

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年8月30日現在

機関番号：37114

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K11405

研究課題名(和文) 歯周病罹患破骨細胞が脂質異常により受ける影響の解明

研究課題名(英文) Toll-like receptor 2 activation primes and upregulates osteoclastogenesis via Lox-1

研究代表者

大城 希美子 (Ohgi, Kimiko)

福岡歯科大学・口腔歯学部・講師

研究者番号：50610979

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：Lox-1は、脂質異常症の原因であるoxLDLの受容体である。慢性歯周炎の主要な病原体であるP.g菌の受容体であるTLR2および4は、破骨細胞上のoxLDLの影響を受け、脂質異常症における歯周炎の歯槽骨吸収が増加する可能性が考えられた。

本研究は、TLRに関連する破骨細胞形成に対するLox-1の効果を解明することを目的とした。その結果、破骨細胞誘導細胞において、TLR2誘導性Lox-1のアップレギュレーションによってoxLDLの共存下で破骨細胞形成が促進された。これにより、脂質異常症の進行とともに歯周炎が悪化する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ともに生活習慣病である脂質異常症と歯周病との相互作用を明らかにするため、骨吸収を担う破骨細胞に着目した。

検討の結果、脂質異常症の原因であるoxLDLが存在すると、破骨細胞の形成が促進された。これにより、脂質異常症と歯周炎を併発すると、歯周炎が増悪する可能性が示唆された。

生活習慣病である歯周病と脂質異常症との相互作用の検討を行うことは、骨疾患だけでなく代謝疾患の病因・病態の解明にも繋がり、ひいては口腔から考える全体的な健康へと、国民の口腔領域への関心の向上にも寄与し、「健康社会の実現」へ貢献できると考えた。

研究成果の概要(英文)：Lox-1 is the receptor for oxidized low-density lipoprotein (oxLDL), a mediator in dyslipidemia. Toll-like receptor (TLR)-2 and 4 are receptors of lipopolysaccharide (LPS) from *Porphyromonas gingivalis*, a major pathogen of chronic periodontitis. Although some reports have demonstrated that periodontitis has an adverse effect on dyslipidemia, little is clear that the mechanism is explained the effects of dyslipidemia on osteoclastogenesis. We have hypothesized that osteoclast oxLDL has directly effect on osteoclasts (OCs), and therefore alveolar bone loss on periodontitis may be increased by dyslipidemia. The present study aimed to elucidate the effect of Lox-1 on osteoclastogenesis associated with TLRs in vitro.

This study supports that osteoclastogenesis is promoted under the coexistence of oxLDL by TLR2-induced upregulation of Lox-1 in BMCs. This indicates that periodontitis could worsen with progression of dyslipidemia.

研究分野：骨吸収疾患

キーワード：破骨細胞 脂質異常症 歯周炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯周病の病態が明らかになるにつれ、全身疾患との関連性が注目され、疫学的にも報告 (Yamashita et al., 2007; Maeno et al., 2010)されるようになった。メタボリックシンドローム (MS)との双方向の悪影響 (Noack B et.al., 2000, Shimazaki et al., 2007)が報告され、現在、歯周病は単なる口腔慢性感染症ではなく、全身疾患として捉えるべきだと考えられている。この双方向の増悪経路としては、歯周病原菌が血中に侵入 (Kinane et al., 2005)、歯周病または MS により惹起された炎症性サイトカインによる他方への影響 (Saito et al., 2004)が考えられ、そのメカニズムも解明されつつあった。

歯周病と脂質異常が合併すると動脈硬化を増悪させる、という *in vivo* の報告 (Maekawa et al., 2011)がなされ、注目を浴びている。また、酸化 LDL の曝露があると、T リンパ球による破骨細胞分化誘導因子・RANKL (receptor activator of NF κ B ligand) 産生が上昇する (Graham et al., 2009)。in vitro での破骨細胞形成は、酸化 LDL 存在下では促進 (Tintut et al., 2002)され、コレステロール除去条件下では抑制 (Okayasu et al., 2012)されるように、破骨細胞の分化は細胞外コレステロールに依存することが明らかになった。しかし一方では、酸化 LDL が RANKL signaling を阻害するという報告 (Mazière et al., 2009)もあり、その機序には依然として不明な点があり、加えて酸化 LDL による歯周病罹患時の破骨細胞への詳細な検討は未だなされていなかった。

骨リモデリングは骨芽細胞と破骨細胞により恒常性を保っているが、骨破壊性疾患の原因は、主に破骨細胞による骨吸収亢進である。我々は、メバロン酸経路の酵素を阻害するビスフォスフォネート (NBPs) も破骨細胞の発現を抑制すること (Kimachi et al., 2011)、NBPs によって破骨細胞のイオン輸送が変化し、それにより骨吸収が抑制されること (Ohgi et al., 2013) を報告している。脂質異常治療薬である HMG-CoA 還元酵素阻害薬 (スタチン) もメバロン酸経路の酵素を阻害することで、肝臓でのコレステロール生合成を低下させる。これらのことから、コレステロールと破骨細胞とに、未知の密接な関わりを示す可能性があると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、歯周病と脂質異常とが合併した場合、破骨細胞がどのような影響を受けているのかを *in vitro* にて検討する。これにより、歯周病罹患の破骨細胞が脂質異常によって受ける修飾が明らかとなりうることを期待される。

3. 研究の方法

(1) マウス骨髄細胞を採取し、増殖・分化誘導因子 Macrophage Colony-Stimulating Factor (M-CSF) を用いて破骨前駆細胞に、更には破骨細胞分化誘導因子 receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) にて成熟破骨細胞に誘導した。

(2) 誘導した破骨前駆細胞および成熟破骨細胞に対し、歯周病原菌 LPS の受容体 TLR (Toll-like receptor) を刺激することによる、酸化 LDL 受容体への影響を RT-PCR、western blot、免疫染色、real time PCR、FACS にて検討した。

(3) TLR 刺激と酸化 LDL 刺激による破骨細胞形成における影響を TRAP 染色にて検討した。

4. 研究成果

マウス骨髄細胞から破骨前駆細胞に分化する過程において、TLR2 や TLR4 を刺激すると酸化 LDL 受容体の発現が有意に増加した。しかし、破骨前駆細胞から成熟破骨細胞に分化する過程において TLR 刺激を行っても酸化 LDL 受容体の発現には影響しなかった (図 1)。

この TLR を阻害することによる効果を検討したところ、TLR2 や TLR4 刺激で増加した酸化 LDL 受容体の発現は、TLR の阻害剤で抑制された (図 2)。また、TLR2 や TLR4 刺激によって増加した下流シグナル分子 myeloid differentiation primary response88 (MyD88) の発現も、それら受容体の阻害により抑制された (図 3)。

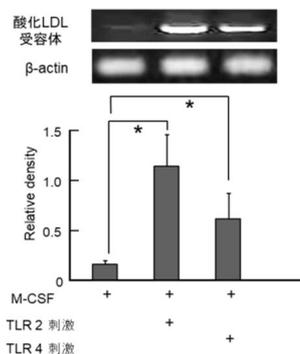


図 1

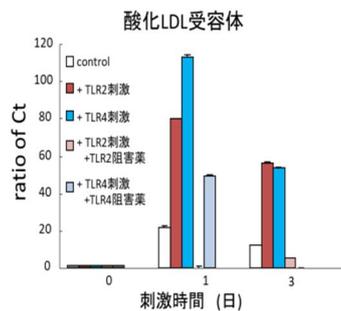


図 2

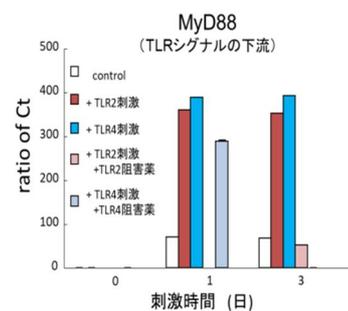


図 3

酸化 LDL を、骨髄細胞から破骨前駆細胞になるまでの間と、破骨前駆細胞から成熟破骨細胞になる間にそれぞれ添加した。TRAP 染色において、TLR2 刺激がなければ、酸化 LDL の存在は破骨細胞増加には影響なかったが、TLR2 刺激後に酸化 LDL を添加すると、破骨細胞数が有意に増加した。

以上により、TLR 刺激により破骨前駆細胞の酸化 LDL 受容体が増加し、そこに酸化 LDL が存在すれば破骨細胞数が増加することが明らかとなった。

現在、歯周病による動脈硬化への影響は報告されているが、動脈硬化による歯周炎への影響は不明であった。今回の研究により動脈硬化による破骨細胞への直接的な影響の可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Toll-like receptor 2 activation primes and upregulates osteoclastogenesis via lox-1. Ohgi K, Kajiya H, Goto-T K, Okamoto F, Yoshinaga Y, Okabe K, Sakagami R. *Lipids Health Dis.* 2018 Jun 2;17(1):132.

臨床実習に対する総括的評価としての保存科新規課題「永久歯初期齲蝕に対するフッ化物塗布」の評価. 畠山純子, 春名千英子, 松本典祥, 水上正彦, 松崎英津子, 廣松亮, 森南奈, 村上弘, 大城希美子, 吉永泰周, 佐藤博信, 坂上竜資, 阿南壽. *日本歯科医学教育学会誌* 2017, 104-106

Generic skills measurement of students at Fukuoka dental college: The usefulness of the progress report on generic skills (PROG) test. Uchida R, Kodama J, Maruta M, Okamoto F, Kawaguchi T, Ohgi K, Ishikawa H. *Journal of Dental Science.* 2018, 10-18

福岡歯科大学の卒業時アウトカムを考慮した学修成果可視化の試みについて. 内田竜司, 児玉淳, 丸田道人, 岡本富士雄, 川口智弘, 大城希美子, 石川博之. *日本歯科医学教育学会雑誌* 2017, 184-197

福岡歯科大学における学生のディプロマポリシー・学士力の認知の程度と学修成果可視化への期待の程度について. 内田竜司, 児玉淳, 丸田道人, 岡本富士雄, 川口智弘, 大城希美子, 嶋田香, 埴岡隆, 石川博之. *日本歯科医学教育学会雑誌.* 2016, 37-47

〔学会発表〕(計 11 件)

Toll-like receptor 刺激は酸化 LDL 受容体 Lox-1 を介して破骨細胞形成に影響する. 大城希美子, 吉永泰周, 金子高士, 有田陽一, 河原ゆり, 有田晴一, 笠孝成, 山本南奈, 村上弘, 廣松亮, 岡部幸司. 平成 29 年度日本歯周病学会九州五大学・日本臨床歯周病学会九州支部合同研修会. 2017

福岡歯科大学における学修成果の可視化. 内田竜司, 岡部幸司, 石川博之, 大城希美子, 岡本富士雄, 川口智弘, 児玉淳, 丸田道人, 尾崎正雄, 永井淳, 埴岡隆, 廣藤卓雄, 湯浅賢治, 北村憲司. 高知大学 AP 事業シンポジウム. 2017

福岡歯科大学における卒業時アウトカムを取り入れた学修成果の可視化について. 内田竜司, 岡部幸司, 石川博之, 大城希美子, 岡本富士雄, 川口智弘, 児玉淳, 丸田道人, 尾崎正雄, 永井淳, 埴岡隆, 廣藤卓雄, 湯浅賢治, 北村憲司. 第 36 回日本歯科医学教育学会. 2017

メバロン酸代謝物による顎骨壊死の 予防・改善効果の可能性. 鍛治屋浩, 大城希美子, 岡本富士雄, 岡部幸司. 第 23 回日本歯科医学会総会. 2016

破骨細胞における TLR (Toll like receptor) を介した脂質異常症の影響. 大城希美子, 鍛治屋浩, 岡本富士雄, 坂上竜資, 岡部幸司. 第 23 回日本歯科医学会総会. 2016

幹細胞併用のための DNA スキャフォールドの開発. 森南奈, 松本彩子, 鍛治屋浩, 大城希美子, 吉永泰周, 村上弘, 廣松亮, 丸尾直樹, 有田晴一, 有田陽一, 河原ゆり, 笠孝成, 坂上竜資, 大野純. 日本歯周病学会九州五大合同研修会. 2016

Effects of dyslipidemia through Toll like receptors on pre-osteoclasts. Ohgi K, Yoshinaga Y, Mori N, Murakami H, Maruo N, Arita Y, Kawahara Y, Ryu T, Sakagami R. 第 59 回秋季日本歯周病学会. 2016

Effects of dyslipidemia on osteoclastogenesis. Ohgi K, Kajiya H, Okamoto F, Sakagami R, Okabe K. 第 58 回歯科基礎医学会. 2016

保存科新規 Advanced OSCE 課題「永久歯初期う蝕に対するフッ化物塗布」の評価. 畠山純子, 春名千英子, 松本典祥, 水上正彦, 廣松亮, 森南奈, 村上弘, 大城希美子, 吉永泰周, 松崎英津子, 泉利雄, 中牟田博敬, 佐藤博信, 坂上竜資, 阿南壽. 第 35 回日本歯科医学教育学会. 2016

福岡歯科大学におけるディプロマポリシー・学士力の認知度について. 内田竜司, 岡部幸司, 石川博之, 大城希美子, 岡本富士雄, 川口智弘, 児玉淳, 丸田道人, 嶋田香, 尾崎正雄, 佐藤博信, 永井淳, 埴岡隆, 廣藤卓雄, 湯浅賢治, 北村憲司. 第 35 回日本歯科医学教育学会. 2016

学修成果可視化への取り組み. 内田 竜司, 岡部幸司, 石川 博之, 大城 希美子, 北村 憲司他. 日本歯科医学教育学会総会. 2015

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.fdcnet.ac.jp/col/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：岡部幸司

ローマ字氏名：Okabe, Koji

所属研究機関名：福岡歯科大学

部局名：口腔歯学部

職名：教授

研究者番号 (8 桁)：80224046

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。