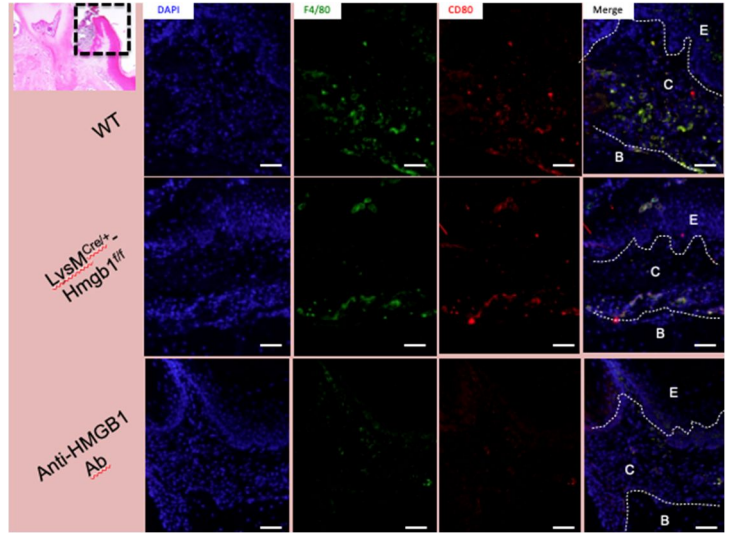
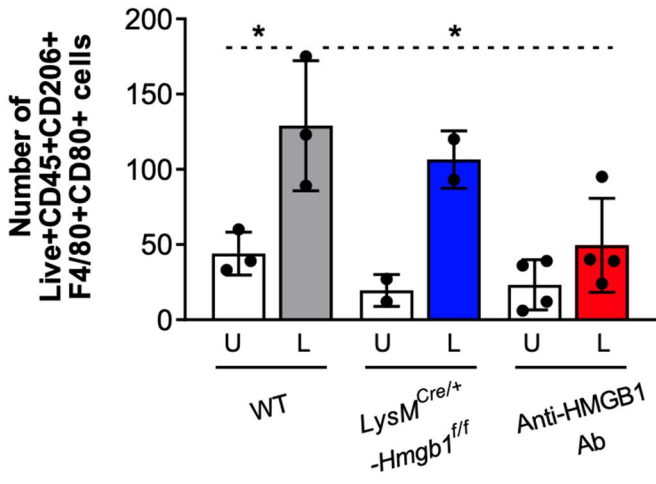
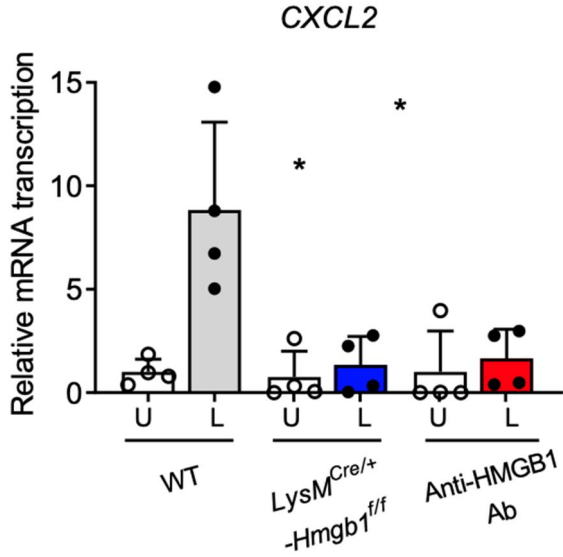
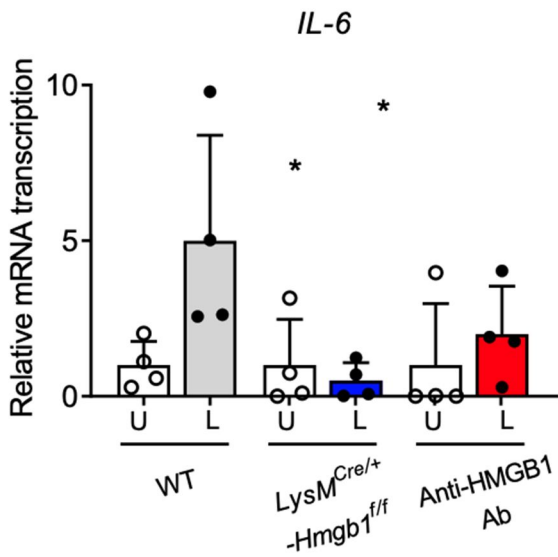


Figure 3



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Zhang Yao, Ideguchi Hidetaka, Aoyagi Hiroaki, Yamashiro Keisuke, Yamamoto Tadashi, Nishibori Masahiro, Takashiba Shogo	4. 巻 96
2. 論文標題 Malnutrition delayed wound healing after tooth extraction by HMGB1-related prolonged inflammation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Immunopharmacology	6. 最初と最後の頁 107772 ~ 107772
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.intimp.2021.107772	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 Yamashiro Keisuke, Ideguchi Hidetaka, Aoyagi Hiroaki, Yoshihara-Hirata Chiaki, Hirai Anna, Suzuki-Kyoshima Risa, Zhang Yao, Wake Hidenori, Nishibori Masahiro, Yamamoto Tadashi, Takashiba Shogo	4. 巻 11
2. 論文標題 High Mobility Group Box 1 Expression in Oral Inflammation and Regeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	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) 10.3389/fimmu.2020.01461	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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 平井杏奈, 井手口英隆, 山城圭介, Yao Zhang, 青柳浩明, 山本直史, 高柴正悟
2. 発表標題 HMGB1はM1マクロファージへの分化を制御して歯周炎の進行に影響を及ぼす
3. 学会等名 第154回春季歯科保存学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井手口英隆, 平井杏奈, 山城圭介, 京島里沙, 青柳浩明, 山本直史, 高柴正悟
2. 発表標題 High Mobility Group Box 1 (HMGB1) は マクロファージからのCCL2分泌を制御して抜歯窩の歯周組織再生を促進する
3. 学会等名 第63回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 A. HIRAI, H. IDEGUCHI, K. YAMASHIRO, Z. YAO, C. YOSHIHARA-HIRATA, H. AOYAGI, T. YAMAMOTO, M. NISHIBORI, S. TAKASHIBA
2. 発表標題 HMGB1 Promotes Periodontitis by Regulating Macrophage to M1 Polarization
3. 学会等名 第64回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2020年

〔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