

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：34408

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K17084

研究課題名（和文）乳酸を用いたエネルギー代謝活性化型・新規歯周組織再生治療の創製

研究課題名（英文）Creation of Energy Metabolism-Activated and Novel Periodontal Tissue Regenerative Therapy Using Lactic Acid

研究代表者

中田 貴也（Nakata, Takaya）

大阪歯科大学・歯学部・講師（非常勤）

研究者番号：40803317

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：乳酸は組織再生や硬組織の分化に重要な役割を果たすことが明らかになりつつある。申請者らは低グルコース環境における乳酸欠乏によって、歯根膜幹細胞の硬組織形成を阻害することを発見し、乳酸が歯周組織再生を促進するエネルギー源となる可能性を見出した。本研究ではヒト歯根膜細胞を用いて、「生理活性物質」としての乳酸が歯周組織再生に有用であるのか、そのメカニズムの一端を解明した。さらに、本研究で得られた成果をもとに、乳酸製剤を用いた新規歯周組織再生治療を開発するための基盤構築を行うこととする。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究においては、細胞分化に必要なエネルギー源を供給する「生理活性物質」として乳酸を歯周組織再生治療に応用できる可能性を探るという点であり、乳酸が組織再生を活性化させる因子として利用するというアイデアの点で学術的意義がある。また現在、歯周組織再生治療に用いる薬剤や材料はその製造には高価なコストがかかるというデメリットがある。しかし、乳酸製剤はトウモロコシやイモ等の植物から作ることが可能であるため製造コストは非常に安価であり、アレルギーなどの有害事象についても少ないという特色に社会的意義を見出すことができると考える。

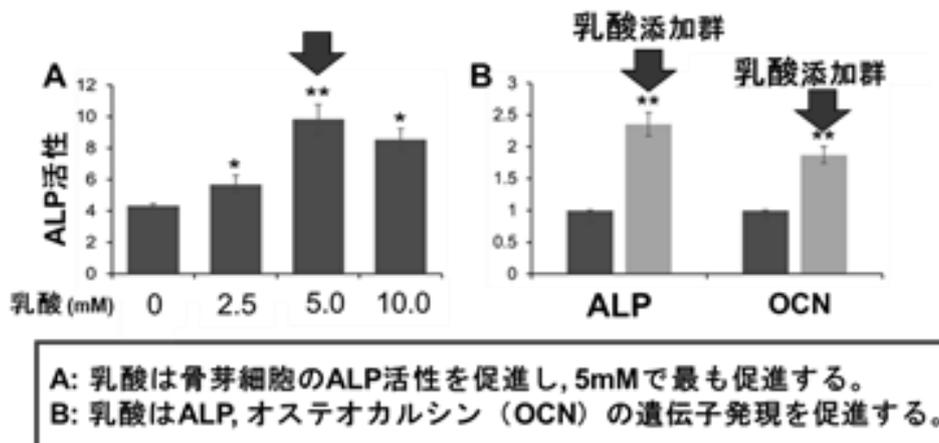
研究成果の概要（英文）：It is becoming clear that lactate plays an important role in tissue regeneration and hard tissue differentiation. We found that lactate deficiency in a low glucose environment inhibits hard tissue formation in periodontal ligament cells and that lactate may be an energy source that promotes periodontal tissue regeneration. In this study, using human periodontal ligament cells, we elucidated part of the mechanism by which lactate, as a “bioactive substance,” is useful for periodontal tissue regeneration. Furthermore, based on the results obtained in this study, we will establish a basis for developing a novel periodontal tissue regeneration therapy using lactic acid agents.

研究分野：歯周病学

キーワード：乳酸 再生

1. 研究開始当初の背景

- ① 乳酸は嫌気性代謝による老廃物と考えられていた。しかし、近年の研究で、乳酸は様々な組織のエネルギー源として機能するだけでなく、生理活性物質として多くの細胞増殖や細胞分化などの細胞機能に不可欠なシグナル分子であることが明らかになってきた。(Nature 2017; 551: 115-118)
- ② また乳酸は骨芽細胞分化を促進すると報告されており、硬組織形成に重要な因子としても注目されている。(下図)



- ③ さらに乳酸が培養真皮線維芽細胞のミトコンドリアに作用し、細胞内の代謝活性を促進することで、皮膚の創傷治癒を促進することも発見されている。(Wound Repair Regen; 2004; 12, 368-373)
- ④ そこで、乳酸が歯根膜幹細胞の分化を制御するという仮説を立てた。つまり「乳酸製剤が新規歯周組織再生因子として臨床応用ができる」可能性があるのではないかと考えて、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

- ① 本研究の目的は乳酸が歯周組織再生に応用できるのか *in vitro*, *in vivo* 両面から分子生物学的・遺伝子レベルで検討することである。
- ② また本研究で得られた結果をもとに、乳酸製剤を用いた新規歯周組織再生治療を開発するため、臨床応用に向けた基盤を構築することを目的とする。

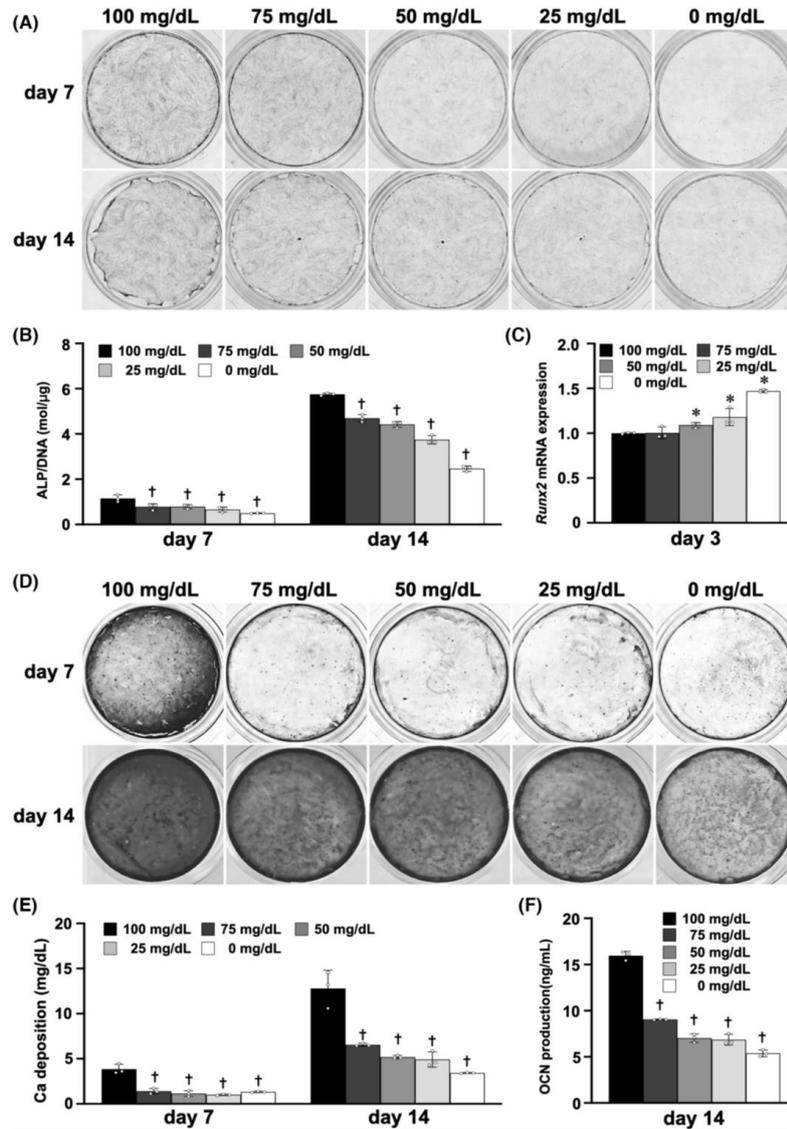
3. 研究の方法

- ① 乳酸をヒト歯根膜幹細胞に作用させ、歯周組織再生のマーカー（硬組織形成、骨芽細胞分化）にどのような影響を及ぼすか分子生物学的・遺伝子レベルでの検討を行う。
- ② 歯周組織再生における乳酸の作用機序およびシグナル伝達経路をウェスタンブロットにて分子生物学的レベルで解明する。
- ③ 生後8週齢のSD系ラット下顎骨に骨欠損モデルを作製し、乳酸に基材としてプロピレングリコールアルジネート (PGA) を加えた粘稠性の高い溶液を骨欠損部に注入する。
- ④ また新生骨形成率を評価するために屠殺10日前にカルセイン、3日前にテトラサイクリンの腹腔内注射を行い、蛍光色素沈着による新生骨形成を組織学的に検討する。
- ⑤ 注入8週後に麻酔薬過剰投与により安楽死させ、下顎骨を摘出し組織を採取する。その後、固定・脱灰・包埋し、組織標本を作製する。

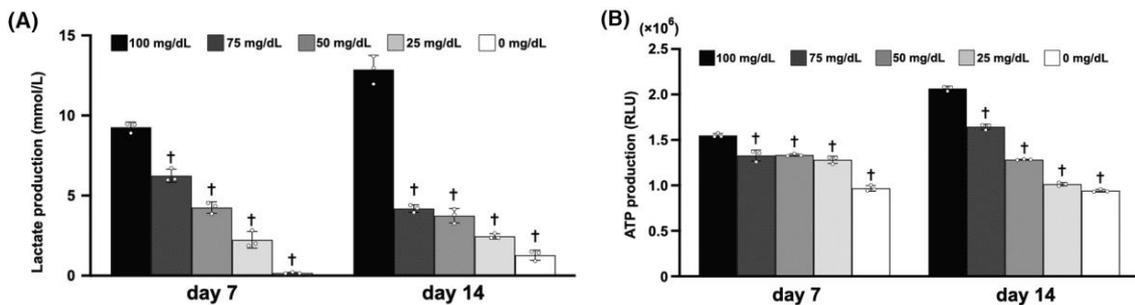
4. 研究成果

- ① グルコース欠乏状態においては歯根膜細胞の ALP 活性と石灰化物形成量が抑制されることが明らかになった。つまりグルコース代謝が歯根膜細胞の分化を制御する可能性が示唆された。(A : ALP 染色、B:ALP 活性、C : Runx2 遺伝子発現、D : アリザリンレッド染色、E : カルシウム析出量、F : オステオカルシン産生量)

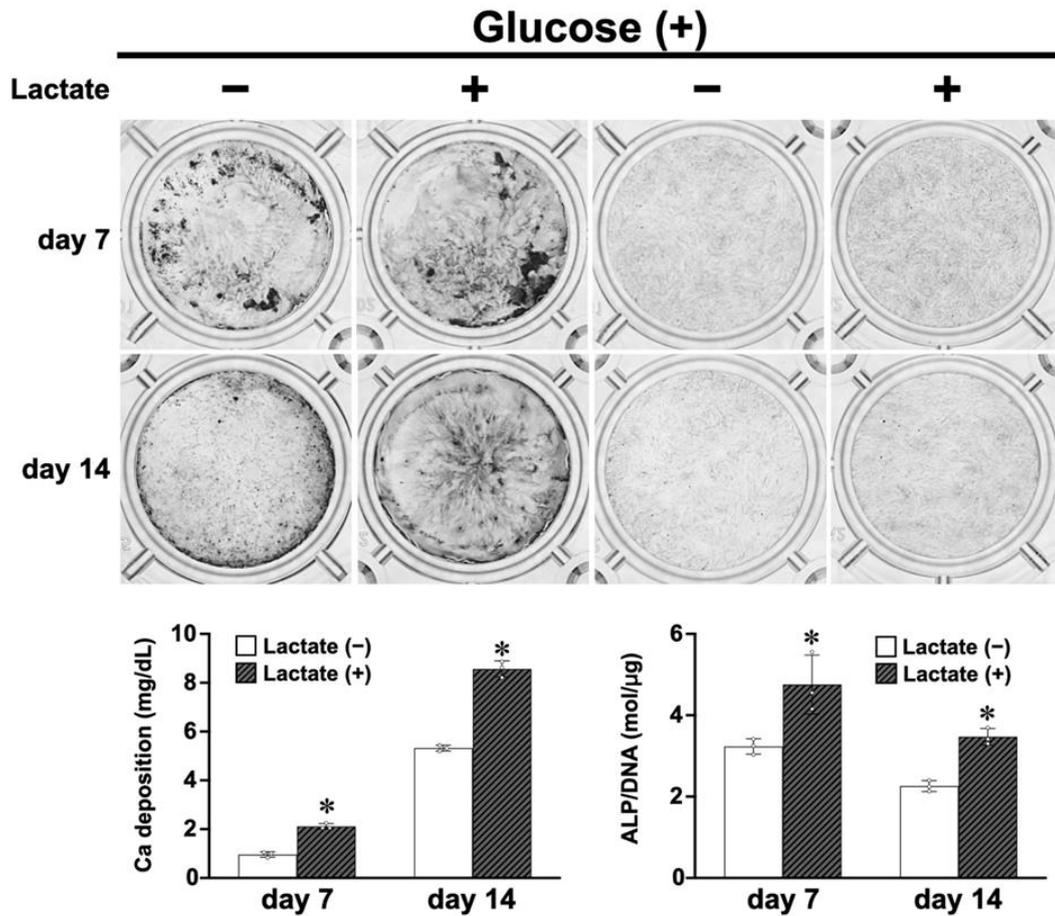
(引用 : Deng et al. *J Periodontal Res* 2023;)



- ② またグルコース欠乏状態では歯根膜細胞の乳酸産生量と ATP 産生量が有意に抑制される傾向にあった。したがって、グルコース欠乏状態での歯根膜細胞の分化と乳酸産生量に相関関係があることが考えられ、歯周組織再生と乳酸代謝に何等かの因果関係がある可能性が示唆された。(引用 : Deng et al. *J Periodontal Res* 2023;)



- ③ さらに、乳酸 (Lactate) で歯根膜細胞を刺激し培養すると、乳酸添加群で歯根膜細胞の骨芽細胞分化が促進することが明らかになった。



- ④ 動物実験においては、歯周組織欠損モデルを使用した *in vivo* 実験を行った。現在、SD 系ラットを用いた歯周組織欠損を作成し、マイクロ CT (下図) で欠損状態について 3 次的に評価を行っているが、欠損モデルの規格化に難航している。骨欠損モデルが確立できれば、乳酸製剤を応用し歯周組織再生の組織学的評価に移行していく予定である。



(本研究成果のまとめ)

グルコース代謝の中でも乳酸代謝が歯根膜細胞の分化を制御する可能性が示唆された。今後はラットを用いた歯周組織欠損モデルの確立を行い、病理組織学的な評価を加えていく計画を立てている。また、これらの研究成果を歯周病学等の専門学術誌で公表を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Deng X, Kato H, Taguchi Y, Nakata T, Umeda M.	4. 巻 58
2. 論文標題 Intracellular glucose starvation inhibits osteogenic differentiation in human periodontal ligament cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Periodontal Research	6. 最初と最後の頁 607-620
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jre.13112.	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 Li R, Kato H, Taguchi Y, Deng X, Minagawa E, Nakata T, Umeda M.	4. 巻 11
2. 論文標題 Glucose Starvation-Caused Oxidative Stress Induces Inflammation and Autophagy in Human Gingival Fibroblasts	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Antioxidants	6. 最初と最後の頁 1907
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/antiox11101907.	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 万代千晶, 嘉藤弘仁, 田口洋一郎, 李 潤伯, 鄧 信, 吉村公博, 中村百合香, 中島幸市朗, 中田貴也, 梅田 誠
2. 発表標題 低グルコース環境が骨芽細胞様細胞の増殖能と硬組織分化能に及ぼす影響
3. 学会等名 第65回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2022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
研究協力者	嘉藤 弘仁 (Kato Hirohito) (70745348)		

6. 研究組織（つづき）

	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	鄧 信 (Deng Xin)		

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