

報道関係者 各位

2022年2月15日  
国立大学法人 東京農工大学

## 歯周病の骨破壊に自然免疫応答による新たな経路 二本鎖 RNA が誘導するプロスタグランジン E と破骨細胞

国立大学法人東京農工大学大学院・工学研究院・生命機能科学部門の稲田全規准教授と富成司特任助教、小野薬品工業株式会社の丸山隆幸研究員、オックスフォード大学の Yoshifumi Itoh 教授、日本歯科大学の沼部幸博教授らで構成された国際共同研究チームは、二本鎖 RNA (dsRNA) が骨を作る骨芽細胞の自然免疫受容体である TLR (Toll Like Receptor) に作用し、プロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 産生の促進を介して炎症性骨破壊を誘導することを見出しました。歯周病の骨吸収では、グラム陰性細菌が有するリポ多糖 (LPS) が主な原因となりますが、本研究により、細菌、ウイルス、自己細胞由来の RNA が炎症性骨破壊に関与することが示されました。これら発見は、歯周病をはじめとした炎症性骨疾患の新たな治療法の開発へつながることが期待されます。

本研究成果は、米国の生化学・分子生物学会誌 Journal of Biological Chemistry 誌への掲載に先立ち、1月29日付でオンライン公開されました。

URL : <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101603>

**研究の背景**：歯周病は細菌感染によって引き起こされる口腔局所の感染性疾患です。歯周病における炎症性骨破壊の主な原因として、グラム陰性細菌の外膜成分である LPS が知られています。LPS は自然免疫受容体である TLR4 に結合して炎症性骨破壊を誘導します。一方で、TLR3 に結合する分子である、細菌やウイルス、自己細胞が有する dsRNA による炎症性骨吸収への関与は不明でした。東京農工大学大学院工学府生命工学専攻の稲田研究室では、歯科医師である稲田准教授を中心に歯周病における PGE<sub>2</sub> 誘導性の炎症性骨破壊の発症メカニズムを研究してきました。本研究では、小野薬品工業、オックスフォード大学及び日本歯科大学との国際研究チームにより、dsRNA による TLR3 を介した炎症性骨破壊のメカニズム解明に取り組みました。

**研究体制**：本研究は国内外の共同研究者と連携実施したもので、詳細は以下の通りです。

- 東京農工大学大学院工学府生命工学専攻：稲田全規准教授、富成司特任助教、秋田みゆき大学院生（当時）、松本千穂特任助教、平田美智子講師、宮浦千里特命教授
- 東京農工大学グローバルイノベーション研究院：ライフサイエンス 稲田全規研究ユニット
- 小野薬品工業株式会社：丸山隆幸研究員
- 英国オックスフォード大学ケネディーリウマチ研究所：Yoshifumi Itoh 教授
- 日本歯科大学歯周病学講座：沼部幸博教授

**研究成果**：骨組織は、骨を作る骨芽細胞 (Osteoblast) と、骨を吸収する破骨細胞 (Osteoclast) が協働して維持されています。歯周病では、グラム陰性細菌由来の LPS が PGE<sub>2</sub> による破骨細胞の分化・活性化を促すことで、炎症性骨破壊が進行します。細菌やウイルス、自己細胞由来の RNA は一部が二本鎖構造をとることが知られており、その受容体として細胞内の TLR3 が同定されています。しかし、dsRNA の炎症性骨吸収への関与は未だ不明でした。本研究では、細胞培養系 (*in vitro*)、ならびに歯槽骨器官培養系 (*ex vivo*) を用い、合成 dsRNA である poly(I:C) の作用について解析しました。その結果、骨芽細

胞において、poly(I:C) は NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa B)/PGE<sub>2</sub>/RANKL (receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand) 経路を介して破骨細胞分化を誘導し、骨吸収活性を促進しました。一方、これら poly(I:C) の作用は PGE<sub>2</sub> の合成を抑える COX (cyclooxygenase) 阻害剤のインドメタシン、もしくは PGE<sub>2</sub> 受容体 EP4 の拮抗薬の添加によって全て抑制されました。次に、poly(I:C) の作用機序を明らかにするため、免疫染色法による解析を行ったところ、poly(I:C) はエンドサイトーシスによって骨芽細胞内に取り込まれることが示されました (図 1A)。エンドサイトーシスの阻害剤である Dynasore または Pitstop2 を培養系に添加すると、poly(I:C) の細胞内取込みが阻害され、RANKL 遺伝子: *Tnfsf11* mRNA 発現が抑制されました (図 1A, 1B)。また、成熟破骨細胞に対する poly(I:C) の直接作用を解析したところ、poly(I:C) は成熟破骨細胞を延命することが明らかとなりました。

本研究により、dsRNA は骨芽細胞に取り込まれ、自然免疫受容体である TLR3 による感知、NF- $\kappa$ B による細胞内シグナリング、PGE<sub>2</sub> 産生促進を介した RANKL 発現誘導とそれに伴う破骨細胞分化の促進、ならびに成熟破骨細胞の延命を誘導することが明らかとなりました (図 2)。

これら研究成果は自然免疫応答を介した歯周病の新たな治療法開発へつながることが期待されます。

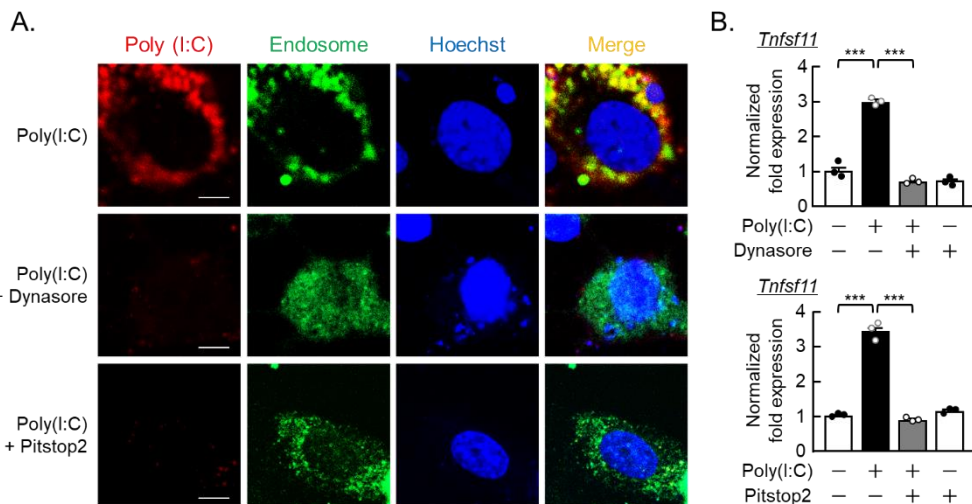


図 1: 骨芽細胞における Poly(I:C) の細胞内取り込みの解析

- A. 骨芽細胞における免疫染色像を示した。Poly(I:C) は赤色、エンドソームは緑色、核は青色で検出した。エンドサイトーシス阻害剤として Dynasore と Pitstop2 を用いた。スケールバーは 10  $\mu$ m を示す。
- B. 定量的 PCR により *Tnfsf11* (RANKL) mRNA 発現を解析した。グラフは平均値±標準誤差、有意差は \*\*\* $P$ <0.001 で示した。

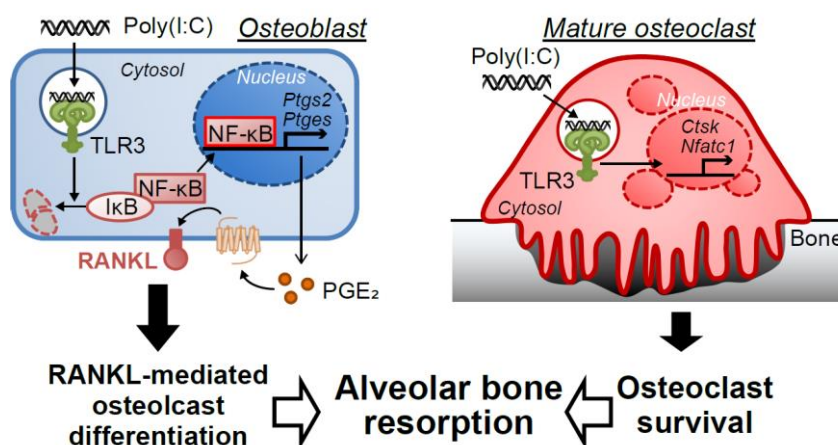


図 2: poly(I:C) による炎症性歯槽骨破壊の作用機序

◆研究に関する問い合わせ◆

東京農工大学大学院工学研究院  
 生命機能科学部門 准教授  
 稲田 全規 (いなだ まさき)  
 TEL/FAX : 042-388-7402  
 E-mail : m-inada@cc.tuat.ac.jp