ミニレビュー

IL-1 ファミリーと IL-1 受容体：歯周病疾患マーカーや治療薬としての可能性

石原 裕一, 亀井 英彦, 神谷 洋介, 伊澤 有郎
水谷 大樹, 鈴木 万里代, 野口 俊英, 三谷 章雄

愛知学院大学歯学部歯周病学講座

The potentiality of the IL-1 family and the IL-1 receptors as a disease marker and a therapeutic agent for periodontal disease

Yuichi Ishihara, Hidehiko Kamei, Yosuke Kamiya, Ario Izawa
Hiroki Mizutani, Mariyo Suzuki, Toshihide Noguchi and Akio Mitani

Department of Periodontology, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

キーワード：IL-1, IL-1RII, IL-1Ra, 歯肉溝滲出液, 遺伝子多型, 破骨細胞形成, 実験的歯周炎

はじめに

歯周病は歯周病原細菌の感染に伴う局所の炎症性骨破壊により、歯を喪失する疾患である。歯周病原細菌の内毒素 (LPS) や莢膜多糖 (CP) が *in vitro* の実験系において、骨吸収活性や破骨細胞形成能を有することや^{1,2)}、LPS や CP による骨吸収や破骨細胞形成に、プロスタグランジン E_2 やインターロイキン-1 (IL-1) が関与していることが報告されている^{3,4)}。一方で、IL-1 は骨芽細胞との RANKL-RANK の接触を介することなく、直接破骨細胞を分化・活性化することが報告されており⁵⁾、歯周病の発症や進行に IL-1 が深く関わると考えられている。

IL-1 ファミリーには、代表的なアゴニストである IL-1 α 、IL-1 β や、アンタゴニストとしての IL-1 レセプターアンタゴニスト (IL-1Ra) などが含まれる。IL-1 α と IL-1 β は T 細胞、B 細胞の増殖促進、サイトカインの産生誘導、MMP 産生、破骨細胞の分化・活性化を有し、細胞内シグナル伝達を引き起こすリガンドである。また、各々のリガンドは、様々な細胞膜上に発現する 2 つの受容体、IL-1 レセプタータイプ I (IL-1RI) と IL-1 レセプタータイプ II (IL-1RII) に結合することが知られている⁶⁾。細胞内ドメインを有する IL-1RI は、IL-1 と結合し、シグナル伝達するのに対し⁶⁾、IL-1RII は、IL-1RI に比べ細胞内領域が形態的に極めて短く、IL-1 のシグナル伝達にはほとんど関与しないことから⁷⁾、デコイレセプターとして、

連絡先：石原裕一

〒464-8651 愛知県名古屋市千種区末盛通 2-11

愛知学院大学歯学部歯周病学講座

Yuichi Ishihara

Department of Periodontology, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

2-11 Suemori-dori, Chikusa-ku, Nagoya, 464-8651 Japan

E-mail : mrbox@dpc.aichi-gakuin.ac.jp

図2 各歯周炎群でのGCF中のIL-1α, IL-1βおよびIL-1Ra量の比較と, 病態の違いによるIL-1βおよびsIL-1R II量の比較

(A, B, C) Slight ABL群, Moderate ABL群に比べSevere ABL群ではGCF中のIL-1αとIL-1β量が有意に高く, IL-1Ra量は低い傾向が観察された。Slight ABL: 軽度歯槽骨吸収群, Moderate ABL: 中程度歯槽骨吸収群, Severe ABL: 重度歯槽骨吸収群 * $p < 0.01$, ** $p < 0.001$ (一元配置分散分析法, ScheffeのF検定)。D) CP: 慢性歯周炎患者群, AgP: 侵襲性歯周炎患者, +/-: 検出された患者数/検出されなかった患者数 †: χ^2 検定, §: Fisherの正確検定, #: Wilcoxonの順位検定, *: IL-1β, sIL-1R IIが検出された患者数。

軽度群と中程度群に比べ, 重度群では, GCF中のIL-1Ra量が低い傾向を示したことから, 歯周組織でのIL-1過剰産生とその活性調節に働くIL-1Raの産生低下が, 歯槽骨吸収に深く関与していることが示唆された¹²⁾。

一方, 慢性関節炎患者の血清中sIL-1R II濃度は関節破壊の程度と負の相関を示すこと¹³⁾や, 変形性関節炎患者の軟骨においてsIL-1R II産生は著しく減少することが報告されている¹⁴⁾。さらに, 歯周組織に関係した報告として, 炎症性歯肉由来線維芽細胞のIL-1R II発現は増加し¹⁵⁾, IL-1R IIを過剰発現させたヒト歯肉線維芽細胞ではIL-1β mRNA発現を抑制させている¹⁶⁾ことが報告されている。そこで, 病態によりIL-1βとsIL-1R II量に違いがないかを比較検討するため, 年齢以外の臨床所見に有意差のない慢性歯周炎患者と侵襲性歯周炎患者のGCF中IL-1βとsIL-1R II量を測定した。その結果, 慢性歯周炎患者群では47名中46名, 侵襲性歯周炎患者群では17名中15名のGCF中にIL-1βが検出されていた。一方, sIL-1R IIは慢性歯周炎患者群の46名中26名に検出が認められ

たのに対し, 侵襲性歯周炎患者群では17名中6名のみに検出が認められ, 検出頻度に低い傾向が認められた¹⁷⁾ (図2D)。このことから, 侵襲性歯周炎患者の歯周組織破壊において, sIL-1R IIの発現低下の関与が示唆された。そこで, 次に, 歯肉上皮細胞を用いたIL-1R II発現メカニズムの解析を行い, また, IL-1Rを候補として遺伝子多型解析を行うこととした。

歯肉組織でのIL-1R II発現メカニズムの検討

歯周組織におけるIL-1R II発現を確認するため, 歯周病患者の歯肉組織を免疫組織化学染色した結果, 歯肉重層扁平上皮内の有棘層の歯肉上皮細胞にIL-1R IIの局在が認められた。そこで, マウス株化歯肉上皮細胞であるGE1細胞を各種サイトカイン刺激しIL-1R II mRNA発現を検討したところ, IL-1R II mRNA発現の増加にはIL-4とIL-13が関与し, インターフェロン- γ (IFN- γ)は発現の抑制に関与することと (図3A), IFN- γ はIL-4, IL-13のシグナル伝達に関与するSTAT6のリン酸化を抑制していることが明らかと

図3 各種サイトカイン刺激による GE1 細胞からの IL-1RII mRNA 発現と、STAT6 のリン酸化の比較

A) IL-1RII mRNA 発現は IL-4 と IL-13 刺激により有意に増加し、IFN- γ 刺激により有意に減少した。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Student の t 検定)。B) P-Tyr-STAT6: チロシンリン酸化 STAT6。IL-4, IL-13 のシグナル伝達に与する STAT6 のリン酸化は、IL-4 と IL-13 刺激により促進し、IFN- γ 刺激により抑制された。(文献 18 より引用)

なった¹⁸⁾ (図 3B)。侵襲性歯周炎患者では慢性歯周炎患者や健常被験者に比べ、単球が樹状細胞分化しやすく¹⁹⁾ その樹状細胞が NK 細胞を刺激し、早期の IFN- γ 産生に関与すること^{20,21)}、さらに侵襲性歯周炎患者の GCF 中では Th1 型サイトカインが多量に産生されること²²⁾ から考えると、侵襲性歯周炎患者において GCF 中に可溶性 IL-1R II が産生されにくかったことに IFN- γ 産生亢進が関与していることが考えられた。

IL-1R 遺伝子多型と歯周病病態の関連解析

我々の研究により侵襲性歯周炎における歯周組織破壊への関与が示唆された IL-1R をコードする遺伝子と歯周炎との関連性を示唆する報告はなかった。

そこで日本人侵襲性歯周炎患者と歯周組織健常者の末梢血から抽出したゲノム DNA を用い、IL-1RI 遺伝子と IL-1RII 遺伝子について、侵襲性歯周炎との関連解析を行った。被験者は、侵襲性歯周炎と診断された患者 ($n = 119$, 平均年齢 31.4 ± 6.3 歳) と歯周組織健常者 ($n = 102$, 平均年齢 43.6 ± 7.0 歳) とした。まず、被験者 ($n = 48$, 各群 $n = 24$) について、エクソン領域およびエクソン・イントロン境界領域を含むゲノム領域 (計 15 kb) の塩基配列を決定し、相互比較によりその領域に 38 の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) を同定した。さらに、それらの SNPs を用い連鎖不平衡解析を行い、その結果を基に侵襲性歯周炎について、それぞれの遺伝子との関連性の検討を行ったところ、IL-1RII 遺伝子における SNPs において、両群間に統計学的な有意差が認められた。

また、性別と喫煙歴の有無を調整した場合の、両遺伝子と侵襲性歯周炎との関連性を、多重ロジスティック回帰分析により検討した結果、特定の SNPs (rs3819370, rs3218974, rs3218977) において、両群間に有意差が認められ (表 1)、さらに 2 SNPs (rs3819370, rs3218974) で構成したハプロタイプにおいても、両群間に有意差が認められた²³⁾。以上の結果から、IL-1R II 遺伝子における特定の SNPs (rs3819370, rs3218974, rs3218977) や、それらと連鎖不平衡にある SNPs (rs2302589, rs2282744, rs2282743, rs2072480, rs2072475, rs2072473, rs3212326) が、歯周病疾患マーカーとして、歯周炎の発症前リスク診断の遺伝子マーカーになり得る可能性が示唆された。

IL-1Ra が IL-1 以外の炎症性サイトカイン産生に与える影響

東京大学医科学研究所システム疾患モデル研究センター・分子病態研究分野 岩倉研究室で開発された BALB/c 背景 IL-1Ra 欠損 (KO) マウスは、約 12 週齢頃から抗免疫グロブリン抗体、抗 DNA 抗体など自己抗体産生レベルを亢進し、四肢関節に軟骨破壊、炎症性細胞浸潤、フィブリンクロットの形成、および破骨細胞の活性化などを伴うヒト関節リウマチに類似した関節炎を発症する²⁴⁾。そこで我々は、IL-1Ra KO マウスに対し、歯周病原細菌感染による歯周炎を惹起できれば、歯周炎における IL-1Ra の機能解析を行う上で、有用な実験的歯周炎モデルになるのではないかと考えた。まず、IL-1Ra KO ならびに野生型マウス腹腔

表1 多重ロジスティック回帰分析による IL1R 遺伝子 (アリル頻度) と侵襲性歯周炎との関連性の検討

rs SNP ID	遺伝子	Additive model		
		<i>p</i>	Adjusted OR*	(95% CI)
rs2287048	IL1R1	0.263	0.82	(0.57-1.17)
rs3213736	IL1R1	0.243	0.78	(0.51-1.19)
rs28362304	IL1R1	0.971	0.99	(0.49-1.98)
rs3917324	IL1R1	0.541	1.17	(0.70-1.97)
rs2110726	IL1R1	0.365	1.21	(0.80-1.83)
rs3732131	IL1R1	0.899	0.97	(0.62-1.53)
rs3819370	IL1R2	0.016[†]	1.66	(1.09-2.52)
rs3819369	IL1R2	0.158	0.7	(0.43-1.15)
rs3218974	IL1R2	0.007[†]	0.59	(0.40-0.87)
rs3218977	IL1R2	0.027[†]	1.77	(1.06-2.97)
rs2236921	IL1R2	0.118	1.43	(0.91-2.25)

OR, オッズ比; CI, 信頼区間

*多重ロジスティック回帰分析により性別と喫煙歴の影響を調整した。[†]*p* < 0.05.

(文献 23 より引用)

マクロファージを歯周病原細菌菌体成分刺激による炎症性サイトカイン発現について調べることを目的に、13 週齢雄 IL-1Ra KO と野生型マウスから腹腔マクロファージを回収し、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* LPS で刺激した後、IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6 の mRNA 発現を、real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) 法にて解析した。qPCR 法による各群の相対比較では、*A. actinomycetemcomitans* LPS 刺激した IL-1Ra KO マウスは野生型マウス腹腔マクロファージに比べて IL-1 α mRNA は約 1.6 倍 (図 4A), IL-1 β mRNA は約 3.5 倍 (図 4B), IL-6 mRNA は約 2.2 倍 (図 4D) と有意に高い発現を認めた。また、*A. actinomycetemcomitans* LPS 未刺激時でも、IL-1Ra 欠損マウスは野生型マウスに比べて、炎症性サイトカイン mRNA の有意に高い発現を認めた²⁵⁾ (図 4A-D)。IL-1 KO マウスでは野生型マウスに比べて炎症惹起時における TNF- α や IL-6 の産生が少ないことや²⁶⁾、肺胞マクロファージからの IL-1 β と TNF- α 産生を IL-1Ra が抑制したこと²⁷⁾、さらに、IL-1Ra KO マウスの肝細胞は未刺激でも高い NF κ -B の転写活性を有していたこと²⁸⁾が報告されている。これらのことから、LPS あるいは IL-1, TNF- α などの炎症性サイトカイン刺激が、細胞内の NF κ -B 活性化を介して IL-1, TNF- α , および IL-6 mRNA の転写を互いに活性化し、これを IL-1Ra が制御しているのではないかと考えられた。したがって、IL-1Ra は IL-1 に特異的なインヒビターであるものの、間接的に TNF- α や IL-6 を顕著にお

さえる抗炎症性サイトカインであると考えられる。

IL-1Ra 欠損マウスの実験的歯周炎における組織破壊亢進

IL-1RaKO マウスは野生型マウスに比べ、炎症性サイトカインの有意に高い mRNA 発現が認められたことから、IL-1RaKO マウスは野生型マウスに比べ、容易に歯周病を発症させることができるのではないかと考えた。そこで、両マウスに実験的歯周炎を惹起し、比較検討を行うこととした。13 週齢 IL-1Ra KO マウスと野生型マウスの口腔内にカルボキシメチルセルロース溶液にて調製した *A. actinomycetemcomitans* (ATCC29524 株) 菌体浮遊液を 1 日おきに 5 回経口投与した。菌体浮遊液投与終了 45 日後に屠殺し、下顎骨を採取した。その後、歯槽骨破壊の程度を μ CT にて確認した後、組織切片を作製し、H-E 染色と TRAP 染色を行った。*A. actinomycetemcomitans* 血清抗体価は IL-1Ra KO マウスにおいて有意に増加しており、このことは局所型侵襲性歯周炎患者末梢血単球を Pokeweed mitogen で刺激した時 IgG2 産生が IL-1Ra によって抑制されていたことと一致した結果であった²⁹⁾。マイクロ CT による実験的歯周炎惹起後の歯槽骨変化を観察したところ、*A. actinomycetemcomitans* 感染 IL-1Ra KO マウスでは歯槽骨表面が粗造となり、歯槽骨頂部は歯槽骨吸収を伴う不整な形態が観察され、下顎第二臼歯の近遠心接触点下部の槽間中隔と根分岐部に明らかな歯槽骨の吸収が観

図4 *A. actinomycetemcomitans* LPS 刺激腹腔マクロファージからの炎症性サイトカイン mRNA 発現量の相対比較

A. actinomycetemcomitans LPS 刺激した KO 腹腔マクロファージは WT 腹腔マクロファージに比べて IL-1α mRNA, IL-1β mRNA, および IL-6 mRNA の有意な高い発現を認めた。*A. actinomycetemcomitans* LPS 未刺激時でも KO は WT に比べて炎症性サイトカイン mRNA の有意に高い発現を認めた。WT；野生型マウス, KO；IL-1RaKO マウス * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (一元配置分散分析法, Bonferroni 補正)。(文献25より引用)

察された (図 5A)。さらに、下顎第二臼歯近心舌側の歯槽骨残存度を測定したところ、*A. actinomycetemcomitans* 感染 IL-1Ra KO マウスは未処置 IL-1Ra KO マウス、未処置野生型マウスおよび *A. actinomycetemcomitans* 感染野生型マウスと比較して約 30%，歯槽骨残存度が有意に低下していた。H-E 染色による実験的歯周炎症起後の歯周組織変化を観察したところ、*A. actinomycetemcomitans* 感染野生型マウスでは、上皮突起の伸張や歯肉固有層での結合組織線維の走行の乱れや歯槽骨頂部における炎症性細胞浸潤は観察されなかったのに対し、*A. actinomycetemcomitans* 感染 IL-1Ra KO マウスでは歯肉頂部に辺縁不整な上皮と結合組織線維の走行の乱れ、上皮直下に炎症性細胞浸潤、付着の喪失が観察された (図 5B)。*A. actinomycetemcomitans* 感染 IL-1Ra KO マウスは *A. actinomycetemcomitans* 感染野生型マウスと比較して歯肉固有層直下の骨頂部だけでなく、槽間隔表層と根間隔表層と骨髄側に TRAP 陽性細胞が観察された (図 5C)。さらに、それぞれのマウスから採取した骨芽細胞を *A. actinomycetemcomitans* 菌刺激したところ、骨吸収に働く RANKL, M-CSF の発現は IL-1RaKO マ

ウスで増加しており、骨形成に働く、RUNX2, ALP, OCN/BGP, および BSP 発現は低下していた³⁰⁾。

歯周領域における IL-1RII と IL-1Ra の臨床応用と今後の展望

GCF 中の微量タンパクの測定は、歯周組織の炎症を反映する点や、1 歯ごとの重症度を把握する点において優れた検査である。しかし、歯周組織の顕著な炎症や、それに伴う深い歯周ポケットを有する歯周病患者からの GCF 採取は容易であるものの、歯周治療が奏功し、炎症がコントロールされ、歯周組織の治癒や病状安定の得られた患者から、測定に十分な GCF を採取することは容易ではない。また、GCF の採取は、操作が煩雑であることから、大規模な疫学検査には不向きである。したがって、これらの問題点を解決するためには、歯周組織の状態に依存せず、より簡便に採取できる血清中の歯周病疾患マーカーの開発が期待されている。前述の通り、我々は歯周炎患者の末梢血から抽出したゲノム DNA を用い、IL-1RII 遺伝子多型解析を行った結果、特定のアリルの頻度において、歯

図5 実験的歯周炎惹起後の IL-1Ra KO マウスと野生型マウスの歯槽骨変化と組織学的変化

A) マイクロ CT 撮影: IL-1RaKO マウスは野生型マウスと比較して下顎第二臼歯の近遠心接触点下部の槽間中隔と根分岐部に明らかな歯槽骨の吸収が観察された。B) H-E 染色: IL-1RaKO マウスは野生型マウスと比較して歯肉頂部に辺縁不整な上皮と結合組織線維の走行の乱れ, 上皮直下に炎症性細胞浸潤, 付着の喪失 (→) が観察された。C) TRAP 染色: IL-1RaKO マウスは野生型マウスと比較して歯肉固有層直下の骨頂部だけでなく, 槽間中隔表層と根間中隔表層と骨髄側に TRAP 陽性細胞 (▶) が観察された。(文献 30 より引用)

周組織健常者との間に有意差を見いだした²³⁾。一方で, Smith らの報告によると, 健常者 100 名の血清中 IL-1 濃度の測定において, IL-1 β は 28 名が検出限界以下であったのに対し, sIL-1RII 濃度は測定が可能であり, 平均 8ng/ml (最小 2ng/ml, 最大 16ng/ml) であった³¹⁾。これらのことから, IL-1RII 遺伝子多型や血清中 sIL-1RII 濃度は, 歯周病疾患マーカーになり得る可能性が期待される。将来, 健康診断時や医科受診時の血液検査に活用し, sIL-1RII による歯周病のスクリーニングを行うことで, 歯周病が疑われる者に対しては, 歯科にて精密検査 (歯周組織検査) を行うような, 医科歯科連携の架け橋となることが期待される。また, 大規模な疫学調査においても, 有用な歯周病疾患マーカーのひとつになり得るかもしれない。

IL-1Ra 製剤は, 2001 年にアメリカ食品医薬品局においてアナキンラ (商品名 Kineret[®]) として承認され, リウマチ治療薬として利用されている³²⁾。また, リウマチ患者に対する補充療法として, IL-1Ra を使用し

たところ, 炎症や疼痛の軽減に効果的であることが明らかとなった³³⁾。さらに, リウマチだけでなく, 糖尿病や心臓血管疾患の発症や進行においても, 歯周病と同様に, IL-1, IL-6, TNF- α が深く関与していることから, 医科では直接的に炎症性サイトカインをコントロールする試みとして, 2 型糖尿病患者にアナキンラを投与し検討している。その結果, プラセボ患者に比べ, プロインシュリン/インシュリン比とプロインシュリンの構成成分である C-ペプチドが改善³⁴⁾し, 休薬後も改善が持続することが明らかとなっている³⁵⁾。一方で, 縦断研究において, 糖尿病を発症した 335 名と発症しなかった 2475 名について, 血清中の IL-1Ra を経年的に測定したところ, 糖尿病発症者では非発症者と比べると, 発症の 13 年前にさかのぼって IL-1Ra のレベルが上昇していたことや, さらに発症の 6 年前から血清中の IL-1Ra 濃度の上昇速度が増加していたことが明らかとなった³⁶⁾。また冠動脈疾患を有するリウマチ性関節炎患者を対象とした研究においては, アナキンラを 30 日間投与したところ冠状動脈の流量, 左心機能と炎症マーカーが改善したと報告されている³⁷⁾。我々の今回の臨床研究においては, 重度歯槽骨吸収群の GCF 中 IL-1Ra 量に低い傾向が認められ, 基礎研究においては, 実験的歯周炎を惹起した IL-1Ra KO マウスは野生型マウスに比べて, 骨吸収マーカー発現の増加, 骨形成マーカー発現の低下および顕著な歯槽骨吸収が認められた。これらのことから, IL-1Ra を歯周病治療薬として利用し, 炎症性サイトカインを制御することは, 歯周病の病態改善において有効である可能性が考えられる。

すでに海外では, リウマチ以外の全身疾患に対しても, IL-1Ra 製剤の有効性が検討され, とくに歯周病との関連性が示唆されている糖尿病や, 心臓血管疾患において, 病態改善に有用であることが示唆されてきた³⁴⁻³⁷⁾。これらを考慮すると, これまでの実験系を応用し, 歯周病の病態改善における IL-1Ra の効果を実証することができれば, IL-1Ra 製剤が歯周病治療薬として応用されることが期待できると考えている。

今後ますますの IL-1RII および IL-1Ra 研究により, 歯周病における診断や治療のツールが開発されることが期待される。

文 献

- 1) Ishihara Y, Nishihara T, Maki E, Noguchi T, Koga T: Role of interleukin-1 and prostaglandin in *in vitro* bone resorption induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* lipopolysaccharide. Journal

- of periodontal research, 26 : 155-160, 1991.
- 2) Takahashi T, Nishihara T, Ishihara Y, Amano K, Shibuya N, Moro I, Koga T : Murine macrophage interleukin-1 release by capsularlike serotype-specific polysaccharide antigens of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Infection and immunity, 59 : 18-23, 1991.
 - 3) Ueda N, Nishihara T, Ishihara Y, Amano K, Kuroyanagi T, Noguchi T : Role of prostaglandin in the formation of osteoclasts induced by capsular-like polysaccharide antigen of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strain Y4. Oral microbiology and immunology, 10 : 69-75, 1995.
 - 4) Nishihara T, Ueda N, Amano K, Ishihara Y, Hayakawa H, Kuroyanagi T, Ohsaki Y, Nagata K, Noguchi T : *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y4 capsular-polysaccharide-like polysaccharide promotes osteoclast-like cell formation by interleukin-1 alpha production in mouse marrow cultures. Infection and immunity, 63 : 1893-1898, 1995.
 - 5) Suda K, Woo JT, Takami M, Sexton PM, Nagai K : Lipopolysaccharide supports survival and fusion of preosteoclasts independent of TNF-alpha, IL-1, and RANKL. Journal of cellular physiology, 190 : 101-108, 2002.
 - 6) Sims JE, Gayle MA, Slack JL, Alderson MR, Bird TA, Giri JG, Colotta F, Re F, Mantovani A, Shanebeck K, et al. : Interleukin 1 signaling occurs exclusively via the type I receptor. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 90 : 6155-6159, 1993.
 - 7) Dinarello CA : Interleukin-1, interleukin-1 receptors and interleukin-1 receptor antagonist. International reviews of immunology, 16 : 457-499, 1998.
 - 8) Clark W, Jobanputra P, Barton P, Burls A : The clinical and cost-effectiveness of anakinra for the treatment of rheumatoid arthritis in adults : a systematic review and economic analysis. Health technology assessment, 8 : iii-iv, ix-x, 1-105, 2004.
 - 9) Greenfeder SA, Nunes P, Kwee L, Labow M, Chizzonite RA, Ju G : Molecular cloning and characterization of a second subunit of the interleukin 1 receptor complex. The Journal of biological chemistry, 270 : 13757-13765, 1995.
 - 10) Dinarello CA : Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. Blood, 77 : 1627-1652, 1991.
 - 11) Smolen JS, Landewe R, Breedveld FC, Buch M, Burmester G, Dougados M, Emery P, Gaujoux-Viala C, Gossec L, Nam J, Ramiro S, Winthrop K, de Wit M, Aletaha D, Betteridge N, Bijlsma JW, Boers M, Buttgerit F, Combe B, Cutolo M, Damjanov N, Hazes JM, Kouloumas M, Kvien TK, Mariette X, Pavelka K, van Riel PL, Rubbert-Roth A, Scholte-Voshaar M, Scott DL, Sokka-Isler T, Wong JB, van der Heijde D : EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs : 2013 update. Annals of the rheumatic diseases, 73 : 492-509, 2014.
 - 12) Ishihara Y, Nishihara T, Kuroyanagi T, Shirozu N, Yamagishi E, Ohguchi M, Koide M, Ueda N, Amano K, Noguchi T : Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. Journal of periodontal research, 32 : 524-529, 1997.
 - 13) Jouvenne P, Vannier E, Dinarello CA, Miossec P : Elevated levels of soluble interleukin-1 receptor type II and interleukin-1 receptor antagonist in patients with chronic arthritis : correlations with markers of inflammation and joint destruction. Arthritis and rheumatism, 41 : 1083-1089, 1998.
 - 14) Attur MG, Dave M, Cipolletta C, Kang P, Goldring MB, Patel IR, Abramson SB, Amin AR : Reversal of autocrine and paracrine effects of interleukin 1 (IL-1) in human arthritis by type II IL-1 decoy receptor. Potential for pharmacological intervention. The Journal of biological chemistry, 275 : 40307-40315, 2000.
 - 15) Kanda-Nakamura C, Izumi Y, Sueda T : Increased expression of interleukin-1 receptors on fibroblasts derived from inflamed gingiva. Journal of periodontology, 67 : 1267-1273, 1996.
 - 16) Chou HH, Takashiba S, Maeda H, Naruishi K, Nishimura F, Arai H, Lu H, Murayama Y : Induction of intracellular interleukin-1 beta signals via type II interleukin-1 receptor in human gingival fibroblasts. Journal of dental research, 79 : 1683-1688, 2000.
 - 17) Suzuki M, Ishihara Y, Kamiya Y, Koide M, Fuma D, Fujita S, Matsumura Y, Suga T, Kamei H, Noguchi T : Soluble interleukin-1 receptor type II levels in gingival crevicular fluid in aggressive and chronic periodontitis. Journal of periodontology, 79 : 495-500, 2008.
 - 18) Kamiya Y, Ishihara Y, Kamei H, Ozawa Y, Mizutani H, Kubo K, Maeda H, Noguchi T : IL-1 receptor type II production is upregulated by IL-4 and IL-13, and downregulated by IFN-gamma in mouse gingival epithelial cells. Modern research in inflammation, 03 : 37-47, 2014.
 - 19) Barbour SE, Ishihara Y, Fakher M, Al-Darmaki S, Caven TH, Shelburne CP, Best AM, Schenkein HA, Tew JG : Monocyte differentiation in localized juvenile periodontitis is skewed toward the den-

- dritic cell phenotype. *Infection and immunity*, 70 : 2780-2786, 2002.
- 20) Kikuchi T, Hahn CL, Tanaka S, Barbour SE, Schenkein HA, Tew JG : Dendritic cells stimulated with *Actinobacillus actinomycetemcomitans* elicit rapid gamma interferon responses by natural killer cells. *Infection and immunity*, 72 : 5089-5096, 2004.
 - 21) Kikuchi T, Willis DL, Liu M, Purkall DB, Sukumar S, Barbour SE, Schenkein HA, Tew JG : Dendritic-NK cell interactions in *P. gingivalis*-specific responses. *Journal of dental research*, 84 : 858-862, 2005.
 - 22) Salvi GE, Brown CE, Fujihashi K, Kiyono H, Smith FW, Beck JD, Offenbacher S : Inflammatory mediators of the terminal dentition in adult and early onset periodontitis. *Journal of periodontal research*, 33 : 212-225, 1998.
 - 23) Kamei H, Ishihara Y, Fuma D, Niwa T, Kamiya Y, Yokoi T, Suzuki M, Izawa A, Mizutani H, Hayashi J, Sakaki Y, Noguchi T, Kojima T : Interleukin-1 receptor gene variants are associated with aggressive periodontitis in the Japanese. *Archives of oral biology*, 59 : 756-763, 2014.
 - 24) Horai R, Saijo S, Tanioka H, Nakae S, Sudo K, Okahara A, Ikuse T, Asano M, Iwakura Y : Development of chronic inflammatory arthropathy resembling rheumatoid arthritis in interleukin 1 receptor antagonist-deficient mice. *The Journal of experimental medicine*, 191 : 313-320, 2000.
 - 25) Mizutani H, Ishihara Y, Izawa A, Fujihara Y, Kobayashi S, Gotou H, Okabe E, Takeda H, Ozawa Y, Kamiya Y, Kamei H, Kikuchi T, Yamamoto G, Mitani A, Nishihara T, Noguchi T : Lipopolysaccharide of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* up-regulates inflammatory cytokines, prostaglandin E2 synthesis and osteoclast formation in interleukin-1 receptor antagonist-deficient mice. *Journal of periodontal research*, 48 : 748-756, 2013.
 - 26) Sato A, Ohtaki H, Tsumuraya T, Song D, Ohara K, Asano M, Iwakura Y, Atsumi T, Shioda S : Interleukin-1 participates in the classical and alternative activation of microglia/macrophages after spinal cord injury. *Journal of neuroinflammation*, 9 : 65, 2012.
 - 27) Marsh CB, Moore SA, Pope HA, Wewers MD : IL-1ra suppresses endotoxin-induced IL-1 beta and TNF-alpha release from mononuclear phagocytes. *The American journal of physiology*, 267 : L39-L45, 1994.
 - 28) Ishibe T, Kimura A, Ishida Y, Takayasu T, Hayashi T, Tsuneyama K, Matsushima K, Sakata I, Mukaida N, Kondo T : Reduced acetaminophen-induced liver injury in mice by genetic disruption of IL-1 receptor antagonist. *Laboratory investigation : a journal of technical methods and pathology*, 89 : 68-79, 2009.
 - 29) Ishihara Y, Zhang JB, Fakher M, Best AM, Schenkein HA, Barbour SE, Tew JG : Non-redundant roles for interleukin-1 alpha and interleukin-1 beta in regulating human IgG2. *Journal of periodontology*, 72 : 1332-1339, 2001.
 - 30) Izawa A, Ishihara Y, Mizutani H, Kobayashi S, Goto H, Okabe E, Takeda H, Ozawa Y, Kamiya Y, Sugita Y, Kubo K, Kamei H, Kikuchi T, Mitani A, Hayashi J, Nishihara T, Maeda H, Noguchi T : Inflammatory bone loss in experimental periodontitis induced by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in interleukin-1 receptor antagonist knockout mice. *Infection and immunity*, 82 : 1904-1913, 2014.
 - 31) Smith DE, Hanna R, Della F, Moore H, Chen H, Farese AM, MacVittie TJ, Virca GD, Sims JE : The soluble form of IL-1 receptor accessory protein enhances the ability of soluble type II IL-1 receptor to inhibit IL-1 action. *Immunity*, 18 : 87-96, 2003.
 - 32) Furst DE : Anakinra : review of recombinant human interleukin-1 receptor antagonist in the treatment of rheumatoid arthritis. *Clinical therapeutics*, 26 : 1960-1975, 2004.
 - 33) Chevalier X, Giraudeau B, Conrozier T, Marliere J, Kiefer P, Goupille P : Safety study of intraarticular injection of interleukin 1 receptor antagonist in patients with painful knee osteoarthritis : a multicenter study. *The Journal of rheumatology*, 32 : 1317-1323, 2005.
 - 34) Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Volund A, Ehses JA, Seifert B, Mandrup-Poulsen T, Donath MY : Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *The New England journal of medicine*, 356 : 1517-1526, 2007.
 - 35) Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Ehses JA, Donath MY, Mandrup-Poulsen T : Sustained effects of interleukin-1 receptor antagonist treatment in type 2 diabetes. *Diabetes care*, 32 : 1663-1668, 2009.
 - 36) Carstensen M, Herder C, Kivimaki M, Jokela M, Roden M, Shipley MJ, Witte DR, Brunner EJ, Tabak AG : Accelerated increase in serum interleukin-1 receptor antagonist starts 6 years before diagnosis of type 2 diabetes : Whitehall II prospective cohort study. *Diabetes*, 59 : 1222-1227, 2010.
 - 37) Fearon WF, Fearon DT : Inflammation and cardiovascular disease : role of the interleukin-1 receptor antagonist. *Circulation*, 117 : 2577-2579, 2008.