

令和 5 年 5 月 19 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18536

研究課題名（和文）特発性歯肉線維腫症治療の標的分子の探索

研究課題名（英文）Search for target molecules for the treatment of Idiopathic gingival fibromatosis

研究代表者

岡信 愛（Okano, Ai）

広島大学・病院（歯）・歯科診療医

研究者番号：00806581

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）：NR4A1ノックアウトマウスに歯周炎を惹起させると、WTマウスと比較し、結合組織内部に密なコラーゲン線維束を有する顕著な歯肉腫脹を認めた。
次に慢性歯周炎あるいは特発性歯肉線維腫症患者から採取したHGFを用いて、RNAシークエンスを行った。Kegg-pathway解析で、ECM-receptor interactionやTGF-beta signaling pathwayなどに発現変動遺伝子の集積を認め、NR4A1の発現に明らかな変動は認めなかった。一方で、組織線維化に関わると報告のあるインテグリン 8、インテグリン 11、トランスグルタミナーゼ2（TGM2）に発現の変動傾向を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果から、マウスの歯肉線維化にNR4A1の関与が示唆された一方で、ヒトの特発性歯肉線維腫症では明らかな発現の変動を認めなかった。過去に薬物性歯肉増殖症についてNR4A1の関与が示唆されているが、特発性歯肉線維腫症については、他のメカニズムが関与している可能性がある。今後はNR4A1だけでなく、本研究で発現の変動を認めたインテグリン 8、インテグリン 11、TGM2などにも焦点をあて、その関係性について検討を行うことが、特発性歯肉線維腫症のみならず、種々の線維化疾患のメカニズムの一端を解明することにつながると思われる。

研究成果の概要（英文）：When periodontitis was induced in NR4A1 knockout mice, marked gingival swelling with dense collagen fibers inside the connective tissue was observed compared to WT mice. Next, RNA sequencing was performed using HGF collected from patients with chronic periodontitis or idiopathic gingival fibromatosis. Consequently, Kegg-pathway analysis showed accumulation of genes with altered expression in ECM-receptor interaction and TGF-beta signaling pathway, but no obvious changes in NR4A1 expression. On the other hand, integrin 8, integrin 11, and transglutaminase 2 (TGM2), which have been reported to be involved in tissue fibrosis, showed fluctuations in their expression.

研究分野：歯周病

キーワード：特発性歯肉線維腫症

1. 研究開始当初の背景

特発性歯肉線維腫症は、原因不明の歯間乳頭部を中心とした歯肉の線維性の増殖であり、線維化疾患の一つである。特発性歯肉線維腫症は発症頻度や原因が不明であることから、根本的な治療法が解明されていない (Katarzyna Gawron et al., 2016)。そのため、審美的、機能的障害に対する苦痛が長期間に及ぶことも多く、さらに対症療法としての歯肉切除術は外科的侵襲を伴う上に再発の可能性も高く (Mahesh Jayachandran et al., 2013)、根本的な治療法の開発が期待されている。

過去の報告で、さまざまな線維化疾患で、オーファン核内受容体 NR4A1 の機能抑制によって、TGF- β の負の制御機構が破綻し、コラーゲンの合成が過剰となることが明らかとなった (Katrin Palumbo-Zerr et al., 2015)。申請者はこれまでに薬物性歯肉増殖症のメカニズム解明に着手し、NR4A1 ノックアウトマウスに歯周炎を惹起させると、歯肉増殖が生じることを確認している。特発性歯肉線維腫症は薬物性歯肉増殖症と極めて類似した臨床所見、病理組織像を示すため、同様のメカニズムが発症に関与していることが予想される。したがって、特発性歯肉線維腫症の発症にも、歯周組織の炎症と NR4A1 が関与していると仮説を立てた。

本研究により、特発性歯肉線維腫症の原因が明らかになれば、新規治療薬開発が期待できる。さらに本研究は、特発性歯肉線維腫症の治療のみならず、今後発展が期待されるオーダーメイド医療を促進するためにも意義のある研究である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、特発性歯肉線維腫症の発症しやすさに影響を与える遺伝子を特定し、さらに特定した遺伝子を応用した新規治療方法を確立することである。本研究によるメカニズムの解明は、新規治療法や予防法の開発につながり、薬剤変更や外科処置が困難な患者、口腔衛生管理が困難な超高齢の薬物性歯肉増殖症患者にとって大きな負担軽減となる。

3. 研究の方法

実験 1. 特発性歯肉線維腫症における NR4A1 の役割の解明

実験 2. 特発性歯肉線維腫症の治療薬の標的分子の探索

研究方法の概要として、まず、*in vivo* で NR4A1 が歯肉増殖に与える影響を詳細に観察し、その後ヒトを対象とした研究を行う計画とした。ヒトから採取するサンプルは、歯肉切除術によって切除された増殖歯肉を使用した。採取した歯肉から得た細胞を使用して、*in vitro* で遺伝子発現の変化について解析し、原因遺伝子の特定を目指すこととした。

研究計画・方法

実験 1. 特発性歯肉線維腫症における歯肉炎と NR4A1 の役割の解明

NR4A1 ノックアウトマウスの上顎第二臼歯に絹糸を結紮し、炎症を惹起させたのち、肉眼的観察を行った後、HE 染色、シリウスレッド染色を用いて病理組織学的所見を観察した。

実験 2. 特発性歯肉線維腫症患者の歯肉線維芽細胞 (HGF) の遺伝子発現の変化を解析する

広島大学病院歯周診療科を受診する患者のうち、特発性歯肉線維腫症と診断された患者に対し、治療上必要な歯肉切除術を行ったのち、切除した歯肉から線維芽細胞を取り出し培養した。培養した歯肉線維芽細胞は RNA シークエンスを行い、遺伝子発現の変化を解析した。対照群は慢性歯周炎患者の抜歯時に得られた歯肉から同様の方法で取り出した線維芽細胞を使用した。

4. 研究成果

実験 1

特発性歯肉線維腫症における NR4A1 の役割について検討した結果を以下に示す。

- ① 上顎両側第二臼歯に 5-0 絹糸を結紮後、5 週間飼育した後、絹糸結紮部周囲の歯肉を観察したところ、NR4A1 ノックアウトマウスでは、WT マウスと比較し、顕著な歯肉腫脹を認めた。(図 1)
- ② WT マウスと比較して HE 染色像では、顕著な結合組織の増大を認め、シリウスレッド染色にて、結合組織内部には密なコラーゲン線維束が観察された。(図 2 a, 図 2 b)

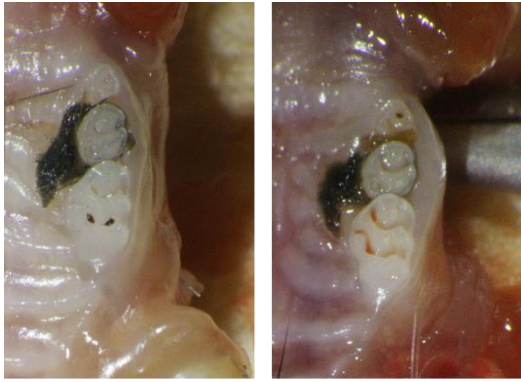
実験 2

慢性歯周炎あるいは特発性歯肉線維腫症患者から採取した HGF を用いて、RNA シークエンスを行った結果を以下に示す。

- ① Kegg-pathway 解析により、ECM-receptor interaction や TGF-beta signaling pathway などに発現変動遺伝子の集積を認めた。(図 3 a)
- ② 慢性歯周炎患者と比較して、NR4A1 の発現に変動は認めなかった。(図 3 b)
- ③ 組織線維化に関わると報告のあるインテグリン $\alpha 8$ 、インテグリン $\alpha 11$ 、トランスグルタミナーゼ 2 (TGM2) に発現の変動傾向を認めた。(図 3 c,d,e)

以上の結果から、様々な遺伝子が特発性歯肉増殖症の発症に関わっている可能性が示唆された。今後は NR4A1 だけでなく、インテグリン、TGM2 などにも焦点をあて、その関係性について検討を行うことが、特発性歯肉線維腫症のみならず、種々の線維化疾患のメカニズムの一端を解明することにつながると考える。

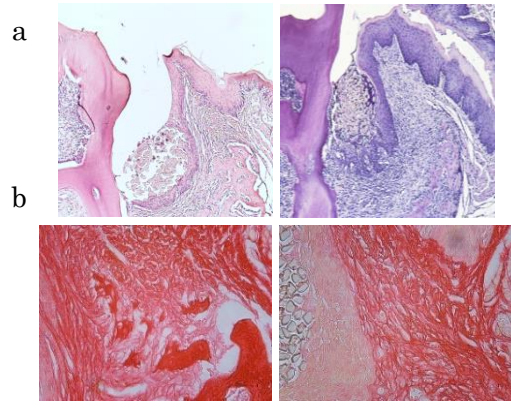
☒ 1



WT

NR4A1-/-

☒ 2



a

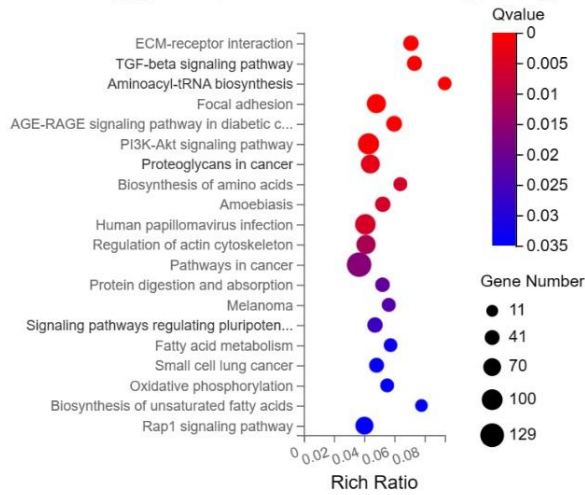
b

WT

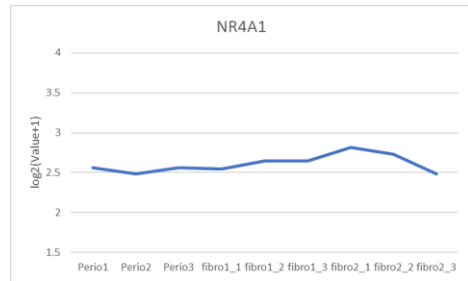
NR4A1-/-

☒ 3

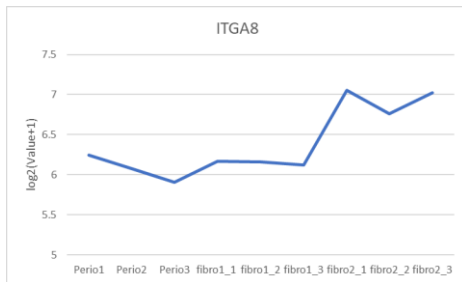
a kegg_pathway Enrichment bubble chart((Case1_2 / contr



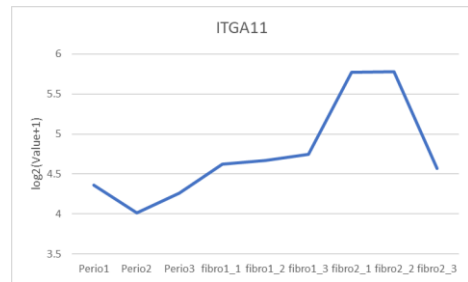
b



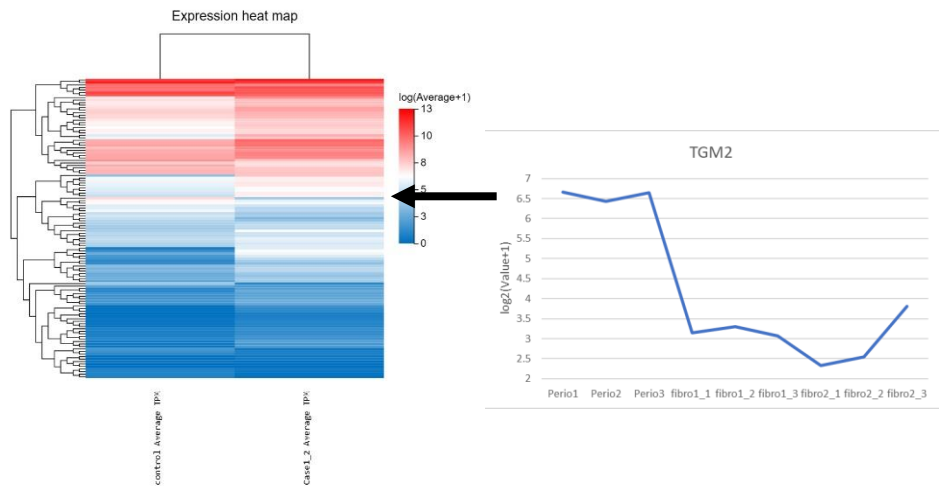
c



d



e



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
研究協力者	松田 真司 (Matsuda Shinji)		
研究協力者	加治屋 幹人 (Kajiya Mikihito)		
研究協力者	水野 智仁 (Mzuno Noriyoshi)		
研究協力者	畑野 紗希 (Hatano Saki)		

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