

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：34408

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462941

研究課題名(和文)メタボリックシンドロームの新規治療薬11-HSD1阻害剤の歯周病治療への応用

研究課題名(英文)Application of 11beta-HSD1 inhibitors to the treatment of periodontal disease

研究代表者

澤井 宏文(SAWAI, Hirofumi)

大阪歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：40298823

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：不活性型のコルチゾンを変換する11-HSD1はメタボリック症候群や慢性炎症性疾患に重要な役割を持つことが報告されている。しかし、慢性歯周炎における11-HSD1の関与は報告されていない。本研究では、慢性歯周炎、11-HSD1発現、および肥満の関係を検討した。11-HSD1発現は歯周炎群で有意に高かった。コルチゾンを不活化する11-HSD2発現は少し減少しており、11-HSD1と11-HSD2の比は歯周炎群でさらに高かった。11-HSD1発現と肥満には相関が見られなかった。11-HSD1増加は肥満とは関係なく慢性歯周炎発症に関与することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：11-HSD1, which converts inactive cortisone to active cortisol intracellularly, has been reported to play a pivotal role in metabolic diseases as well as chronic inflammatory diseases. However, the involvement of 11-HSD1 in chronic periodontitis has not been investigated. In this study the relationship between chronic periodontitis, the levels of 11-HSD1 mRNA, and obesity was examined. The expression of 11-HSD1 mRNA was significantly higher in the chronic periodontitis group than in the controls. Since the expression of 11-HSD2 mRNA, which inactivates cortisol, was slightly lower in the periodontitis group than in the controls, the ratio of 11-HSD1 versus 11-HSD2 mRNA was still higher in the former than in the latter. However, a correlation was not observed between the levels of 11-HSD1 mRNA and body mass index, an index of obesity. These results suggest that the increased 11-HSD1 may play a role in the pathology of chronic periodontitis irrespective of obesity.

研究分野：医歯薬学

キーワード：歯周病 慢性歯周炎 メタボリック症候群 11-HSD1 グルココルチコイド コルチゾール 慢性炎症 肥満

1. 研究開始当初の背景

人における主要なグルココルチコイドホルモンであるコルチゾールは代謝や免疫応答などにさまざまな作用を持つ。血清や唾液中のコルチゾールレベルが慢性歯周炎と正の相関関係にあることが報告されていた。ラットの歯周炎モデルにおいて、コルチコステロン(ラットにおける主要なグルココルチコイド)が増加しやすいラットではより高度な歯周炎が惹起され、さらに、グルココルチコイド受容体の阻害剤により歯周炎が軽減することから、グルココルチコイドの増加と歯周炎の間に因果関係が示唆されていた。

グルココルチコイドの代謝に関わる多くの酵素の中で、11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 β -HSD1) は不活性型のコルチゾンを活性型のコルチゾールに変換し、逆に、11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11 β -HSD2) はコルチゾールをコルチゾンに不活化し、細胞内におけるグルココルチコイドの活性制御に関与する。11 β -HSD1 は脂肪組織、特に内臓脂肪に多く発現しており、メタボリック症候群患者の脂肪組織における発現の増加が報告された。また、11 β -HSD1 ノックアウトマウスは過栄養状態でもメタボリック症候群になりにくく、脂肪組織における11 β -HSD1 高発現マウスではメタボリック症候群と似た表現型が認められた。さらに、11 β -HSD1 阻害剤によりメタボリック症候群が改善され、これらのことから11 β -HSD1 はメタボリック症候群の発症に深く関与することが示唆された。メタボリック症候群と慢性歯周炎との相関についてはすでに報告されているが、そのメカニズムは明らかではなかった。

また、メタボリック症候群は脂肪組織の慢性炎症状態と考えられているが、関節リウマチ、潰瘍性大腸炎、非アルコール性脂肪肝炎などの慢性炎症疾患においても11 β -HSD1 の関与が報告されてきた。しかし、歯周組織の慢性炎症である慢性歯周炎における11 β -HSD1 の関与についてはこれまで報告がなかった。

2. 研究の目的

歯周組織の慢性炎症である慢性歯周炎における11 β -HSD1 の関与を解明するために、歯周病患者と健常者の歯周組織における11 β -HSD1 の発現を検討し、患者の肥満度(Body Mass Index : BMI) との相関を検討することにより、慢性歯周炎、11 β -HSD1、および、肥満の間の相関の有無を明らかにする。また、ラットを用いて実験的歯周炎を惹起し、歯周組織における11 β -HSD1 の発現の変化を検討し、実験的歯周炎モデルにおける11 β -HSD1 の関与を明らかにする。さらに、実験的歯周炎に対する11 β -HSD1 阻害剤の効果を検討し、メタボリック症候群の新規治療薬として開発中の11 β -HSD1 阻害剤による慢性歯周炎治療の可能性を探求する。

3. 研究の方法

(1) 歯周病患者における11 β -HSD1 発現の検討

歯周病患者の歯肉組織、および、矯正治療のため抜歯した健常者の歯肉組織を採取し、リアルタイム RT-PCR 法にて11 β -HSD1、11 β -HSD2、RANKL、RANK、OPG の mRNA 発現量を測定した。コントロールとして GAPDH の mRNA 量を測定し、GAPDH mRNA 量に対する比の値を用いて統計学的に解析を行った。また、患者の身長と体重から BMI を算出し、11 β -HSD1、あるいは、11 β -HSD1 と11 β -HSD2 の比と BMI との相関関係について統計学的解析を行った。なお、本研究は大阪歯科大学医の倫理委員会により承認され(承認番号 90921) 患者のインフォームドコンセントを得て行った。

(2) ラットの実験的歯周炎モデルにおける11 β -HSD1 発現の検討

7週齢の Wistar 系雄性ラットを用いて上顎左側第二臼歯の歯茎部に絹糸を結紮することにより実験的歯周炎を惹起し、3日後に歯肉を採取して、リアルタイム RT-PCR 法により11 β -HSD1、11 β -HSD2 および炎症の指標として TNF mRNA の発現量を測定した。(1)と同様に、GAPDH mRNA 量に対する比の値を用いて統計学的解析を行った。なお、本研究は大阪歯科大学動物実験委員会の承認を得て行った(承認番号第 14-09001 号)。

4. 研究成果

(1) 歯周病患者における11 β -HSD1 発現の検討

コントロール(C)群と歯周病患者(P)群とで性別、年齢、身長、体重、BMI に有意差を認めなかった。

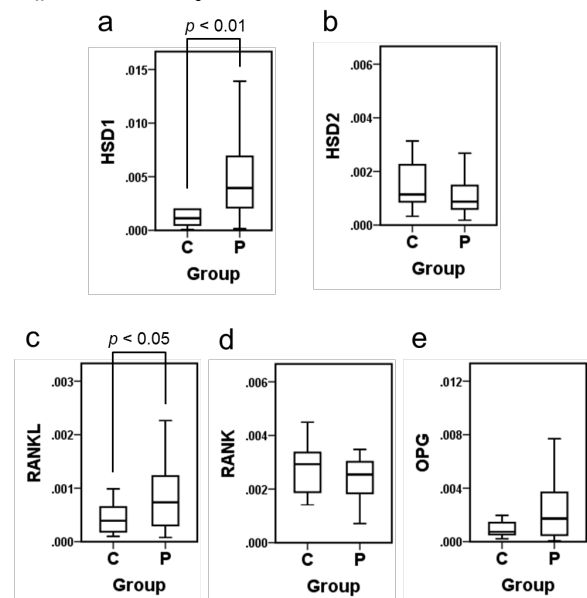


図1. コントロール(C)群と歯周病患者(P)群における mRNA 発現量の比較

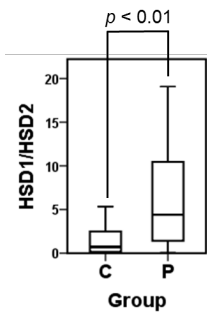


図2 .コントロール(C)群と歯周病患者(P)群における 11 -HSD1 と 11 -HSD2 の比の比較

11 -HSD1 mRNA 発現量はC群と比べP群で有意に増加していた(図1a)、11 -HSD2 mRNA については有意ではないがC群よりP群で発現量が少なかった(図1b)。そのため、11 -HSD1 と 11 -HSD2 の比を調べるとP群で有意に増加していた(図2)。また、RANKL はP群で有意に発現量が多く、RANK と OPG はC群とP群で有意な差は認めなかった(図1c,d,e)。

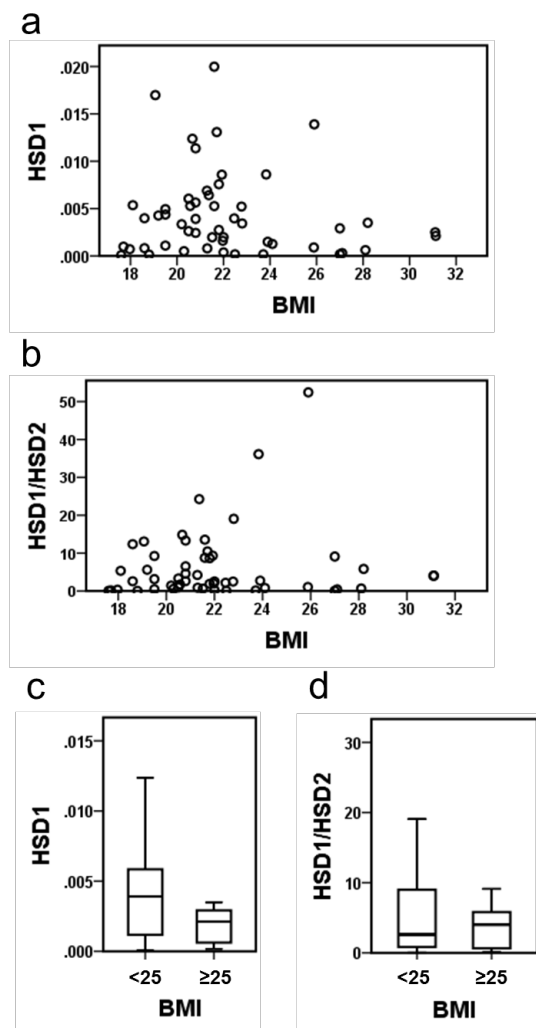


図3 .BMI と 11 -HSD1、または、11 -HSD1 と 11 -HSD2 の比との相関

肥満の指標として BMI を用いた。BMI と 11

-HSD1 発現量との間に有意な相関は認めなかった(図3a)、BMI と 11 -HSD1 と 11 -HSD2 の比の間にも有意な相関は認めなかった(図3b)。また、BMI25以上の群と25未満の群とで比較しても、11 -HSD1、あるいは、11 -HSD1 と 11 -HSD2 の比について有意差は認めなかった。

これらの結果より、歯周病患者において 11 -HSD1 mRNA 発現量、および、11 -HSD1 と 11 -HSD2 の比が増加しており、また、BMI と 11 -HSD1 発現量には相関がないことから、11 -HSD1 増加は肥満とは無関係に歯周病に關与することが示唆された。

(2) ラットの実験的歯周炎モデルにおける 11 -HSD1 発現の検討

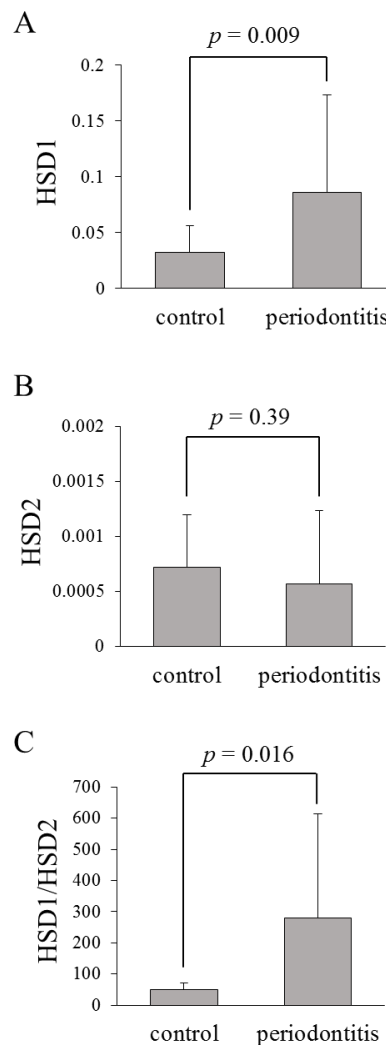


図4 . コントロール側と歯周炎側における 11 -HSD1 と 11 -HSD2 の発現の比較

絹糸の結紮による実験的歯周炎ラットにおいて、コントロール側と比べ歯周炎側において 11 -HSD1 mRNA 発現量の有意な増加を認めた(図4A)。11 -HSD2 mRNA 発現量についてはコントロール側と歯周炎側で有意差は認めなかった(図4B)。11 -HSD1 と 11 -HSD2 の比については、コントロール側と比

べ歯周炎側において有意な増加を認めた(図4C)。

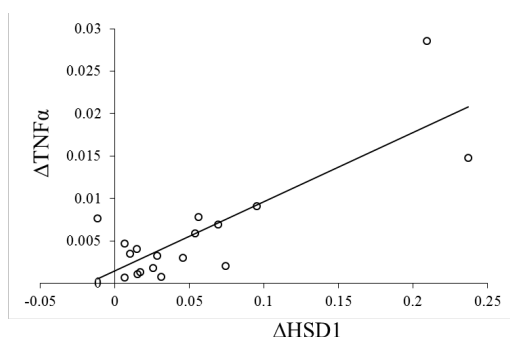


図5.11 11-HSD1 と TNF の発現増加量の相関

コントロール側に対する歯周炎側の 11-HSD1 の発現増加量と、炎症の指標である TNF の発現増加量には、統計学的に有意な正の相関関係が認められた(図5)。

これらの結果より、ラットの実験的歯周炎モデルにおいても、人の歯周病患者と同様に、11-HSD1 mRNA 発現量、および、11-HSD1 と 11-HSD2 の比が増加しており、11-HSD1 の増加が歯周炎発症に関与することがさらに示唆された。

(3) われわれの知る限り、歯周炎における 11-HSD1 の関与についての研究はこれまで報告されていない。(1)歯周病患者における 11-HSD1 発現の検討、に関しては本年 SpringerPlus に論文が掲載され、(2)ラットの実験的歯周炎モデルにおける 11-HSD1 発現の検討、については現在論文投稿中である。

今後は、ラットの歯周炎モデルを用いて、メタボリック症候群の新規治療薬として期待される特異的 11-HSD1 阻害剤の歯周炎発症に対する効果を検討し、特異的 11-HSD1 阻害剤による歯周病治療の可能性を探究していきたい。

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5件)

Takaya Nakata, Atsuko Fujita, Makoto Umeda, Hiroaki Yoshida, Kaoru Inami, Hiroaki Masuzaki, Hirofumi Sawai, The increased ratio of 11-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 versus 11-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in chronic periodontitis irrespective of obesity, SpringerPlus, 査読有、5、2016、40
DOI:10.1186/s40064-016-1679-6

Hirofumi Sawai, Hideo Ogiso, Toshiro Okazaki, Differential changes in sphingolipids between TNF-induced

necroptosis and apoptosis in U937 cells and necroptosis-resistant sublines, Leukemia Research, 査読有、39、2015、964-970

DOI:10.1016/j.leukres.2015.06.002

Hirofumi Sawai, Characterization of TNF-induced caspase-independent necroptosis, Leukemia Research, 査読有、38、2014、706-713

DOI:10.1016/j.leukres.2014.02.002

Yuko Katao, Mika Shishido, Kaoru Inami, Naoyuki Matsumoto, Hirofumi Sawai, An inhibitory role for caspase-3 at the late stage of RANKL-induced osteoclast differentiation in RAW264 cells and mouse bone marrow macrophages, Cell Biology International, 査読有、38、2014、723-728

DOI:10.1002/cbin.10263

Mika Shishido, Hirofumi Sawai, Kaoru Inami, Yuko Katao, Naoyuki Matsumoto, Facilitation of experimental tooth movement by NOC-18, a long-acting nitric oxide donor, Orthodontic Waves, 査読有、72、2013、43-48

DOI:10.1016/j.odw.2012.12.001

〔学会発表〕(計8件)

中田貴也、歯周炎モデルラットにおける 11-HSD1 発現の比較・検討、日本歯科保存学会 2015 年度秋季学術大会、2015 年 11 月 12 日、文京シビックホール(東京都・文京区)

藤田敦子、慢性歯周炎における細胞内グルココルチコイド活性化酵素 11-HSD1 発現の増加、第 58 回秋季日本歯周病学会学術大会、2015 年 9 月 12 日、アクトシティ浜松(静岡県・浜松市)

中田貴也、歯周病における細胞内グルココルチコイド活性化酵素 11-HSD1 との関連、第 57 回秋季日本歯周病学会学術大会、2014 年 10 月 19 日、神戸国際展示場(兵庫県・神戸市)

片尾祐子、破骨細胞分化における Caspase-3 阻害剤の影響について、第 56 回近畿東海矯正歯科学会、2014 年 6 月 29 日、名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

穴戸美香、caspase-3 阻害剤によるマウス骨髄由来マクロファージにおける破骨細胞分化の増強、第 56 回近畿東海矯正歯科学会、2014 年 6 月 29 日、名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

Kaoru Inami 、 Pharmacological regulation of osteoclast differentiation in orthodontic tooth movement、90th Congress of the European Orthodontic Society、2014年6月20日、Warsaw (Poland)

穴戸美香、カスパーゼ-3 阻害剤による破骨細胞分化の増強、第 72 回日本矯正歯科学会、2013 年 10 月 9 日、松本市総合体育館 (長野県・松本市)

Kaoru Inami 、 Pharmacological regulation of osteoclast differentiation in orthodontic tooth movement、第 72 回日本矯正歯科学会、2013 年 10 月 8 日、松本市総合体育館(長野県・松本市)

[図書](計1件)

Hirofumi Sawai 他、Springer、Bioactive Sphingolipids in Cancer Biology and Therapy、2015、23-51

6. 研究組織

(1)研究代表者

澤井 宏文 (SAWAI, Hirofumi)

大阪歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：4 0 2 9 8 8 2 3

(2)研究分担者

益崎 裕章 (MASUZAKI, Hiroaki)

琉球大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：0 0 2 9 1 8 9 9

梅田 誠 (UMEDA, Makoto)

大阪歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：9 0 1 9 3 9 3 7