



## プレス通知資料（研究成果）

本件配布先：文部科学記者会、科学記者会、本町記者会

2024年3月29日

国立大学法人東京医科歯科大学

2024年10月、国立大学法人「東京科学大学」が誕生します

### 「IL-33/ST2経路および歯周組織常在型マクロファージの炎症制御」 —歯周炎の新たな病態制御メカニズムを発見—



#### 【ポイント】

- 本研究グループは、既存の結紮誘導型マウス歯周炎モデルを改良し、歯周組織を歯肉、歯根周囲ならびに歯槽骨組織へと分離することで、歯周炎発症の経時的で詳細な解析法を新たに構築しました。
- 網羅的な解析から、歯周病の急性炎症期におけるIL-33/ST2経路の関与と、歯周組織常在型マクロファージが歯周組織における炎症反応を制御している可能性が示されました。
- 本研究の成果は、炎症や骨破壊を伴う歯周病の新規治療法や予防法の開発に貢献することが期待されます。

東京医科歯科大学歯学部の中島友紀教授、同大学大学院医歯学総合研究科分子情報伝達学分野の林幹人准教授、同大学院歯周病学分野の岩田隆紀教授、片桐さやか准教授、大杉勇人助教、劉安豪大学院生、および大阪大学免疫学フロンティア研究センター自然免疫学研究室の審良静男教授らの研究グループは、既存の結紮誘導型マウス歯周炎モデルを改良し、経時的・網羅的な解析を行う事により、歯周炎の発症過程における歯根膜組織の重要性を見出しました。さらに、歯周組織常在型の特殊なマクロファージの存在が示唆され、IL-33/ST2経路がこの細胞を介し歯周炎の骨破壊急性期における炎症調節作用を発揮する事を生体レベルで明らかにしました。この研究は、日本医療研究開発機構の革新的先端開発支援事業 AMED-CREST「骨恒常性を司る骨細胞のメカノ・カスケードの解明」(研究開発代表者：中島友紀)およびPRIME「加齢に伴うオステオカインの変化がもたらす個体機能低下機構の解明」(研究開発代表者：林幹人)、科学技術振興機構の創発的研究支援事業「口腔内細菌叢破綻の生涯に渡る代謝への影響」(研究代表者：片桐さやか)、科学研究費補助金、武田科学振興財団、アステラス病態代謝研究会等の支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は国際科学誌 *Nature Communications* に、2024年3月28日にオンライン版で発表されました。

#### 【研究の背景】

歯周病は世界人口の約19%が罹患しており、歯の喪失に至る最も代表的な疾患であると同時に、近年では様々な全身性疾患と関連している事も明らかになってきました。その発病率は年齢とともに上昇する傾向にあり、人生100年時代に突入しつつある昨今、従来の予防法や治療法の最適化はもちろん、より抜本的で便利

性の高い治療・予防法が世界レベルで求められおり、各国がその研究に力を注いでいます。

歯周病は従来より細菌関連性疾患として認識されてきましたが、近年では宿主の免疫応答も重要であると考えられるようになり、その研究に注目が集まっています。しかしながら、既存研究の多くはモデル動物としてマウスの第二臼歯のみを対象とした結紮歯周炎モデル<sup>※1</sup>を使用し病態を模擬していたため、技術的および量的な制限から歯肉組織以外に対する解析は難しいものでした。歯周組織は歯肉、歯根膜、歯槽骨、セメント質からなる複合的組織であり、歯肉炎の段階では歯肉のみが影響を受けますが、歯周炎の病理過程においては連動的に破壊されることが知られています。特に、歯根膜と歯槽骨の破壊は歯周炎の診断基準ともされているため、それらに対する分析が欠如していた既存の研究結果は歯周炎の病態発生を部分的にしか反映できておらず、その全容に対する理解が制限されている現状にありました。

### 【研究成果の概要】

そこで本研究グループは、まず歯周炎の発病過程をより詳細に解析するため、炎症を惹起する範囲を広げる事により、歯肉(GT)、歯根周囲(歯根膜:PRT)、並びに歯槽骨(BT)組織の3部分へ安定して分離できる改良型モデルを作成し、その有用性を確認しました(図 1a)。そして本モデルにおいて、経時的・組織別に炎症および破骨細胞分化関連の遺伝子発現を解析した所、結紮後5日目のPRTにおいて、炎症性サイトカインであるIL-6(*Il6*)、そして骨破壊をもたらす破骨細胞の分化を左右するRANKL(*Tnfsf11*)の発現が顕著に上昇していたので、フローサイトメトリー法を用いてIL-6とRANKLを産生している細胞を分析したところ、両者ともThy-1.2陰性の線維芽/間葉系細胞が主なソースであることが判明し(図 1b)、骨破壊の惹起において重要な役割を持つ可能性が示唆されました。

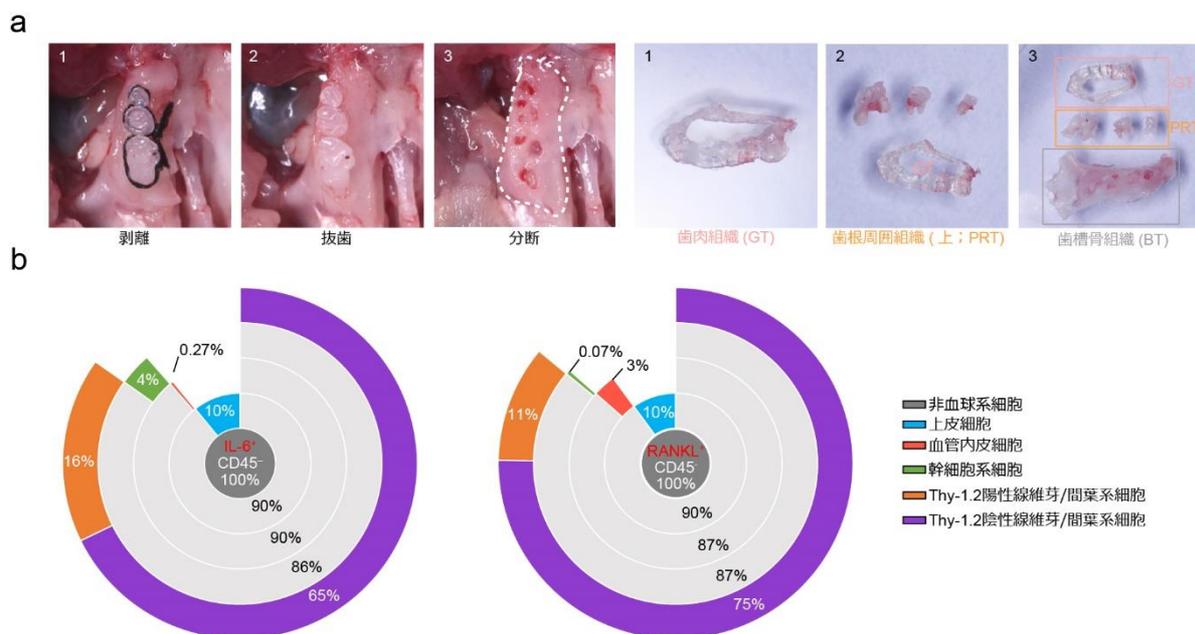


図 1. a 改良型マウス結紮誘導型歯周炎モデルと歯肉、歯根周囲組織、歯槽骨組織への分離手順。特定の溶媒中にて根面より剥離を行う事で歯根周囲組織の採取。b 結紮後5日目PRTにおけるCD45陰性細胞群内でのIL-6とRANKLの産生源。どちらもThy-1.2陰性の線維芽/間葉系細胞が産生源であった。

次に、より網羅的にこの過程を解析するため、結紮後5日目の3組織に対し、RNA-seq法による網羅的解

析を実施しました。その結果、PRT において *Il1rl1* 遺伝子の発現が顕著に上昇していることが見出されました (図 2a)。また、RNA-seq による免疫細胞の組成予測ではマクロファージが主体となっており、免疫細胞の中ではマクロファージが歯周炎の発病、特に骨破壊に移行する過程における関与が示唆されました (図 2b)。

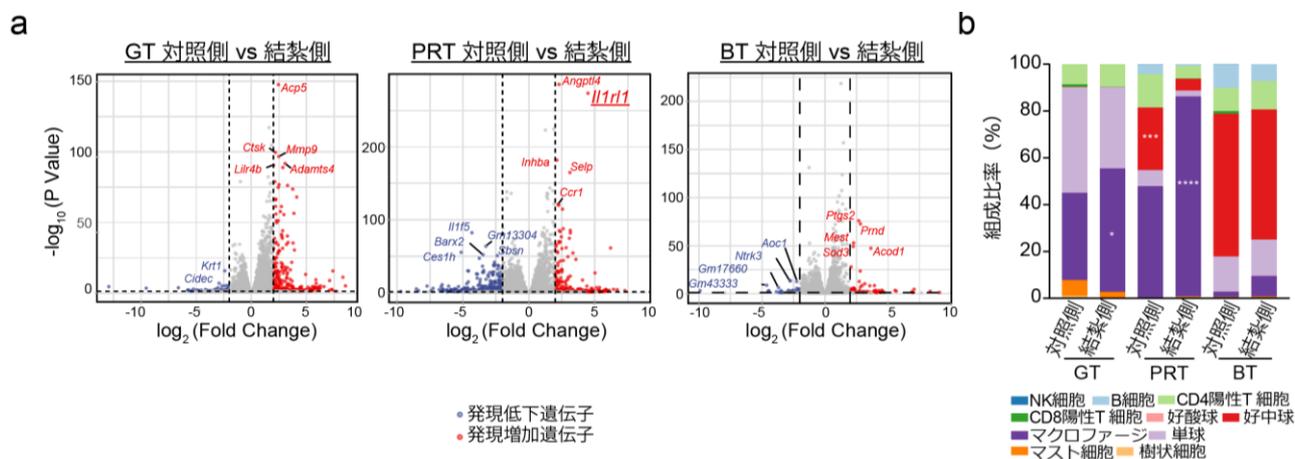


図 2. a RNA-seq による結紮後 5 日目の GT, PRT, BT における発現変動遺伝子の網羅的解析。PRT における *Il1rl1* の発現変動が顕著であった。 b RNA-seq のデータに基づく組織内の免疫細胞比率予測。炎症惹起時では PRT に顕著なマクロファージの増加傾向が観察された。

*Il1rl1* 遺伝子は ST2 というタンパク質をコードし、IL-33<sup>\*2</sup> の受容体 (mST2) として機能すると同時に、デコイフォーム (sST2) でも翻訳され、IL-33 を不活化する一面も有しています。そこで、我々は本分子の作用が mST2 によるシグナル伝達により生じているか、それとも sST2 の分泌により生じているかを、生体レベルで明らかにするために、ST2 と IL-33 両系統のノックアウトマウス<sup>\*3</sup>にて歯周炎を惹起しました。その結果、どちらのマウスでも炎症性骨破壊の増悪が観察されたことから、IL-33/ST2 経路のもたらすシグナルは、歯周炎の発病過程において保護的に機能すると考えられました (図 3a)。

そのメカニズムをより明確にするため、mST2 陽性細胞の組成を分析したところ、それらの多くはマクロファージ系の細胞でした。マクロファージは活性化の過程を得て、主に M1 (炎症促進) と M2 (炎症抑制) の 2 種類に分類されることが知られていますが、mST2 を発現していた細胞は M1 と M2 両者の一部マーカーを同時に発現することや、炎症惹起前より PRT に存在するなどの特殊性を有していたため、我々はそれらの細胞を歯周組織常在型マクロファージ (Periodontal Tissue-Resident Macrophage, PTRM) と定義しました (図 3b)。また、炎症状態の評価基準の一つである M1/M2 マクロファージ比を調べた際には、M2 マクロファージの減少により、ノックアウトマウスにおいては野生型マウスの 2 倍になっていたことから、炎症促進の方向へと傾いており (図 3c)、好中球の増加 (図 3d) と共に炎症性骨破壊の増悪に寄与している要因だと考えられました。

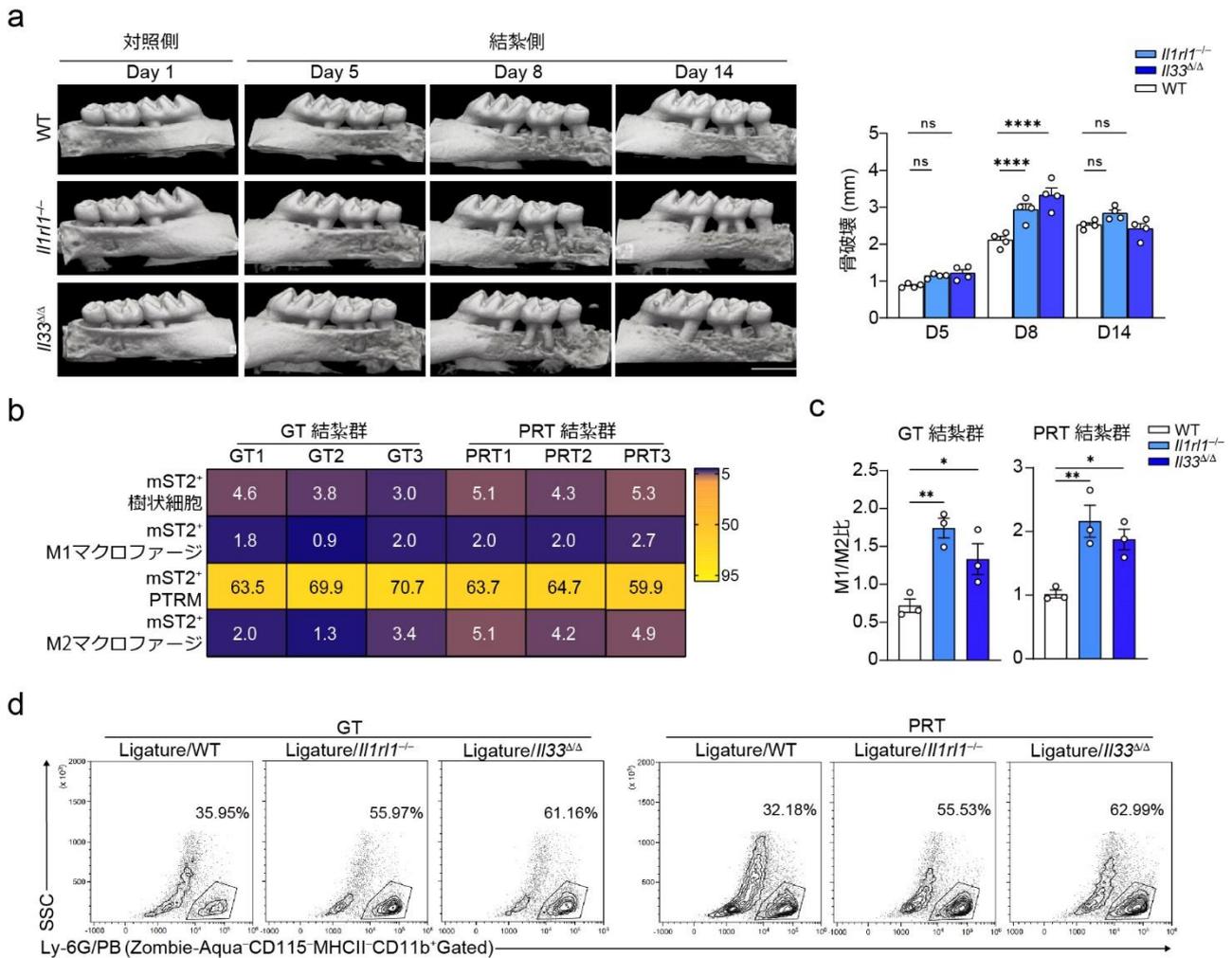


図 3. **a** マイクロ CT による骨破壊量評価。ノックアウトマウスの骨破壊急性期 (Day 8) における骨破壊量が野生型マウス (WT) と比較し、約 1.5 倍増加していた。**b** 結紮後 5 日目の WT マウスにおける mST2 発現細胞の比率。PTRM が主な発現細胞群であった。**c** 結紮後 5 日目の異なる遺伝子型のマウスにおける M1/M2 比率。どちらのノックアウトマウスでも約 2 倍に上昇していた。**d** 結紮後 5 日目の異なる遺伝子型のマウスにおける好中球の比率。ノックアウトマウスでは顕著な上昇が見られた。

### 【研究成果の意義】

現状、慢性歯周炎の治療はその進行を食い止め、症状をコントロールすることが目標であり、破壊された歯周組織を元通りにする、いわゆる「治癒」は実現できていません。そのため、歯周炎の前段階である歯肉炎自体を予防することが重要視されておりますが、疾患の予防と早期撲滅に関して非常に重要な問題である「何故骨破壊が起こり、歯肉炎が歯周炎に移行するのだろうか」に関しては、あまり議論されていませんでした。

本研究の成果は、歯周病における炎症と骨破壊を調節する新規 IL-33/ST2 分子経路と歯根組織に存在する特定のマクロファージが関与する可能性を提示したことから、新たな歯周病治療および予防法開発につながることを期待されます (図 4)

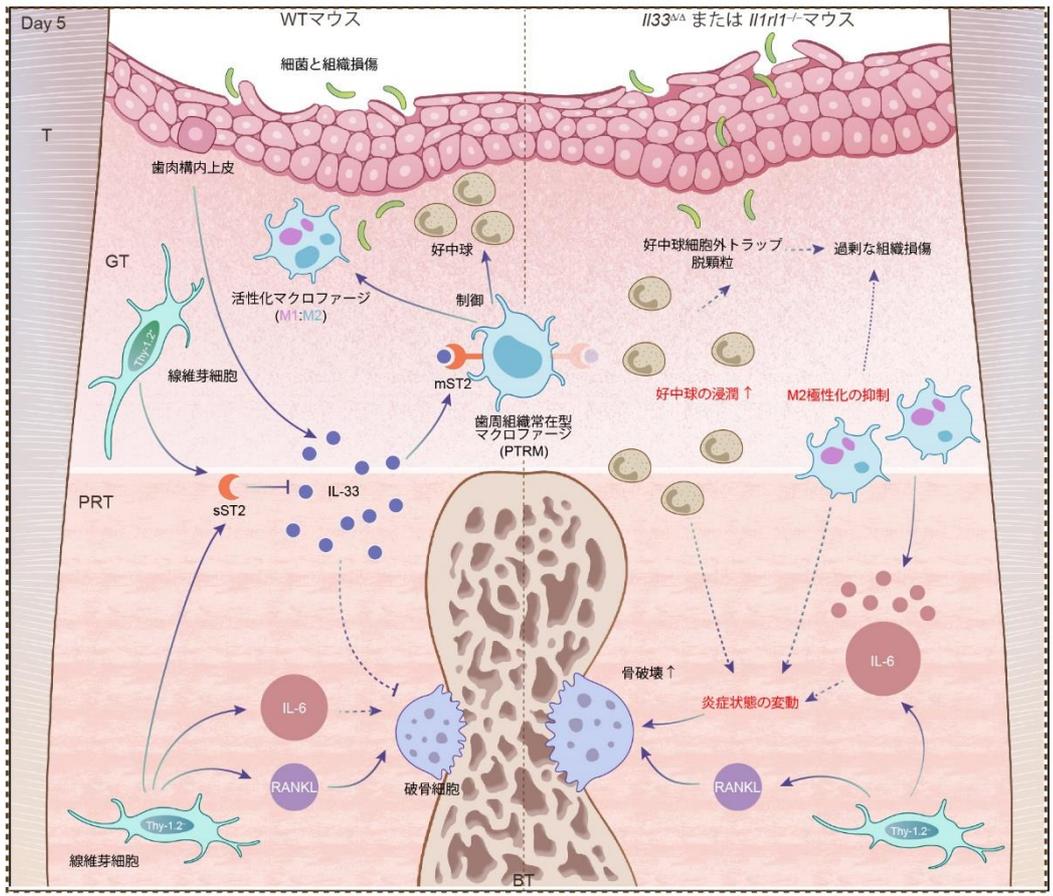


図 4. 歯周炎発病過程の急性炎症進行期における IL-33/ST2 経路の作用。

**【用語の説明】**

※1 マウス結紮誘導型歯周炎モデル

マウスの上顎臼歯に絹糸を結紮し、プラークを蓄積させることで歯周病を人為的に誘導する疾患モデル。2012 年に Hajishengallis らにより初めて提唱され、その有効性から現在歯周炎の研究で幅広く使用されている。

※2 IL-33 (インターロイキン-33)

IL-33 はインターロイキン-1 (IL-1) ファミリーに属し、ST2 (遺伝子名: *Il1rl1*) を受容体とするサイトカイン。その作用は宿主防御、免疫調節、神経損傷、炎症など多岐にわたることが知られている。

※3 ノックアウトマウス

遺伝子操作により特定の遺伝子を欠損させたマウス。遺伝子産物の機能が不明な場合にその機能を推定するために作製、使用される。

## 【論文情報】

掲載誌: *Nature Communications*

論文タイトル: The IL-33/ST2 axis is protective against acute inflammation during the course of periodontitis.

DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-46746-2>

## 【研究者プロフィール】

中島 友紀 (ナカシマ トモキ) Tomoki Nakashima

東京医科歯科大学歯学部 教授

### ・研究領域

骨生物学、骨代謝学、分子生物学



林 幹人 (ハヤシ ミキヒト) Mikihito Hayashi

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

分子情報伝達学分野 准教授

### ・研究領域

骨代謝学、分子生物学



岩田 隆紀 (イワタ タカノリ) Takanori Iwata

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

歯周病学分野 教授

### ・研究領域

歯周治療系歯学、再生医用工学・再生歯学



劉 安豪 (リュウ アンハオ) Anhao Liu

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

歯周病学分野 大学院生

### ・研究領域

歯周治療系歯学、骨代謝学、分子生物学



**【問い合わせ先】**

**<研究に関すること>**

東京医科歯科大学歯学部

中島 友紀（ナカシマ トモキ）

TEL:03-5803-5474 FAX:03-5803-0193

E-mail:naka.csi@tmd.ac.jp

**<報道に関すること>**

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272

E-mail:kouhou.adm@tmd.ac.jp