

総 説

根尖性歯周炎の免疫病理学的知見

佐々木 元

Forsyth 研究所 免疫・感染症部門 佐々木研究室

(主任：佐々木 元)

(受付：2014年5月15日)

(受理：2014年8月7日)

はじめに

Takehashi ら¹⁾が根尖性歯周炎（以下、根尖病変とする）と感染の直接的因果関係について無菌ラットを用いて証明したのは1965年のことである。免疫という観点から歯内疾患の研究を振り返ってみると、根尖病変の免疫や炎症応答の分子レベルでの研究が本格化したのは1980年代のことである。1990年代後半からは遺伝子改変マウスがこの分野にも積極的に導入され、免疫細胞やサイトカインといった宿主の様々なファクターが疾患の成立にどのような役割を果たすのかを検討する、いわゆる Functional Study が大きく進展した。近年は、新規の治療薬／治療法の開発、および臨床応用を目指す Translational Research が重要視されるようになり、その種（シーズ）をもたらす基礎研究の重要性が増している。筆者の研究グループは、臨床へのトランスレーションを最終目標にして、免疫が根尖病変を制御するメカニズムを研究している。本稿では、現在の根尖病変の免疫病理を当研究グループのデータを中心に解説するとともに、免疫／炎症の新たな治療法について考察する。

1. 根尖病変は感染症である

根尖病変は根管内の感染に起因する。Takehashi ら¹⁾は無菌ラットでは臼歯の露髄後に根尖病変は生じず、口腔内細菌が存在する通常の動物でのみ惹起されることを示した。歯内療法の重要なゴールの一つである「根管内の無菌化」はこの知見に拠るところが大である。ヒトの口腔内には約700種類の細菌が存在するが²⁾、ヒトの感染根管から検出される菌も同様に多様であり約180種にも及ぶ³⁾。Fouad ら⁴⁾は、感染根管治療でクロルヘキシジンや水酸化カルシウムを併用しても、無菌状態を得るのは困難なことを示している。また、Noiri ら⁵⁾ならびにNoguchi ら⁶⁾は *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* などの細菌が根尖孔外の歯周組織にもバイオフィルムを形成し、定着、感染していることを明らかにした。根尖病変はこのように扱いの難しい根管内の混合感染に対する局所の生体防御反応であり（図1）、（1）好中球やマクロファージ（大食細胞）、それに続くリンパ球、形質細胞の浸潤；（2）免疫細胞と免疫細胞から産生されるサイトカインに依存する骨吸収を

Immunopathological view of periapical periodontitis

Hajime SASAKI

The Sasaki Laboratory, Department of Immunology and Infectious Diseases, The Forsyth Institute.

(Chief : Hajime SASAKI)

245 First Street, Cambridge, MA 02142, U.S.A.

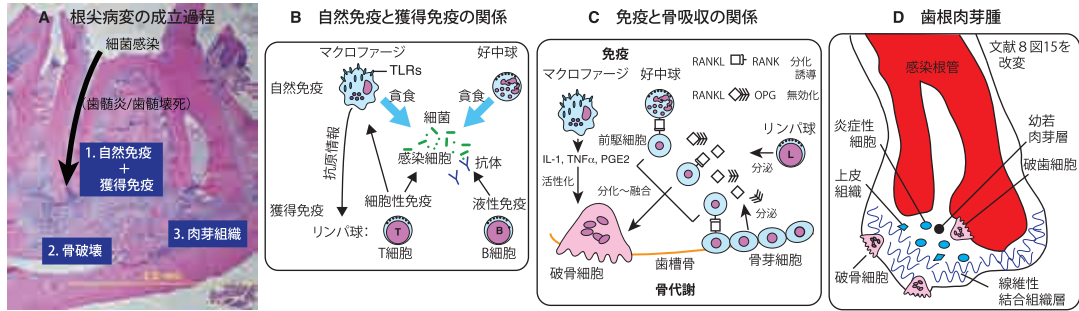


図1. 根尖病変の成立過程と免疫

A. 根尖病変の成立過程. B. 自然免疫と獲得免疫の関係. C. 免疫と骨吸収の関係. 活性化した好中球, リンパ球, 骨芽細胞から産生されたRANKL (分化誘導因子) が破骨前駆細胞上の受容体 (RANK) と結合し, 破骨細胞へと分化する. 骨芽細胞, リンパ球などから産生されるOPGはRANKに拮抗する. D. 歯根肉芽腫の概略 (文献8を元に作成).

伴う根尖部歯周組織の破壊;そして(3)破壊された組織の不完全な治癒(線維化を伴う肉芽組織による置換)を示すのが特徴である^{7, 8)}. 根尖病変は上皮に裏装されることで歯根嚢胞に移行することもある⁷⁾.

2. 根尖部歯周組織への感染は局所の免疫応答と炎症反応を惹起する

本章では免疫の概略と根尖性歯周炎の進行との関係を要約する. 根管から根尖部歯周組織に感染が波及すると, 局所での免疫応答および炎症反応が惹起される^{7, 9, 10)}. 免疫は自然免疫と獲得免疫に大別される. 自然免疫は細菌を含む非自己の異物に対する非特異的な応答であり, 根尖病変の初期に関与する¹⁰⁾. 好中球やマクロファージなどの貪食細胞による細菌の直接的排除や細胞傷害性リンパ球の一種であるNK細胞による感染細胞の排除が自然免疫の基本的なメカニズムである. これらの細胞からは炎症および骨吸収を促進する作用を持つサイトカインが産生される. 一方, 獲得免疫は抗原特異的な応答で, 根尖病変の中, 後期に関与する¹⁰⁾. 獲得免疫の本質は, 抗原提示細胞(マクロファージ, 樹状細胞, およびBリンパ球)からの抗原情報により特異的に増殖したTリンパ球(T細胞)とBリンパ球(B細胞)が細胞性免疫と抗体

(antibodies/immunoglobulins)産生(液性免疫)を活性化し感染に対抗することである.

3. 免疫不全マウスモデルにおける根尖病変

根尖病変における自然免疫と獲得免疫の役割は獲得免疫が欠損したいわゆる免疫不全モデルを用いて検討することができる. 図2Aに示すように, Tリンパ球が欠損した実験動物でも根尖病変が成立することが報告されている¹¹⁻¹³⁾. Tリンパ球(T細胞)が根尖病変の大きさに与える影響については, T細胞欠損ラットと野生型ラットの間に差がないという報告¹¹⁾と, T細胞欠損マウスで野生型マウスよりも若干減少するという報告¹²⁾があり, 見解がわかれている. 筆者らの実験ではT細胞欠損マウスと野生型の病変の大きさに有意差は認められなかった¹³⁾. 一方, B細胞欠損マウスとTリンパ球とBリンパ球の両方を欠損したSCID(severe combined immunodeficiency;重症複合免疫不全)マウスでは根尖病変から顎顔面膿瘍を形成し(図2B), 死に至るケースが多かった^{14, 15)}. これらの知見は自然免疫のみでは菌性感染症の拡大を防ぎきれないことを示している. 筆者らは, 自然免疫は根尖病変成立の基本メカニズムであり獲得免疫はその修飾(亢進もしくは抑制)および補完因子であると解釈している⁹⁾.

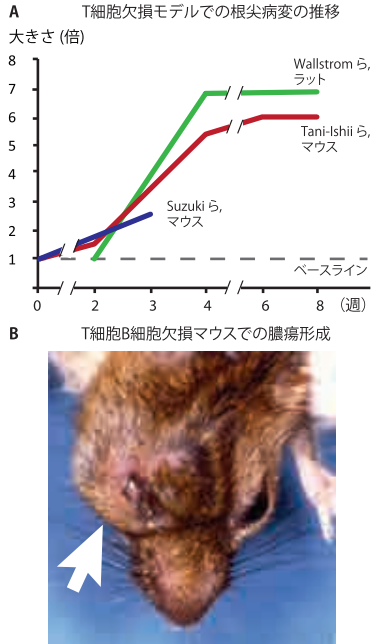


図2. 自然免疫での根尖病変の成立

A. T細胞欠損モデルでの根尖病変の推移. 3種のT細胞欠損モデルのいずれにおいても根尖病変は形成される(文献11, 12, 13を元に作成). B. T細胞B細胞欠損マウスでの膿瘍形成. T細胞とB細胞の両方が欠損すると感染への抵抗性が著しく低下する. 顎顔面膿瘍を形成し(矢印)死に至る. 写真はDr. Ricardo Telesのご厚意による.

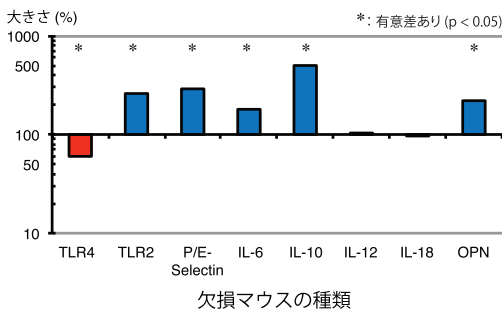


図3. 自然免疫関連分子の根尖病変での役割

横軸: ノックアウトマウスの種類. 縦軸: マイクロCTで計測した根尖病変の大きさの変化(陽性対照の根尖病変の大きさを100として比較(対数表示)). TLR4欠損のように病変の大きさが有意差をもって減少した場合, TLR4は炎症を亢進する役割を担う. 逆に, TLR2欠損などのように病変の大きさが有意差をもって増加した場合, その分子は炎症を抑制する役割を果たしていると示唆される(文献19, 23, 25, 26, 35, 37, 44を元に作成).

4. 根尖病変の自然免疫

自然免疫は好中球やマクロファージといった貪食細胞の機能に大きく依存する. 貪食細胞の細菌への応答は, 主にToll様受容体(Toll-like receptors; TLR)によるPAMPsの認識が起点となり活性化される. PAMPsとはpathogen-associated molecular patternsの略で, リポ多糖(LPS), CpGモチーフ, ペプチドグリカンなど微生物に広く存在する病原体関連分子パターンの総称で, ほ乳類には存在しない. LPSはTLR4, リポタンパクはTLR2, CpGモチーフはTLR9というように, 各PAMPは特異的なTLRによって認識される. これまでヒトでは10個の, マウスでは12個の機能的なTLRが発見されている¹⁶⁾. その中でもTLR2とTLR4はグラム陰性菌およびグラム陽性菌の菌体成分の認識にそれぞれ主要な役割を果たしている^{17, 18)}.

細菌/菌体成分の認識に加え, これら2つのTLRは根尖病変の制御においても重要な役割を果たすことがTLR欠損マウスを用いた研究で明らかになってきた. TLR4欠損マウスでの根尖病変の大きさは野生型のそれに比較して有意に縮小した(図3)¹⁹⁾. 根尖病変の大きさはマクロファージからの炎症性サイトカインの産生量に影響を受けるが^{20, 21)}, TLR4欠損は全菌体刺激によるマクロファージの炎症性サイトカイン産生を低下させる¹⁹⁾. この結果は使用した菌のグラム染色性には影響されない¹⁹⁾. よって, TLR4シグナルは根尖病変を亢進する役割を担うと考えられる. 一方, TLR2欠損マウスでは野生型のマウスに比較して根尖病変が有意に拡大した(図3)^{22, 23)}. TLR2欠損は全菌体刺激によるマクロファージの炎症性サイトカイン産生を上昇させる²³⁾. この結果も使用した菌のグラム染色性には影響されない²³⁾. よってTLR2は予想外に根尖病変を抑制する役割を担うようである. TLR2欠損マウスで生じる根尖病変の拡大はTLR2/TLR4欠損マウスでは観察されなかったことから²³⁾, TLR2とTLR4は相互に作

用して根尖病変の免疫、炎症応答を制御していると考えられる。生体防御機構中でのTLRの相互作用やTLR欠損が細菌に与える影響(増殖、クリアランス、ディスバイオシスなど)の詳細解明には今後の更なる研究が必要である。

LAD (Leukocyte Adhesion Deficiency; 白血球接着欠乏症)は感染部位で好中球の血管からの滲出が阻害される免疫不全疾患で、P-selectin, E-selectinという細胞接着分子が発症に関与している²⁴⁾。LAD様の表現型を示すP/E-selectin欠損マウスでは露髄後の好中球の浸潤は著しく減少し、根尖病変の大きさは野生型マウスのそれと比較して有意に拡大する(図3)²⁵⁾。また、オステオポンチン(OPN)の欠損は好中球の機能を低下させ根尖病変を拡大するようである(図3)^{26, 27)}。すなわち根尖病変の成立過程では好中球は第一義的には防御的な役割を果たしており、そのメカニズムは好中球が細菌を貪食し殺菌する(クリアランスする)ことによると考えられる^{28, 29)}。実験的に好中球の細菌のクリアランスを賦活化することで根尖病変の進行を遷延できることが報告されている²⁸⁾。また、細菌由来のビルレンス因子(virulence factors)が好中球の防御機能に影響を与えることで根尖病変成立メカニズムの一端を担っていることが示唆されている³⁰⁾。

マクロファージは根尖病変におけるTNF α やIL-1などの炎症性サイトカインの主たる産生細胞である³¹⁾。これらの炎症性サイトカインは骨吸収の主体である破骨細胞の分化誘導や活性を促進する役割も担っている。とくにヒトではIL-1 β 、マウスではIL-1 α が根尖病変での破骨細胞の活性と病変の進行に重要な役割を果たしている^{20, 21)}。よって、IL-1は根尖病変の活動度を押し量るのに有用なバイオマーカーの一つであると考えられる。マクロファージはIL-6の主要産生細胞でもある³²⁾。IL-6の役割は一般的には炎症促進と考えられており、抗IL-6受容体抗体によるIL-6シグナルの阻害は関節リウマチやクローン病などの慢性炎症性疾患に有効な治療法である^{33, 34)}。しかし、IL-6欠損マウスでは根

尖病変の大きさが野生型に比較して1.8倍に拡大し(図3)³⁵⁾、根尖病変内のIL-1の産生も有意に亢進していた³⁵⁾。細菌で刺激したIL-6欠損マクロファージによるIL-1 α の産生量も野生型マクロファージに比較して上昇していた³⁵⁾。よって、根尖病変におけるIL-6の役割は関節リウマチなどとは異なり防御的であると思われる。マクロファージは同時に抗炎症性サイトカインのIL-10も産生する³⁶⁾。IL-10は*in vitro*において濃度依存的にマクロファージの細菌刺激によるIL-1 α 産生を抑制する³⁷⁾。IL-10はIL-1の産生に必要なNF- κ Bの活性化抑制³⁸⁾、IL-1 mRNA(メッセンジャーRNA)の不安定化³⁹⁾、およびIL-1レセプターアンタゴニストの産生を増強する⁴⁰⁾ことでマクロファージが過剰に活性化することを防いでいる。NF- κ Bとは、nuclear factor kappa-Bの略で、細胞核内でDNAに結合しDNAの遺伝情報をRNAに転写する過程を促進するタンパク質(転写因子)の一群で、炎症、骨吸収の亢進に深く関与する。野生型と比べて、IL-10欠損マウスの根尖病変の大きさは約5倍に達し(図3)、病変中では10倍以上のIL-1 α が検出された³⁷⁾。一方、免疫抑制性サイトカインの一つであるIL-4の欠損マウスにおける根尖病変の大きさは野生型と同等であった(図4)³⁷⁾。これらの知見はIL-10が根尖病変の進行抑制に中心的な役割を果たしていることを示している。

5. 獲得免疫の役割

先に述べたように獲得免疫は抗原提示細胞からの情報を受けて抗原特異的に細胞性免疫ならびに液性免疫を活性化する。T細胞は食細胞、NK細胞などの細胞性免疫を活性化するとともに遅延型過敏症に関わるが、これらの応答にはT細胞から産生されるサイトカインが重要な役割を果たす。T細胞の中でもとくに、ヘルパーT細胞はサイトカインの産生パターンからTh1細胞、Th2細胞、制御性T細胞などに分類される。Th1細胞はIFN γ を中心とした炎症性サイトカインを産生する⁴¹⁾。IFN γ の産生を誘導するマクロファージ由来のIL-12やIL-18を含

めた Th1 関連サイトカイン群はマクロファージの活性化（炎症の促進）に重要な役割を果たしている^{42, 43}。よって Th1 関連サイトカイン欠損マウスの根尖病変は野生型のそれより縮小すると思われたが、筆者らの実験では IL-12（図 3）、IL-18（図 3）、IFN γ の各欠損マウスと野生型マウスの根尖病変に有意差は認められなかった（図 4）⁴⁴。一方、*Porphyromonas gingivalis* の感染に対し Th1 型の応答を特異的に増強するモデルでは根尖周囲組織の炎症は著しく亢進し骨吸収も拡大した（図 4）⁴⁵。これらの知見から、筆者らは野生型のマウスでは通常は何らかのメカニズムで Th1 型の応答が生じにくいようにコントロールされており、それ故、Th1 サイトカインをノックアウトしても野生型に比して有意差が出ないのではないかと考えた。Kobayashi らは、IL-10 が Th1 型応答を制御することでマウスでの大腸炎の発症を抑制していることを報告した⁴⁶。筆者らは、同様の制御機構が菌周炎や根尖病変にも存在すると考え、野生型、IL-10 欠損、IL-12 欠損、T 細胞欠損、IL-10/IL-12 欠損、T 細胞 /

IL-10 欠損マウスの歯槽骨吸収を解析した（図 4）。細菌刺激による IL-10 欠損マクロファージの IL-12 の産生量は野生型マクロファージに比較して有意に高く¹³、IL-12 が根尖病変の進展に関与すると考えられた。IL-10 欠損マウスで進展する根尖病変の骨吸収は、IL-10/IL-12 欠損マウスでは野生型と同様であり¹³、IL-12 が IL-10 欠損マウスの根尖病変の進行に関与していることがわかった。また、IL-10/IL-12 欠損マウスでは根尖病変中の IL-1 産生も IL-10 欠損マウスに比較して有意に抑制されていた¹³。さらに、IL-10 と T 細胞（IFN γ の産生細胞を含む）を同時に欠損させた場合には、IL-12 が存在するにも関わらず歯槽骨の吸収が有意に抑制された¹³。これらの結果は IL-10 が IL-12 に誘導される Th1 型の応答をコントロールすることで根尖病変の進展を抑制していることを示唆している。

IL-10 はマクロファージだけではなく T 細胞、とくに制御性 T 細胞からも産生される⁴⁷。制御性 T 細胞は強力な免疫抑制作用を有する TGF β も併せて産生する⁴⁷ ことから、自己免疫疾患、アレルギー疾患、移植片拒絶反応などの抑制に応用されることが期待されている⁴⁸。制御性 T 細胞は、ヒトおよびマウスの根尖病変内でも観察される^{49, 50}。そこで制御性 T 細胞を意図的に増やすことで根尖病変を抑制できるか検討した。原因菌特異的に増殖する制御性 T 細胞を *in vitro* で調整し、露髄 / 感染させたマウスの静脈内に注射したところ、露髄後 21 日の根尖病変の進展は有意に抑制された（図 4）⁵⁰。この結果は制御性 T 細胞や制御性 T 細胞由来のサイトカインの臨床応用への可能性を示している。

IL-17 は炎症性サイトカインの一つで、主たる産生細胞は Th17 細胞と呼ばれる IL-17 を特異的に産生するリンパ球である。IL-17 は関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、喘息、移植片拒絶反応などを増悪することがわかっている^{51, 52}。IL-17 遺伝子は根尖部周囲組織で露髄後に発現することから⁵³、IL-17 が根尖病変で何らかの役割を果たしていると考えられた。そこで抗 IL-17 抗体および IL-17 受容体欠損マウス

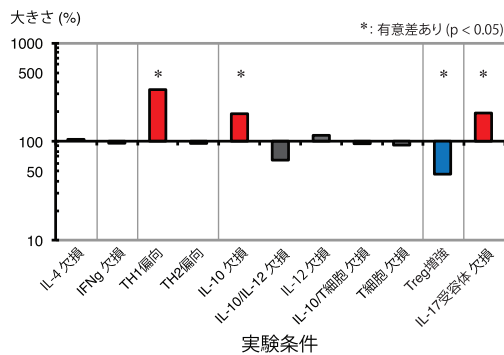


図 4. 獲得免疫の根尖病変での役割

横軸：ノックアウト（欠損）マウスの種類もしくは実験条件。縦軸：マイクロ CT で計測した根尖病変の大きさの変化（陽性対照の根尖病変の大きさを 100 として比較（対数表示））。Th1 型の免疫応答に偏向した場合（Th1 偏向、IL-10 欠損）、病変の大きさが有意差をもって増加する。逆に、制御性 T 細胞（Treg）の増強で根尖病変の大きさを抑制できる。一方、Th17 細胞から産生される IL-17 は根尖病変を抑制する役割を担うと示唆される（文献 13, 37, 44, 45, 50, 53 を元に作成）。

を用いて実験を行ったところ、欠損マウスの根尖病変は野生型に比して有意に進展した(図4)⁵³⁾。抗IL-17抗体も根尖病変を拡大させる効果を示した⁵³⁾ことから、IL-17は根尖病変の成立過程では防御的な役割を果たしていることが示唆された。IL-17受容体欠損マウスはIL-17による好中球の遊走、浸潤が阻害されるために歯周病に高い罹患性を示すことが報告されている⁵⁴⁾。これに対し、IL-17受容体欠損マウスの根尖病変では著しい好中球の浸潤と膿瘍形成を認めたことから、IL-17シグナルが異なるメカニズムで根尖病変を抑制していると考えられた。IL-17受容体欠損マウスの根尖病変内で産生が亢進していたMIP2、IL-1 α 、およびIL-1 β を抗体で中和したところ、MIP2とIL-1 β を中和した群で病変の大きさは有意に縮小し、とりわけIL-1 β を中和した群では好中球の浸潤がほぼ認められなかった⁵³⁾。よって、根尖病変においてはIL-17シグナルが少なくともMIP2とIL-1 β の発現を抑えることで過剰な好中球による炎症を抑えると考えられる。一方で、IL-17により根尖病変が亢進することを示唆する報告がある⁵⁵⁻⁵⁷⁾ことも付記する。

根尖病変の転帰は図5に示したサイトカインバランスの変化がどのように局所の免疫応答(図1B)、骨吸収(図1C)に影響を与えるかによると考えられる。根尖病変の原因菌に対する特異的抗体は生体防御に重要な役割を果たして

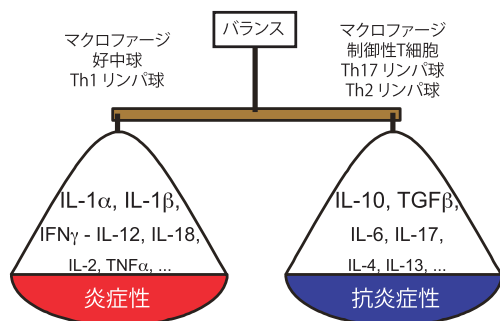


図5. サイトカインによる根尖病変の制御

様々な細胞から産生される炎症性、抗炎症性サイトカインのバランスが根尖部周囲組織での炎症の程度や病変の大きさを制御していると考えられる。

いるが^{15, 58, 59)}、過剰な免疫グロブリンの産生は抗原物質と抗体の複合体(免疫複合体, immune complex)の沈着とそれに引き続くⅢ型のアレルギー反応を誘導すると考えられている^{10, 60)}。

6. 今後の展望

1) 難治性根尖病変と宿主因子の関連

難治性根尖病変の原因として根管の複雑な解剖学的形態、治療薬に抵抗性を有する細菌、そして治療上の技術的な問題が提起されている^{61, 62)}。これらの要因に加えて、全身性疾患の進行に伴う宿主因子の変化も一因となりうる。根尖病変と全身状態の関連についての検討は十分とはいえないが、それでも糖尿病、喫煙、高血圧や非特異的な免疫不全が根尖病変の進行に影響を与えるとされている⁶³⁾。例えば、糖尿病患者の根尖病変の罹患率は非糖尿病患者に比して高いことが報告されている^{64, 65)}。糖尿病患者の創傷治癒は非糖尿病患者に比して遅延する傾向にあるが、これは根尖病変においても例外ではない。2型糖尿病患者の根尖病変では根管治療の効果(病変の縮小)が現れにくく⁶⁶⁾、感染根管治療の成功率は全身状態が良好な患者のそれに比較して著しく劣ることが報告されている⁶⁷⁾。糖尿病および前糖尿病の人口比率は世界的に増加傾向にあることから^{68, 69)}、それに伴い根尖病変の難治症例数も増加していくと思われる。糖尿病に限らず全身疾患の進行に伴う宿主因子の変化がその根尖病変に与える影響については基礎臨床を問わず積極的に研究していく必要がある。

2) 炎症性疾患への新しいアプローチ

炎症は組織傷害や感染などに対する生体防御反応で、本来は創傷治癒に必要なプロセスである。何らかの原因で炎症の消退が遅延、阻害されると慢性炎症に移行し炎症性疾患に陥る。炎症性疾患ではアラキドン酸をもとにするプロスタグランジンやロイコトリエンなどの脂質メディエーターが症状の亢進に重要な役割を果たしている。抗炎症剤(特にステロイド剤)はこれらのメディエーターの産生を効果的に抑制するが、同時に免疫も抑制することも知られてい

る⁷⁰⁾。これに対して、2000年代に入ってから、炎症の消退に関与する脂質メディエーターの生成やその機能の詳細が明らかになってきた。例えば、魚油に多く含まれるエイコサペンタエン酸（EPA）は炎症部位においてレゾルビンという脂質メディエーターに変化し⁷¹⁾、好中球遊走の阻害、炎症サイトカインの抑制、活性酸素抑制などの抗炎症性作用を発揮する⁷²⁾。レゾルビンの歯周組織への塗布は、白歯の結紮と *Porphyromonas gingivalis* 感染を併用した実験的辺縁性歯周炎を有意に抑制することも報告されている⁷³⁾。レゾルビンは、マウスの実験的誤嚥性肺炎で細菌の増殖を抑制し生存率を改善した⁷⁴⁾。これらの知見は、レゾルビンが感染への生体防御機能を損うことなく抗炎症作用を発揮することを示唆している。ドコサヘキサエン酸（DHA）からも生成されるレゾルビンやプロテクチンを含めた抗炎症性脂質メディエーター⁷⁵⁾の歯科臨床での応用が期待される。

3) 根管からの根尖病変への直接的アプローチ

根尖病変は根尖孔外（根尖部歯周組織）で生じている炎症である。筆者は、難治性根尖病変への対応、外科症例の減少、より早い治療、そして治療成績の向上のためには、何らかの形で根尖孔外へのアプローチが必要と考えている。筆者らは、根尖孔を通して根尖病変に ATP6i 遺伝子をノックダウンする shRNA を導入することで根尖病変の骨破壊を有意に抑制できることを報告した⁷⁶⁾。ATP6i 遺伝子は破骨細胞特異的に発現する水素イオン輸送を担うプロトンポンプをコードする遺伝子である。ATP6i 遺伝子を欠損したマウスは破骨細胞下に酸性の環境が得られないため骨吸収に異常をきたし骨大理石病様ならびに歯の萌出不全などの表現型を示す⁷⁷⁾。shRNA とは short hairpin RNA（短ヘアピン RNA）の略で、標的遺伝子の mRNA レベルでの発現抑制に用いられるヘアピン型の RNA 配列を指す。本研究で用いた shRNA は、ATP6i 遺伝子と TIRC7 遺伝子（ATP6i 遺伝子の別型で活性化リンパ球において発現する）の両方を抑制するので、骨吸収と獲得免疫を同時

に抑制していると思われる⁷⁶⁾。また、先述した抗炎症性脂質メディエーターや抗炎症性サイトカインの根尖病変への投与はその効果を現在検討中である。

7. 基礎から臨床へのトランスレーション

今後、免疫に限らず細菌学など多様な分野の研究から新たな感染根管治療のターゲット（原因菌のビルレンス因子など）が発見されていくと予想される。歯内療法をさらに進化させるためには、新たな知見をもとに新規の薬剤、ドラッグデリバリーシステム、治療器具/器械の開発など、分野を超えたイノベーションを進めていくことが必要と思われる。

謝 辞

本総説で述べた根尖病変の免疫病理の理論的枠組みは Dr. Philip Stashenko (President/CEO, The Forsyth Institute) のもとでの研究成果、議論を通して構築されたものである。ここに Dr. Stashenko と共同研究者各位に衷心からの謝意を表します。本総説で述べた著者の研究内容の一部は、アメリカ合衆国国立衛生研究所からの助成による。

本論文で紹介した著者らの動物実験はフォーサイス研究所実験動物取り扱い・使用委員会の承認を受けて行われたものである。

利益相反：著者は本論文の内容に関していかなる利益相反を有しない。

Acknowledgement : I thank Dr. Philip Stashenko (President/CEO, The Forsyth Institute) for his mentoring and guidance during my postdoctoral fellowship and supports on ongoing collaboration. I am also grateful to my staff, students, and collaborators.

This study was in part supported by grants from National Center for Research Resources/National Institute of Dental & Craniofacial Research/National Institutes of Health (S10RR027553, R03DE015888, and R21DE023178).

Disclosures : The author has no financial conflicts of interest.

引用文献

- 1) Kakehashi, S., Stanley, H. R. and Fitzgerald, R. J. : The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulp in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 20 : 340-349, 1965.
- 2) Chen, T., Yu, W. H., Izard, J., Baranova, O. V., Lakshmanan, A. and Dewhirst, F. E. : The Human Oral Microbiome Database : a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. *Database*, baq013, 2010.
- 3) Li, L., Hsiao, W. W., Nandakumar, R., Barbuto, S. M., Mongodin, E. F., Paster, B. J., Fraser-Liggett, C. M. and Fouad, A. F. : Analyzing endodontic infections by deep coverage pyrosequencing. *J. Dent. Res.*, 89 : 980-984, 2010.
- 4) Fouad, A., Paster, B.J., Nandakumar, R., Barbuto, S. : Clonal analysis of bacteria from preoperative and pre-obturation endodontic infections. *J. Dent. Res.*, 85 : #1362, 2006.
- 5) Noiri, Y., Ehara, A., Kawahara, T., Takemura, N. and Ebisu, S. : Participation of bacterial biofilms in refractory and chronic periapical periodontitis. *J. Endod.*, 28 : 679-683, 2002.
- 6) Noguchi, N., Noiri, Y., Narimatsu, M. and Ebisu, S. : Identification and localization of extraradicular biofilm-forming bacteria associated with refractory endodontic pathogens. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71 : 8738-8743, 2005.
- 7) 下野正基 : 新編治癒の病理—臨床の疑問に基礎が答える。医歯薬出版, 東京, pp236, 2011
- 8) 下野正基 : 1. 病理から見た根尖病変, 木ノ本喜史 編集 : 歯内療法 成功への道 根尖病変—治癒に向けた戦略を究める, 第一版, ヒョーロンパブリッシャーズ, 東京, 9-22 ページ, 2013.
- 9) Sasaki, H., Stashenko, P. : Interrelationship of the Pulp and Apical Periodontitis, Editors : Hargreaves KM, Goodis HE, Tay FR : Seltzer and Bender's Dental Pulp, 2nd ed., Quintessence Publishing Co Inc, New York, 2012.
- 10) 石井信之 : 2. 根尖病変の成立機序, 木ノ本喜史 編集 : 歯内療法 成功への道 根尖病変—治癒に向けた戦略を究める, 第一版, ヒョーロンパブリッシャーズ, 東京, 23-32 ページ, 2013.
- 11) Wallstrom, J. B., Torabinejad, M., Kettering, J. and McMillan, P. : Role of T cells in the pathogenesis of periapical lesions. A preliminary report. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 76 : 213-218, 1993.
- 12) Tani, N., Kuchiba, K., Osada, T., Watanabe, Y. and Umemoto, T. : Effect of T-cell deficiency on the formation of periapical lesions in mice : histological comparison between periapical lesion formation in BALB/c and BALB/c nu/nu mice. *J. Endod.*, 21 : 195-199, 1995.
- 13) Suzuki, N., Sasaki, H., Stashenko, P. : IL-12 Enhances Periapical Inflammation in IL-10 KO Mice. *J. Dent. Res.*, 86 : #2514, 2007.
- 14) Teles, R., Wang, C. Y. and Stashenko, P. : Increased susceptibility of RAG-2 SCID mice to dissemination of endodontic infections. *Infect. Immun.*, 65 : 3781-3787, 1997.
- 15) Hou, L., Sasaki, H. and Stashenko, P. : B-Cell deficiency predisposes mice to disseminating anaerobic infections : protection by passive antibody transfer. *Infect. Immun.*, 68 : 5645-5651, 2000.
- 16) Kawai, T., Akira, S. : Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity*, 34 : 637-650, 2011.
- 17) Takeuchi, O., Hoshino, K., Kawai, T., Sanjo, H., Takada, H., Ogawa, T., Takeda, K. and Akira, S. : Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity*, 11 : 443-451, 1999.
- 18) Roger, T., Froidevaux, C., Le Roy, D., Reymond, M. K., Chanson, A. L., Mauri, D., Burns, K., Riederer, B. M., Akira, S. and Calandra, T. : Protection from lethal gram-negative bacterial sepsis by targeting Toll-like receptor 4. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106 : 2348-2352, 2009.
- 19) Hou, L., Sasaki, H. and Stashenko, P. : Toll-like receptor 4-deficient mice have reduced bone destruction following mixed anaerobic infection. *Infect. Immun.*, 68 : 4681-4687, 2000.
- 20) Wang, C. Y., Stashenko, P. : Characterization of bone-resorbing activity in human periapical lesions. *J. Endod.*, 19 : 107-111, 1993.
- 21) Wang, C. Y., Stashenko, P. : The role of interleukin-1 alpha in the pathogenesis of periapical bone destruction in a rat model system. *Oral. Microbiol. Immunol.*, 8 : 50-56, 1993.
- 22) da Silva, R. A., Ferreira, P. D., De Rossi, A., Nelson-Filho, P. and Silva, L. A. : Toll-like receptor 2 knockout mice showed increased periapical lesion size and osteoclast number. *J. Endod.*, 38 : 803-813, 2012.
- 23) Sasaki, H., Rider, D, Xu, S, Fujimura, A : TLR2 Signal Is Protective In Periapical Lesion. *J. Dent. Res.*, 91 : #50, 2012.
- 24) Etzioni, A., Tonetti, M. : Leukocyte adhesion deficiency II-from A to almost Z. *Immunol. Rev.*, 178 : 138-147, 2000.
- 25) Kawashima, N., Niederman, R., Hynes, R. O.,

- Ullmann-Cullere, M. and Stashenko, P. : Infection-stimulated infraosseous inflammation and bone destruction is increased in P-/E-selectin knockout mice. *Immunology*, 97 : 117-123, 1999.
- 26) Rittling, S. R., Zetterberg, C., Yagiz, K., Skinner, S., Suzuki, N., Fujimura, A. and Sasaki, H. : Protective role of osteopontin in endodontic infection. *Immunology*, 129 : 105-114, 2010.
- 27) Matsui, A., Rittling, S. R. : Osteopontin supports neutrophil survival and function in polymicrobial infection. *J. Immunol.*, 190 : 56.23, 2013.
- 28) Stashenko, P., Wang, C. Y., Riley, E., Wu, Y., Ostroff, G. and Niederman, R. : Reduction of infection-stimulated periapical bone resorption by the biological response modifier PGG glucan. *J. Dent. Res.*, 74 : 323-330, 1995.
- 29) Zhang, P., Summer, W. R., Bagby, G. J. and Nelson, S. : Innate immunity and pulmonary host defense. *Immunol. Rev.*, 173 : 39-51, 2000.
- 30) Matsui, A., Rittling, S. R. : Endodontic Pathogens Avoid Innate Immune Control by Disabling Neutrophils. *J. Dent. Res.*, 93 : #123, 2014.
- 31) Tani-Ishii, N., Wang, C. Y. and Stashenko, P. : Immunolocalization of bone-resorptive cytokines in rat pulp and periapical lesions following surgical pulp exposure. *Oral Microbiol. Immunol.*, 10 : 213-219, 1995.
- 32) Liu, Z., Cheers, C. : The cellular source of interleukin-6 during *Listeria* infection. *Infect. Immun.*, 61 : 2626-2631, 1993.
- 33) Ohsugi, Y., Kishimoto, T. : The recombinant humanized anti-IL-6 receptor antibody tocilizumab, an innovative drug for the treatment of rheumatoid arthritis. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 8 : 669-681, 2008.
- 34) Ito, H., Takazoe, M., Fukuda, Y., Hibi, T., Kusugami, K., Andoh, A., Matsumoto, T., Yamamura, T., Azuma, J., Nishimoto, N., Yoshizaki, K., Shimoyama, T. and Kishimoto, T. : A pilot randomized trial of a human anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody in active Crohn's disease. *Gastroenterology*, 126 : 989-996, 2004.
- 35) Balto, K., Sasaki, H. and Stashenko, P. : Interleukin-6 deficiency increases inflammatory bone destruction. *Infect. Immun.*, 69 : 744-750, 2001.
- 36) Saraiva, M., O'Garra, A. : The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat. Rev. Immunol.*, 10 : 170-181, 2010.
- 37) Sasaki, H., Hou, L., Belani, A., Wang, C. Y., Uchiyama, T., Muller, R. and Stashenko, P. : IL-10, but not IL-4, suppresses infection-stimulated bone resorption in vivo. *J. Immunol.*, 165 : 3626-3630, 2000.
- 38) Wang, P., Wu, P., Siegel, M. I., Egan, R. W. and Billah, M. M. : Interleukin (IL) -10 inhibits nuclear factor kappa B (NF kappa B) activation in human monocytes. IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms. *J. Biol. Chem.*, 270 : 9558-9563, 1995.
- 39) Kishore, R., Tebo, J. M., Kolosov, M. and Hamilton, T. A. : Cutting edge : clustered AU-rich elements are the target of IL-10-mediated mRNA destabilization in mouse macrophages. *J. Immunol.*, 162 : 2457-2461, 1999.
- 40) Seitz, M., Loetscher, P., Dewald, B., Towbin, H., Gallati, H. and Baggiolini, M. : Interleukin-10 differentially regulates cytokine inhibitor and chemokine release from blood mononuclear cells and fibroblasts. *Eur. J. Immunol.*, 25 : 1129-1132, 1995.
- 41) Mosmann, T. R., Cherwinski, H., Bond, M. W., Giedlin, M. A. and Coffman, R. L. : Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J. Immunol.*, 136 : 2348-2357, 1986.
- 42) Okamura, H., Kashiwamura, S., Tsutsui, H., Yoshimoto, T. and Nakanishi, K. : Regulation of interferon-gamma production by IL-12 and IL-18. *Curr. Opin. Immunol.*, 10 : 259-264, 1998.
- 43) Schroder, K., Hertzog, P. J., Ravasi, T. and Hume, D. A. : Interferon-gamma : an overview of signals, mechanisms and functions. *J. Leukoc. Biol.*, 75 : 163-189, 2004.
- 44) Sasaki, H., Balto, K., Kawashima, N., Eastcott, J., Hoshino, K., Akira, S. and Stashenko, P. : Gamma interferon (IFN-gamma) and IFN-gamma-inducing cytokines interleukin-12 (IL-12) and IL-18 do not augment infection-stimulated bone resorption in vivo. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 11 : 106-110, 2004.
- 45) Stashenko, P., Goncalves, R. B., Lipkin, B., Ficarelli, A., Sasaki, H. and Campos-Neto, A. : Th1 immune response promotes severe bone resorption caused by *Porphyromonas gingivalis*. *Am. J. Pathol.*, 170 : 203-213, 2007.
- 46) Kobayashi, M., Kweon, M. N., Kuwata, H., Schreiber, R. D., Kiyono, H., Takeda, K. and Akira, S. : Toll-like receptor-dependent production of IL-12p40 causes chronic enterocolitis in myeloid cell-specific Stat3-deficient mice. *J. Clin. Invest.*, 111 : 1297-1308, 2003.
- 47) Bluestone, J. A., Abbas, A. K. : Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat. Rev. Immunol.*, 3 : 253-257, 2003.
- 48) Becker, C., Stoll, S., Bopp, T., Schmitt, E. and Jonuleit, H. : Regulatory T cells : present facts and future hopes. *Med. Microbiol. Immunol.*, 195 : 113-124, 2006.
- 49) Colic, M., Gazivoda, D., Vucevic, D., Majstorovic, I., Vasilijic, S., Rudolf, R., Brkic, Z. and Milosavljevic, P. : Regulatory T-cells in periapical lesions. *J. Dent. Res.*, 88 : 997-1002, 2009.
- 50) AlShwaimi, E., Purcell, P., Kawai, T., Sasaki, H.,

- Oukka, M., Campos-Neto, A. and Stashenko, P. : Regulatory T cells in mouse periapical lesions. *J. Endod.*, 35 : 1229-1233, 2009.
- 51) Aggarwal, S., Gurney, A. L. : IL-17 : prototype member of an emerging cytokine family. *J. Leukoc. Biol.*, 71 : 1-8, 2002.
- 52) Moseley, T. A., Haudenschild, D. R., Rose, L. and Reddi, A. H. : Interleukin-17 family and IL-17 receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 14 : 155-174, 2003.
- 53) AlShwaimi, E., Berggreen, E., Furusho, H., Rossall, J. C., Dobeck, J., Yoganathan, S., Stashenko, P. and Sasaki, H. : IL-17 receptor A signaling is protective in infection-stimulated periapical bone destruction. *J. Immunol.*, 191 : 1785-1791, 2013.
- 54) Yu, J. J., Ruddy, M. J., Wong, G. C., Sfintescu, C., Baker, P. J., Smith, J. B., Evans, R. T. and Gaffen, S. L. : An essential role for IL-17 in preventing pathogen-initiated bone destruction : recruitment of neutrophils to inflamed bone requires IL-17 receptor-dependent signals. *Blood*, 109 : 3794-3802, 2007.
- 55) Oseko, F., Yamamoto, T., Akamatsu, Y., Kanamura, N., Iwakura, Y., Imanishi, J. and Kita, M. : IL-17 is involved in bone resorption in mouse periapical lesions. *Microbiol. Immunol.*, 53 : 287-294, 2009.
- 56) Colic, M., Gazivoda, D., Vucevic, D., Vasiljic, S., Rudolf, R. and Lukic, A. : Proinflammatory and immunoregulatory mechanisms in periapical lesions. *Mol. Immunol.*, 47 : 101-113, 2009.
- 57) Wei, S., Kawashima, N., Suzuki, N., Xu, J., Takahashi, S., Zhou, M., Koizumi, Y. and Suda, H. : Kinetics of Th17-related cytokine expression in experimentally induced rat periapical lesions. *Aust. Endod. J.*, 39 : 164-170, 2013.
- 58) Baumgartner, J. C., Falkler, W. A., Jr. : Reactivity of IgG from explant cultures of periapical lesions with implicated microorganisms. *J. Endod.*, 17 : 207-212, 1991.
- 59) Kettering, J. D., Torabinejad, M. and Jones, S. L. : Specificity of antibodies present in human periapical lesions. *J. Endod.*, 17 : 213-216, 1991.
- 60) Torabinejad, M., Kettering, J. D. : Identification and relative concentration of B and T lymphocytes in human chronic periapical lesions. *J. Endod.*, 11 : 122-125, 1985.
- 61) 鶴町保 : 難治性の歯髄・根尖周囲組織疾患の診断と治療法. *日歯保存誌*, 51 : 593-595, 2008.
- 62) 興地隆史 : 歯内療法 の争点—難治性根尖性歯周炎の病因と臨床—. *新潟歯会誌*, 36 : 1-15, 2006.
- 63) Lin, L. M., Huang, G. T.-J. : Pathobiology of the periapex, Editors : Hargreaves KM, Cohen S : *Cohen's Pathways of the PULP*, 10th ed., MOSBY ELSEVIER, St. Louis, 2011.
- 64) Bender, I. B., Bender, A. B. : Diabetes mellitus and the dental pulp. *J. Endod.*, 29 : 383-389, 2003.
- 65) Segura-Egea, J. J., Jimenez-Pinzon, A., Rios-Santos, J. V., Velasco-Ortega, E., Cisneros-Cabello, R. and Poyato-Ferrera, M. : High prevalence of apical periodontitis amongst type 2 diabetic patients. *Int. Endod. J.*, 38 : 564-569, 2005.
- 66) Britto, L. R., Katz, J., Guelmann, M. and Heft, M. : Periradicular radiographic assessment in diabetic and control individuals. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 96 : 449-452, 2003.
- 67) Fouad, A. F., Burleson, J. : The effect of diabetes mellitus on endodontic treatment outcome : data from an electronic patient record. *J. Am. Dent. Assoc.*, 134 : 43-51; quiz 117-118, 2003.
- 68) Shaw, J. E., Sicree, R. A. and Zimmet, P. Z. : Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 87 : 4-14, 2010.
- 69) Whiting, D. R., Guariguata, L., Weil, C. and Shaw, J. : IDF diabetes atlas : global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 94 : 311-321, 2011.
- 70) Parrillo, J. E., Fauci, A. S. : Mechanisms of glucocorticoid action on immune processes. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 19 : 179-201, 1979.
- 71) Serhan, C. N., Hong, S., Gronert, K., Colgan, S. P., Devchand, P. R., Mirick, G. and Moussignac, R. L. : Resolvins : a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals. *J. Exp. Med.*, 196 : 1025-1037, 2002.
- 72) Serhan, C. N., Arita, M., Hong, S. and Gotlinger, K. : Resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins, novel omega-3-derived mediators, and their endogenous aspirin-triggered epimers. *Lipids*, 39 : 1125-1132, 2004.
- 73) Hasturk, H., Kantarci, A., Ohira, T., Arita, M., Ebrahimi, N., Chiang, N., Petasis, N. A., Levy, B. D., Serhan, C. N. and Van Dyke, T. E. : RvE1 protects from local inflammation and osteoclast-mediated bone destruction in periodontitis. *FASEB J.*, 20 : 401-403, 2006.
- 74) Seki, H., Fukunaga, K., Arita, M., Arai, H., Nakanishi, H., Taguchi, R., Miyasho, T., Takamiya, R., Asano, K., Ishizaka, A., Takeda, J. and Levy, B. D. : The anti-inflammatory and proresolving mediator resolvin E1 protects mice from bacterial pneumonia and acute lung injury. *J. Immunol.*, 184 : 836-843, 2010.
- 75) 有田誠, 磯部洋輔 : ω 3 系脂肪酸由来の抗炎症性代謝物の構造と機能. *生化学*, 80 : 1042-1046, 2008.
- 76) Ma, J., Chen, W., Zhang, L., Tucker, B., Zhu, G., Sasaki, H., Hao, L., Wang, L., Ci, H., Jiang, H., Stashenko, P. and Li, Y. P. : RNA interference-me-

- diated silencing of Atp6i prevents both periapical bone erosion and inflammation in the mouse model of endodontic disease. *Infect. Immun.*, 81 : 1021-1030, 2013.
- 77) Li, Y. P., Chen, W., Liang, Y., Li, E. and Stashenko, P. : Atp6i-deficient mice exhibit severe osteopetrosis due to loss of osteoclast-mediated extracellular acidification. *Nat. Genet.*, 23 : 447-451, 1999.