

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09888

研究課題名(和文) 可溶性TNF受容体を応用した歯周病診断ならびに治療戦略の検討

研究課題名(英文) Examination of periodontal disease diagnosis and treatment strategy applying soluble TNF receptor

研究代表者

栗野 秀慈 (Shuji, Awano)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：20301442

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：可溶性TNF- 受容体タイプ および (sTNFR-1および-2)は、炎症症状において、感染に対する全身反応の媒体であるTNF- の過剰反応を防止することが報告されています。この研究プロジェクトでは、唾液中のsTNFR-1および-2が、歯周疾患においてTNF- の制御に関連しているかどうかを検証し、口腔におけるそれらの役割を明らかにすることを目的としていました。この研究の成果から、歯周組織の炎症拡大が唾液中のsTNF-R、特にsTNF-R2の増加を誘発することが示され、それらがTNF- によってもたらされる歯周炎の悪化の防止に関連している可能性があることが示唆されました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、sTNF-Rを応用した歯周病をはじめとした口腔における炎症性疾患の診断システムの開発に加えて、治療のための創薬の可能性について結びつくものであると考えている。特に歯周組織における局所的炎症の発症段階でTNF- の異常亢進があった場合、関節リウマチで使用されているようなsTNF-R製剤を、全身的な応用ではなく局所的に作用させることは炎症抑制の有効な手段となる可能性があり、加えて全身的な応用では問題となる副作用の発現のリスクを、口腔という器官の特性を活かして局所的応用によって軽減させることも可能で、最終的な創薬を目標とした場合、安心、安全な薬剤としての臨床応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Soluble tumor necrosis factor receptor type and (sTNFR-1 and -2) are reported to protect during clinical inflammation against excessive tumor necrosis factor- (TNF-), that is a primary mediator of systemic responses to infection. In this study project, sTNFR-1 and -2 in saliva aimed to verify whether to be related to the regulation of TNF- during inflammatory periodontal diseases, and clarify their roles in the oral cavity. From the achievement of this study projects, it was indicated that the extension of periodontal tissue inflammation induced the increase of sTNF-R, especially sTNF-R2, in saliva, and It has been suggested that salivary induced sTNF-R may be associated with the prevention of exacerbation of periodontitis caused by TNF- .

研究分野：予防歯科

キーワード：可溶性TNF受容体 TNF- 歯周病診断 歯周病予防 歯周病治療薬 ADAM17

1. 研究開始当初の背景

歯周炎の歯周組織破壊には、結合組織の主要構成成分である細胞外マトリックス(ECM)蛋白質が関与しており、それら ECM 蛋白質の分解調整には細胞内の様々なエンドプロテアーゼ群の前駆蛋白質分解酵素がその役割を担っていると考えられている。メタロエンドペプチダーゼである ADAMs ファミリーに属する ADAM17 は、Tumor necrosis factor (TNF)- α 転換酵素の名の通り、膜型前駆体である pro-TNF- α を、生理活性を有する可溶性蛋白質 TNF- α に変換する前駆蛋白質分解酵素として同定された蛋白質である。近年、ADAM17 は、TNF- α 転換酵素としての役割以外に、細胞表面における多くの膜蛋白質の蛋白分解反応(shedding:シェディング)を触媒して、生体内における癌、関節リウマチ、心臓疾患、糖尿病などの様々な疾患に関連するといわれている。一方、TNF- α の生体内の受容体である TNF 受容体(-R)1 と TNF-R2 は、前者は生体内の全ての細胞で、後者はマクロファージなど抗原提示細胞で膜貫通型受容体として存在しているが、これらの一部は ADAM17 のシェディングにより可溶性の可溶性 TNF 受容体(sTNF-R)1 と sTNF-R2 に転換され、TNF- α と共に血中を循環して、TNF- α に拮抗する制御因子として作用していると考えられている(J Pharmacol Exp Ther., 322: 822-8, 2007)。実際に sTNF-R は関節リウマチの生物学的製剤の一つとして実用化されており、他の炎症性疾患への応用も検討されているが、注射による全身的作用のため、感染症などの副作用に対する注意が必要となっている(The Clin Risk Manag. 3(1): 99-105, 2007)。

最近、申請者らは口腔粘膜における ADAM17mRNA 発現レベルと歯周健康状態との関連性があることを明らかにし(Kinoshita N, Awano S, et al., J Periodontal Res., 48(5): 606-14, 2013)、歯周組織における ADAM17 が歯肉上皮細胞に発現し、細菌由来の LPS によって誘導される TNF- α の産生の制御に関与していることを報告している(Hirayama A, Awano S, et al., Biomed Res. 38(3): 157-165. 2017)。歯周炎の発症の初期段階で、TNF- α が重要な役割を担っているため、歯周炎の炎症を抑制するために、TNF- α の働きを制御することは合理的な治療戦略の一つであると考えられている。そのために申請者らは、歯周組織における TNF- α の産生に関与する ADAM17 をターゲットに抗 TNF- α の可能性について検討を行い、ADAM17 に対する阻害剤や RNA 干渉などの作用により TNF- α の産生レベルは抑制されることを明らかにした。

一方、口腔内における sTNF-R に関しては、歯肉溝液中の sTNF-R1 と sTNF-R2 レベルの違いは慢性歯周炎の重症度と関連があることが報告されているが、詳細に関しては不明のままである(J Clin Periodontol., 35: 961-68, 2008)。口腔内における sTNF-R1 と sTNF-R2 の動態が口腔健康状態や全身健康状態にどのように関連するのか、口腔細菌叢の違いや ADAM17 が関連しているのか、sTNF-R は TNF- α の作用を制御するのか、以上のような疑問の解明は学術的に大変重要であると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、口腔内における sTNF-R の動態について、歯周病をはじめとした口腔疾患および全身疾患の状況、また口腔内細菌叢の違いといった因子との関連を検証し、口腔内の sTNF-R が、口腔粘膜上の ADAM17 によって制御されているかどうか、最終的には口腔におけるその機能を明らかにした上で、sTNF-R を応用した歯周病をはじめとした口腔における炎症性疾患の診断システムの開発に加えて、治療のための創薬の可能性を検討することとした。

3. 研究の方法

第一段階としてヒトの口腔内における sTNF-R の動態について、唾液中の sTNF-R1 と sTNF-R2 そして TNF- α の蛋白レベルと歯周病をはじめとした口腔疾患および全身疾患、また口腔内細菌叢の違いといった様々な因子との関連を検証した。第二段階としては口腔健康状態の変化により第一段階で調べた要因が特に口腔内の sTNF-R と TNF- α の蛋白レベルがどのように変化するか、口腔健康状態の違いがどのように関係しているかを検証した。

4. 研究成果

唾液中には sTNF-R1 と sTNF-R2 の蛋白レベルが TNF- α より高いレベルで存在していることが明らかとなった。採取した唾液中から抽出した DNA を用いて、DNA チップジェノパール®(三菱ケミカル社製、現在製造中止)を使い、12 菌種の口腔内細菌

[*Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (Tf), *Treponema denticola* (Td), *Campylobacter rectus* (Cr), *Fusobacterium nucleatum* (Fn), *Prevotella intermedia* (Pi), *Prevotella nigrescens* (Pn), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Capnocytophaga gingivalis* (Cg), *Streptococcus gordonii* (Sg), *Streptococcus intermedius* (Si), *Streptococcus mutans* (Sm)] の定量分析を行い、口腔関連因子との関係を因子分析で解析した結果、DMFT 関連で処置歯と 5 菌種(Pg, Tf, Pn, Si, Sm)と、5mm 以上のアタッチメントロス (CAL)と 3 菌種(Cr, Aa, Cg)との関連が認められたが、唾液中の今回調べて口腔内細菌と唾液中の sTNF-R1 と sTNF-R2 そして TNF- α の蛋白レベルとの間には明らかな関連は認められなかった。

唾液中の sTNF-R1 と sTNF-R2 そして TNF- α の蛋白レベルを唾液中の総蛋白質レベルで補正した sTNF-R1/TP、sTNF-R2/TP と TNF- α /TP は、互いに有意な相関関係を示し、sTNF-R1/TP と sTNF-R2/TP はプロービング時の出血(BOP)と歯周組織の炎症の拡がりを示す指標の一つである Periodontal Inflamed Surface Area (PISA)との間に有意な相関関係を示した、一方、歯周組織の炎症の発症に関連すると考えられている代表的なサイトカインである TNF- α との間には統計的有意な関係は認められなかった。また他の関連因子を含めて多変量解析を行ったところ、PISA とは sTNF-R2/TP が強く関係していることが明らかとなった。

今回の結果より、唾液中には sTNF-R が TNF- α より高いレベルで存在しており、歯周組織の炎症の拡大により、sTNF-R がより増加して、アタゴニスト的に TNF- α の増加を制御して炎症の悪化を抑制している可能性が考えられた。また歯周組織の炎症の拡大が唾液中の sTNF-R、特に sTNF-R2 の増加を誘発する可能性があることが示され、唾液中の誘発された sTNF-R が TNF- α によってもたらされる歯周炎の悪化の防止に関連している可能性があることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 貴船亮太, 守下昌輝, 村岡宏祐, 徳永隼平, 栗野秀慈
2. 発表標題 口腔疾患の臨床パラメーターと唾液中の細菌との関係
3. 学会等名 第12回日本総合歯科学会・総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 貴船亮太, 村岡宏祐, 角田聡子, 徳永隼平, 安細敏弘, 栗野秀慈
2. 発表標題 歯肉縁下プラーク中のStreptococcus gordoniiと歯周健康との関連
3. 学会等名 第79回九州歯科学会・総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 貴船亮太, 村岡宏祐, 角田聡子, 徳永隼平, 安細敏弘, 栗野秀慈
2. 発表標題 歯肉縁下プラーク中の細菌と歯周健康状態との関係
3. 学会等名 第11回日本総合歯科学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kibune R, Muraoka K, Kakuta S, Tokunaga J, Morishita M, Ansai T, Awano S
2. 発表標題 Examination of usefulness of DNA chip "Genopal" for clinical diagnosis of periodontal diseases.
3. 学会等名 Asia-Pacific Conference (国際学会)
4. 発表年 2019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
研究 分担者	角田 聡子 (Kakuta Satoko) (70364156)	九州歯科大学・歯学部・助教 (27102)	
研究 分担者	安細 敏弘 (Ansay Toshihiko) (80244789)	九州歯科大学・歯学部・教授 (27102)	
研究 分担者	村岡 宏祐 (Muraoka Kousuke) (80382422)	九州歯科大学・歯学部・講師 (27102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------