

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17333

研究課題名(和文) アロマターゼ遺伝子欠損マウスにおける肥満と慢性炎症病態の関連性の解明

研究課題名(英文) Investigation of obesity and chronic inflammation pathologic association by the aromatase deficient

研究代表者

岩浅 亮彦 (IWASA, Akihiko)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(歯学域)・助教

研究者番号：90746025

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：末梢組織に慢性炎症状態をきたしたアロマターゼ遺伝子欠損マウス、またはアロマターゼのインヒビターを投与したアロマターゼ抑制状態下のマウスを用いて、アロマターゼとマウス顎関節における変形性顎関節症との関連性を明らかにすることを目的に実験を行った。アロマターゼの機能を抑制したアロマターゼインヒビター投与マウスの顎関節において、エストロゲン減少状態が顎関節の慢性炎症状態を引き起こし、顎関節リウマチや変形性顎関節症発症に関与してい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

近年、肥満が全身の様々な臓器における慢性炎症病態に関与している事が報告されているが、顎関節での慢性炎症病態に、肥満による炎症性マクロファージが関与するといった報告は極めて少ない。

本研究は、世界的に問題となっている肥満が糖尿病や心疾患への悪影響だけではなく、歯科領域で近年患者数が増加しているTMJ-OAにも悪影響を及ぼすことを解明しようとした研究であり、本研究で挙げられる成果は、変形性膝関節炎などの女性優位に発症する慢性炎症疾患の病因解明につながる可能性も十分に含んだ重要な研究であり、その学術的、臨床的ならびに社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Using the aromatase gene defect mouse which caused a chronic inflammation condition at the peripheral tissue or the mouse under the aromatase restraint condition receiving the aromatase inhibitor (AI), I studied it for the purpose of clarifying the association with aromatase and the temporomandibular joint osteoarthritis (TMJ-OA) in the mouse temporomandibular joint (TMJ). In the AI administration mouse, which controlled a function of the aromatase, an estrogen decrease induced a chronic inflammation condition of the TMJ, and the possibility that participated in TMJ-OA and rheumatoid arthritis of TMJ (TMJ-RA) onset was suggested.

研究分野：矯正歯科学

キーワード：アロマターゼ 肥満 慢性炎症

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまでの研究から閉経期における体内のエストロゲン産生量の低下が、シェーグレン症候群や関節リウマチ (RA)、全身性エリテマトーデス (SLE) などの自己免疫性の慢性炎症性疾患の発症だけでなく、アテローム性動脈硬化症や骨粗鬆症、変形性膝関節炎や顎関節症など全身の慢性炎症性疾患の発症にも関与していることが明らかとなっている。

アロマトラーゼは、エストロゲン合成に必要なステロイド代謝酵素であり、多種多様な生理機能に関わっている (図1)。アロマトラーゼ遺伝子が欠損した ArKO マウスは、ヒトでのエストロゲン産生量の低下した状態が再現されており、エストロゲンが免疫システムに及ぼす影響を理解するための有用な動物モデルである。

これまでに私たちは、アロマトラーゼが欠損し、内臓脂肪量が増加し肥満状態となった ArKO マウスの唾液腺において MCP-1 の発現が亢進しており、シェーグレン症候群様の自己免疫病変の増悪に MCP-1 が関与していることを明らかにした (*Am J Pathol* 185(1):2014) (図1)。

肥満状態の脂肪組織では、マクロファージや好中球、T 細胞などの免疫担当細胞が浸潤し、量的または質的な異常から慢性的な炎症状態を引き起こしているとされている。脂肪組織に浸潤するマクロファージには、炎症性の M1 マクロファージと、抗炎症性の M2 マクロファージの2種類が存在することも明らかとなっている。近年、肥満の脂肪組織でのマクロファージの浸潤増加は、単球の走化性因子である monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) の産生亢進により誘導されることが明らかとなり、肥満によって脂肪細胞が増大し、脂肪細胞由来の遊離脂肪酸 (FFA) が増加することで MCP-1 をはじめとするマクロファージ由来の炎症関連分子が増加するといった悪循環が生じることで、脂肪組織内に M1 マクロファージが相対的に増加し、M1 マクロファージから分泌される炎症性サイトカインにより、脂肪組織での慢性炎症が惹起されると考えられている (*J Leukoc Biol* 88:2010)。

しかしながら、ArKO マウスにおけるエストロゲン欠乏状態と、それによる肥満が、涙腺・唾液腺以外の臓器、特に歯科領域で問題となる顎関節における変形性顎関節症 (TMJ-OA) といった慢性炎症性疾患を引き起こす詳細な分子メカニズムについては不明なままであった。

2. 研究の目的

以上のことから、本研究では、エストロゲン欠乏による肥満状態を呈し、唾液腺にシェーグレン症候群様の慢性炎症病変が報告されている ArKO マウスや、アロマトラーゼインヒビター (AI) 投与によるエストロゲン減少状態下における内臓脂肪での慢性炎症によって発現亢進した MCP-1 と、それにより誘導される M1 マクロファージが顎関節における慢性炎症病態の進展にどのように関与しているのか、TMJ-OA の発症メカニズムとの関連についての解明を目指すことを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

(1) AI 投与 TMJ-OA モデルマウスの作製

野生型マウスである C57BL/6 マウスを AI 投与群と対照群にランダムに分け、AI であるエキセメスタンの4週間腹腔内投与を行い、3週間投与した時点で、切歯にレジン製バイトブロック (過開口器) を装着する群と装着しない群に細分化した。バイトブロックを装着した状態でさらに1週間 AI 投与を継続し、AI 投与 TMJ-OA モデルマウスを作製した (図2)。

(2) AI 投与 TMJ-OA モデルマウスの顎関節における形態計測学的解析

AI 投与 TMJ-OA モデルマウスの下顎頭を採取し、アロマトラーゼ減少による肥満が下顎頭の骨組織に及ぼす影響について、マイクロ CT 撮影を行い、画像所見として下顎頭における骨棘形成や表面性状の解析および、形態計測として骨密度 (BV/TV)、骨梁幅 (Tb.Th)、骨梁間隔 (Tb.Sp) の解析を行った。

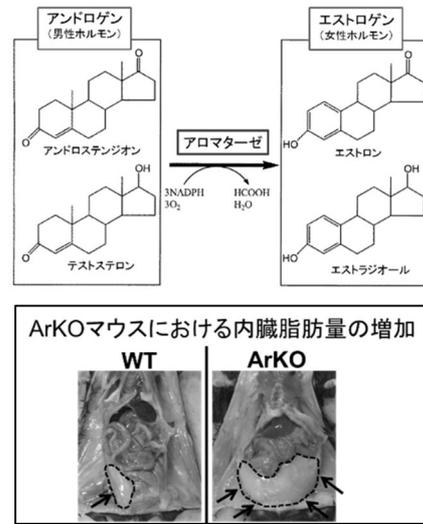


図1 アロマトラーゼの役割とアロマトラーゼ欠損による内臓脂肪量の変化

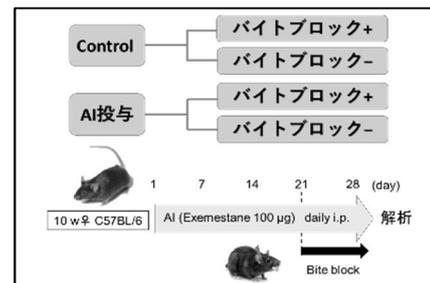


図2 アロマトラーゼ阻害剤 (AI) 投与 TMJ-OA モデルマウスの作製方法

(3) AI 投与 TMJ-OA モデルマウス顎関節の病理組織学的解析

実験(2)と同様に、AI 投与 TMJ-OA モデルマウスから採取した下顎頭から、顎関節組織切片を作製し、HE 染色、TRAP 染色、サフラニン O 染色を行った。

4. 研究成果

(1) AI 投与 TMJ-OA モデルマウスの顎関節における形態計測学的解析

前述の 4 群のマウス下顎頭のマイクロ CT の矢状面、矢状断面、体軸方向上部から見た画像を右に示す。

AI 投与群では、対照群と比較して、バイトブロックの有無にかかわらず、下顎頭の表面の粗造化が認められた。一方、AI 投与 TMJ-OA モデルマウスと AI 投与のみを行った群とを比較すると、バイトブロックを装着することによる顕著な下顎頭表層の粗造化は確認できず、下顎頭矢状断面像においてもメカニカルストレスによる骨吸収傾向も明らかではなかった(図3)。

しかしながら、これらの画像データについて形態計測学的解析を行ったところ、バイトブロックを装着した対照群と比較してバイトブロックを装着した AI 投与 TMJ-OA モデルマウス群では、骨密度(BV/TV)、骨梁幅(Tb.Th)は有意に減少し、骨梁間隔(Tb.Sp)は有意に上昇していた。このことから、AI 投与によるエストロゲン減少によって、下顎頭部の骨密度が低下し、内部でも骨吸収が進み、骨梁構造が疎な状態になっていることが示された(図3)。

今後 AI の投与期間や濃度、バイトブロックの形態および過開口の方法等について、さらに検討を加え解析を行っていく必要があると考える。

(2) AI 投与 TMJ-OA モデルマウス顎関節の病理組織学的解析

同様に回収されたマウス下顎頭から組織切片を作製し、病理組織学的解析を行った画像を右に示す。

上段のサフラニン O 染色では、バイトブロックを装着した対照群でみられた下顎頭表層下の破線で囲まれた軟骨細胞層を認めたのに対し、バイトブロックを装着した AI 投与 TMJ-OA モデルマウス群では、軟骨細胞層が消失しており、AI 投与によりエストロゲンが減少したことによって、メカニカルストレスが加わった際の下顎頭軟骨のリモデリングに異常をきたしていることが明らかとなった(図4)。

さらに、TRAP 染色を行い、TRAP 陽性の破骨細胞に着目したところ、AI 投与 TMJ-OA モデルマウスでは、骨髄周囲の破骨細胞の出現を認めた(図4)。

このことから、AI 投与によるエストロゲンの減少によって、破骨細胞の浸潤が亢進され、その結果、マイクロ CT 画像の形態計測学的解析で明らかとなった骨吸収が増悪されたことが示唆された。さらに、骨組織だけでなく、軟骨組織の破壊にもアロマトラーゼが関与していることが明らかとなり、今後はさらに PCR 検査による炎症関連因子である MCP-1 や、MMP-9,13、アグリカン、Type2 コラーゲンの遺伝子発現ならびにウエスタンブロッティング法によるタンパクの発現解析を行うとともに、ArKO マウスでの解析も進めていきたいと考えている。

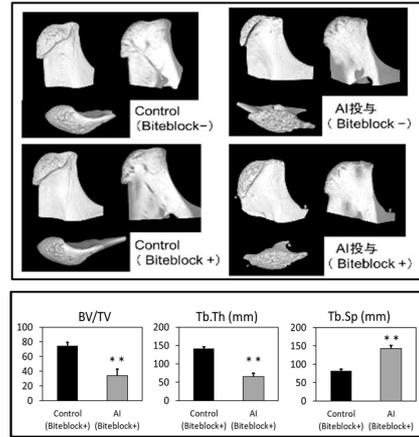


図3 AI 投与 TMJ-OA モデルマウス下顎頭の形態計測学的解析

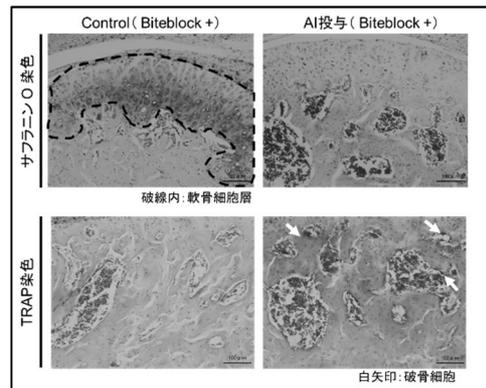


図4 AI 投与 TMJ-OA モデルマウス下顎頭における病理組織学的解析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Fujita Mutsumi, Sato-Shigeta Minami, Mori Hiroki, Iwasa Akihiko, Kawai Nobuhiko, Hassan Ali H., Tanaka Eiji	4. 巻 45
2. 論文標題 Protective Effects of Low-Intensity Pulsed Ultrasound on Mandibular Condylar Cartilage Exposed to Mechanical Overloading	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ultrasound in Medicine & Biology	6. 最初と最後の頁 944 ~ 953
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ultrasmedbio.2018.12.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Akihiko Iwasa, Shinya Horiuchi, Nao Kinouchi, Takashi Izawa, Masahiro Hiasa, Nobuhiko Kawai, Akihiro Yasue, Ali H Hassan, Eiji Tanaka	4. 巻 6
2. 論文標題 Skeletal anchorage for intrusion of bimaxillary molars in a patient with skeletal open bite and temporomandibular disorders.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Orthodontic Science	6. 最初と最後の頁 152-158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4103/jos.JOS_63_17	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Hutami Islamy Rahma, Izawa Takashi, Mino-Oka Akiko, Shinohara Takehiro, Mori Hiroki, Iwasa Akihiko, Tanaka Eiji	4. 巻 490
2. 論文標題 Fas/S1P 1 crosstalk via NF- B activation in osteoclasts controls subchondral bone remodeling in murine TMJ arthritis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1274 ~ 1281
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2017.07.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 岩浅亮彦	4. 巻 7
2. 論文標題 アロマトラーゼ遺伝子欠損マウスにおける肥満・慢性炎症とシェーグレン症候群様病態との関連	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 別冊Bio Clinica 慢性炎症と疾患 口腔疾患と慢性炎症	6. 最初と最後の頁 131-134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 清水 宗, 堀内 信也, 天真 寛文, 岩浅 亮彦, 渡邊 佳一郎, 日浅 雅博, 岩本 勉, 田中 栄二
2. 発表標題 徳島大学病院矯正歯科における口唇裂・口蓋裂患者の合併先天異常に関する実態調査.
3. 学会等名 日本口蓋裂学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中 栄二, 森 浩喜, 岩浅 亮彦, 堀内 信也
2. 発表標題 乳児黒色性神経外胚葉性腫瘍の下顎骨歪全摘後に遊離肩甲骨移植による下顎骨再建を行った1例.
3. 学会等名 日本顎変形症学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 沢田 正樹, 岩浅 亮彦, 吉村 宗之, 市原 亜起, ミツイ アカギ シルビア ナオミ, 塩屋園 玲子, 日浅 雅博, 泰江 章博, 田中 栄二
2. 発表標題 シルエットを用いた側貌に対する審美的評価
3. 学会等名 第62回中・四国矯正歯科学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂巻 拓馬, 岩浅 亮彦, 森 浩喜, 小笠原 直子, 谷本 幸多朗, ASHTAR MOHANNAD, LIU YAO, 沢田 正樹, 中村 竜也, 堀内 信也, 田中 栄二
2. 発表標題 矯正治療中に生じた下顎中切歯の歯肉退縮に対して結合組織移植術を行った歯性上顎前突症例 長期保定症例
3. 学会等名 第62回中・四国矯正歯科学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Khurel-Ochir Tsendsuren, 井澤 俊, 坂巻 拓馬, 森 浩喜, 岩浅 亮彦, 田中 栄二
2. 発表標題 p21 deficiency is susceptible to TMJ-Osteoarthritis with mechanical stress
3. 学会等名 第37回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩浅 亮彦, 小笠原 直子, 沢田 正樹, ASHTAR MOHANNAD, 堀内 信也, 田中 栄二
2. 発表標題 慢性辺縁性歯周炎を伴う骨格性II級叢生に対する歯科矯正用アンカースクリューを用いた包括的治療例
3. 学会等名 第78回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 国田 智成, 松木 優承, 山本 貴志, 武川 香織, 齋藤 早紀, ミツイ アカギ シルビア ナオミ, 岩浅 亮彦, 田中 栄二
2. 発表標題 矯正歯科における歯科衛生士による口腔筋機能療法に関する臨床統計学的検討
3. 学会等名 徳島県歯科医学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Islamy Rahma Hutami, Hiroki Mori, Tsendsuren Khurel-Ochir, Akiko Mino, Akihiko Iwasa, Eiji Tanaka and Takashi Izawa
2. 発表標題 HIF-1 α regulates the palatal wound healing through M1/M2 macrophage reprogramming
3. 学会等名 96th General Session & Exhibition of the IADR, 214, London, Jul. 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tsendsuren Khurel-Ochir, Takashi Izawa, Hiroki Mori, Akihiko Iwasa, Islamy Rahma Hutami and Eiji Tanaka
2. 発表標題 The role of p21 on the development of TMJ-OA
3. 学会等名 77th Annual Meeting of the Japanese Orthodontic Society
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉原 靖智, 鈴木 善貴, 中川 聖子, 岩浅 亮彦, 鴨居 浩平, 大倉 一夫, 細木 真紀, 田中 栄二, 松香 芳三
2. 発表標題 睡眠衛生指導とパラタルスプリントにより睡眠時ブラキシズムをコントロールした症例
3. 学会等名 四国歯学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小西晴奈, 藤本果南, 岩浅亮彦, 渡邊佳一郎, 堀内信也, 田中栄二
2. 発表標題 不正咬合患者における埋伏歯についての臨床統計学的調査 A clinicostatistical survey of impacted tooth in patients with malocclusion .
3. 学会等名 四国歯学会第50回例会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小笠原直子, 岩浅亮彦, 佐藤博子, 藤多 睦, 岡 彰子, 伊藤彩実, 七條なつ子, 川合暢彦, 井澤 俊, 田中栄二
2. 発表標題 矯正患者における永久歯の先天的欠如に関する臨床統計調査 .
3. 学会等名 第60回中・四国矯正歯科学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤本果南、小西晴奈、岩浅亮彦、市原亜起、白井愛実、渡邊佳一郎、日浅雅博、森 博世、堀内信也、田中栄二
2. 発表標題 歯科矯正患者における埋伏永久歯に関する実態調査 .
3. 学会等名 第60回中・四国矯正歯科学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岩浅亮彦、井澤 俊、森 浩喜、岡 彰子、藤多 睦、川合暢彦、堀内信也、田中栄二
2. 発表標題 歯科矯正患者における進行性下顎頭吸収の発現頻度とその危険因子の検索 .
3. 学会等名 第30回日本顎関節学会総会・学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤多 睦、重田 南、岩浅亮彦、森 浩喜、川合暢彦、井澤 俊、堀内信也、田中栄二
2. 発表標題 変形性顎関節症モデルラット下顎頭及び炎症状態下軟骨細胞に対する低出力パルス超音波による影響 .
3. 学会等名 第30回日本顎関節学会総会・学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岩浅亮彦、小西晴奈、藤本果南、小笠原直子、渡邊佳一郎、日浅雅博、堀内信也、田中栄二
2. 発表標題 徳島大学病院矯正歯科患者における永久歯埋伏に関する臨床統計学的調査 .
3. 学会等名 第76回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hutami Islamy Rahma, Izawa Takashi, Iwasa Akihiko, Oka Akiko, Khurelochir Tsendsuren, Mori Hiroki, Tanaka Eiji
2. 発表標題 Role of hypoxia inducible factor-1 in the palatal wound healing.
3. 学会等名 第76回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----