

Jorge Luis Montenegro Raudales 論文内容の要旨

主 論 文

Dental Calculus Stimulates Interleukin-1 β Secretion by Activating NLRP3 Inflammasome in Human and Mouse Phagocytes

歯石はヒトおよびマウス貪食細胞において NLRP3 インフラマソームを活性化してインターロイキン 1 β 産生を刺激する

Jorge Luis Montenegro Raudales, 吉村篤利, Ziauddin SM, 金子高士, 尾崎幸生, 鵜飼孝, 宮崎敏博, Eicke Latz, 原宜興

PLOS ONE, 11 巻 9 号, e0162865, 2016 年

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：原 宜興 教授)

緒 言

炎症性サイトカインのインターロイキン 1 β (IL-1 β) は、歯周炎患者の歯周組織および歯肉溝滲出液中に検出され、歯周組織の炎症に重要な役割を担っていると考えられます。ところで、IL-1 β が産生されるには、2つのシグナルが必要であることが示されています。1つ目のシグナルでは、Toll-like receptor (TLR)、IL-1 レセプター、TNF レセプターなどを介して NF- κ B などの炎症性転写因子が活性化され、IL-1 β 前駆体を誘導します。これをプライミングと呼びます (シグナル 1)。2つ目のシグナルでは、結晶粒子などのデンジャーシグナルにより NLRP3 インフラマソームが活性化され、IL-1 β 前駆体が切断されて成熟型 IL-1 β が産生されます (シグナル 2)。

歯石は結晶構造をとることから、歯石結晶がシグナル 2 を誘導している可能性があります。また、歯石中に含まれる菌体成分は TLR を刺激し、シグナル 1 を誘導している可能性もあります。

本研究では、歯石がヒトおよびマウス貪食細胞において、シグナル 1 およびシグナル 2 の 2つの刺激を誘導して IL-1 β 産生を誘導するかどうか検討しました。

対象と方法

歯周炎患者から採取した歯石を細かく粉碎し、洗浄後にオートクレーブ滅菌し、非加熱処理歯石として実験に使用しました。この歯石中の有機成分を失活させるために、さらに 250°C で 1 時間加熱したものを加熱処理歯石として用いました。

これらの非加熱処理歯石および加熱処理歯石で、ヒト静脈血から分離した多形核白血球や単核球、C57BL/6 (野生型)、NLRP3 欠損、ASC 欠損マウス由来の不死化マクロファージを刺激し、IL-1 β 産生量を ELISA 法で測定しました。

非加熱処理歯石および加熱処理歯石で刺激した細胞における IL-1 β mRNA の発現は、

歯石で刺激後のマクロファージから RNA を抽出し、RT-qPCR 法で解析しました。

加熱処理歯石がシグナル 2 を誘導するかどうかを解析するために、上述のヒトおよびマウス貪食細胞を lipid A または LPS でプライミングし、加熱処理歯石または合成ハイドロキシアパタイト (HA) 結晶で刺激し、IL-1 β 産生量を ELISA 法で測定しました。

結 果

ヒト多形核白血球および末梢血単核球を非加熱処理歯石で刺激すると、培養液中に IL-1 β が検出されました。野生型マウスマクロファージを非加熱処理歯石で刺激した場合にも培養液中に IL-1 β が検出されましたが、NLRP3 欠損および ASC 欠損マウスマクロファージの培養中からは IL-1 β が検出されませんでした。これらのマウスマクロファージを非加熱処理歯石で刺激後に IL-1 β mRNA の発現を解析したところ、いずれのマウス由来マクロファージにおいても IL-1 β mRNA の発現上昇が認められました。

加熱処理歯石で野生型マウスマクロファージを刺激すると、IL-1 β mRNA の発現上昇は認められず、培養液中にも IL-1 β は検出されませんでした。野生型マウスマクロファージを lipid A でプライミングした後に加熱処理歯石で刺激すると、培養液中に IL-1 β が検出されました。また、lipid A でプライミングした野生型マウスマクロファージを HA 結晶で刺激した場合にも、培養液中に IL-1 β が検出されました。しかしながら、NLRP3 欠損、ASC 欠損マウス由来マクロファージを lipid A でプライミングした後に加熱処理歯石で刺激しても、培養液中に IL-1 β は検出されませんでした。ヒト多形核白血球および末梢血単核球を LPS でプライミングした後に加熱処理歯石で刺激した場合には、培養液中に IL-1 β が検出されました。

考 察

非加熱処理歯石は、ヒト多形核白血球、末梢血単核球および野生型マウスマクロファージの IL-1 β 産生を誘導しましたが、NLRP3 欠損、ASC 欠損マウスマクロファージの IL-1 β 産生は誘導できなかったことから、非加熱処理歯石による IL-1 β 産生の誘導は NLRP3 インフラマソームを介していると考えられます。

加熱処理歯石および HA 結晶で、lipid A または LPS でプライミング後のヒト多形核白血球および末梢血単核球、野生型マウスマクロファージによる IL-1 β 産生を誘導できたことから、歯石中の結晶構造は、インフラマソームの活性化を介して IL-1 β 産生の誘導に関与していると考えられました。

歯石による IL-1 β 産生の誘導は、歯周組織の炎症に促進的に働いていることが示唆されました。