

令和元年5月21日現在

機関番号：37114

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K11394

研究課題名(和文) 老化促進因子C1qによるWntシグナル活性化を基盤とした歯周炎発症機序の解明

研究課題名(英文) Elucidation of periodontitis onset mechanism based on C1q and Wnt signaling

研究代表者

吉永 泰周 (Yoshinaga, Yausnori)

福岡歯科大学・口腔歯学部・准教授

研究者番号：60452869

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、我々が確立した感作ラットを用いた歯周炎動物モデルを用いて、歯周炎の発症、特に歯周ポケット形成への老化促進因子C1qおよびWntシグナルの関与について明らかにすることを目的とした。ラット歯周炎モデルを用いて歯周ポケット形成へのC1qの関与を調べたところ、歯周ポケット周囲の上皮及び結合組織にC1qの発現を認めた。さらに長い上皮性付着を誘導したラットを用いた研究においても、歯周ポケットが誘導されている組織切片において、C1qの強い発現が確認された。これらの結果より歯周ポケット形成へのC1qへの関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周病は日本人の7割以上が罹患している疾患であり、抜歯の原因の第一位である。その歯周炎の最大のリスクファクターである歯周ポケット形成への老化促進因子であるC1qの関与が示唆されたことは歯周ポケット形成メカニズムの解明において重要であり、ひいては歯周病の予防法や治療法の開発に強く寄与できると思われる。

研究成果の概要(英文)：To clarify the mechanism of periodontal onset, we investigated whether C1q and wnt signaling involved in the pocket formation using a rat periodontitis model. C1q was observed in the JE and in the connective tissue around the periodontal pocket in rat. Furthermore, C1qB was localized within the junctional epithelium around the periodontal pocket in long junctional epithelium rat model. These results suggest that C1q is involved in the pocket formation.

研究分野：歯周病学

キーワード：歯周ポケット形成 老化促進因子 動物モデル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

最近の研究によると補体分子である C1q による Wnt シグナルの活性化が骨格筋再生能低下を引き起こし、さらに心不全や動脈硬化、糖尿病などの老化関連疾患への関与も示唆されるなど C1q の老化促進因子としての働きに注目が集まっている。しかしながら加齢と伴に罹患率が増加する老化関連疾患の一つである慢性歯周炎の発症における老化促進分子としての C1q の働きについて調べた研究はない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、歯周炎の発症における老化促進因子 C1q および Wnt シグナルの関与について明らかにすることである。さらに C1q による Wnt シグナル活性化の制御による歯周炎治療や予防の可能性についても検討する。

## 3. 研究の方法

### 1) ラット歯周炎モデルの作製

ルイス系雄性ラットを用いて E.coli LPS と Freund complete adjuvant もしくは Freund incomplete adjuvant の混合物を 4 週間の期間をあけて腹腔内投与し、感作ラットを作製する。2 回目の腹腔内投与の 24 時間後に上顎第一臼歯口蓋側歯肉溝内へ高濃度 LPS の滴下を開始する。滴下は 24 時間毎に 10 回行い、最後の滴下から 1 時間後に安楽死させ、顎骨のサンプルを摘出する。顎骨サンプルは、4%PFA にて固定後、パラフィン包埋を行い、4 $\mu$ m の連続切片を作製し、HE 染色や破骨細胞のマーカーとなる TRAP 染色により病理組織学的評価を行う。対照群として無処置のラットを使用する。

### 2) 免疫組織化学染色

1) にて作製した連続切片を用いて C1qB に対する抗体を使用し免疫組織化学染色を行い、陽性細胞の分布や数について検索を行う。

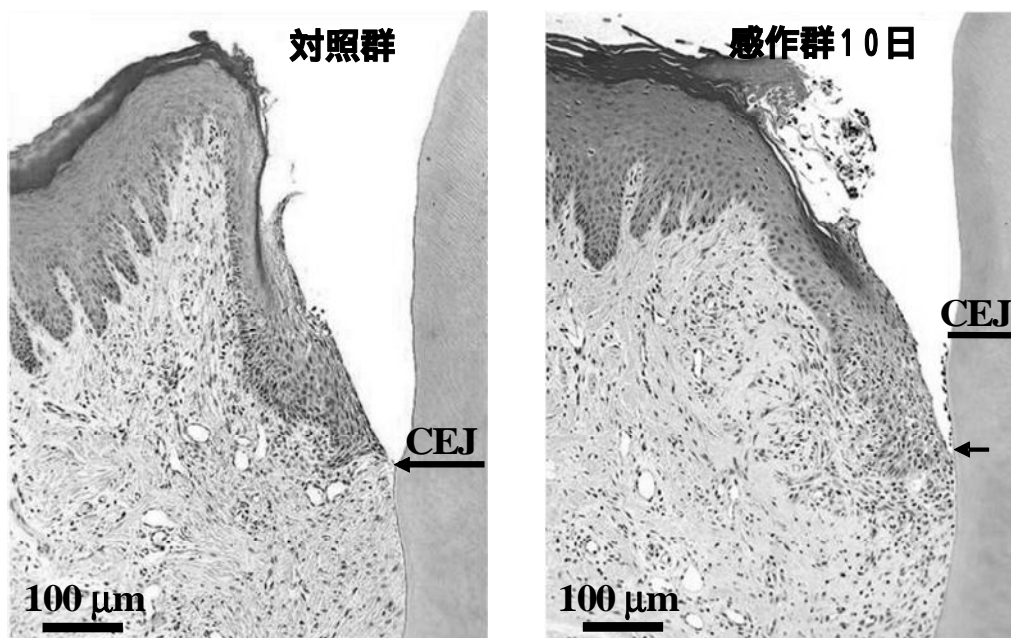
### 3) 長い上皮性付着の破壊による病理組織学的評価及び C1q 分布の検討

スケーラーにより歯肉溝を搔爬し、長い上皮性付着を誘導した感作ラットを用いて、高濃度 LPS の滴下によって作製した組織標本を用いて 1) と同様に HE 染色、TRAP 染色を行い、歯周組織破壊を評価するとともに、2) と同様に C1q の発現について免疫組織化学染色を行い、評価する。

## 4. 研究成果

### 1) ラット歯周炎モデルの HE 染色像

対照群では接合上皮根尖側端は CEJ に位置しており、炎症性細胞浸潤もほとんど見られなかったが、感作群 10 日目では、接合上皮内および上皮下結合組織に好中球を主体とした多数の炎症性細胞浸潤と接合上皮の根尖側移動が観察され、さらに明らかな根面からのアタッチメントロスが観察された。



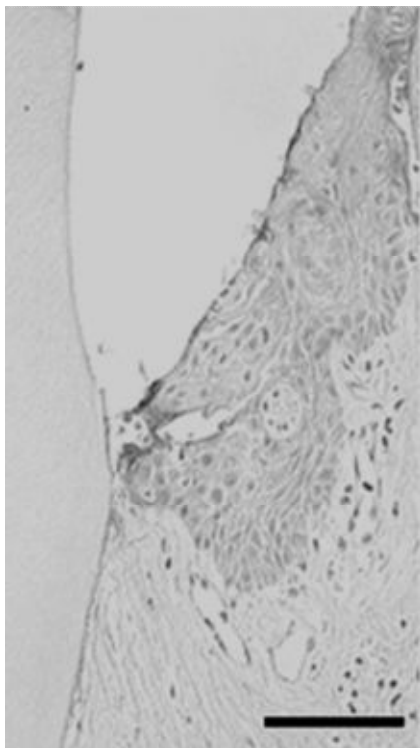
## 2) 歯周炎モデルにおける C1qB 発現の分布

対照群では、C1qB の発現は全く認められなかったが、アタッチメントロスが認められた感作群 10 日目では接合上皮および上皮下結合組織に C1qB の発現が強く認められた。



## 3) 長い上皮性付着破壊における C1q 発現の分布

長い上皮性付着群でアタッチメントロスが生じた切片で、上皮および上皮下結合組織に C1qB の発現が強く認められた。



## 【まとめ】

歯周炎の最大のリスクファクターである歯周ポケット形成におけるアタッチメントロスに C1q が強く関与することが示唆された。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Takamori A, **Yoshinaga Y**, Ukai T, Nakamura H, Takamori Y, Izumi S, Shiraishi C, Hara Y. Topical application of glycyrrhetic acid in the gingival sulcus inhibits attachment loss in lipopolysaccharide-induced experimental periodontitis in rats, J Periodontal Res. 2018 Jun;53(3):422-429.

Noguchi S, Ukai T, Kuramoto K, **Yoshinaga Y**, Nakamura H, Takamori Y, Yamashita Y, Hara Y. The histopathological comparison on the destruction of the periodontal tissue between normal junctional epithelium and long junctional epithelium, J Periodontal Res. 2017 Feb;52(1):74-82

〔学会発表〕(計 2 件)

有田陽一, **吉永泰周**, 金子高士, 河原ゆり, 中村恵子, 古賀千尋, 大城希美子, 山本南奈, 廣松亮, 有田晴一, 坂上竜資. NLRP3 インフラマソームは外傷性咬合による骨吸収に關与する. 第 61 回秋季日本歯周病学会. 2018 年 10 月 26-27 日.(大阪市)

泉 聡史, **吉永 泰周**, 中村 弘隆, 高森 明子, 高森 雄三, 山下 恭徳, 小林 弘樹, 小山 美香, 鶴飼 孝, 原 宜興. ラット歯周組織破壊における免疫複合体形成及び T 細胞の關与についての病理組織学的検討. 第 59 回秋季日本歯周病学会, 2016 年 10 月 7-8 日. (新潟市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：原 宜興

ローマ字氏名：Hara Yoshitaka

所属研究機関名：長崎大学

部局名：医歯薬学総合研究科(歯学系)

職名：教授

研究者番号 (8 桁)：60159100

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、研究者個人に帰属されます。