

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23593059

研究課題名(和文) 多毛症を合併した先天性歯肉増殖症の病態解析

研究課題名(英文) Analysis of patients with gingival hyperplasia and hypertrichosis

研究代表者

荒川 真 (ARAKAWA, Makoto)

広島大学・大学病院・助教

研究者番号：60379881

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：近年歯肉増殖症の発症にカテプシン活性の低下が関与すると考えられている。また、先天性歯肉増殖症で著明な多毛症を合併する症例が複数報告されている。そこで、多毛症を合併した先天性歯肉増殖症患者由来歯肉線維芽細胞と健常者由来の歯肉線維芽細胞のカテプシン活性を比較検討した。

その結果、歯肉増殖症患者の歯肉線維芽細胞ではカテプシンL活性が低下していた一方、カテプシンB活性は上昇していた。さらに、カテプシンL欠損マウスでhair follicleのturn overに異常が見られたことから、カテプシン活性の低下が多毛症の成因にも関与する可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：Recently, it has revealed that Cathepsin activities can involve with the onset of gingival hyperplasia. And some gingival hyperplasia patients are reported to have severe hypertrichosis. Therefore, the purpose of this study is to evaluate cathepsin activities of fibroblasts from patients with gingival hyperplasia and hypertrichosis and healthy person.

The patients' cells showed decrease in Cathepsin-L activities, and increase in Cathepsin-B activities. Furthermore, Cathepsin-L knockout mice have abnormal turn over of hair follicle.

From these results, it is suggested that decreased activity of Cathepsin may play a role to onset of hypertrichosis.

研究分野：歯学

科研費の分科・細目：歯周治療系歯学

キーワード：カテプシンL 多毛症 ヒト歯肉線維芽細胞

1. 研究開始当初の背景

歯肉増殖症の成因に関しては未だに不明な点が多い。きわめて稀であるが、先天性歯肉増殖症と多毛症を合併する例が報告されている。本疾患保有者は他に明らかな異常を伴わず、特徴的に両症状を呈するため、その病因に共通の因子が関わる可能性が強い。また、本疾患の成因の解明は、高齢化とともに増加している薬物性歯肉増殖症の成因の解明と有効な治療法の開発の一助となる。

そこで、多毛症を合併した先天性歯肉増殖症の成因を何らかの生体内の恒常性維持機構の破綻ととらえ、その成因を明らかにすることを計画した。本研究は先天性歯肉増殖症と多毛症を合併した患者より得た細胞をもとに、疾患の成因を生化学的に解明しようとするものである。

薬物性歯肉増殖症は抗てんかん薬フェニトイン、免疫抑制剤サイクロスポリン、および降圧剤として用いられるカルシウム拮抗剤などの長期服用によって惹起される副作用である。これらの薬剤のうち、サイクロスポリンやカルシウム拮抗剤の使用は社会の高齢化とともに未だに増え続けている。

本疾患そのものは重症化した場合、歯肉組織の高度な肥厚を伴うため、審美性を著しく損なうものであるが、既存の歯周炎と合併した場合、歯肉の硬化により歯周炎を著しく難治性にする。また、歯肉の切除によりいったん症状は軽快するものの、同一薬剤の服用により再発のリスクは避けられないのが現状である。作用機序の異なる薬剤への変更によって症状が改善すると考えられるが、元来慢性疾患の治療薬として用いられており、本来の薬効を多剤で補填することが困難なケースも多く見られる。

近年、薬物性歯肉増殖症を合併した高度

な歯周炎が糖尿病や動脈硬化症のリスク因子となり得る可能性が指摘されるようになったことから、歯肉増殖症の成因を正しく理解し、有効な治療法を開発することは急務の課題である。

我々はこれまで、薬物性歯肉増殖症の成因には共通のメカニズムがあるとの仮説の元、検討を進めてきた。増殖歯肉は高度に線維化していることから、細胞外基質の合成と分解のバランスに異常が生じているのではないかと仮説を立てた。

これを受け、細胞内の老廃物の分解に深く関わるライソゾーム酵素の異常であるライソゾーム蓄積病の一種、I-cell 病患者では高度の歯肉肥厚をきたすことから、ライソゾーム酵素活性の異常に焦点を当てて検討を進めてきた。

まず、歯肉増殖症を惹起することが知られている、フェニトインやサイクロスポリンが歯肉線維芽細胞におけるライソゾーム酵素カテプシン-L の遺伝子発現を抑制し、結果的にその活性を低下させることを見出した(Yamada H *et al.*, *J Periodontol*, 2001)。その結果、I-cell 病患者で活性が低下するライソゾーム酵素の一つがカテプシン-L であることが判明した。さらにこの現象はカルシウム拮抗剤ニフェジピンによっても惹起されること、および、この現象はカルシウム拮抗剤ニフェジピンによっても惹起されることを見出した (Nishimura F *et al.*, *Am J Pathol*, 2002)。

そこで薬物性歯肉増殖症の成因にはライソゾーム酵素カテプシン-L の機能低下が深く関与するのではないかと考え、カテプシン-L の complete loss of function によっても歯肉の肥厚が惹起されるとの仮説のもと、カテプシン-L のノックアウトマウスにお

ける歯肉組織を詳細に観察した。

ちなみにカテプシン-L はライソゾーム酵素として、細胞内および分泌性タンパク質の代謝回転を促進する。増殖制御、骨吸収および腫瘍の転移等において大きな役割を果たすとされている。

その結果、カテプシン-L 遺伝子欠損マウスすなわちカテプシン-L の complete loss of function によってヒト歯肉増殖症類似の歯肉組織の肥厚が惹起されることを確認した。さらに本マウスの歯肉組織を観察したところ、Wild-type マウスと比較して結合組織と上皮組織のいずれもが肥厚し、上皮脚が結合組織深部に向かって延伸している組織像、すなわちヒト薬物性歯肉増殖症にきわめて類似した組織形態であることが確認された (Nishimura F *et al.*, *Am J Pathol*, 2002)。

さらに、カテプシン-L の機能低下が薬物性歯肉増殖症の成因に深く関与すると結論付けた。興味深いことにカテプシン-L 欠損マウスでは hair follicle (毛包) のターンオーバーに異常が見られることも報告されている (Roth W, *et al.*, *EMBO J*, 2000)。

また、カテプシン B+L 活性はニフェジピン濃度の上昇に伴い低下するのに対し、カテプシン B 活性はニフェジピン濃度の変化に影響を受けにくいことが報告されている。すなわち、歯肉線維芽細胞のカテプシン-L 活性はニフェジピンにより低下する。すなわち、カテプシン-L の活性低下が歯肉増殖症発症に関与している可能性があると考えられる。

以上から、多毛症を伴う先天性歯肉増殖症の成因にカテプシン-L 機能の partial loss of function が関わるのではないかとの仮説

を設けた。

この様な背景から、多毛症を合併した先天性歯肉増殖症患者由来歯肉線維芽細胞と健常者由来の歯肉線維芽細胞のカテプシン活性を比較検討した。

2 . 研究の目的

そこで本研究は、多毛症を合併した先天性歯肉増殖症患者由来の歯肉線維芽細胞と、健常者由来の歯肉線維芽細胞における、カテプシン活性を比較検討することを目的とした。

3 . 研究の方法

《供試細胞》

- ・多毛症合併歯肉増殖症患者の歯肉線維芽細胞
 - ・健常者由来の歯肉線維芽細胞
 - ・同じく健常者由来の歯根膜細胞
- を使用した。

《カテプシン活性の測定》

診療の一環として歯肉を切除後、まずは得られた歯肉線維芽細胞もしくは歯根膜細胞を培養した。各培養細胞の破砕抽出物にカテプシン-B 及びカテプシン-L の基質である Z Phe Arg MCA を加え、37 で 10 分インキュベート後、マイクロプレートリーダーによる蛍光強度測定にてカテプシン B+L 活性を評価した。同様にカテプシン B の基質 Z Arg Arg MCA を用い蛍光分析にてカテプシン B 活性を評価した。カテプシン L 活性は前 2 者の差から算出した。

4 . 研究成果

歯肉増殖症患者の歯肉線維芽細胞ではカ

テブシン-L 活性が低下していた一方、カテブシン-B 活性は上昇していた。このことから何らかの compensation 機構が働いている可能性が考えられた。

また、カテブシン-L 欠損マウスで hair follicle (毛包) の turn over に異常が見られたという報告 (Roth W, et al., EMBO J, 2000)もあることから、カテブシン活性の低下が多毛症の成因にも関与している可能性が考えられた。

これらの結果より、薬剤による歯肉増殖症の発症にカテブシン-L 活性の低下が関与することが示唆された。

今後本患者の病態を観察することで、さらに詳細な解析を行いたいと考える。

なお、本研究の概要は広島大学疫学研究倫理委員会において承認済み(平成 23 年 4 月 8 日付 疫-386 号)である。

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 0 件)

[学会発表](計 1 件)

1. 荒川 真、半井英雄、山下明子、岩本義博、鈴木茂樹、西村英紀

「多毛症を合併した先天性歯肉増殖症患者由来歯肉線維芽細胞のカテブシン活性の検討」

日本歯周病学会 2013 年度春季学術大会 (第 56 回)

2013 年 5 月 30 日~6 月 1 日、

タワーホール船堀 (東京)

[図書](計 0 件)

[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

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

広島大学・大学病院・助教

荒川 真 (ARAKAWA Makoto)

研究者番号: 60379881

(2)研究分担者

鈴木 茂樹 (SUZUKI Shigeki)

広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・助教

研究者番号: 30549762

山下 明子 (YAMASHITA Akiko)

広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・
助教
研究者番号：70511319

西村 英紀 (NISHIMURA Fusanori)
九州大学・大学院歯学研究院・教授
研究者番号：80208222

(3)連携研究者
なし