

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：24303

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K21092

研究課題名（和文）体内時計の乱れが歯周炎の病態に与える影響 ～マウスコホート系を用いた前向き研究～

研究課題名（英文）A cause of chronic circadian misalignment in periodontal tissues

研究代表者

小野 龍太郎（Ono, Ryutaro）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：80908004

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：24時間社会に暮らす現代人のライフスタイルは、地球本来の環境から逸脱したものとなっている。このような「体内時計と光環境の時間的不適合」は、全身の様々な生理機能に悪影響を及ぼし、多くの疾患の発症リスクにも繋がる。歯科口腔領域では、交代制勤務者の歯周炎罹患率が高いことが疫学的に示されているが、その因果関係には未解明な点が多い。歯周炎は、口腔機能の低下に直結するだけでなく全身の健康とも深く関与するため、その予防対策は社会的に重要なテーマである。本研究では、長期にわたる明暗周期の攪乱（シフトワークモデル）が口腔内組織に与える影響を前向き観察で捉え、その背景にある歯周炎の病態メカニズム解明を目指した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

厚生労働省の歯科口腔保健施策にも記載があるように、生活習慣病としての歯周炎の位置付けをより明確にし、社会全体で疾病予防に取り組む姿勢が望まれている。今回われわれは、現実社会で起きているシフトワークを適切に反映したマウス・コホート系（性別・週齢・ゲノム情報を全て同一に揃え、光のON/OFFタイミングだけを変化させたリバーストランスレショナル研究）を用いることで、概日リズムの攪乱が歯周炎を増悪させる可能性を動物実験レベルではじめて確認した。この知見は、従来の疫学的エビデンスを裏付けるものであり、歯周炎の発症リスク予測や個別化予防の実現に向けた意義のあるデータになると考えている。

研究成果の概要（英文）：The 24/7 lifestyle in modern society disrupts natural circadian rhythms and leads to deleterious effects on individual's health. Although there is a cross-sectional study suggesting the relationship between shift work and periodontitis, the underlying mechanism of this process remains not well understood. In this research observing the effects of light-dark shift on periodontal tissues, we reared C57BL/6 mice for 58 weeks under two different 12:12 hour light-dark cycles; normal light-dark condition or non-adjustive 8 hour phase advance every 4 days (ADV) condition. Micro-CT scanning showed the increased alveolar bone loss of mandibular lower molar in ADV group. From histological analysis, we also found the gingival inflammation findings. These results indicates that the long-term circadian misalignment might have negative impacts on periodontal tissues.

研究分野：口腔解剖学、環境生理学、時間生物学

キーワード：体内時計 概日リズム マウス・コホート研究 リバーストランスレショナルリサーチ シフトワーク 歯周疾患

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

24 時間化されたグローバル社会を生きる現代人のライフスタイルは、地球本来の環境から大きく逸脱したものとなっている。このような「体内時計と光環境の時間的不適合」は、全身の様々な生理機能に悪影響を及ぼし、多くの疾患の発症リスクにも繋がる。歯科口腔領域でも、交代制勤務者(シフトワーカー)における歯周炎の罹患率が日中勤務者と比べて約 1.2 倍高いことが疫学調査で明らかにされているが(Han et al, 2013)、概日リズム制御系との因果性を示唆する実験的エビデンスは乏しく、病態メカニズムの解明や予防法の開発には至っていない。それは、現実社会で起きているシフトワークを基礎研究へ落とし込んだ動物実験モデルが十分に確立されていないためであると考えた。

2. 研究の目的

歯周炎は成人の 7 割以上が罹患する細菌感染症であり、近年では口腔領域の生活習慣病とも位置付けられている。歯周炎は口腔機能の維持や良好な栄養摂取を妨げるのみならず、糖尿病や関節リウマチといった全身の健康とも深く関与することから極めて重要なテーマであり、社会全体で疾病予防に取り組む姿勢が望まれている。しかし、ヒトを対象とした疫学調査のみでは、喫煙や社会的ストレスといった生活習慣因子の影響を完全に排除することが困難であった。そこで本研究では、共同研究者の京都府立医科大学の八木田和弘教授らが確立した独自のアプローチである、マウスの性別・週齢・ゲノム情報を全て同一に揃え、ライトの ON/OFF タイミングだけを変化させたりバーストランスレーショナル研究「マウス・コホート系」を用いることで、長期にわたる明暗周期攪乱(シフトワークモデル)が口腔内組織に与える影響を、前向き観察研究で捉え、その背景にある歯周炎の病態メカニズムの解明を目指した。

3. 研究の方法

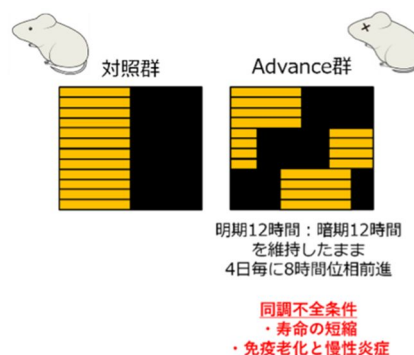
上記目的の達成のため、八木田教授の研究グループによる先行研究(Inokawa et al, Sci. Rep., 2020; Minami et al, Sleep Biol Rhythm, 2018)に準拠した 2 種類の光環境下で野生型 C57BL/6 マウスを飼育観察した。

(条件 1) 対照群

通常の明暗条件。12 時間明期・12 時間暗期

(条件 2) Advance 群

4 日毎に 8 時間ずつ明暗周期を前倒し。同調不全条件



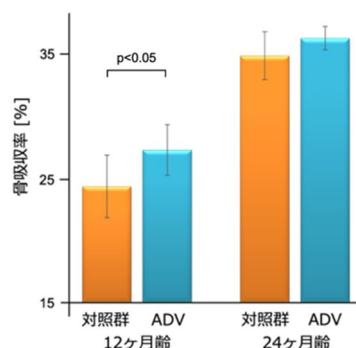
生後 20~100 週齢の各段階で下顎骨を摘出し、大阪大学大学院歯学研究科の阿部真土講師の協力のもと、マイクロ CT を用いた歯槽骨吸収量の定量解析および骨密度測定、歯周組織の脱灰標本の組織学的観察を行った。

4. 研究成果

まず、通常の明暗条件下で飼育したマウス(対照群)を用いて、歯槽骨吸収の加齢性変化をマイクロ CT で定量的に評価した。マウス下顎第二臼歯の歯槽骨吸収は、歯根完成後から開始するが、生後 20 週齢から 50 週齢にかけては変化が見られなかった。その後、生後 1 年半~2 年の間に歯槽骨吸収は急激に進行し、最終的に歯根全体の 40% 近くまで及ぶことを明らかにした(Ono et al, J.Oral.BioSci. 2021)。これまでにマウスを寿命に至る週齢まで長期間飼育し、その口腔内の変化を経時的に観察した報告はなく、当該分野はもちろん、幅広い歯科医学領域での研究に応用可能な基盤データになると考える。

続いて、マウス・コホート系を用いた予備的検討を行ったところ、生後 10 週齢から 10 ヶ月間にわたり光周期の攪乱条件下で飼育したマウス(Advance 群)では、対照群と比べて歯槽骨吸収が有意に増加していた。一方、24 ヶ月齢になると加齢による影響が大きく反映され、歯槽骨吸収に統計学的な差は認められなかった。

上記の結果を参考に使用するマウスの週齢を 8 ヶ月齢に設定したマウス・コホート研究を新たに開始した。Advance 群では対照群に比して歯槽骨吸収が進行していたが、歯槽骨頂部の骨密度に有意差はなかった。顎骨を含む歯周組織の脱灰標本を作成し H-E 染色を行ったところ、Advance 群の



歯槽骨表面は粗造化し、歯槽頂部には骨吸収を伴う不整な形態が観察された。また、歯肉結合組織の炎症細胞浸潤、根間中隔表層の破骨細胞は Advance 群で多く見られる傾向にあった。これらの結果は、概日リズム攪乱が歯周疾患を増悪させる可能性を実験動物レベルで再現できたことを示唆するものである。今後は、次世代シーケンサーを用いた口腔内細菌のメタゲノム解析などを加えたより体系的な研究を計画している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Ryutaro Ono, Makoto Abe, Nobuya Koike, Hitoshi Inokawa, Yoshiki Tsuchiya, Yasuhiro Umemura, Yuh Sasawaki, Toshiro Yamamoto, Satoshi Wakisaka, Narisato Kanamura, Kazuhiro Yagita	4. 巻 63
2. 論文標題 Quantitative morphometric analysis of molar teeth and alveolar bone using micro-computed tomography in aged mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of oral biosciences	6. 最初と最後の頁 265-270
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.job.2021.07.006	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 -

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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