



内臓脂肪の脂肪細胞から分泌される「生理活性物質（アディポカイン）の分泌異常」と「遊離脂肪酸の過剰放出」が大きな役割をはたしている。そこで、歯周病において自然免疫反応から始まる炎症性の破壊を調節する分子メカニズムにアディポカインと遊離脂肪酸が与える影響を理解することは、メタボリックシンドロームが歯周病を増悪させるメカニズムを解明する手掛かりとなる。

遊離脂肪酸のなかでもステアリン酸やパルミチン酸といった飽和脂肪酸が LPS の受容体である TLR4 の内因性リガンドとして作用し、炎症性サイトカインの分泌を誘導していることが報告されている。そこで、本研究ではパルミチン酸に注目し、パルミチン酸が歯周病原菌由来 LPS 刺激に及ぼす影響を検討する。

さらに、新規のアディポカインが近年続々と同定されており、本研究では新規アディポカインである *vaspin* に注目する。肥満者や 2 型糖尿病患者の血中 *vaspin* 濃度は、健常者に比較して高値と報告されている。また *vaspin* は肥満状態でインスリン感受性を高めるという報告もある。したがって、*vaspin* は、メタボリックシンドロームにおいて認められるインスリン抵抗性に対する代謝転機として産生されると考えられている。そこで、本研究では、*vaspin* が破骨細胞分化に及ぼす影響を検討する。

以上の研究から、アディポカインや飽和脂肪酸を介してメタボリックシンドロームが歯周病を増悪させるメカニズムの一端を明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 飽和脂肪酸が歯周病原菌由来 LPS 刺激に及ぼす影響

マウスマクロファージ様細胞 (RAW264.7 細胞) を用いて、飽和脂肪酸の一種であるパルミチン酸をウシ血清アルブミンと結合させたもので前処理を行った。その後、歯周病原菌のひとつである *P. gingivalis* の LPS で刺

激し、炎症性サイトカインの遺伝子発現状態およびタンパク産生状態を調べた。

#### (2) *vaspin* が破骨細胞分化へ及ぼす影響

破骨細胞の前駆細胞である RAW264.7 細胞とプライマリー細胞であるマウス骨髄由来マクロファージを RANKL 存在下で *vaspin* 刺激し、破骨細胞分化に及ぼす影響を検討した。破骨細胞分化能の評価は TRAP 染色陽性で多形核化した細胞 (MNSc) をカウントした。また、破骨細胞分化に必須で自己増幅する転写因子 NFATc1、および破骨細胞が骨吸収する際に働く *cathepsin K* と *MMP-9* のタンパク質発現状態をウエスタンブロットで調べた。

### 4. 研究成果

#### (1) 飽和脂肪酸が歯周病原菌由来 LPS 刺激に及ぼす影響

パルミチン酸で前処理し、*P. gingivalis* の LPS で刺激したところ、IL-6 の遺伝子発現 (図 1) およびタンパク質産生量 (図 2) が増強された (図 1)。

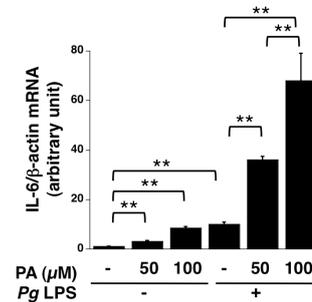


図 1

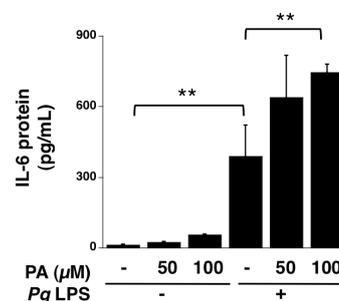


図 2

以上の結果より、パルミチン酸は歯周病原菌由来の LPS 刺激による炎症反応を増強させることから、メタボリックシンドロームに

より血中パルミチン酸が増えると、歯周病を増悪させる一助となることが示唆された。

(2) vaspin が破骨細胞分化へ及ぼす影響

RAW264.7 細胞において、vaspin 刺激により破骨細胞分化が抑制された (図 3)。

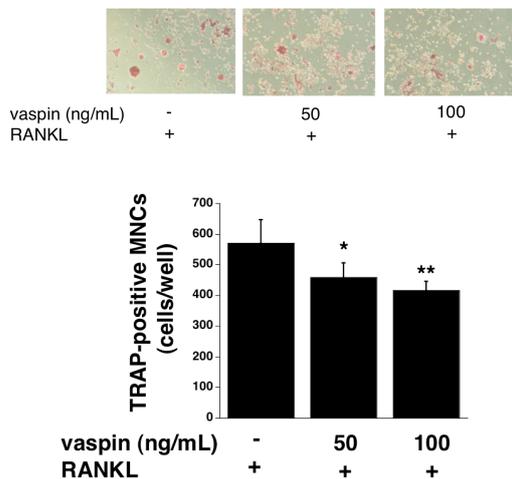


図 3

さらに、プライマリー細胞においても、vaspin 刺激により破骨細胞分化が抑制された (図 4)。

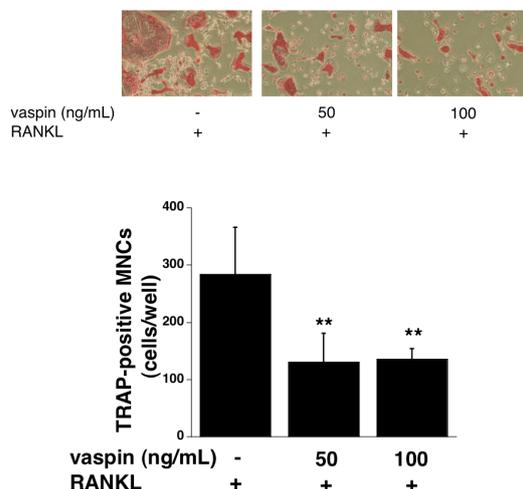


図 4

つぎに、RAW264.7 細胞とプライマリー細胞において、vaspin が NFATc1 のタンパク質発現に及ぼす影響を検討した。その結果、vaspin 刺激により、NFATc1 の発現が抑制された (図 5)。

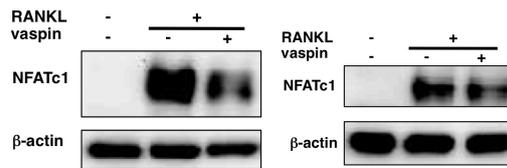


図 5 RAW264.7 プライマリー細胞

さらに、RAW264.7 細胞において vaspin が cathepsin K と MMP-9 のタンパク質発現に及ぼす影響を検討した。その結果、vaspin 刺激により、cathepsin K と MMP-9 の発現が抑制された (図 6)。

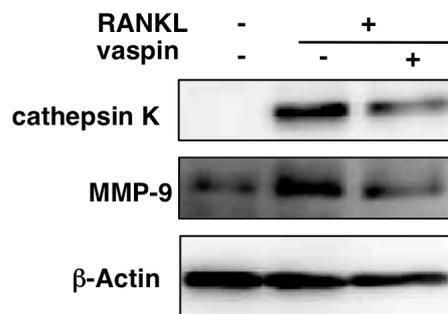


図 6

以上の結果から、vaspin は RANKL 誘導破骨細胞分化と、破骨細胞の機能を抑制することが示唆された。

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 2 件)

① Kamio N, Kawato T, Tanabe N, Kitami S, Morita T, Ochiai K, Maeno M. Vaspin attenuates RANKL-induced osteoclast formation in RAW264.7 cells. *Connect Tissue Res.* 54:147-152. 2013. 査読有

DOI : 10.3109/03008207.2012.761978

② Nakai K, Kawato T, Morita T, Iinuma T, Kamio N, Zhao N, Maeno M. Angiotensin II induces the production of MMP-3 and MMP-13

through the MAPK signaling pathways via the AT1 receptor in osteoblasts. *Biochimie*. 95:922-933. 2013. 査読有  
DOI: 10.1016/j.biochi.2012.12.016

〔学会発表〕（計 1 件）

① 神尾宜昌, Vaspin は破骨細胞への分化を抑制する

第 6 0 回日本口腔衛生学会・総会、P-54、ポスター発表、松戸、平成 2 3 年 1 0 月 8 ~ 1 0 日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

神尾 宜昌 (KAMIO NORIAKI)

日本大学・歯学部・助教

研究者番号：60546472