

平成 21 年 5 月 18 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2007～2008

課題番号：19890157

研究課題名（和文） レプチン(代謝調節ホルモン)と歯の萌出期の顎骨リモデリング

研究課題名（英文） Relations of Leptin and jaw bone remodeling at tooth eruption stage

研究代表者

中村 由紀 (NAKAMURA YUKI)

九州大学・大学院歯学研究院・助教

研究者番号：70452779

研究成果の概要：

本研究と関連したこれまでの研究業績より、レプチンが味覚器にも作用していることが明らかになり、口腔内器官もまたレプチンの作用部位であることがわかった。さらに研究を進め、口腔内器官(味覚器)のレプチンの感受性はレプチンの血中濃度と関連を示し日内変動していることが明らかになった。中枢神経に作用しエネルギー調節に働いているレプチンホルモンの新しい機能、役割の解明の一助と考える。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,320,000	0	1,320,000
2008年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,670,000	405,000	3,075,000

研究分野：小児歯科

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：発生・分化、細胞・組織、レプチン

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 1994年、遺伝的に過食で肥満を発症するマウスに、正常マウスの血液を輸血すると肥満マウスの食欲が低下することをヒントにして肥満遺伝子 *ob* がクローニングされ、その遺伝子産物であるレプチンが発見された (Zhang *Y et al.*, *Nature*, 1994)。レプチンは脂肪細胞から血液中に分泌され中枢神経系に直接作用するホルモンである。主に視床下部に存在するレプチン受容体を介して摂食を強力に抑制する。同時に交感神経を介して基

礎代謝を亢進させ、最終的には体脂肪量を調節し肥満の進展を抑制する。その受容体は脳のみならず、味覚器、肝臓、リンパ節、脂肪組織自身など多くの臓器に分布している。その作用は摂食調節の他に、味覚、造血、生殖と多岐にわたる。

本申請者はこれまでに、味覚器におけるレプチンの生理作用についての検索を進め、レプチンが甘味感受性を抑制しており、口腔内器官もまたレプチンの作用部位であることを示した(研究業績参考文献参照)。レプチンと同様に全身的な代謝制御に関わるインシ

ユリンや IGF- $\beta$  は、歯を含めた様々な口腔組織形成に重要であると報告されてきた。しかしながら、レプチンの口腔組織形成と発達における役割については、ほとんど解明されていない。

(2) 近年、レプチンを介する交感神経系が、全身の代謝調節だけでなく骨芽細胞における破骨細胞分化因子 *Rankl* の発現を増加させることにより骨吸収を促す方向に働くこと (Florent E *et al.*, Nature, 2005) が報告された。即ち、骨のリモデリングにレプチンが関与していることが示唆された。

## 2. 研究の目的

歯の萌出期、歯胚周囲の顎骨では吸収と添加が活発に行われている。乳歯から永久歯への交換過程においても、永久歯萌出や歯根形成に伴った周囲顎骨のリモデリングが活発である。乳歯列から混合歯列そして永久歯列の完成までの期間は、全身においても成長発育の最も盛んな時期であり、全身的要因が歯の萌出に何らかの影響を及ぼしているであろうことは推察できる。この時期に関与する全身的要因の中では、インシュリンや IGF などの成長因子の影響についての報告はあるものの、歯の萌出に伴う周囲顎骨のリモデリングを含めた情報は皆無である。そこで本研究では、歯の形成・萌出期における顎骨のダイナミックな変化に対するレプチンの影響を検索する。

## 3. 研究の方法

(1) レプチン欠如マウスと正常マウスを用いて、歯の形成・萌出期における顎骨リモデリングの分化マーカーについて分子生物学的手法で比較する。

遺伝的突然変異のため脂肪細胞からレプチンを生成することのできない *ob/ob* マウスと正常タイプのマウスを用いて、以下にあげる分化マーカーの発現について歯の萌出(歯根形成)期である生後 5 日齢から 20 日齢までを比較する。

### 【骨・セメント質分化マーカー】

Bone morphogenetic proteins (BMP)  
Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )  
Insulin-like growth factor (IGF)  
Collagen type 1  
osteopontin

### 【破骨細胞分化マーカー】

破骨細胞分化因子(RANKL)  
TNF receptor associated factor6(TRAF6)

(2) 歯の形成・萌出期のマウスを用いて、歯胚周囲の顎骨でのレプチン受容体の発現を調べる。

口腔領域のレプチン作用部位としては味蕾、唾液腺が知られており、レプチン受容体 (Ob-R) が発現していることがわかっている。レプチンが制御する骨吸収機序は、現在のところ中枢の受容体にレプチンが作用し交感神経系を介すると考えられている。骨に直接作用している報告は現在のところわかっていない。直接作用を含めた検討を行うため、顎骨・歯根におけるレプチン受容体の発現の有無、発現時期を、Real time PCR 法および in situ hybridization 法を用いて解析する。

(3) 全身のレプチンレベルと骨リモデリングとの関係をさらに明確にし、歯の形成・萌出期の歯胚周囲顎骨におけるレプチンの作用を解析する。

血中レプチンレベルと以下にあげる骨代謝に関わるホルモンレベルとの相関関係を調べ、レプチンレベル別に歯根の形成状態、顎骨の吸収状態について組織学的解析を行う。これにより、全身の代謝状態が顎骨という局所の代謝状態および成長発育にどのような影響を及ぼすか検索する。

### 【骨代謝に関わるホルモン】

1,25-dihydroxycholecalciferol  
上皮小体ホルモン(PTH)  
calcitonin  
PTH 関連タンパク(PTHrP)  
糖質コルチコイド  
growth hormone(GH)  
estrogen

(4) 外因性にレプチン蛋白を作用することによって、歯の形成・萌出期の歯胚周囲顎骨に生じる変化を調べる。

歯胚形成及び歯根形成過程の 2 つの過程について、外因性にレプチンを作用させたときの歯胚周囲顎骨のリモデリングを、細胞培養、器官培養を用いて組織学に解析する。胎生 13.5 日のマウス歯胚を、in vitro で各 cell line の細胞培養又は器官培養を行い、以下の項目について解析する。

解析する

細胞増殖能: BrdU 法

Apoptosis 活性: Tunnel 法

細胞分化能: 骨・歯根の分化マーカーについて行う

Real time PCR 法, in situ hybridization 法, Western blot 法, 免疫染色法

#### 4. 研究成果

(1)これまでの研究業績より、レプチンが味覚器にも作用していることを明らかにし、口腔内器官もまたレプチンの作用部位であることを示した。さらに研究を進め、口腔内器官（味覚器）のレプチンの感受性はレプチンの血中濃度と関連を示し日内変動していることが明らかになった。中枢神経に作用しエネルギー調節に働いているレプチンホルモンの新しい機能、役割の解明の一助と考える。

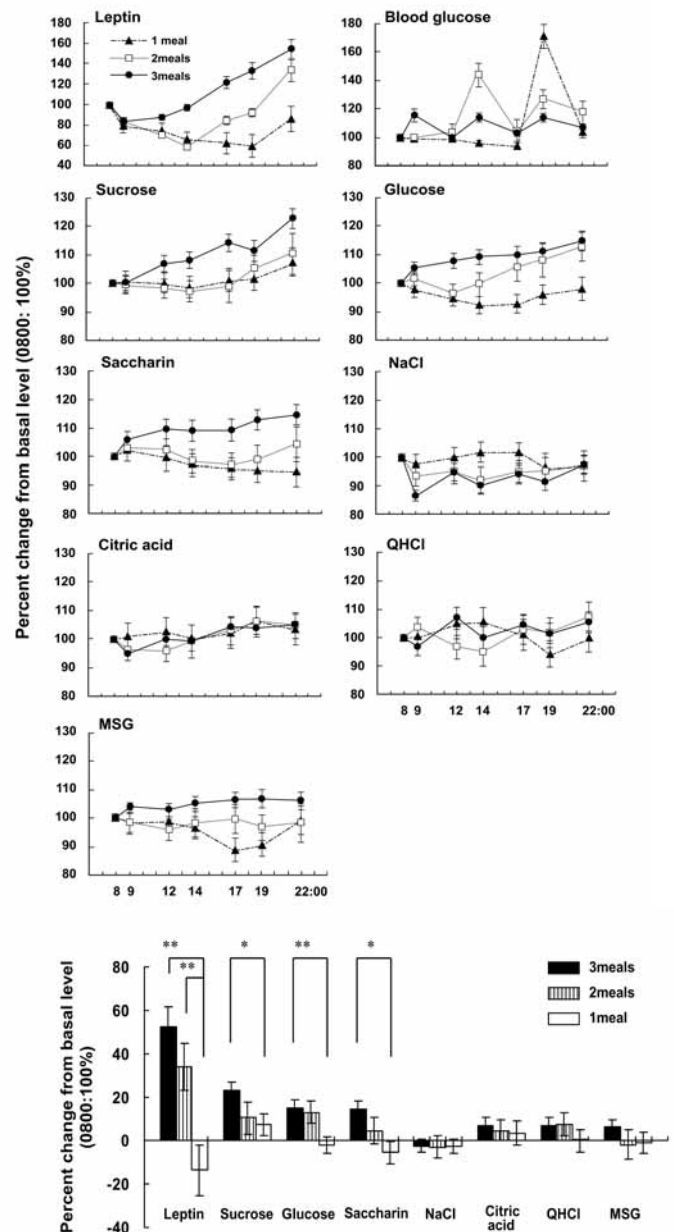
(以下、論文から抜粋)

##### Result

The recognition thresholds for sweet compounds exhibited a diurnal variation from 0800 to 2200 h that parallels variation for leptin levels, with the lowest thresholds in the morning and the highest thresholds at night. This diurnal variation is sweet-taste selective it was not observed in thresholds for other taste stimuli (NaCl, citric acid, quinine, and monosodium glutamate). The diurnal variation for sweet thresholds in the normal feeding condition (three meals) was independent of meal timing and thereby blood glucose levels. Furthermore, when leptin levels were phase-shifted following imposition of one or two meals per day, the diurnal variation of thresholds for sweet taste shifted in parallel.

##### Conclusion

This synchronization of diurnal variation in leptin levels and sweet taste recognition thresholds suggests a mechanistic connection between these two variables in humans.



(2)また、レプチンが歯や顎骨といった口腔内器官に直接作用を及ぼしているかについての検討を行うために、歯根や顎骨におけるレプチン受容体の発現の有無、発現時期を解析した。今回の実験結果では歯根や顎骨にレプチン受容体の発現は認められなかった。もしレプチン受容体の発現が認められないとすると、歯根や顎骨へのレプチンの直接作用の可能性は低く、従来の報告にあるようにレプチンが制御する骨吸収機序は中枢の受容体にレプチンが作用し交感神経系を介すると考えられる。

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)

[雑誌論文](計1件)

! Yuki Nakamura, Keisuke Sanematsu, Rie Ohta, Shinya Shirosaki, Kiyoshi Koyano, Kazuaki Nonaka, Noriatsu Shigemura, Yuzo Ninomiya, Diurnal variation of human sweet taste recognition thresholds are correlated with plasma leptin levels. Diabetes, 57, 2661-2665, 2008, 査読有

[学会発表](計1件)

ヒト甘味感受性と飽食ホルモン・レプチンとの連関に関する研究、第46回有限責任中間法人日本小児歯科学会大会、平成20年6月12日、埼玉(大宮ソニックシティ)

6. 研究組織

(1)研究代表者

中村 由紀 (NAKAMURA YUKI)  
九州大学・大学院歯学研究院・助教  
研究者番号：70452779

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：