

令和元年6月10日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11777

研究課題名(和文) NF-Bデコイ核酸の超音波マイクロバブル導入による変形性顎関節症の新規治療の開発

研究課題名(英文) Development of new treatment for osteoarthritis and oral inflammation using the NF-kappa-B decoy oligonucleotides

研究代表者

村本 健 (MURAMOTO, Takeshi)

東京医科歯科大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：30345300

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)：かつて矯正歯科治療の患者層は若年者が中心であったが、社会の高齢化やライフスタイルの変化、患者さんの機能のみならず審美面への高いニーズにより、成人の矯正歯科治療患者の割合が近年増加している。これに伴い、成人、特に、中高年の患者が抱える顎顔面領域の疾患である歯周病、顎関節症などが矯正臨床上の課題となっている。とりわけ、歯周病における口腔内炎症、顎関節症における骨および軟骨の炎症の制御、さらには、低侵襲かつ効率的である組織再生医療の開発が求められる。そこで、本研究は、ラット疾患モデルを対象に、NF- κ Bデコイ核酸による口腔内炎症への応用を行い、デコイ核酸による新たな治療法の可能性を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

核酸医薬であるNF- κ Bデコイは、これまで皮膚科疾患や整形外科疾患、腫瘍疾患などに対する、新たな治療法として検討されてきたが、顎口腔疾患への応用はあまり検討されていない。研究代表者と研究分担者は、先行研究において、歯周疾患モデル動物に対して、NF- κ Bデコイの投与実験を行い、口腔内炎症および骨吸収の抑制を、*In vivo*にて明らかにしてきた。本研究においては、先行研究を受け、NF- κ Bデコイの顎口腔領域への応用の可能性を広げるため、成人における歯牙移植を想定した動物モデルへの応用まで試み、移植歯の治癒向上を示唆する基礎データを初めて示すことができた。

研究成果の概要(英文)：Japan is aging ever faster, and the need and demand to orthodontic treatment is increasing in many adults because of changes in our lifestyle. There are clinical problems, such as periodontitis, temporomandibular joint disorders in adult orthodontic patients, especially in elder patients. Then, we need to develop the new treatments for osteoarthritis and oral inflammation for them. Previously, we reported the effectiveness of the ultrasound-microbubble method as a tool for transfecting the nuclear factor kappa B (NF- κ B) decoy oligodeoxynucleotide (ODN) as a suppressor of periodontitis progression into healthy rodent gingival tissue. In our studies, we tried to apply this technique to the animal models with teeth transplantation, for exploring the possibilities of gene therapy in dentistry.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：NF- κ Bデコイ核酸 炎症 変形性関節症 動物モデル 移植

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

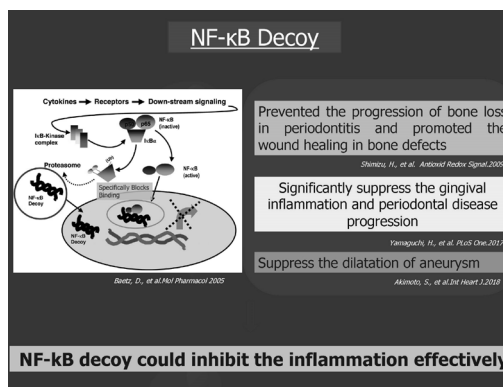
1. 研究開始当初の背景

かつて矯正歯科治療の患者層は小児または若年者が中心であったが、社会の高齢化やライフスタイルの変化、患者さんの機能のみならず審美面への高いニーズにより、成人の矯正歯科治療患者の割合が近年増加している。これに伴い、成人、特に、中高年の患者が抱える顎顔面領域の疾患である歯周病、顎関節症などが矯正臨床上の課題となっている。とりわけ、歯周病における口腔内炎症、顎関節症における骨および軟骨の炎症の制御、さらに、疾患により失われた硬組織に対する、低侵襲かつ効率的である再生医療の開発が求められる。近年、NF- κ B デコイの作用により破骨細胞の活性化が抑制され、骨吸収が抑制されるという報告が、In vitro および In vivo の研究により報告されている。しかしながら、核酸医薬である NF- κ B デコイは、これまで皮膚科疾患や整形外科疾患、腫瘍疾患などに対する、新たな治療法として検討されてきたが、顎口腔疾患への応用はあまり検討されていない。そこで、われわれは、この副作用が少なく、効果的であるデコイ核酸の特徴に着目して、骨・軟骨などの硬組織疾患、とりわけ口腔への応用を着想した。

2. 研究の目的

研究代表者と研究分担者は、先行研究において、歯周疾患モデル動物に対して、NF- κ B デコイの投与実験を行い、口腔内炎症および骨吸収の抑制を、In vivo にて明らかにしてきた。そこで、本研究では、先行研究を受け、NF- κ B デコイの顎口腔領域への応用の可能性を広げるため、ラット疾患モデルを対象に、NF- κ B デコイ核酸による口腔内炎症への応用を行い、デコイ核酸による新たな治療法の可能性を検討した (図1)。

図 1

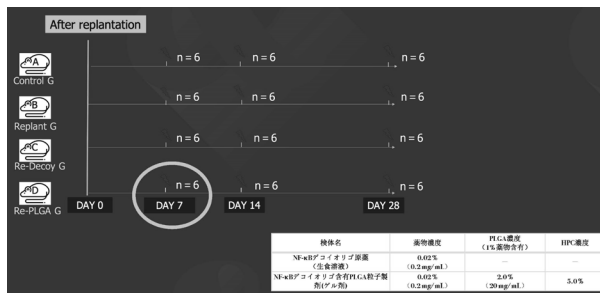


3. 研究の方法

(1) ラット切歯の自家歯移植モデルへの NF- κ B デコイ核酸の塗布実験

7 週齢雄性 Wister 系ラットを用いて自家歯移植モデルを作製し、全身麻酔下にて、一度抜去した上顎切歯の歯根膜に、NF- κ B デコイ核酸担体を塗布し、再植、歯科用レジンによる固定の後、14 日間の治癒期間を経て、動物モデルを安楽死させ、自家歯移植を行った上顎骨を採取した (図 2)。

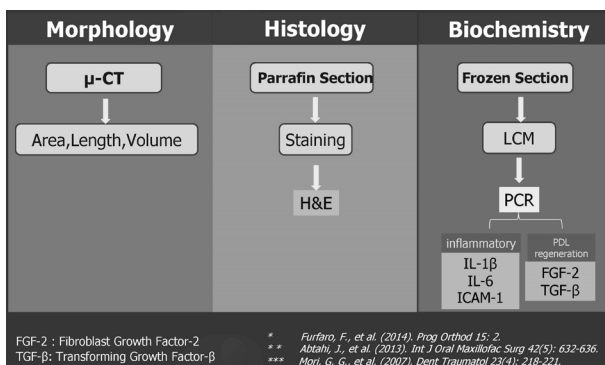
図 2



(2) 自家歯移植における NF- κ B デコイの効果の検証

移植実験の終了後、①マイクロCT解析、②組織学的解析 (ヘモトキシリン・エオジン染色)、③NF- κ B の下流の炎症系因子を標的とする定量PCR解析を実施した (図 3)。

図 3

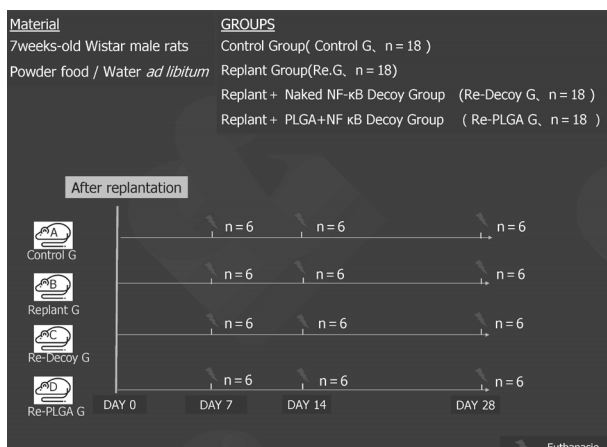


FGF-2: Fibroblast Growth Factor-2
TGF- β : Transforming Growth Factor- β
* Furuta, F., et al. (2014). *Prap Orthod* 15: 2.
** Akashi, A., et al. (2013). *Int J Oral Maxillofac Surg* 42(5): 632-636.
*** Mori, G. G., et al. (2007). *Dent Traumatol* 23(4): 218-221.

(3) PLGA ナノ粒子のデコイ核酸担体への応用

NF- κ B デコイの効果を持続的なものにするため、デコイの担体として、PLGA (Poly-Lactide-co-Glycolide Acid) 用いることを検証した。7週齢雄性 Wistar 系ラットを用いて、対照群 (非移植モデル)、移植群、移植 & Naked NF- κ B Decoy 群 (移植歯に、NF- κ B デコイ単体を塗布)、移植 & PLGA NF- κ B Decoy 群 (移植歯に、PLGA ナノ粒子を担体にした NF- κ B デコイ・ゲルを塗布) の4群を作製し、CT解析および組織学的解析を行った (図4)。

図4



4. 研究成果

(1) ラット切歯移植における NF- κ B デコイ核酸の効果 (マイクロ CT 解析)

再植歯のマイクロ CT 解析により、NF- κ B デコイ核酸の投与群において、実験開始 14 日後、周囲骨の吸収が抑制されていることが観察された (図4 上顎骨および切歯の CT 画像; 図5 上顎骨切歯の矢状断画像; 図6 移植 14 日後の前頭断および矢状断 CT 画像)。

図4

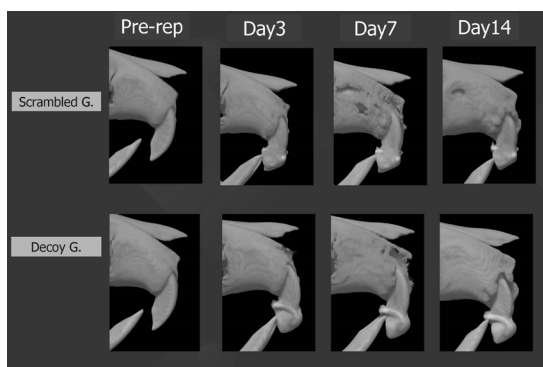


図5

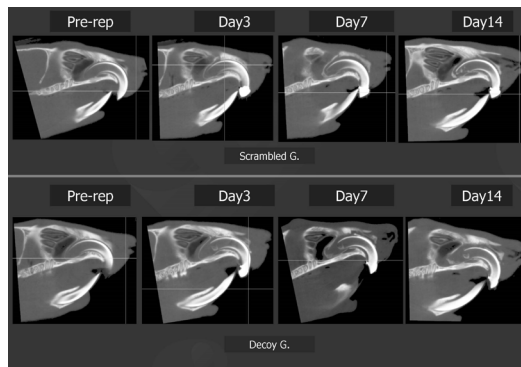
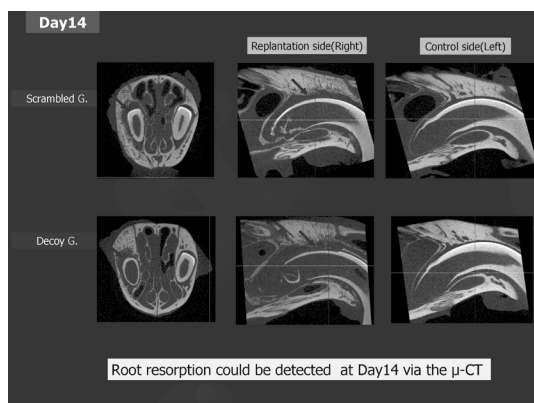


図6



(2) ラット切歯移植における NF- κ B デコイ核酸の効果 (組織学的解析)

ヘモキシリン・エオジン染色による再植歯の組織学的解析の結果、NF- κ B デコイ核酸の投与群の歯根膜組織において、歯槽骨吸収の減少が観察された (図7 移植歯歯根膜の弱拡大像; 図8 強拡大像)。

図 7

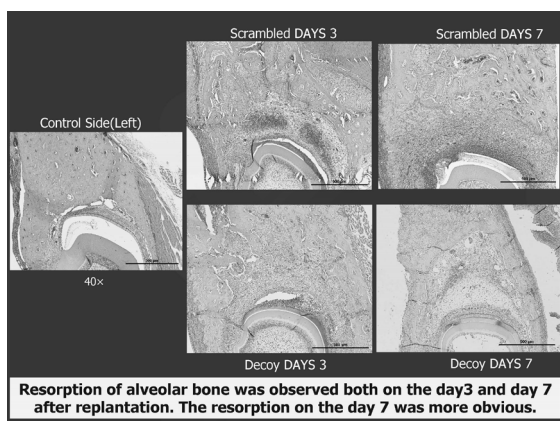
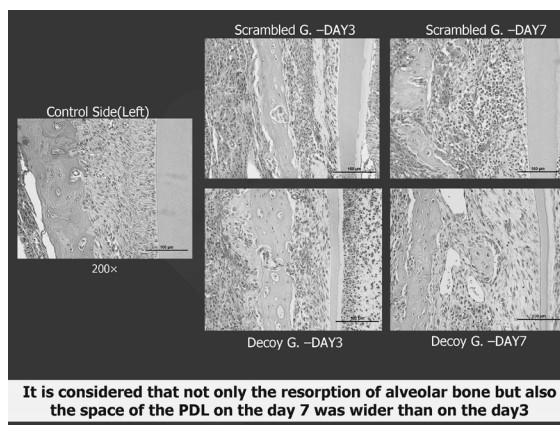


図 8



以上の研究結果から、成人の歯牙移植を想定した動物モデルにおいて、初めて NF- κ B デコイ核酸による移植歯の治癒向上を示唆する基礎データが得られ、現在、口腔内での NF- κ B デコイ核酸の長期的効果を検証する結果をまとめている

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 1 件)

- ① 山口博之, 石田雄之, 細道純, 鈴木淳一, 小野卓史. 新たな歯周病治療戦略としての核酸医薬 DDS の応用. 第 2 回核酸医薬 DDS 研究会 2017. 12. 01 東京
- ② Yamaguchi H, Ishida Y, Hosomichi J, Suzuki J, Ono T. Transfection of NF- κ B decoy into the rodent periodontium using ultrasound-microbubble technique prevents the progression of the periodontitis. The 93rd congress of the European Orthodontic Society 2017. 06. 05 Montreux, Switzerland

〔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：
 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：
 国内外の別：

〔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：細道 純

ローマ字氏名：(HOSOMICHI, Jun)

所属研究機関名：東京医科歯科大学

部局名：大学院医歯学総合研究科

職名：講師

研究者番号 (8 桁)：00420258

研究分担者氏名：石田 雄之

ローマ字氏名：(ISHIDA, Yuji)

所属研究機関名：東京医科歯科大学

部局名：大学院医歯学総合研究科

職名：助教

研究者番号 (8 桁)：00516297

研究分担者氏名：鈴木 淳一

ローマ字氏名：(SUZUKI, Jun-ichi)

所属研究機関名：東京大学

部局名：医学部附属病院

職名：特任准教授

研究者番号 (8 桁)：90313858

*2018 年 3 月末、研究分担者の死亡のために辞退

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：山口 博之

ローマ字氏名：(YAMAGUCHI, Hiroyuki)

研究協力者氏名：李 凱

ローマ字氏名：(Lee, Kai)

※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。