

平成 21 年 5 月 28 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19791617

研究課題名（和文） アディポネクチンと歯周病の分子メカニズム解析

研究課題名（英文） Effect of adiponectin on human gingival fibroblasts

研究代表者

迫田 賢二（SAKODA KENJI）

鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：70419654

研究成果の概要：

本研究は、歯周病と生活習慣病の関連性を解明するための1つの手段として、抗生活習慣病ホルモンといわれるアディポネクチンがヒト歯肉線維芽細胞（HGFs）に及ぼす影響を検討することであった。

HGFsにおいて、アディポネクチンレセプターの発現が確認された。実験的に炎症状態にしたHGFsは炎症性タンパクを産生するが、そこにアディポネクチンを作用させたところ、アディポネクチンの濃度依存的に炎症性タンパクの産生は増加もしくは有意な変化はみられないという結果であった。そこで、HGFsとマクロファージの共培養系にてアディポネクチンの影響を検討したところ、アディポネクチンの濃度依存的に抗炎症性タンパクであるIL-10やIL-1raの産生の亢進が確認された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2004年度			
2005年度			
2006年度			
2007年度	2,000,000	0	2,000,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	2,900,000	270,000	3,170,000

研究分野：歯周病学

科研費の分科・細目：歯学・歯周治療系歯学

キーワード：歯周病、生活習慣病、アディポネクチン、生理活性

1. 研究開始当初の背景

現在、メタボリックシンドロームは、心臓血管系疾患のリスクファクターとして認められているが、その最大の原因は肥満である。肥満により肥大化した脂肪細胞からは

TNF- α 、PAI-1などの悪玉アディポサイトカインが過剰に分泌され、インスリン抵抗性が惹起される。これら悪玉アディポサイトカインに加え、インスリン感受性増強作用を有する善玉アディポサイトカインの役割が注目

されている。代表的な善玉アディポサイトカインであるアディポネクチンは正常肥満細胞より分泌され、インスリン抵抗性を改善する。また、アディポネクチンは損傷した血管壁に接着して、抗炎症作用および動脈硬化抑制作用が報告されている。

歯周病は現代日本人の推定約 9000 万人が罹患しているといわれている組織破壊性の慢性炎症性疾患で生活習慣病の1つとされている。近年、歯周病は全身疾患と深い関係があることが明らかとなった。心臓血管系疾患や糖尿病などの全身疾患の増悪に伴い歯周病が悪化するという報告に加え、歯周病の悪化に伴い心臓血管系疾患や糖尿病等の罹患率が上がる報告が増えてきている。

2. 研究の目的

歯周病と全身疾患との関連性に脂肪細胞が分泌するアディポネクチンが関与していると予想した。本研究ではアディポネクチンが歯周組織細胞においても NF- κ B シグナル伝達を阻害し炎症を制御することが可能であることを確認し、歯周組織由来細胞の炎症性蛋白発現におけるアディポネクチンの影響を解析することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 歯周組織におけるアディポネクチン受容体 (AdipoR1、AdipoR2) の発現の検索

歯肉線維芽細胞のAdipoR1、AdipoR2の発現をRT-PCR法を用いて検討する。

(2) サイトカイン産生におけるアディポネクチンの役割

アディポネクチンのサイトカイン産生量に及ぼす影響を検討する。

アディポネクチン濃度は実際の血中濃度 (5~10 μ g/ml) を基準に検討する。

使用細胞：ヒト歯肉線維芽細胞

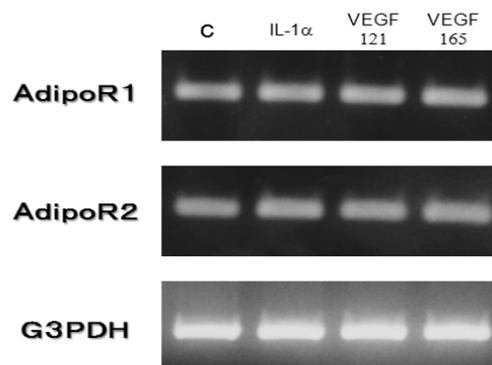
検出サイトカイン：IL-6、IL-8 を ELISA 法にて検出

(3) マクロファージと歯肉線維芽細胞との共培養

アディポネクチン存在下 / 非存在下において IL-1 刺激を行い、サイトカイン産生量を ELISA 法にて測定する。またそれぞれの細胞を単独で培養したものについても同様の刺激を加え、サイトカイン産生量を測定する。これら共培養と単独培養時のサイトカイン産生量について比較検討する。

4. 研究成果

(1) ヒト歯肉線維芽細胞におけるアディポネクチンレセプターである AdipoR1、AdipoR2 の発現についてであるが、RT-PCR 法にて検索した結果、両レセプターとも発現が確認

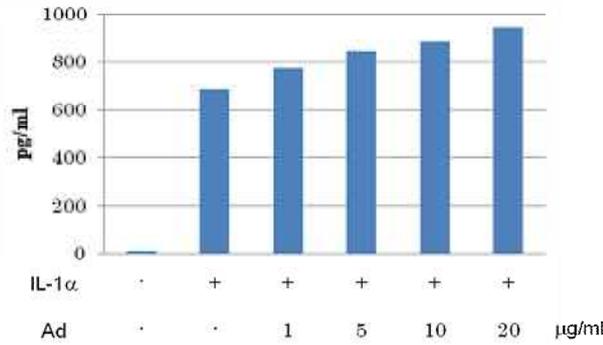


された。

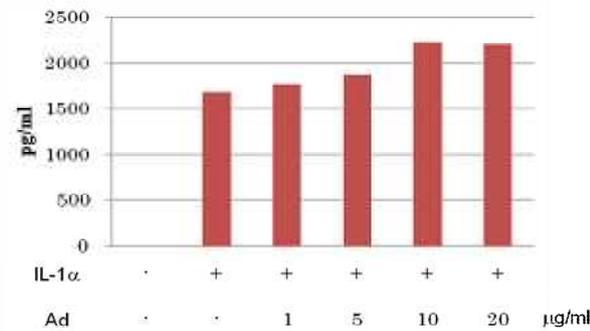
図に示すCは、無刺激のコントロールであるが、IL-1、VEGF121、VEGF165 刺激を行ってもレセプターの発現が増強することはなかった。

(2) サイトカイン産生におけるアディポネクチン (Ad) の役割

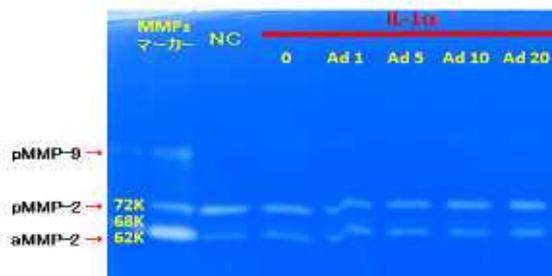
IL-6 産生 (ELISA 法)



IL-8 産生 (ELISA 法)



MMPs 活性 (ゼラチンザイモグラフィー)



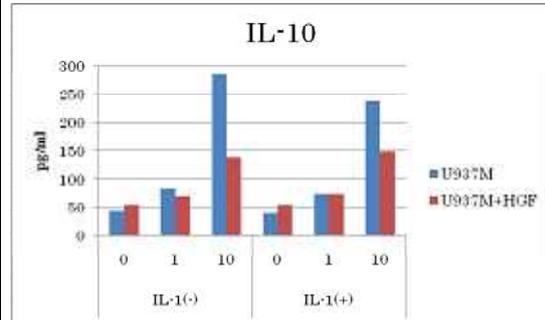
血管内皮細胞においては、アディポネクチンによる抗炎症作用が報告されているが、アディポネクチンにより歯肉線維芽細胞からの IL-6 や IL-8 の産生は抑制されることはなかった。MMPs 活性についても同様であった。

このことは、アディポネクチンによって炎症が抑制されるという予想に反する結果である。

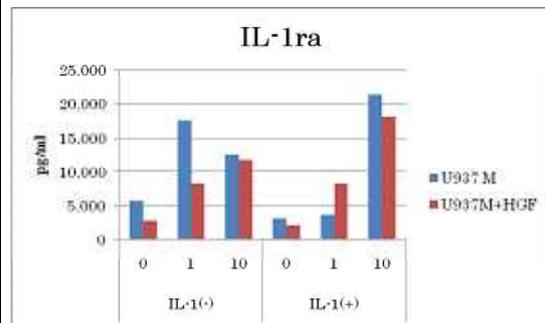
(3) マクロファージと歯肉線維芽細胞 (HGF) との共培養

マクロファージはヒト単球系細胞株の U937 を分化させたものを使用した。

IL-10 (ELISA 法)



IL-1ra (ELISA 法)



HGF単独では、IL-10とIL-1raの産生は認めなかった。マクロファージ (U937M) と共培養系において、アディポネクチンの濃度依存的に抗炎症性サイトカインであるIL-10やIL-1raの産生の亢進が確認された。

以上のことより、ヒト歯肉線維芽細胞に対するアディポネクチンの直接的な抗炎症作用はないことが示唆された。しかしながら、アディポネクチンはマクロファージに対してIL-10やIL-1raの産生を亢進させ、それが歯周組織由来細胞とU937マクロファージの共培養においても確認された。このことは成人の8割以上が罹患しているといわれている歯周炎が、ほとんどの場合慢性的に経過する

ことの証明となる可能性がある。

本研究はさらなる検討が必要であると
考え、詳細な解析を進める。

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)

6．研究組織
(1)研究代表者
迫田 賢二 (SAKODA KENJI)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・助教
研究者番号：70419654

(2)研究分担者

(3)連携研究者