

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：33602

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K17058

研究課題名（和文）老化細胞による歯周病増悪機構の解明と新規治療法の確立

研究課題名（英文）Elucidation of periodontal disease exacerbation mechanism by senescent cells and establishment of new treatment method

研究代表者

尾崎 友輝（Ozaki, Yuki）

松本歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：10802902

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、ヒト大動脈血管内皮細胞（Human Aortic Endothelial Cells: HAECs）にSAAを添加して培養することにより、老化関連の因子に対する影響を検討した。

本研究において、HAECsにSAAを添加することにより、動脈硬化症の発症・進行に関わる因子や老化に関わる因子の発現が増加することが示唆された。動脈硬化症の本態は慢性炎症であるが、炎症が惹起されると細胞の老化も進行することが示唆された。

今回得られた知見は、炎症の状態や、老化に伴う炎症性因子の発現上昇をコントロールすることによる、新規の歯周病治療確立の一助となりうる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周病治療における再生療法において様々な薬剤が臨床応用されているが、抗炎症作用や骨形成を促進させる因子の開発は十分ではない。歯周組織再生には、加齢に伴う慢性炎症の抑制および歯槽骨形成を促進する因子の応用が必要である。

今回得られた知見は、炎症の状態や、老化に伴う炎症性因子の発現上昇をコントロールすることによる、新規の歯周病治療法確立の一助となりうる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the effect of human Aortic Endothelial Cells (HAECs) on aging-related factors by adding SAA and culturing.

In this study, it was suggested that the addition of SAA to HAECs increases the expression of factors related to the onset and progression of arteriosclerosis and factors related to aging. The main form of arteriosclerosis is chronic inflammation, but it was suggested that when inflammation is induced, cell aging also progresses.

The findings obtained this time can support establish new treatments for periodontal disease by controlling the state of inflammation and the increased expression of inflammatory factors associated with aging.

研究分野：歯周病学

キーワード：歯周病 動脈硬化症 炎症 老化 HAECs SAA

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国は2010年に超高齢社会に突入し、増加し続ける高齢者に対する医療費問題の解決には慢性疾患・基礎疾患の予防および治療が不可欠である。また、高齢者においては慢性の全身疾患を併発した歯科疾患患者が増加をきたしており、歯科の研究課題は口腔領域にとどまらず、全身領域との関連性についての究明が求められる。歯周病領域においては、動脈硬化症や2型糖尿病などの関係を検討した疫学研究が行われており、歯周病がこれらの全身疾患の発症・進行リスクと相関することは明らかである (Nat Rev Endocrinol 7: 738-748, 2011)。これらの疾患は内臓脂肪型肥満を共通の要因したメタボリックシンドロームと称され、メタボリックシンドロームの発症および進行に慢性炎症が関与することが明らかになっている (日本内科学会雑誌, 94: 4)。

近年では、歯周病は単純に口腔局所の感染症としてのみならず、様々な臓器に影響を及ぼしうる軽微な慢性炎症として捉えなおされている。歯周病の罹患率および重症度は加齢に伴い増加すること (Periodontology 2000 72:54, 2016) や、高齢者では骨の再生能力が低下すること (Cell Stem Cell 20:1, 2017) が報告されている。また、加齢は心血管疾患、骨粗鬆症、癌の発症、慢性炎症の増加をきたすとともに免疫系の機能低下も引き起こす。近年、これらの病態において、細胞老化を起こした細胞が炎症関連遺伝子の発現を亢進させる現象である細胞老化関連分泌形質 (Senescence-Associated Secretory Phenotype: SASP) を起こすことが関与することが報告されている (J Clin Invest 123: 966-972, 2013)。歯肉において抗炎症因子 Del-1 (developmental endothelial locus-1) の発現が加齢により低下することが報告された (Nat Immunol 13:465, 2012)。Del-1 の発現低下は、好中球の遊走を過剰に増加させ、歯槽骨吸収を増加させる。すなわち、加齢による過剰な炎症が歯周病を悪化させることが示された。しかし、加齢に伴う Del-1 の減少に SASP が関与するかは明らかではない。慢性炎症は歯周病を含む加齢関連疾患に共通する基盤病態である (J Clin Invest 118: 2992-3002, 2008, Nat Rev Immunol 11: 98-107, 2011)。老化細胞による SASP 因子が慢性炎症を誘導し、歯周病や加齢関連疾患の悪化に関与する可能性が示唆されている。以上より、高齢者の歯周組織を維持するには、慢性炎症の抑制と歯槽骨形成を促進する因子の、両者を応用する必要があると考えられる。

老化細胞が歯周病を悪化させる分子基盤を解明すること、また、SASP を阻害した場合、老化因子の発現は抑制されるのか、そして歯周病が引き起こす骨吸収に関わるメカニズムに対してどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることを旨とし、本研究を立案した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、老化細胞が歯周病を悪化させる分子基盤を解明することである。その機序を解明し、老化細胞を除去する、あるいは SASP を抑制した際に、歯周病が引き起こす骨吸収に関わるメカニズムに対してどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることである。本申請課題の遂行により、喪失した歯槽骨を再生させる新たな歯周病治療法の確立につながるものと期待される。

我々の研究グループでは、歯周病により産生される炎症性サイトカインである IL-6 が、肝臓を刺激して血清アミロイド A (serum amyloid A: SAA) の濃度を上昇させ、SAA が血管内皮細胞の受容体 TLR-2 に結合することにより、動脈硬化症を悪化させる経路を見出した。近年では老化と慢性炎症の関連性が指摘されており、動脈硬化症の発症や病態の進行には慢性炎症が関わっている。動脈硬化症の発症・進行過程に老化因子が関与していると考え、ヒト大動脈血管内皮細胞 (Human Aortic Endothelial Cells: HAECs) に SAA を添加して培養することにより、老化関連の因子に対する影響を検討した。

3. 研究の方法

(1) ヒト大動脈血管内皮細胞 (HAECs) の培養

HAECs を6穴プレートに各ウェル 5×10^5 個となるように播種し、Endothelial Cell Basal Medium-2 (EBM-2) を培地として使用して5%CO₂存在下でコンフルエントになるまで培養を行った。コンフルエントとなった細胞を、EBM-2を培地として使用して5%CO₂存在下で10日間培養した。10日目にhuman recombinant serum amyloid A (SAA) を25 µg/ml添加したEBM-2に培地交換して3時間培養した。3時間SAAに曝露させた細胞を実験群として回収した。同様のプロトコルで、10日目にPBSを添加したEBM-2に培地交換して、3時間培養後に回収した細胞を対照群とした。

(2) SAA添加によるHAECsの接着分子遺伝子発現の解析

上記(1)の細胞からcDNAを精製した。real-time PCR法にて動脈硬化症発症に関わる接着分子であるICAM-1、VCAM-1の遺伝子発現を解析した。

(3) SAA添加によるHAECsの老化関連遺伝子発現の解析

上記(1)の細胞からcDNAを精製した。real-time PCR法にて老化に関わる因子であるp16、p21、p53の遺伝子発現を解析した。

4. 研究成果

SAA を添加した HAECs において、動脈硬化症の発症に関わる接着分子である VCAM-1 の遺伝子発現は増加した。また、動脈硬化症の発症に関わる接着分子である ICAM-1 も増加傾向にあった。SAA を添加した HAECs において、細胞の老化に関わる p16 遺伝子の発現は増加傾向にあったが、細胞の老化に関わる p21 および p53 遺伝子の発現には増加はみられなかった。

本研究において、HAECs に SAA を添加することにより、動脈硬化症の発症・進行に関わる因子や老化に関わる因子の発現が増加することが示唆された。動脈硬化症の本態は慢性炎症である

が、炎症が惹起されると細胞の老化も進行することが示唆された。

歯周病もまた慢性炎症性疾患であり、動脈硬化症の発症・進行メカニズムと共通する病態増悪機構を有するものであると考えられる。今回得られた知見は、炎症の状態や、老化に伴う炎症性因子の発現上昇をコントロールすることによる、新規の歯周病治療確立の一助となりうる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Ozaki Y, Koide M, Ninomiya T, Nakamura M, Furuya Y, Yasuda H, Takahashi N, Udagawa N and Yoshinari N
2. 発表標題 Treatment of OPG-deficient mice with WP9QY recovers alveolar bone loss
3. 学会等名 104th Annual Meeting American Academy of Periodontology in collaboration with the Japanese Society of Periodontology and Japanese Academy of Clinical Periodontology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小出雅則, 尾崎友輝, 古屋優里子, 保田尚孝, 山下照仁, 宇田川信之
2. 発表標題 9ペプチド投与によるOPG遺伝子欠損マウスの歯槽骨喪失の改善効果
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----