

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K17046

研究課題名（和文）アロマターゼ阻害薬が歯周組織構成細胞に及ぼす影響

研究課題名（英文）The effects of Aromatase-Inhibitor on gingival cells.

研究代表者

長谷川 詩織（HASEGAWA, SHIORI）

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：40806866

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：我々は、乳がん治療薬であるアロマターゼ阻害薬アナストロゾールを服用した70代の女性患者において、薬剤服用後に浮腫性の歯肉腫脹を認める一例を経験した。

本研究では、アナストロゾールが歯周組織構成細胞の1つである歯肉線維芽細胞内でのコラーゲン産生を亢進させ、同時にその代謝を阻害することが明らかとなった。また血管内皮細胞の細胞間接着因子の発現を減弱することでその血管透過性を亢進させ、浮腫性の歯肉増殖症を惹起する可能性が示された。さらに歯周病の原因であるP.g菌存在下では、アナストロゾールにより惹起される歯肉線維芽細胞の炎症反応が増強され、患者の口腔内環境が病態形成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

我々が経験した症例はアロマターゼ阻害薬服用後に生じた浮腫性の歯肉増殖としては他に例がない。本研究で示した結果は、アナストロゾールが浮腫性の歯肉腫脹を惹起させる作用を有しており、患者の宿主因子や口腔内環境と協調することで浮腫性歯肉増殖症といった臨床症状を呈する可能性があることを示唆している。アロマターゼ阻害薬はさらなる使用頻度の増加に伴い、今後本症例と類似した歯肉増殖症が副作用として出現する患者も増加することが予測される。本研究はアナストロゾールが歯肉増殖を引き起こす可能性を医療関係者や患者に注意喚起し、服用時の口腔ケアの重要性を認識させることにより、口腔機能や審美性の維持向上に有益と考える。

研究成果の概要（英文）：Gingival overgrowth is an unwanted side effect caused by various drugs such as antihypertensive drugs, immunosuppressants or anticonvulsants. Recently, we treated a patient aged 70s with chief complaint of rare edematous gingival overgrowth after taking aromatase-inhibitor for treatment of breast cancer in postmenopausal women. Since little has been reported that aromatase-inhibitors induce gingival overgrowth, we investigated the effects of aromatase-inhibitor (anastrozole) on cellular functions of human gingival fibroblasts (HGF) and endothelial cells (HUVEC) in vitro.

Stimulation with anastrozole increased the expression of collagen and decreased collagen metabolism in HGF. Further, stimulation with anastrozole exacerbated vascular permeability of HUVEC. Additionally, the inflammatory response of gingival fibroblasts induced by anastrozole was enhanced in the presence of P. g. This results indicate that the patient's oral environment may be involved in the pathogenesis.

研究分野：歯学

キーワード：歯肉増殖症 乳がん アロマターゼ阻害薬

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

私たちは、閉経後女性を対象とする乳がん治療薬、アロマターゼ阻害薬(AI)を服用した70代女性において顕著な浮腫性の歯肉増殖を特徴とする歯周炎の一例を経験した。海外では、類似症例の数例の報告がなされているが、浮腫性の歯肉増殖症の出現の報告は本邦初である。日本人女性における乳がん罹患患者数は毎年増加しており、AIは乳がん治療のホルモン療法における第一選択薬であることより、今後AIの服用患者数の大きな増加が予想されるため、AIが歯周組織に及ぼす影響を明らかにすることが必要と考えた。

## 2. 研究の目的

本研究ではAI服用が歯周組織に及ぼす影響を*in vitro*、*in vivo*実験系を用いて検討し、AIが歯肉増殖を誘発する分子機構の解明を目的とした。得られた研究成果は同副作用のない、新規AIの開発が期待されるとともに、医療関係者並びに患者に周知されることによる副作用への早期介入、ひいては口腔機能の維持向上の一端を担うことを目指すものである。

## 3. 研究の方法

本研究課題においては、以下の1)~3)の研究を実行することにより、非ステロイド型アロマターゼ阻害薬(AI)の1つであるアナストロゾールの歯肉増殖誘導機序を*in vitro*実験系を用いて検討した。なお以下に示す1)~4)の*in vitro*実験系においては、ヒト歯肉繊維芽細胞(HGF)および血管内皮細胞としてヒト臍帯静脈血管内皮細胞(HUVEC)を用いた。

1) アナストロゾール服用により、体内で生じると想定される性ホルモンバランスの変化がHGFおよびHUVECに及ぼす影響(間接作用)の解析について、以下の項目について検討する。まず、HGFの細胞増殖能に及ぼす影響をWST-1法にて検討した。次に、性ホルモンバランスの変調が細胞外基質(ECM)タンパクであり、歯肉を構成するコラーゲン、フィブロネクチン、デコリンの遺伝子およびタンパク発現に及ぼす影響をreal-time PCR法、ELISA法にて検討した。また、ECM分解に関わるMMP-1、3およびTIMP-1、2、3、HGFの細胞内タンパク分解作用に関与するCathepsin Familyの遺伝子およびタンパク発現をreal-time PCR法およびWestern blot法にて検討した。さらに、性ホルモンバランスの変調が血管内皮細胞の血管透過性に及ぼす影響をFITC-Dextranを用いた細胞透過性実験にて解析、検討した。2) アナストロゾールがHGFの炎症および骨吸収に関連するサイトカイン発現に及ぼす影響(直接作用)の解析については、歯周病原性細菌P.gingivalis(P.g) LPS存在下におけるアナストロゾールの濃度変化がHGFの炎症性及び骨吸収に関連するサイトカイン(IL-6、IL-8、MCP-1、IL-17、RANKL等)の発現に及ぼす影響について、real-time PCR法、ELISA法にて検討した。3) 薬剤性歯肉増殖症の発症機序の一つであるECM蓄積には、HGFにおける過度のカルシウムイオンの流入及び葉酸の吸収阻害が関与する。そこで、アナストロゾールがHGFのカルシウムイオン細胞内取り込みに及ぼす影響については、細胞内カルシウム流入試薬(Fluo 4-M)を用いて検討した。4) 歯肉増殖症を発症する1つのメカニズムとして、以前より薬剤による繊維芽細胞のコラーゲン貪食作用の低下が考えられている。申請者はコラーゲンコートしたビーズをHGFに貪食させたところ、アナストロゾール存在下では貪食作用が低下することをすでに予備実験にて観察しており、同様の方法にて詳細に検討した。

## 4. 研究成果

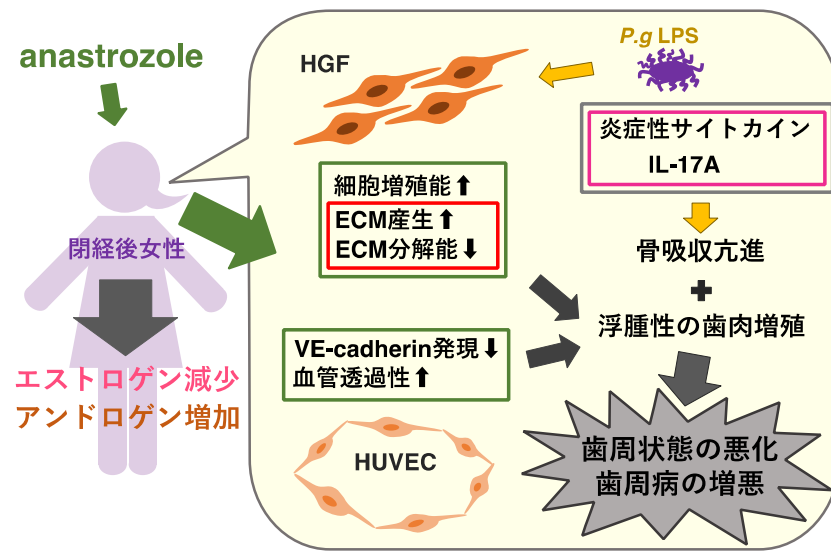
本研究では、AI服用が歯周組織に及ぼす影響、特にAI服用により体内で生じると想定される性ホルモンバランスの変化が歯周組織構成細胞に及ぼす影響(間接作用)について検討した。その結果、AIによる性ホルモンバランスの変化は歯肉線維芽細胞の細胞外基質(ECM)産生を亢進させる一方、その分解能を抑制させる結果が得られた。また、同時に性ホルモンバランスの変化は血管内皮細胞の血管透過性を亢進する結果も得られた。以上のことからAIによる性ホルモンバランスの変化は浮腫性の歯肉増殖の病態形成に寄与している可能性が示唆された。

また、AIが歯肉線維芽細胞の炎症および骨吸収に関連するサイトカイン発現に及ぼす影響(直接作用)の解析については、歯周病原性細菌P.g LPS存在下においてアナストロゾールの濃度変化が歯肉線維芽細胞の炎症性及び骨吸収に関連するサイトカインの発現に及ぼす影響について検討した。結果、AI存在下では歯周病原性細菌感染時に生じる炎症性サイトカイン及び骨吸収に関連するサイトカイン発現が増強され、骨吸収が亢進する可能性が示唆された。

さらに、浮腫性歯肉増殖症の発症機序の一つであるECM蓄積には、歯肉線維芽細胞における過度のカルシウムイオンの流入及び葉酸の吸収阻害が関与するとの報告がある。そこで、AIがHGFのカルシウムイオン細胞内取り込みに及ぼす影響について、細胞内カルシウム流入試薬(Fluo 4-M)を用いて検討した。その結果、AI刺激により歯肉線維芽細胞のカルシウム取り込みに有意に増強される結果が得られ、細胞内にECMが過剰に蓄積する一因となっている可能性が示唆された。加えて歯肉増殖症を発症する1つのメカニズムとして、以前より薬剤による繊維芽細胞のコラーゲン貪食作用の低下が考えられている。今回コラーゲンコートしたビーズをHGFに貪食させたところ、AI存在下ではコントロール群と比較して有意に貪食作用が低下することが観察された。以上の結果より、アナストロゾールがHGFに直接作用し、細胞内でのECMの代謝を阻害することで、歯肉増殖症の病態形成に関与している可能性が示唆された。

我々が経験した症例はAI服用後に生じた浮腫性の歯肉増殖としては他に例がない。本研究で示した結果は、アナストロゾールが浮腫性の歯肉腫脹を惹起させる作用を有しており、患者の宿主因子や口腔内環境と協調することで浮腫性歯肉増殖症といった臨床症状を呈する可能性があることを示唆している。AIはさらなる使用頻度の増加に伴い、今後本症例と類似した歯肉増殖症が副作用として出現する患者も増加することが予測される。本研究はアナストロゾールが歯肉増殖を引き起こす可能性を医療関係者や患者に注意喚起し、服用時の口腔ケアの重要性を認識させることにより、口腔機能や審美性の維持向上に有益と考え

る。



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1 . 発表者名 S. HASEGAWA, M YANAGITA, M.TATSUMI, M YAMASHITA, M KITAMURA, S.MURAKAMI
2 . 発表標題 The effects of aromatase inhibitor on gingival cells.
3 . 学会等名 第66回国際歯科研究学会日本部会 総会・学術大会
4 . 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----