

総説

—日本歯周病学会学術賞受賞—

線維芽細胞を中心とした歯周病・歯肉増殖症の 病態形成に関する基礎的研究

成石 浩司

岡山大学医学部・歯学部附属病院歯周科

Gingival Fibroblasts-mediated Pathophysiology of Periodontal Diseases,
Periodontitis and Drug-induced Gingival Overgrowth

Koji Naruishi

Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital of Medicine and Dentistry

はじめに

臓器移植技術の飛躍的な発展にみられるように、昨今の医療の進歩は目覚ましい^{1, 2)}。医療の現場では様々な種類の薬剤が開発され、適切に患者の病状がコントロールされるようになった³⁾。その恩恵によって、現在、我が国は世界に類を見ない高齢社会に突入している。しかしながら、このような社会環境の中、薬剤による「副作用」という新たな問題が表面化するようになってきたことも否めない⁴⁾。例えば、薬物性歯肉増殖症は、免疫抑制剤シクロスポリン A (CsA)、抗てんかん薬フェニトイン (PHT) あるいはカルシウム拮抗薬ニフェジピン (Nif) などの薬剤の副作用として発症し、組織学的には歯肉上皮、結合組織の増殖所見を呈する疾患である^{5, 6)}。我が国の人口動態の予想推移を鑑みて、これらの薬剤は、今後、使用頻度が確実に増加することが予測され、このことは薬物性歯肉増殖症の発症患者も相応して増加する可能性を予感させる。

このような情勢の中、多くの研究者によって、薬物性歯肉増殖症の病態形成のメカニズムが検討されてきた⁷⁾。我々の研究室では、以前から線維芽細胞の細胞内小器官であるリソソーム内の酵素カテプシンを標的にして、その発症メカニズムを検討してきたので、今回、その研究成果を紹介する。

歯周病は、口腔内の常在細菌の感染によって発症・進行する感染症である⁸⁾。したがって、その病態形成の本態は、マクロファージやリンパ球などの炎症性細胞が担う免疫反応である^{8, 9)}。これらの細胞は、歯周組織において様々なサイトカインを産生しながら相互にネットワークを形成して、一連の免疫反応のカスケードが滞りなく進むための重要な役割を果たす。一方、上皮細胞や線維芽細胞などの宿主細胞は、歯周組織の構築細胞として存在する¹⁰⁾。とりわけ歯肉線維芽細胞は、コラーゲン線維などの細胞外基質を産生すると同時に、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) などのタンパク質分解酵素を産生して、基質を分解・貪食することで結合組織の恒常性を維持す

連絡先：成石浩司

〒700-8525 岡山県岡山市鹿田町 2-5-1

岡山大学医学部・歯学部附属病院歯周科

Koji Naruishi

Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital of Medicine and Dentistry

2-5-1 Shikata-cho, Okayama, 700-8525, Japan

E-mail: naruishi@cc.okayama-u.ac.jp

る^{11, 12)}。しかしながら、歯周病が発症・進行すると、歯肉線維芽細胞は、様々なサイトカインに暴露されるようになる。炎症組織の中で、この細胞がどのような反応を示すのかについては未だ不明な点が多く、この領域が明らかにされない限り、「歯周病」の病態形成のメカニズムは決して理解されないと考える。我々の研究室では、これまで炎症性サイトカインのインターロイキン(IL)-6を重要な標的因子として、その歯肉線維芽細胞に対する作用をもとに、歯周病の病態形成の一端を解明してきた。今回、その研究成果から得られた歯周病の病態形成について我々の知見を紹介する。

1. 歯肉線維芽細胞と薬物性歯肉増殖症

1.1. これまでの「薬物性歯肉増殖症」研究からみた病態形成

1970年代以降、概ね40年間にわたって薬物性歯肉増殖症の病態形成に関する研究は実施されてきた¹³⁻¹⁸⁾。個々の研究結果の詳細は他誌に委ねるものの、やはり歯肉線維芽細胞を標的とした研究が主をなしている。また興味深いことに、社会背景の変遷から、当初は抗てんかん薬フェニトインを標的とした研究が多数報告されているが、最近では、免疫抑制剤シクロスポリンAを標的とした研究報告が目立つようになってきた¹⁹⁾。また細胞生物学的な病態理論については、概して線維芽細胞の増殖活性の亢進、あるいはコラーゲン産生能の亢進を提示し、これらの現象から歯肉増殖のメカニズムを説明しようとするものであった。さらに、比較的、新しい時代になると、薬剤による歯肉線維芽細胞のMMP-1活性の抑制制御を示すことで、代謝されずに蓄積したコラーゲン線維によって、結果的に結合組織の増殖所見を呈するという新たな概念も生まれてきた。

以上のように、薬物性歯肉増殖症の発症は、“歯肉線維芽細胞によるコラーゲン代謝のバランスが崩れたことに起因する”という研究者間のコンセンサスを得るに至っていた。この想定は妥当であるものの、我々の研究室では、複雑な臨床所見を呈する本疾患が、前述のような比較的平易なメカニズムで発症するという世界の潮流に少なからず違和感を覚えていた。そこで、従来、考えられてきた発症メカニズム以外にも、何らかの新しい概念に基づいた理論展開ができないかを模索・検討していた。

1.2. I-Cell病の亜型としての薬物性歯肉増殖症

リソソームは、真核生物が持つ細胞内小器官の一つであり、ライソゾームまたは水解小体とも呼ばれる²⁰⁾。生体膜につつまれた構造体で細胞内消化の場

であり、エンドサイトーシスやオートファジーによって膜内に取り込まれた生体分子をアミノ酸レベルに加水分解する。またリソソームには、約60種類の加水分解酵素が存在することが知られている²⁰⁾。

リソソーム病は、リソソーム内の酵素が先天的に欠損しているために、分解されるべき物質が“老廃物”として体内に蓄積してしまう先天性代謝性異常疾患の総称である²¹⁾。現在、約40種類のリソソーム病が報告されている²¹⁾。中でもI-Cell病は、N-アセチルグルコサミン-1-リン酸転移酵素の先天性欠損が原因で発症する稀な遺伝性疾患であり、脂肪蓄積症とムコ多糖症の臨床症状を併せ持つ²²⁾。表1にI-Cell病患者にみられる代表的な特徴を列挙したが²²⁾、この表中に示した“歯肉肥大”は、新たな歯肉増殖症の発症メカニズムの理論構築において、我々が独創的な発想を持つに至る有益な情報であった。すなわち、I-Cell病の特徴的所見は、リソソーム酵素の減衰が歯肉組織の肥大を誘発し得る可能性を示唆するものであり、CsA, PHTおよびNifによって歯肉線維芽細胞のリソソーム酵素の活性抑制が示されれば、細胞内リソソームにおけるタンパク質分解過程が薬物性歯肉増殖症の病態形成のメカニズムに関与する可能性を見出せると考えた。

システインプロテアーゼは、活性中心にシステイン残基をもつプロテアーゼであり、その活性の発現には還元状態の環境が必要となるため、その多くは細胞内に存在する²³⁾。例えば哺乳類では、カテプシンB、カテプシンLおよびカテプシンHなどがリソソームに存在し、カルパインは細胞質に存在する²³⁾。1993年、KopitzらはI-Cell病患者の皮膚由来線維芽細胞におけるカテプシンB、H、およびLの活性が劇的に低下することを報告した²⁴⁾。カテプシンは、コラーゲン、フィブロネクチンやラミニンなどの歯周組織を構成するタンパク質群を分解・消化するリソソーム酵素であるので、我々は、歯肉線維芽細胞のリソソーム酵素の中で、“カテプシン”を標的として、各種薬剤との関連を検討するという研究戦略を持った。

表1 I-Cell病患者に現れる身体的特徴

胸郭の形成異常
先天性股関節脱臼
低身長
精神遅滞
歯肉肥大

Patelらの報告²²⁾を改変した。

1.3. CsA, PHT, および Nif のカテプシン活性に及ぼす影響

健常歯肉由来の線維芽細胞を CsA, PHT, および Nif で刺激した後のリソソーム酵素カテプシン B および L 活性(潜在型および活性型)の変化を調べたところ、カテプシン L 活性が特異的に有意に抑制されるという結果を得た^{25, 26)}。重要なことに、この現象は 3 種類の薬剤に共通するものであった。

次に、同様に細胞を刺激した後のリソソーム酵素群の mRNA 発現を半定量的 RT-PCR 法によって調べたところ、活性実験の結果に相応して、カテプシン L の mRNA の発現が劇的に抑制されるという結果が得られた^{25, 26)}。また、カテプシン B の mRNA 発現も僅かに抑制された。この現象も 3 種類の薬剤に共通するものであり、この結果は、薬剤によるカテプシン L 活性の抑制は、その遺伝子発現の転写レベルで制御されることを示唆するものであった。さらにこの知見から、CsA, PHT, および Nif に共通する歯肉線維芽細胞内の標的分子が存在するのではないか、という新たな研究理論の展開に発展した。

また、従来の研究報告に見られるように、我々の実験系においても CsA や PHT は、歯肉線維芽細胞における MMP-1 mRNA 発現を抑制した²⁵⁾。しかしながら、同時に MMP-1 の特異的阻害分子である TIMP-1 の mRNA 発現も抑制されるという結果を得た²⁵⁾。このことは、「薬剤による MMP-1 抑制に起因する歯肉コラーゲン代謝抑制」という歯肉増殖症メカニズムの理論に一石を投じるものであるかもしれない。一方、これらの薬剤は、他のリソソーム酵素カテプシン D, N-アセチルグルコサミニダーゼ, および β -ガラクトシダーゼの mRNA 発現に影響を及ぼさなかった^{25, 26)}。

CsA, PHT, および Nif は、臨床的に長期間にわたって服用する薬剤であるので、上記の実験系のように、薬剤刺激後 48 時間以内での線維芽細胞の反応を調べることは、“臨床的観点から、歯肉増殖症の病態形成を検討するための実験系として相応しくないのではないか”、という批判があった。そこで我々は、CsA を予め添加した培養液を用いて、長期間、歯肉線維芽細胞を培養した後のカテプシン B および L 活性を調べた²⁷⁾。その結果、CsA の長期刺激によって細胞のカテプシン L 活性はもちろん、カテプシン B 活性も抑制されることが明らかになった。この活性抑制は、遺伝子発現レベルにおいても同様の傾向を示した。一方、この培養系においても、他のリソソーム酵素であるカテプシン H や N-アセチルグルコサミニダーゼの遺伝子発現に変化はみられなかった。また、本実験系

の薬剤刺激による細胞障害作用によって、これらの現象が誘導されたとも考えられるので、同実験系において、細胞増殖活性を MTT 試薬の細胞内ミトコンドリアへの取り込みを指標にして評価したところ、その増殖活性に著明な変化は見られなかった。したがって、この CsA 長期培養系の結果は、薬物性歯肉増殖症の臨床病態をより正確に反映したものであると考える。

1.4. CsA によるカテプシン抑制における CREB シグナル伝達系の関与

CsA, PHT, および Nif に共通して、歯肉線維芽細胞のカテプシン L mRNA 発現が抑制されるという研究結果から、カテプシン L の遺伝子発現を制御し得る転写因子の検索を試みた。CsA は細胞内カルシニューリンの活性を抑制することで、cAMP 関連シグナル経路を抑制制御する薬理作用を持つ。一方、PHT や Nif は、細胞内カルシウムイオン濃度を抑制する薬剤であるので、間接的に、これらの薬剤は cAMP 下流のシグナル伝達系の抑制に関与するのではないかという発想を持ち、その代表的な転写因子 cAMP-response element binding protein (CREB) を標的として研究を進めた。我々は、歯肉線維芽細胞における CREB の抑制制御によって、カテプシン B および L の発現が抑制されるかどうかを検討するために、ドミナントネガティブ (DN) CREB ベクター (Clontech 社製) をトランスフェクションした歯肉線維芽細胞株を樹立した。その結果、CREB 抑制によって、細胞のカテプシン B および L 発現が抑制されることを明らかにした²⁸⁾。なお、本研究のシグナル経路の意義を明確にするために、CsA が歯肉線維芽細胞の CREB の核内移行を抑制する作用を持つことも示した。さらにトランスフェクションによる細胞株自身の障害作用の程度を検証するために、細胞の増殖活性も検討した結果、対照細胞と比較して有意な差を認めなかった。これらの結果を鑑みて、CsA によるカテプシン B および L の発現抑制は、カルシニューリン下流に存在する CREB による転写レベルでの抑制制御に起因する可能性が示された(図 1)。

1.5. カテプシン L 遺伝子欠損マウスの歯肉所見

上述のように、薬剤によるカテプシン B および L の抑制制御が歯肉増殖症の病態形成の一翼を担う可能性が示唆された。この事実から、カテプシン遺伝子の先天的欠損によって、実際、歯肉増殖が発症するかどうかは、我々の仮説の信憑性を証明するために重要な検討事項である。そこで、カテプシン L 遺伝子欠損マウス (5 週齢) および同腹仔の野生型マウスの歯肉所見

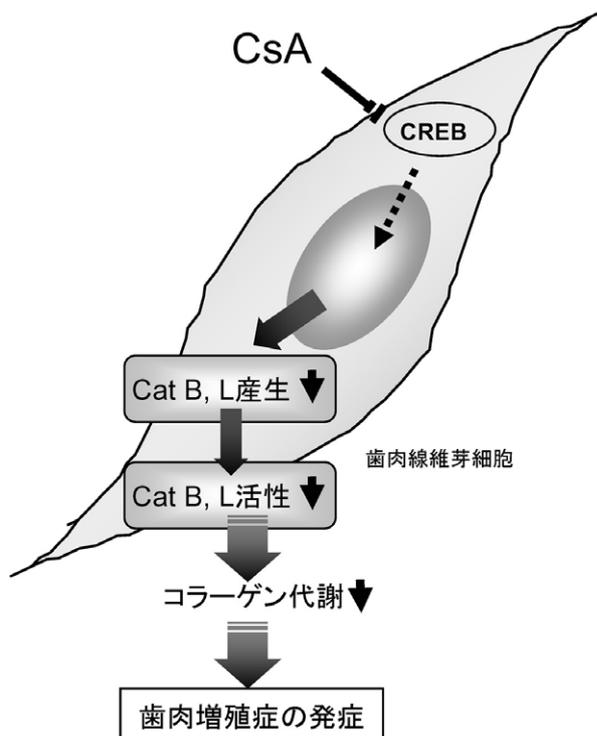


図1 線維芽細胞を中心とした薬物性歯肉増殖症の発症メカニズム

CsA などの薬剤は歯肉線維芽細胞の CREB 活性を抑制し、そのシグナル下流に存在するリソソーム酵素カテプシン B および L の産生を抑制する。その結果、細胞による基質の代謝活性が弱まり、結合組織に老朽化した基質(コラーゲン線維など)が蓄積するようになる。Cat, Cathepsin(カテプシン)

を比較検討したところ、予想どおり、カテプシン L 遺伝子欠損マウスにおいて歯肉組織の肥大を観察できた²⁶⁾。さらに、この歯肉組織の病理組織学的な検討によって、カテプシン L 遺伝子欠損マウスの歯肉組織は、結合組織層の著明な肥厚および上皮脚の進展といったヒトに発症する歯肉増殖症の組織学的所見と類似していた。

1.6. 臨床的側面からみた薬物性歯肉増殖症研究

一連の研究成果によって、薬物性歯肉増殖症の発症において、歯肉線維芽細胞のカテプシン活性の抑制制御が重要な役割を果たすことが示された(図1)。しかしながら、実際の歯科臨床の現場において、すべての薬剤服用患者が歯肉増殖をきたすわけではない。我々の実験結果においても、歯肉線維芽細胞の提供者(ドナー)の違いによって、薬物刺激によるカテプシン活

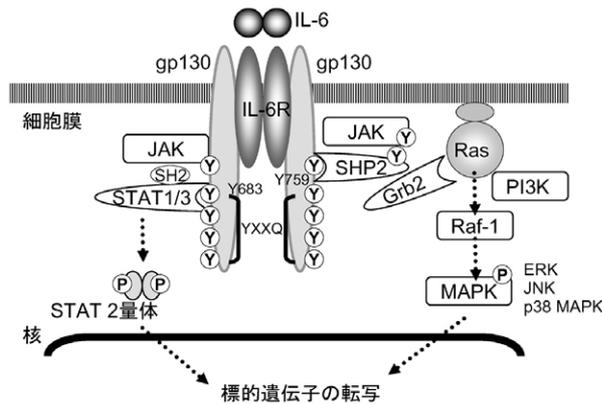
性の抑制の程度に個体差があることを経験しており、このことは、ドナー個々の薬物感受性の違いに規定されると考えられる。また我々は、PHT 服用患者群を対象にして、個々の歯肉増殖の程度を Angelopoulos らの基準²⁹⁾に従って評価し、増殖群(10名)・非増殖群(10名)の2群に分け、それぞれの群における血中の PHT 濃度を測定した。重要なことに、増殖群における血中の全 PHT 濃度および遊離 PHT 濃度は、ともに非増殖群と比較して統計学的に有意に高いという結果を得た³⁰⁾。この結果は、薬物性歯肉増殖症の発症は、歯肉線維芽細胞の作用のみならず、患者個々の薬物代謝能によっても影響されることを示すものである。すなわち薬物の血中濃度の微妙なコントロールによって、歯肉増殖症という望まれない副作用の発症が予防できるのかもしれない。

2. 歯肉線維芽細胞と歯周病

2.1. IL-6 のシグナル伝達系

IL-6 は、1986 年に相補的 DNA(cDNA)がクローニングされた後、種々の生理現象や炎症、免疫疾患の発症メカニズムに関与することが明らかになった代表的な炎症性サイトカインである³¹⁾。IL-6 の標的細胞膜上に存在する IL-6 受容体は、分子量 130 kDa の糖タンパク質 gp130 と会合して細胞内にシグナルを伝達する。gp130 は IL-6 受容体以外にも IL-11 受容体、白血球遊走阻止因子(Leukemia Inhibitory Factor: LIF)、オンコスタチン M(OSM)などに対する受容体とも会合し、これらの分子は IL-6 ファミリーと呼ばれる^{31, 32)}。gp130 の一次構造は、他のサイトカイン受容体(G-CSF 受容体, IL-3/IL-5/GM-CSF 受容体, エリスロポエチン受容体など)、ホルモン受容体(増殖ホルモン受容体, プロラクチン受容体, レプチン受容体など)と細胞外領域に保存された領域(WXWSモチーフ)を持ち、I型サイトカイン受容体スーパーファミリーと呼ばれている³³⁾。IL-6 ファミリーサイトカインは、gp130 を介して、T細胞, B細胞などの免疫細胞, 造血細胞, 肝細胞, および神経細胞に対して増殖・分化・細胞死などを制御する多種多様なシグナルを細胞内に伝達することが知られているが³⁴⁾、未だその詳細なメカニズムは明らかでない。

IL-6 が受容体に結合すると、gp130 の細胞内領域に存在するチロシン残基 Tyr683 に結合している JAK1/2 が活性化し、いわゆる“gp130 のチロシンリン酸化”がおこる^{32, 33)}。この gp130 のリン酸化チロシン残基は、転写因子 signal transducer and activator of transcription 1/3(STAT1/3)分子の SH2 ドメインとの結合部位となる。転写因子である STAT1/3 は SH2



IL-6は、細胞膜結合型のIL-6受容体(IL-6R)と結合した後、IL-6シグナル伝達分子gp130と会合することで、細胞質内にそのシグナルが伝達される。細胞質では、JAK/STAT系やRas/MAPK系などの複雑なシグナル経路が同時に活性化して、多彩な細胞反応を誘導する。図中のⓂはチロシンの略号を示す。

ドメインを介したホモあるいはヘテロ2量体を形成して、核内に移行した後に標的DNA上の特異配列に結合することによって転写活性化を誘導する(JAK-STAT系)³¹⁻³⁴。一方、gp130の細胞内領域に存在するチロシン残基Tyr759に、リン酸化チロシン特異的脱リン酸化酵素(phosphotyrosine phosphatase)の一つであるSHP-2が結合すると、アダプタータンパク質であるGrb2を介して細胞膜と結合している低分子Gタンパク質Rasが活性体に変換される。さらにRasはRaf-1を活性化し、Ras/Raf-1/MEK/ERKというシグナル伝達系(Ras-MAPK系)が活性化する^{33, 34}。MAPKは、狭義には細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)1/2のみを指すが、広義にはこれに加えてc-jun N末端キナーゼ(c-jun N-terminal kinase: JNK), p38 MAPK, ERK5およびERK7などの分子も含み、MAPKファミリーと呼ばれる³⁵。なお、活性化したERKは、最終的に核内に移行した後に転写因子NF-IL6(C/EBPβ)の活性化を誘導し、DNA上の特異配列に結合して標的遺伝子の発現調節が行われる³⁵(図2)。

2.2. 歯肉線維芽細胞におけるIL-6のシグナル伝達系

我々の研究室では、これまでに様々なサイトカインに注目して、その歯周病の病態形成における作用機序を明らかにしてきた。とりわけ、IL-6は代表的な炎症

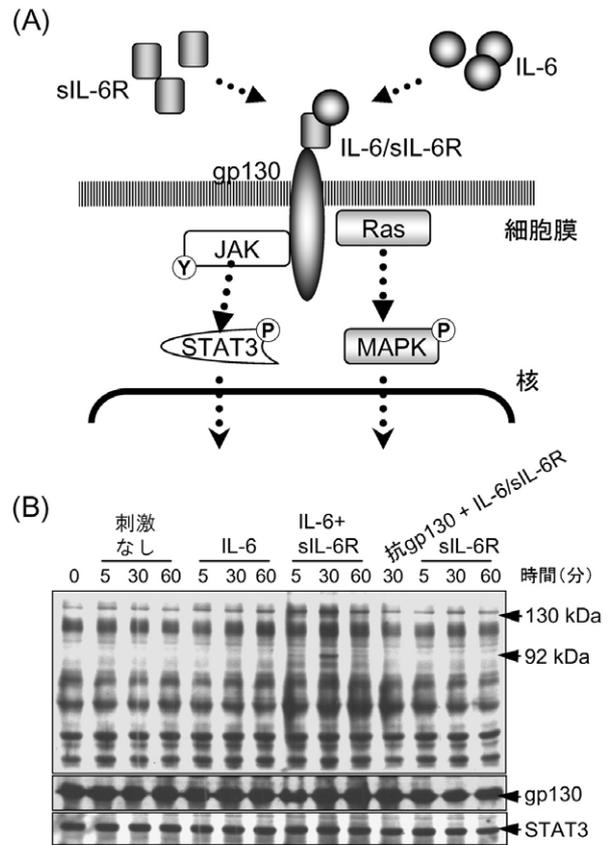


図3 歯肉線維芽細胞におけるIL-6のシグナル伝達系(IL-6 trans-signaling)

歯肉線維芽細胞は、膜結合型のIL-6受容体を発現しない細胞である。一方、gp130は発現するので、IL-6のシグナル伝達には、炎症性細胞などが産生する可溶性のIL-6受容体(sIL-6R)の存在が必須である。細胞外領域において、IL-6はsIL-6Rと複合体を形成した後、細胞膜上のgp130と結合することでIL-6シグナルを開始する(A)。パネル上段は、歯肉線維芽細胞におけるチロシンリン酸化抗体を用いたウエスタンブロット像を示す。sIL-6Rのアゴニスト作用によって、IL-6のシグナルは細胞内に伝達され、複数のタンパク質のチロシンリン酸化が認められる。このシグナル伝達は、抗gp130中和抗体の培養系への事前添加によってブロックされる(B)。

性サイトカインであり、歯肉線維芽細胞膜上の受容体を介して、どのようなメカニズムで細胞反応を誘導するのかを分子レベルで明らかにすることは重要である。我々は、歯肉線維芽細胞に対するIL-6の作用を探るために、まず、①IL-6の細胞への結合実験、②膜結合型IL-6受容体のmRNA発現の程度、を検討した。その結果、歯肉線維芽細胞は、機能レベルで膜結

合型 IL-6 受容体を発現しない細胞であるという非常に興味ある知見を得た^{36, 37)}。このことは、IL-6 単独では歯肉線維芽細胞に作用できないことを意味するが、同時に、gp130 の発現を確認したので、この細胞自身、IL-6 ファミリーサイトカインの作用を受け得る能力を持つことも示唆された。

IL-6 受容体には、膜結合型 IL-6 受容体の他にヒトの血清や尿に存在する分泌型の可溶性 IL-6 受容体 (sIL-6R) が存在する。可溶性受容体も膜結合型受容体と同程度の IL-6 親和性を示す。sIL-6R は、膜結合型 IL-6 受容体切断酵素の働きによる Shedding, あるいは選択的スプライシングによって生じ、膜結合型と同様にシグナル伝達能を有する。また、sIL-6R は単独では機能せず、IL-6-sIL-6R 複合体が gp130 と会合することによって初めてシグナル伝達を行うことができる (IL-6 *trans*-signaling)³⁷⁾。そこで我々は、sIL-6R を添加した実験系を加えて、IL-6 の歯肉線維芽細胞へのシグナル伝達系を調べたところ、予想どおり、IL-6 および sIL-6R を同時添加した系においてのみ、gp130 のチロシンリン酸化、およびその下流の細胞質内タンパク STAT3, MAPKs のリン酸化を確認することができた³⁸⁾ (図 3)。

このシグナル伝達経路の解明は、歯肉線維芽細胞を中心とした歯周病の病態形成を説明する際に非常に重要な知見である。すなわち、歯周病組織における sIL-6R の発生源は、マクロファージやリンパ球などの膜結合型 IL-6 受容体を恒常的に発現する炎症性細胞が主体となるので、歯肉線維芽細胞が IL-6 の作用を受けるためには、歯肉組織への炎症性細胞浸潤が必須の条件となる。すなわち、IL-6(+sIL-6R)-歯肉線維芽細胞相互作用は、炎症カスケードの序盤ではなく、比較的遅れた時期になって、すなわち炎症性細胞が浸潤した後に開始するという病態メカニズムが明らかになった。

2.3. IL-6 による歯肉線維芽細胞の機能発現

IL-6 は、B 細胞に作用して抗体産生細胞(形質細胞)への分化を誘導するサイトカインとして知られる^{31, 33)}。また、神経細胞の分化誘導、マクロファージの分化誘導などの作用もある^{32, 33)}。一方、多発性骨髄腫細胞の強力な増殖因子としても知られ、癌の発症にも重要な役割を果たすことも明らかになってきた^{33, 34)}。このように IL-6 は、細胞増殖因子として作用する反面、分化促進因子としての作用も有し、標的細胞が異なれば全く別の作用を発揮する。我々は、このような多彩な作用をもつ IL-6 に興味を持ち、歯肉線維芽細胞の反応、機能発現の解明を試みた。

血管内皮増殖因子(VEGF)は、angiogenesis と呼ばれる強力な血管新生能・血管透過性をもつサイトカインであり、炎症増悪因子であることが知られている³⁹⁾。我々は歯肉線維芽細胞の VEGF 産生性に着眼し、sIL-6R 存在下において、IL-6 が細胞の VEGF 産生を誘導するかどうかを検討した。その結果、IL-6-sIL-6R 複合体は JNK 経路を介して、VEGF 産生を有意に亢進することを見出した⁴⁰⁾。

前述のように、我々はリソソーム内のカテプシン L 活性の抑制が、薬物性歯肉増殖症の発症メカニズムの一翼を担う可能性を示した。一方、生体防御の重要な担い手であるマクロファージは、細菌やウイルス感染においてそれらの病原体の排除に機能する一方で、炎症部位においてカテプシン B および L などを細胞外に放出し、細胞外基質などの分解を誘導して炎症反応の亢進や病態の悪化に関与することが知られている⁴¹⁾。また、癌細胞ではカテプシン B 様の活性が亢進し、細胞外に放出されて癌細胞の遊走や局所での細胞浸潤に働くと考えられている⁴²⁾。すなわち、我々は歯周病の病態形成を明らかにするために、カテプシン活性の変化を調べることは重要であると考え、歯肉線維芽細胞における IL-6 誘導性のカテプシン B および L の産生メカニズムの解明に着手した。その結果、sIL-6R の存在下で、IL-6 は細胞のカテプシン B および L 産生を劇的に亢進するという知見を得た⁴³⁾。このことは、IL-6 *trans*-signaling によるカテプシン活性の亢進によって歯周組織に存在する基質タンパクが分解され、結果的に組織破壊をきたすという IL-6 を中心とした“歯周病悪化”メカニズムを説明し得るものと考えられる。また、この実験系において、IL-6 *trans*-signaling によるカテプシン B および L 産生は、JNK 特異的阻害剤 SP600125 によって抑制されたものの、MEK1 特異的阻害剤 PD98059 によっては、その産生性に何ら変化を生じないという興味ある知見も得た。また、JNK 経路の阻害に伴い、そのシグナル伝達系の下流に存在する転写因子 AP-1 の活性も阻害されたこと、あるいはカテプシン B および L の遺伝子発現を制御するプロモータ領域に AP-1 結合配列が存在することを考え合わせて、歯肉線維芽細胞における IL-6 誘導性のカテプシン B および L 産生において、AP-1 がその転写レベルにおける重要な制御因子である可能性が示唆された。

以上のことをまとめると、歯肉線維芽細胞を中心とした IL-6 による歯周病悪化メカニズムとして、① VEGF 産生の亢進、②カテプシン B および L 産生の亢進、の 2 事象が重要な役割を果たすと考えられる (図 4)。

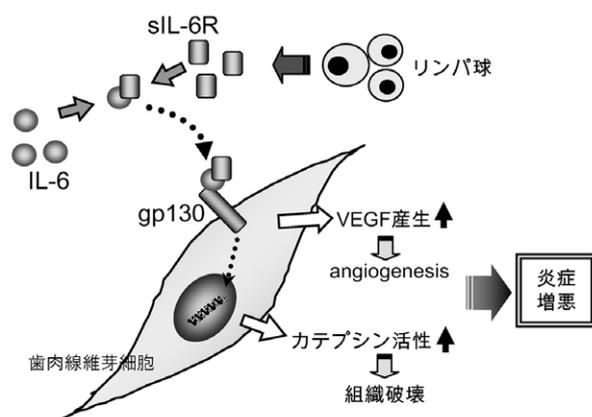


図4 線維芽細胞を中心としたIL-6による歯周病悪化のメカニズム

IL-6は、炎症性細胞浸潤が起こった後、それらの細胞から産生されるsIL-6Rのアゴニスト作用によって、歯肉線維芽細胞に作用し、様々な細胞反応を誘導する。とりわけ、VEGF産生性の亢進とカテプシン酵素の活性促進は歯周病悪化をきたす重要なIL-6の作用である。

2.4. 糖尿病性歯周病の病態形成

近年、糖尿病患者数は増加の一途を辿り、これに伴って腎症や網膜症などの糖尿病合併症も増加していることは、医学的にも社会的にも大きな問題となっている⁴⁴⁾。糖尿病患者の生命予後とQuality of Life(QOL)を損ねている元凶は血管合併症であり、それによって全身の様々な組織障害が発生する。冠動脈疾患や脳血管障害も非常に多い血管合併症であるが、眼、神経、腎臓の障害はそれぞれ、糖尿病網膜症、神経症、腎症と呼ばれ(あわせて三大合併症)、糖尿病に特徴的な病態として知られる⁴⁵⁾。

一方、糖尿病患者において歯周病が悪化する傾向があること、とりわけ血管浸潤を彷彿させる歯肉の発赤・腫脹症状を呈することは、以前から知られていた。しかしながら、糖尿病も歯周病も“生活習慣病”としての色彩が強く、お互いに独立した病態で成立する疾患であるという認識もあったため、その相互関係に着目した病態形成についての検討は不十分であった。したがって我々は、“糖尿病性歯周病”という新たな疾患カテゴリーを広く提唱するために、細胞生物学レベルでのエビデンスの構築を目指した。

我々は、糖尿病患者にみられる高血糖状態を想定して、血糖値450mg/dlに想定する高グルコース濃度で歯肉線維芽細胞を培養した後、IL-6(sIL-6R存在下)で刺激すると、そのVEGF産生性が著明に増加するという知見を得た⁴⁶⁾。また、高グルコース濃度のみの

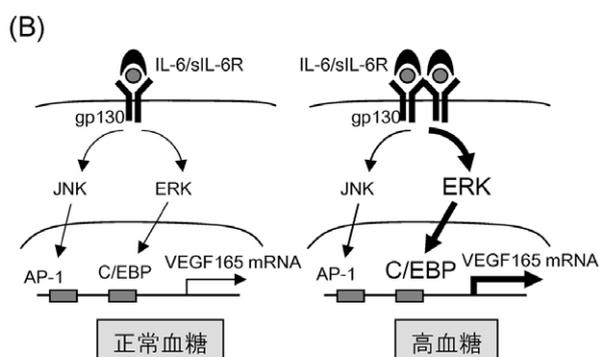
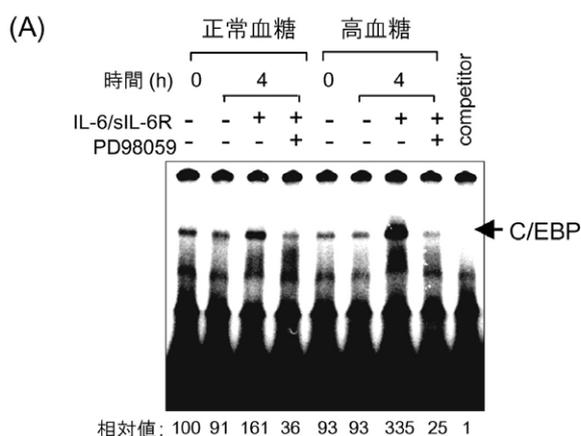


図5 線維芽細胞を中心としたIL-6による“糖尿病性歯周病”のメカニズム

高グルコース条件下では、歯肉線維芽細胞のIL-6誘導性ERK-C/EBPシグナル伝達系が活性化する(A: EMSA像)。gp130の産生亢進によって、歯肉線維芽細胞におけるERK-C/EBPシグナル経路が増強されVEGF産生がさらに亢進する。この結果、臨床的には歯周組織にangiogenesisが広がる(B)。

培養条件では、歯肉線維芽細胞のVEGF産生性は変化しなかった。このことは、糖尿病患者における歯周病の様態において、血管浸潤を彷彿させる炎症所見を呈するためには、高グルコースのみではなく、IL-6などの炎症性サイトカインの存在が必須であることを裏付ける基礎的なエビデンスとなった。さらに、高グルコース濃度の実験系において、VEGF産生の亢進をきたす細胞内シグナル伝達系を検討したところ、従来、我々が理解していたJNK-AP-1経路の活性化亢進ではなく、ERK-C/EBP経路が劇的に活性化することが明らかになった(図5)。また、高グルコース濃度で培養した歯肉線維芽細胞において、gp130の発現がmRNAレベルで亢進することも判明し、このことは“糖尿病性歯周病”の病態形成において、IL-6以外の

IL-6 ファミリーサイトカインの増強作用も予測される重要な所見であった。

一方、歯周組織に存在する線維芽細胞として、歯根膜由来の細胞(歯根膜細胞)が存在する。歯根膜細胞は、主に歯根膜におけるコラーゲン線維の代謝をつかさどる代表的な細胞であるが、我々は、この歯根膜細胞を高グルコース濃度で培養した際の反応について、①カテプシン酵素の活性動態、②細胞接着分子VLA-5の発現動態、の2項目を研究課題として解析を進めた。興味あることに、高グルコース濃度で培養した歯根膜細胞のカテプシン活性は有意に抑制され、かつ細胞接着分子VLA-5の発現は劇的に亢進することが判った⁴⁷⁾。この細胞反応は、高グルコース条件下において歯根膜細胞の遊走性が失われ、結果的に歯根膜組織の恒常性の維持に支障が生じる可能性を示唆するものであった。

昨今、糖尿病患者において“グリケーション”として称される糖化反応によって生成されるAGEが蓄積することが明らかにされて以来、持続的な高血糖状態で加速的に進行するAGEの形成が糖尿病性血管障害の成因の一つとして考えられるようになった⁴⁸⁾。AGEは少なくとも2つのメカニズムを介して血管障害の発症・進展に寄与している可能性がある。一つは、糖化や架橋形成などによる細胞外基質などの修飾および構造変化に伴う直接的な組織障害であり、もう一つはAGEを特異的リガンドとして認識する細胞表面受容体(RAGE)が引き起こす細胞応答AGE-RAGE系による反応である⁴⁸⁾。とりわけ後者において、AGE-RAGE系は内皮細胞におけるVEGFの発現を誘導し、VEGFのオートクリン・パラクリン作用によって内皮細胞の増殖促進と管腔形成促進を引き起こす⁴⁹⁾。すなわち、AGE-RAGE系は血管新生を直接的に誘導し、糖尿病性細小血管合併症の原因となる可能性が考えられる。この事実を踏まえて、我々はAGE刺激による歯肉線維芽細胞のVEGF産生性を検討したところ、その産生の程度に変化を認めなかった(未発表データ)。一方、AGEは単球系の細胞に作用してTNF- α 、IL-1 β 、およびIL-6などのサイトカインの分泌を促すことによって、局所の炎症反応にも関与すると考えられている⁵⁰⁾。このことは、糖尿病患者において、本研究結果から得られた歯肉線維芽細胞を介するIL-6誘導性VEGF産生の制御には、そのカスケードのさらに上流に存在する炎症細胞におけるAGE-RAGE系の制御がより効果的である可能性を示唆するものである。

一方、IL-6を基点とした歯肉線維芽細胞-血管内皮細胞の相互作用が、歯周病組織における血管浸潤の病

態形成に深く関わっている可能性がある。しかしながら、糖尿病における歯周組織でのAGEの生成過程やRAGE機能を想定した上での歯肉線維芽細胞に対するIL-6の作用など未だ解決されていない課題も多い。これらの細胞反応の全容を早急に解明することで、新たなAGE形成阻害薬やRAGEアンタゴニスト、あるいはIL-6阻害剤などの創薬の開発を可能にし、歯周病を含めた糖尿病性血管合併症の予防・治療への道が開かれることが期待される。

2.5. その他のサイトカインと歯周病

これまで、IL-6の歯肉線維芽細胞に対する動態について記述してきたが、我々はIL-6以外の炎症性サイトカインにも注目して研究を進めてきた。

IL-1 β は、IL-6と同じく代表的な炎症性サイトカインであり、とりわけ破骨細胞を標的として歯周病局所の炎症性骨破壊に関与することが知られている⁵¹⁾。したがって、IL-1 β の歯周組織における活性動態を調べることは、歯周病の発症や進行のメカニズムを知る上で重要である。IL-1 β の標的細胞には、2種類の受容体が存在することが知られている。すなわち、1型IL-1受容体(IL-1RI)は細胞内へシグナルを伝達する能力を有する一方、2型IL-1受容体(IL-1RII)は細胞内ドメインが極めて短いためにシグナルは伝達されず、いわゆる“おとり”効果としてIL-1 β の抑制調節作用を有する⁵²⁾。我々は、IL-1RIIを過剰発現させた歯肉線維芽細胞株を樹立し、IL-1 β 刺激による細胞反応を調べた⁵³⁾。とくにIL-1 β mRNA発現の程度を半定量RT-PCRによって検討したところ、予想どおり、その発現抑制を認めた。しかしながら、同時に細胞内シグナル伝達系の様態を調べたところ、予想に反して25 kDaおよび67~74 kDa付近のタンパク質(未同定)のリン酸化が対照細胞と比較して増強されることが判った。このことは、IL-1RIIも何らかのアクセサリー分子を介して、細胞内にシグナルを伝達し得る可能性を示唆する新規の知見であった。

また我々は、IL-1 β は、歯肉線維芽細胞による2型可溶性TNF受容体の産生亢進作用を有することを示した⁵⁴⁾。可溶性TNF受容体は、細胞外におけるTNF- α のアンタゴニスト作用を持つ分子として知られる⁵⁴⁾。さらに、IL-1 β とTNF- α を同時添加した実験系において、2型可溶性TNF受容体の産生が相乗的に亢進することを明らかにした。これらの知見は、歯肉線維芽細胞は、炎症カスケードの比較的初期に出現するIL-1 β とTNF- α の作用を受けて、その炎症性サイトカインを抑制制御する機能を発揮することを示唆するものであった。

3. サイトカイン療法への着想

3.1. CsA による IL-6 誘導性 VEGF 産生の制御

我々は、歯肉線維芽細胞における IL-6 誘導性 VEGF 産生亢進による歯周病悪化の抑制手段を模索してきた。免疫抑制剤 CsA は、前述のように薬物性歯肉増殖症を発症する副作用を持つ薬剤である一方、強力な抗炎症作用があることも知られる。そこで、この培養系に CsA を添加した後の VEGF 産生性を調べたところ、CsA の濃度依存的に IL-6 誘導性 VEGF 産生レベルが抑制された⁴⁰⁾。さらに、その細胞内シグナル伝達系に対する作用として、特異的に JNK のリン酸化が抑制されることを見出した。すなわち、歯周病に対する CsA の臨床応用は難しいものの、歯肉線維芽細胞の JNK を標的として、その経路を抑制制御するような薬剤が開発されれば、新規の歯周病サイトカイン療法確立の糸口になるのかもしれない。

3.2. カベオリン-1 による IL-6 誘導性カテプシン B および L 産生の制御

カベオリン-1 はカベオラと呼ばれる細胞膜上のコレステロールに富む領域に存在する細胞膜タンパクである⁵⁵⁾。昨今、カベオリン-1 が動脈硬化、前立腺癌などの各種疾患の病巣、とりわけ炎症巣に多量に発現することが報告された⁵⁶⁾。カベオリン-1 の分子生物学的な意義には不明点が多いものの、VEGF などのシグナル伝達系において Co-receptor としての作用が明らかになってきた⁵⁷⁾。しかしながら、IL-6 シグナル伝達系におけるカベオリン-1 の関与についての報告は少なく、その信憑性・妥当性を評価するだけの確固たるエビデンスはない。

我々の研究グループでは、前述のとおり、歯肉線維芽細胞における IL-6 誘導性のリソソーム酵素カテプシン B および L の産生亢進を示した⁴³⁾。そこで、カテプシン産生を制御し得る IL-6 シグナル伝達系にカベオリン-1 が一翼を担う可能性を検討した。歯肉線維芽細胞にカベオリン-1 の siRNA をトランスフェクションした細胞株(カベオリン-1 抑制歯肉線維芽細胞)を樹立して、IL-6 誘導性カテプシン産生に対する影響を調べた。その結果、カベオリン-1 の抑制によって、その下流のシグナル伝達系が全般に抑制され、それに呼応してカテプシン B および L の産生が抑制されることが判った⁴³⁾。このことは、IL-6 による歯周病悪化メカニズムにおいて、カベオリン-1 が治療標的となり得る可能性を示唆するもので、カベオリン-1 の選択的阻害剤の開発が新規の歯周病治療法の確立に繋がるものと期待される。

おわりに

我々は、歯周疾患の病態形成を歯肉線維芽細胞の動態をもとに解明してきた。ここに示した一連の研究成果を通じて、我々が研究対象としてこだわってきた「歯肉線維芽細胞」の魅力について、読者の皆様のご理解・ご賛同をいただければ幸いである。

将来、歯周疾患にみられる免疫・炎症反応を人為的に制御するためには、細胞間の相互ネットワークを理解していなければ、目的とは全く逆の結果を招く事になりかねない。細胞内シグナル伝達機構およびそれに伴う細胞反応に至る研究分野は、近年、飛躍的に発展しており、知れば知るほど細胞に仕込まれたメカニズムの精細さ・巧妙さに驚かされ、その興味は尽きない。今回、この誌面に我々の研究のまとめを行う機会を得たが、あらためて解明されるべき研究課題が山積していることに気付かされる思いであった。今後も、本研究分野の発展を通じて、歯周病学の発展に貢献できるように弛まぬ精進を誓いたい。

謝 辞

稿を終えるにあたり、私が岡山大学歯学部歯科保存学第二講座に入局以来、学位論文の作成に始まり、様々な局面でご指導いただきました村山洋二先生(現岡山大学名誉教授)に心から感謝を申し上げます。また、私に万全な研究の環境を整えて下さり、長きに渡って辛抱強く直接的な研究指導をして下さったとともに、公私共々あらゆる相談に乗っていただいた高柴正悟先生(現岡山大学教授)、および研究活動の魅力を存分にお教えたいただいた西村英紀先生(現広島大学教授)に心から感謝申し上げます。

最後に、大森一弘先生、山口知子先生をはじめ、私の研究活動を支えて下さった岡山大学のすべての先生方に感謝致します。

文 献

- 1) Ravindra KV, Wu S, Bozulic L, Xu H, Breidenbach WC, Ildstad ST : Composite tissue transplantation: a rapidly advancing field : *Transplant Proc*, 40 : 1237-1248, 2008.
- 2) Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, Asnaghi MA, Rees LE, Cogan TA, Dodson A, Martorell J, Bellini S, Parnigotto PP, Dickinson SC, Hollander AP, Mantero S, Conconi MT, Birchall MA : Clinical transplantation of a tissue-engineered airway : *Lancet*, 372 : 2023-2030, 2008.
- 3) Irani S, Fattinger K, Schmid-Mahler C,

- Achermann E, Speich R, Boehler A : Blood concentration curve of cyclosporine: impact of itraconazole in lung transplant recipients : *Transplantation*, 83 : 1130-1133, 2007.
- 4) Rifai K, Kirchner GI, Bahr MJ, Cantz T, Rosenau J, Nashan B, Klempnauer JL, Manns MP, Strassburg CP : A new side effect of immunosuppression: high incidence of hearing impairment after liver transplantation : *Liver Transpl.* 12 : 411-415, 2006.
 - 5) Kataoka M, Kido J, Shinohara Y, Nagata T : Drug-induced gingival overgrowth—a review : *Biol Pharm Bull*, 28 : 1817-1821, 2005.
 - 6) McCulloch CA : Drug-induced fibrosis: interference with the intracellular collagen degradation pathway : *Curr Opin Drug Discov Devel*, 7 : 720-724, 2004.
 - 7) Coletta RD, Graner E : Hereditary gingival fibromatosis: a systematic review : *J Periodontol*, 77 : 753-764, 2006.
 - 8) Offenbacher S : Periodontal diseases: pathogenesis : *Ann Periodontol*, 1 : 821-878, 1996.
 - 9) Paquette DW, Williams RC : Modulation of host inflammatory mediators as a treatment strategy for periodontal diseases : *Periodontol* 2000, 24 : 239-252, 2000.
 - 10) Kinane DF : Regulators of tissue destruction and homeostasis as diagnostic aids in periodontology : *Periodontol* 2000, 24 : 215-225, 2000.
 - 11) Takashiba S, Naruishi K, Murayama Y : Perspective of cytokine regulation for periodontal treatment: fibroblast biology : *J Periodontol*, 74 : 103-110, 2003.
 - 12) Birkedal-Hansen H : Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases : *J Periodontol*, 64 : 474-484, 1993.
 - 13) Hall WB : Dilantin hyperplasia: a preventable lesion : *J Periodontal Res Suppl*, 4 : 36-37, 1969.
 - 14) Hassell TM, Gilbert GH : Phenytoin sensitivity of fibroblasts as the basis for susceptibility to gingival enlargement : *Am J Pathol*, 112 : 218-223, 1983.
 - 15) Bartold PM : Regulation of human gingival fibroblast growth and synthetic activity by cyclosporine-A in vitro : *J Periodontal Res*, 24 : 314-321, 1989.
 - 16) Fujii A, Matsumoto H, Nakao S, Teshigawara H, Akimoto Y : Effect of calcium-channel blockers on cell proliferation, DNA synthesis and collagen synthesis of cultured gingival fibroblasts derived from human nifedipine responders and non-responders : *Arch Oral Biol*, 39 : 99-104, 1994.
 - 17) Nishikawa S, Tada H, Hamasaki A, Kasahara S, Kido J, Nagata T, Ishida H, Wakano Y : Nifedipine-induced gingival hyperplasia: a clinical and in vitro study : *J Periodontol*, 62 : 30-35, 1991.
 - 18) Hou LT : Synthesis of collagen and fibronectin in fibroblasts derived from healthy and hyperplastic gingivae : *J Formos Med Assoc*, 92 : 367-372, 1993.
 - 19) Chae HJ, Ha MS, Yun DH, Pae HO, Chung HT, Chae SW, Jung YK, Kim HR : Mechanism of cyclosporine-induced overgrowth in gingiva : *J Dent Res*, 85 : 515-519, 2006.
 - 20) Ishidoh K, Kominami E : Processing and activation of lysosomal proteinases : *Biol Chem*, 383 : 1827-1831, 2002.
 - 21) Winchester B, Vellodi A, Young E : The molecular basis of lysosomal storage diseases and their treatment : *Biochem Soc Trans*, 28 : 150-154, 2000.
 - 22) Patel ZM, Ambani LM : I-cell disease : *J Inherit Metab Dis*, 2 : 35-37, 1980.
 - 23) Wolters PJ, Chapman HA : Importance of lysosomal cysteine proteases in lung disease : *Respir Res*, 1 : 170-177, 2000.
 - 24) Kopitz J, Arnold A, Meissner T, Cantz M : Protein catabolism in fibroblasts cultured from patients with mucopolidosis II and other lysosomal disorders : *Biochem J*, 295 : 577-580, 1993.
 - 25) Yamada H, Nishimura F, Naruishi K, Chou HH, Takashiba S, Albright GM, Nares S, Iacopino AM, Murayama Y : Phenytoin and cyclosporin A suppress the expression of MMP-1, TIMP-1, and cathepsin L, but not cathepsin B in cultured gingival fibroblasts : *J Periodontol*, 71 : 955-960, 2000.
 - 26) Nishimura F, Naruishi H, Naruishi K, Yamada T, Sasaki J, Peters C, Uchiyama Y, Murayama Y : Cathepsin-L, a key molecule in the pathogenesis of drug-induced and I-cell disease-mediated gingival overgrowth: a study with cathepsin-L-deficient mice : *Am J Pathol*, 161 : 2047-2052, 2002.
 - 27) Yamaguchi M, Naruishi K, Yamada-Naruishi H, Omori K, Nishimura F, Takashiba S : Long-term cyclosporin A exposure suppresses cathepsin-B and -L activity in gingival fibroblasts : *J Periodontal Res*, 39 : 320-326, 2004.
 - 28) Omori K, Naruishi K, Yamaguchi T, Li SA, Yamaguchi-Morimoto M, Matsuura K, Arai H, Takei K, Takashiba S : cAMP-response element binding protein (CREB) regulates cyclosporine-A-mediated down-regulation of cathepsin B and L synthesis : *Cell Tissue Res*, 330 : 75-82, 2007.
 - 29) Angelopoulos AP, Goaz PW : Incidence of diphenyl-

- hydantoin gingival hyperplasia : Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 34 : 898-906, 1972.
- 30) Yamada H, Nishimura F, Furuno K, Naruishi K, Kobayashi Y, Takashiba S, Murayama Y : Serum phenytoin concentration and IgG antibody titre to periodontal bacteria in patients with phenytoin-induced gingival overgrowth : J Int Acad Periodontol, 3 : 42-47, 2001.
- 31) Hirano T, Akira S, Taga T, Kishimoto T : Biological and clinical aspects of interleukin 6 : Immunol Today, 11 : 443-449, 1990.
- 32) Hirano T, Nakajima K, Hibi M : Signaling mechanisms through gp130: a model of the cytokine system : Cytokine Growth Factor Rev, 8 : 241-252, 1997.
- 33) Kishimoto T : Interleukin-6: from basic science to medicine--40 years in immunology : Annu Rev Immunol, 23 : 1-21, 2005.
- 34) Nishimoto N, Kishimoto T : Inhibition of IL-6 for the treatment of inflammatory diseases : Curr Opin Pharmacol, 4 : 386-391, 2004.
- 35) Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermans HM, Müller-Newen G, Schaper F : Principles of interleukin (IL) -6-type cytokine signalling and its regulation : Biochem J, 374 : 1-20, 2003.
- 36) Naruishi K, Takashiba S, Chou HH, Arai H, Nishimura F, Murayama Y : Role of soluble interleukin-6 receptor in inflamed gingiva for binding of interleukin-6 to gingival fibroblasts : J Periodontal Res, 34 : 296-300, 1999.
- 37) Jones SA, Rose-John S : The role of soluble receptors in cytokine biology: the agonistic properties of the sIL-6R/IL-6 complex : Biochim Biophys Acta, 1592 : 251-263, 2002.
- 38) Naruishi K, Takashiba S, Nishimura F, Chou HH, Arai H, Yamada H, Murayama Y : Impairment of gingival fibroblast adherence by IL-6/sIL-6R : J Dent Res, 80 : 1421-1424, 2001.
- 39) Bates DO, Harper SJ : Regulation of vascular permeability by vascular endothelial growth factors : Vascul Pharmacol, 39 : 225-237, 2002.
- 40) Naruishi K, Nishimura F, Yamada-Naruishi H, Omori K, Yamaguchi M, Takashiba S : C-jun N-terminal kinase (JNK) inhibitor, SP600125, blocks interleukin (IL) -6-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) production: cyclosporine A partially mimics this inhibitory effect : Transplantation, 76 : 1380-1382, 2003.
- 41) Lutgens SP, Cleutjens KB, Daemen MJ, Heeneman S : Cathepsin cysteine proteases in cardiovascular disease : FASEB J, 21 : 3029-3041, 2007.
- 42) Podgorski I, Sloane BF : Cathepsin B and its role(s) in cancer progression : Biochem Soc Symp, 70 : 263-276, 2003.
- 43) Yamaguchi T, Naruishi K, Arai H, Nishimura F, Takashiba S : IL-6/sIL-6R enhances cathepsin B and L production via caveolin-1-mediated JNK-AP-1 pathway in human gingival fibroblasts : J Cell Physiol, 217 : 423-432, 2008.
- 44) Warm EJ : Diabetes and the chronic care model: a review : Curr Diabetes Rev, 3 : 219-225, 2007.
- 45) Schiffelers RM, Fens MH, van Blijswijk JM, Bink DI, Storm G : Targeting the retinal microcirculation to treat diabetic sight problems : Expert Opin Ther Targets, 11 : 1493-1502, 2007.
- 46) Omori K, Naruishi K, Nishimura F, Yamada-Naruishi H, Takashiba S : High glucose enhances interleukin-6-induced vascular endothelial growth factor 165 expression via activation of gp130-mediated p44/42 MAPK-CCAAT/enhancer binding protein signaling in gingival fibroblasts : J Biol Chem, 279 : 6643-6649, 2004.
- 47) Nishimura F, Naruishi K, Yamada H, Kono T, Takashiba S, Murayama Y : High glucose suppresses cathepsin activity in periodontal-ligament-derived fibroblastic cells : J Dent Res, 79 : 1614-1617, 2000.
- 48) Logsdon CD, Fuentes MK, Huang EH, Arumugam T : RAGE and RAGE ligands in cancer : Curr Mol Med, 7 : 777-789, 2007.
- 49) Boulanger E, Grossin N, Wautier MP, Taamma R, Wautier JL : Mesothelial RAGE activation by AGEs enhances VEGF release and potentiates capillary tube formation : Kidney Int, 71 : 126-133, 2007.
- 50) Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA : Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury : Circulation, 114 : 597-605, 2006.
- 51) Kwan Tat S, Padrines M, Théoleyre S, Heymann D, Fortun Y : IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology : Cytokine Growth Factor Rev, 15 : 49-60, 2004.
- 52) Alheim K, Bartfai T : The interleukin-1 system: receptors, ligands, and ICE in the brain and their involvement in the fever response : Ann N Y Acad Sci, 840 : 51-58, 1998.
- 53) Chou HH, Takashiba S, Maeda H, Naruishi K, Nishimura F, Arai H, Lu H, Murayama Y : Induction of intracellular interleukin-1 β signals via type II interleukin-1 receptor in human gingival fibroblasts : J Dent Res, 79 : 1683-1688, 2000.
- 54) Ohe H, Takashiba S, Naruishi K, Chou HH, Yamada H, Nishimura F, Arai H, Murayama Y :

- Tumor necrosis factor- α (TNF- α)-induced and interleukin- 1β (IL- 1β)-induced shedding of TNF receptors from gingival fibroblasts : *J Interferon Cytokine Res*, 20 : 1077-1082, 2000.
- 55) Michel V, Bakovic M : Lipid rafts in health and disease : *Biol Cell*, 99 : 129-140, 2007.
- 56) Nasu Y, Timme TL, Yang G, Bangma CH, Li L, Ren C, Park SH, DeLeon M, Wang J, Thompson TC : Suppression of caveolin expression induces androgen sensitivity in metastatic androgen-insensitive mouse prostate cancer cells : *Nat Med*, 4 : 1062-1064, 1998.
- 57) Podar K, Tai YT, Cole CE, Hideshima T, Sattler M, Hamblin A, Mitsiades N, Schlossman RL, Davies FE, Morgan GJ, Munshi NC, Chauhan D, Anderson KC : Essential role of caveolae in interleukin-6- and insulin-like growth factor I-triggered Akt-1-mediated survival of multiple myeloma cells : *J Biol Chem*, 278 : 5794-5801, 2003.
-