

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：30110

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09944

研究課題名(和文) Positional HOX signatureに基づく歯周組織の診断と再生戦略

研究課題名(英文) Diagnostic and regenerative strategies for periodontal tissue based on the Positional HOX signature

研究代表者

長澤 敏行 (NAGASAWA, Toshiyuki)

北海道医療大学・歯学部・教授

研究者番号：90262203

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)：本研究は歯周炎局所の線維芽細胞が発現する部位特異的なHOX遺伝子/miRNAの発現を明らかにする目的として様々な線維芽細胞のホメオボックス遺伝子の解析を行った。歯肉、歯根膜、口唇および皮膚の線維芽細胞株を用いてマイクロアレイ解析を行ない、HOX遺伝子発現を検討した。矯正の便宜抜去時に同一患者から歯根膜線維芽細胞と歯肉線維芽細胞を分離し、遺伝子発現を比較した。DLX5、DLX6およびBarx1は歯根膜および歯肉線維芽細胞で高く、歯周組織に特異的なホメオボックス遺伝子であり、とりわけDLX5の高発現が歯根膜線維芽細胞の特徴であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体内に分布する間葉系幹細胞は異なるHOX遺伝子を発現し、細胞分化と組織の形成を制御することが報告されている。また関節リウマチの病変部では特徴的なHOX遺伝子の発現が認められることも報告され、HOX遺伝子は正常な組織の発生を制御するだけでなく、発現パターンによっては組織破壊への方向に導くことも示唆されている。これらの背景から歯周組織に特徴的なHOX遺伝子を明らかにすることで解剖学的に異なる部位における疾患の類似性および差異が明らかとなり、分子基盤に基づく治療が導入できる可能性が期待される。特に歯周組織再生においては幹細胞から歯根膜、歯槽骨および歯肉への分化を制御する基盤となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Purpose of this study was to examine HOX gene expression by fibroblasts in the periodontitis region. Microarray analysis was performed on gingival, periodontal ligament, lip and skin fibroblast cell lines to examine HOX gene expression. Periodontal ligament fibroblasts and gingival fibroblasts were isolated from the same patient at the time of orthodontic convenience removal, and gene expression was compared. DLX6 and Barx1 were high in periodontal ligament and gingival fibroblasts compared with lip and dermal fibroblasts. In particular, high expression of DLX5 was suggested to be characteristic of periodontal ligament fibroblasts.

研究分野：歯周病学

キーワード：HOX DLX5 DLX6 Barx1 periodontal ligament gingival fibroblasts

# 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

顎顔面の発生では神経堤細胞が間葉系幹細胞として様々な部位に供給され、線維芽細胞に分化して組織の形成・維持を担う。我々は歯周疾患において、炎症が歯肉に限局する場合は歯肉線維芽細胞が OPG を多量に産生して骨吸収を防ぐのに対し、その内側にある歯根膜や骨膜に炎症が及ぶ場合には、歯根膜線維芽細胞や骨芽細胞が RANKL 発現を亢進させて骨吸収を促進し、感染から遠ざかるように働くことを報告してきた。生体内に分布する間葉系幹細胞は異なる HOX 遺伝子を発現し、細胞分化と組織の形成を制御することが報告されている。HOX 遺伝子は正常な組織の発生を制御するだけでなく、発現パターンによっては組織破壊への方向に導くことも示唆されている。さらに HOX 遺伝子発現の miRNA による制御も報告されている。

## 2. 研究の目的

HOX 遺伝子に基づく歯周炎患者の組織破壊の診断と歯周組織再生の最適化を行うことを目的として歯肉線維芽細胞および歯根膜線維芽細胞の遺伝子発現を網羅的に解析した。

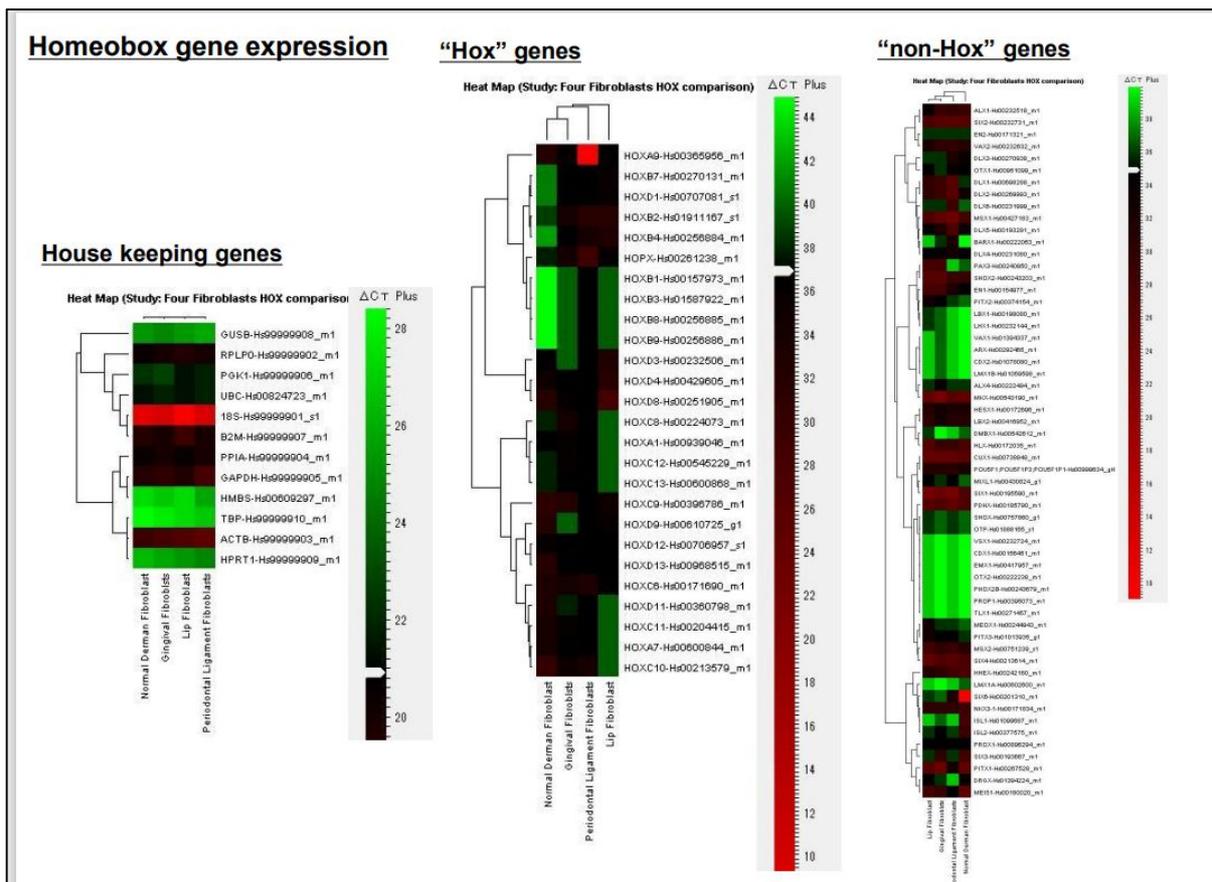
## 3. 研究の方法

I ヒト歯周炎組織、健常組織における HOX 遺伝子発現の検討:フラップ手術を必要とする歯周炎患者、矯正用便宜抜去を行う患者を対象とした。被験者のアタッチメントレベル・骨欠損などの臨床症状を記録し、歯周炎患者のフラップ手術時に肉芽組織を採取し、歯肉線維芽細胞を培養した。矯正用便宜抜去の抜去歯から歯根膜および歯肉組織を採取し歯根膜線維芽細胞、歯肉線維芽細胞を培養した。また比較対象として口唇の線維芽細胞、皮膚の線維芽細胞を培養した。それぞれの線維芽細胞に発現する HOX 遺伝子のマイクロアレイ解析を行い、解剖学的部位と HOX 遺伝子発現の関係について検討した。

II ヒト歯根膜細胞および歯肉線維芽細胞における遺伝子発現の網羅的解析:歯根膜細胞および歯肉線維芽細胞の RNA sequence を行い、解剖学的部位と遺伝子発現の関係について検討した。

## 4. 研究成果

皮膚と比較して歯肉、歯根膜、口唇の線維芽細胞株では EN1, DLX-1, DLX-2, SIX, SHOX1, DLX5, DLX4 の発現が上昇していた。



歯根膜および歯肉線維芽細胞株では口唇および皮膚の線維芽細胞株と比較して DLX5, DLX6 および Barx1 の遺伝子発現量が多いことが RT-PCR で確認された。

同一患者から得られた歯根膜細胞と歯肉線維芽細胞では歯根膜線維芽細胞で DLX5 の遺伝子発現

が歯肉線芽細胞よりも有意に高かった。歯周組織を構成する株化細胞にも HOX 遺伝子の発現が見られ、歯根膜、歯肉および口唇では差異が存在するものの、皮膚と比較すると共通点が多く、部位特異的なホメオボックス遺伝子の発現が線維芽細胞に保存されていることが示唆された。さらに siRNA を用いて歯根膜細胞の DLX5 および DLX6 発現を抑制し、ALP、OPG および IL-6 発現の発現変化を検討した。その結果 DLX5、DLX6 の抑制によって ALP 発現は低下し、OPG 発現は上昇した。

## 5 . 結論

DLX5,DLX6 および Barx1 は歯根膜および歯肉線維芽細胞で高かった。歯周組織に特異的なホメオボックス遺伝子であり、とりわけ DLX5 の高発現が歯根膜線維芽細胞の特徴であることが示唆された。歯根膜細胞は歯肉線維芽細胞と比較して ALP 発現が高く、OPG および IL-6 発現が低いという特徴は、DLX5 および DLX6 発現と関連することが示唆された。

## 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 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 53.Masatoshi Yamashita, Toshiyuki Nagasawa, Satsuki Kato, Hiroshi Miyakawa, Mari Fujita, Yasushi Furuichi, and Keiji Nagano	4. 巻 13
2. 論文標題 Draft Genome Sequence of Neisseria mucosa Strain HSUH001, Isolated from Aggressive-Periodontitis Lesion	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microbiol Resour Announc.	6. 最初と最後の頁 00238-21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MRA.00238-21.	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 Toshiyuki Nagasawa, Satsuki Kato, Yasushi Furuichi	4. 巻 2210
2. 論文標題 Evaluation of the virulence of Aggregatibacter actinomycetemcomitans through the analysis of leukotoxin.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 185-193
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/978-1-0716-0939-2_18.	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 -
1. 著者名 54.Hiromi Kominato, Kohei Takeda, Koji Mizutani, Risako Mikami, Daisuke Kido, Prima Buranasin, Natsumi Saito, Shu Takemura, Keita Nakagawa, Toshiyuki Nagasawa, Takanori Iwata	4. 巻 93
2. 論文標題 Metformin accelerates wound healing by Akt phosphorylation of gingival fibroblasts in insulin-resistant prediabetes mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Periodontol	6. 最初と最後の頁 256-158
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/JPER.21-0362. Epub 2021 Sep 23.	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 -
1. 著者名 Ye C, Katagiri S, Miyasaka N, Kobayashi H, Khemwong T, Nagasawa T, Izumi Y.	4. 巻 24
2. 論文標題 The periodontopathic bacteria in placenta, saliva and subgingival plaque of threatened preterm labor and preterm low birth weight cases: a longitudinal study in Japanese pregnant women.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clin Oral Investig.	6. 最初と最後の頁 4261-4270
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00784-020-03287-4.	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0件

〔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	岩崎 剣吾  (IWASAKI Kengo)  (40401351)	大阪歯科大学・歯学部・准教授    (34408)	

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
---------	---------