

機関番号：12602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21792063

研究課題名（和文） RNAiを用いた消化管ホルモン「インクレチン」による歯槽骨再生

研究課題名（英文） Regeneration of alveolar bone using RNAi via gastrointestinal hormone 'Incretin' signal pathway.

研究代表者

渡 一平 (WATARI IPPEI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：10431941

研究成果の概要（和文）：

栄養素の消化吸収とともに消化管から分泌されるインクレチンは、膵臓からのインスリン分泌を促し血糖値を下げる働きを持つが、この消化管ホルモン「インクレチン」が歯槽骨再生における新規標的分子としての可能性をRNAiを用いて探ることが本研究の目的である。*In vitro*における骨芽細胞培養系のモデルとしてMC3T3-E1を使用し、GIP-R, GLP-1-R, Ob-Rb等の発現をPCRで確認したところ、GLP-1-Rの発現は確認されずGIP-Rの受容体発現についても再現性を得ることが困難であった。

一方、糖代謝に関連する因子として、インスリンに着目してモデル動物（STZ-Induced diabetic rat, Wistar fatty rat）の解析を行ったところ、耐糖能異常が頭蓋顎顔面骨および歯槽骨代謝に影響を及ぼし、特に頭蓋顎顔面骨においては深刻な成長発育不全がもたらされることが確認された。また耐糖能異常は成長期ラット下顎切歯の形成にも影響を与え、歯の形成障害を引き起こすことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

Incretin, a family of the gastrointestinal hormone, which is secreted from intestinal ducts upon the digestion and intake of food, and controls the blood glucose level by promoting insulin secretion from pancreas. Recently, it has been reported that incretin might affect on bone metabolism. So the purpose of this research was to explore the ability of incretin to promote alveolar bone regeneration. At first, we analyzed the receptor expression of cell surface (GIP-R, GLP-1-R, Ob-Rb) using MC3T3-E1, but the result of receptor expression were unstable. On the other hand, focusing on the relationship between glucose and calcium metabolism, we analyzed the insulin signal effects on bone metabolism using diabetes animal models (STZ-induced diabetic rat, Wistar fatty rat). We found that poor insulin tolerance result in the severe growth retardation in craniofacial region, especially hard tissue like cranium, mandible and alveolar bone. And we also found that insulin deficiency from infant stage caused the disorder of tooth formation in rats.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：歯学

科研費の分科・細目：歯科矯正学

キーワード：RNAi、インクレチン、消化管ホルモン、歯槽骨再生、糖代謝、骨代謝
顎顔面頭蓋骨、成長発育、GIP、GLP-1

1. 研究開始当初の背景

先天異常、外傷、歯周病、腫瘍摘出時の顎骨切除などにより欠損した歯槽骨の再生については、様々な方法が試みられているが、現在までの手法としては、骨形成促進因子を外来性に投与あるいは発現させ、骨形成を促すものがほとんどである。しかしこの場合、外来物の投与による副作用や強制発現させた因子による持続的な影響が無視できないことが多く、臨床応用に際して大きな壁となることが多い。そこでこれらの難題を解決するため、RNAiを用いて内因性の骨形成抑制因子をノックダウンすることで、限られた一定の時間に効率的かつ副作用なく歯槽骨を再生することが望まれる。これらの学術的背景のもと内因性に骨代謝に関わる新規標的分子として消化管ホルモン「インクレチン」に着目し歯槽骨再生を目指す基礎研究を行った。

2. 研究の目的

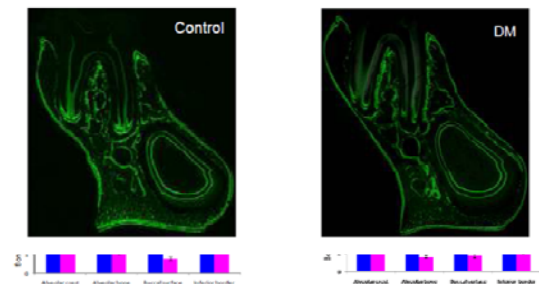
栄養素の消化吸収とともに消化管から分泌されるVIP(血管作動性腸管ポリペプチド)やCCK(コレシストキニン)などの消化管ホルモンは骨代謝に影響を及ぼすことが知られている。一方、上部消化管から分泌されるインクレチンは膵臓からのインスリン分泌を促し血糖値を下げる働きを持つ。インクレチンにはGIP(gastric inhibitory polypeptide)とGLP-1(glucagon-like peptide-1)があり、それぞれ小腸のK細胞およびL細胞から分泌され、その生理作用は膵B細胞に存在する受容体を介して行われる。近年、GIP受容体欠損動物およびGLP-1受容体欠損動物を用いた解析によって、GIPおよびGLP-1は骨代謝の制御にも関わることが明らかとなった。そこで、RNAiにより内因性のインクレチンシグナルを抑制することが歯槽骨再生の新たな手法になり得るかを探ることを目的とした。

3. 研究の方法

RNAiを用いて内因性の骨代謝制御に関わる遺伝子をノックダウンすることで、歯槽骨の再生を促すことが本研究の目的である。RNAiの標的遺伝子は消化管ホルモン「インクレチン」受容体であるGIP受容体およびGLP-1受容体遺伝子とした。まず、in vitroにてGIP、GLP-1に対するsiRNAを培養骨芽細胞に投与し、骨芽細胞の機能に関して検討を行った。

4. 研究成果

骨芽細胞に発現するインクレチン受容体(GIP-R、GLP-1-R)と糖代謝、骨代謝関連因子受容体の発現の検索と、糖代謝に関連して顎顔面領域の骨代謝に影響する因子の検索を行った。In vitroにおける骨芽細胞培養系のモデルとしてMC3T3-E1(RIKEN CELL BANK)を使用し、GIP-R、GLP-1-R、Ob-Rb、AdrB-R等の発現をPCRで確認したところ、GLP-1-Rの発現は確認されずGIP-Rの受容体発現についても再現性が得ることが困難であった。一方、糖代謝に関連する因子として、インスリンに着目してモデル動物(STZ-Induced diabetic rat, Wistar fatty rat)の解析を行ったと

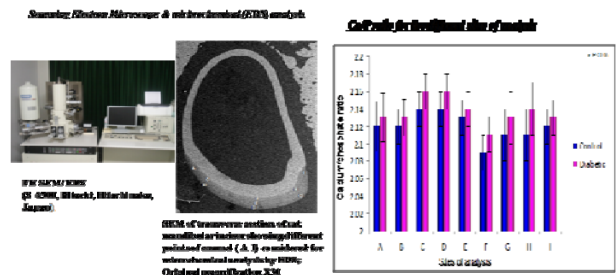


ころ、耐糖能異常が頭蓋顎顔面骨および歯槽骨代謝に影響を及ぼし、特に頭蓋顎顔面骨においては深刻な成長発育不全がもたされることが確認された(Fig1,2; European Journal of Oral Sciences 2010)。

Fig.1 Front section of the rat mandibular second molar region. Fluorescent labeling on the periosteal surface indicates new bone formation.

Fig. 2

The changes in mineral appositional rate (MAR) of the mandible between control and Diabetes rats.



また、耐糖能異常は成長期ラット下顎切歯の形成にも影響を与え、歯の形成障害を引き起こすことが明らかとなった (Fig.3 IADR

General Session 2011 San Diego)。

Fig. 3

Scanning Electron microscope and Electrochemical (EDS) analysis of the mandibular incisors.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Mona Aly Abbassy, Ippei Watari, Kunimichi Soma. The effect of diabetes mellitus on rat mandibular bone formation and microarchitecture. **Euro J Oral Sci** 118:364-9:2010.

[学会発表] (計 10 件)

1 Mona Aly Abbassy, Ippei Watari. Calcitonin and Vitamin D3 improve bone formation in diabetes mellitus. International Association for Dental Research. General Session, Spain, 2010.

2 Mona Aly Abbassy, Ippei Watari, Takashi Ono. Craniofacial growth in type I diabetes mellitus: keys for successful comprehensive orthodontic therapy. 第 69 回日本矯正歯科学会大会, 横浜, 2010 年 9 月.

3 武居真希, 米満郁男, 渡一平, 小野卓史. 成長期における咀嚼筋力低下がラット下顎頭軟骨下骨に及ぼす影響. 第 69 回日本矯正歯科学会大会, 横浜, 2010 年 9 月.

4 本田康二, 渡一平, 小野卓史. 咬合刺激低下はラット下顎歯槽骨微細構造に変化をもたらす. 第 69 回日本矯正歯科学会大会, 横浜, 2010 年 9 月

5 服部育子, 渡一平, 小野卓史. 成長期の下顎骨機能的側方偏位が顎関節潤滑能に及ぼす影響について. 第 69 回日本矯正歯科学会大会, 横浜, 2010 年 9 月.

6 Mona Aly Abbassy, Ippei Watari, Kunimichi Soma. Type I diabetes condition adversely affects mandibular bone formation. International Association for Dental Research. General session, April 2009.

7 渡一平、福山英治、相馬邦道. 上顎に多数歯埋伏と垂直的劣成長を伴う成人下顎前突出症例. 第 19 回日本顎変形症学会総会, 仙台, 2009 年 6 月

8 Maki Takei, Ikuo Yonemitsu, Ippei Watari. Influence of Masseter Muscle Activity on the Subchondral Bone in the Growing Rat Temporomandibular Joint. The 42nd Annual Scientific Congress of the Korean Association of Orthodontists, Korea, November, 2009.

9 Ikuko Kure, Ippei Watari: Effects of Functional Lateral Shift of the Rat Mandible on Lubrication of the Temporomandibular Joint. The 42nd Annual Scientific Congress of the Korean Association of Orthodontists, Korea, November, 2009.

10 本田康二, 渡一平. 咬合刺激下においてエストロゲン欠乏がラット歯槽骨に及ぼす影響について. 第 68 回日本矯正歯科学会大会, 福岡, 2009 年 11 月.

[図書] (計 1 件)

The Effect of Type I Diabetes Mellitus on the Craniofacial Complex.

Mona Abassy, Ippei Watari, Takashi Ono

Intech Open Access Publisher.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡 一平 (WATARI IPPEI)

研究者番号：10431941

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし