

令和 3 年 5 月 29 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K19335

研究課題名(和文)電動歯ブラシの振動が歯肉の炎症の予防に及ぼす影響についての基礎研究

研究課題名(英文)Effects of vibrating electric toothbrushes on ECM in gingival fibroblasts

研究代表者

中井 久美子(NAKAI, Kumiko)

日本大学・歯学部・助教

研究者番号：50736725

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、電動歯ブラシの使用により歯肉の炎症や出血が軽減する疫学研究に着目し、電動歯ブラシの振動が歯肉炎の改善に寄与するメカニズムを検討した。線維芽細胞に電動歯ブラシによる振動刺激を加え、細胞の増殖およびコラーゲン性細胞外基質タンパク(Ⅰ型コラーゲン)、非コラーゲン性細胞外基質タンパク(エラスチン、ヘパリン)など細胞外基質タンパクの合成への影響を調べた。その結果、電動歯ブラシによる振動刺激は、歯肉線維芽細胞のコラーゲン性細胞外基質タンパクや非コラーゲン性細胞外基質タンパクの発現を増加することで、歯周組織の形成を促進する可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

8020運動により20本以上の歯を有する高齢者の割合は増加傾向にある。それに伴い歯周病と判定される4mm以上の歯周ポケットを有する高齢者の割合も増えており、歯周病はいまなお口腔の健康を考えるにあたり重要な研究課題である。

本研究では、電動歯ブラシの使用により歯肉の炎症や出血が軽減する疫学研究に着目した。電動歯ブラシを用いることで、健康者の歯周病予防だけでなく、上手く手用歯ブラシを用いることの出来ない高齢者や障害者の人たちの病状の軽減を図るのではないかと考え、電動歯ブラシの振動が歯肉炎の改善に寄与するメカニズムを詳細に検討し、患者さんの日々のセルフケアによる歯周病の重症化への予防を目指す。

研究成果の概要(英文)：The vibrations of an electric toothbrush help remove plaque and are transmitted to the gingival connective tissue via the epithelial cells. In this study, we examined the effects of the vibrations of an electric toothbrush on the expression of extracellular matrix proteins, namely, type I collagen, collagen, heparin, and fibronectin (FN), using human gingival fibroblast (HGnF) cells.

The vibrations of electric toothbrush increased the expression of col I, col III, elastin, FN at the mRNA level and that of collagenous and non-collagenous proteins and phosphorylated FAK at the protein level in HGnF. Moreover, transfection with PTK2 siRNA in the background of vibratory stimulation with the electric toothbrush resulted in inhibitory effects on the expression of col III and elastin.

These results suggest that the vibrations of an electric toothbrush increase the production of collagen, elastin, and FN via the FAK signaling pathway in fibroblasts.

研究分野：口腔衛生学

キーワード：電動歯ブラシ コラーゲン 線維芽細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

電動歯ブラシは、上肢に運動障害のある者への適用を目的として開発が進められ、現在では、要介護高齢者に対する口腔ケアや、自ら口腔清掃を行う健常者のセルフケアにも広く活用されており、その使用率は年々増加している。電動歯ブラシの有効性は、主に疫学研究で検討されており、電動歯ブラシの継続的な使用が歯肉炎および歯肉出血を軽減させることが報告されている。一方で、プラーク除去効果を指標とした研究では、手用歯ブラシと電動歯ブラシに有意な差は認められなかったとの報告も認められる。すなわち、電動歯ブラシの歯肉炎改善効果には、プラーク除去に加えて他のメカニズムの関与が予想される。

プラーク中の細菌の侵襲を受けた歯周組織では、まず付着上皮直下の結合組織に限局した血管拡張・浮腫、好中球やマクロファージなどの炎症性細胞の浸潤により、歯肉の炎症がおこる。炎症性細胞の浸潤は、プロスタグランジン類の産生を促進し、線維芽細胞の増殖の抑制およびコラーゲン合成の抑制を行う。さらに、炎症性細胞の浸潤は、線維芽細胞から extracellular matrix (ECM) タンパク分解酵素である matrix metalloproteinases (MMP) を遊離させ、コラーゲンや非コラーゲン性の細胞外基質の分解を促進することが知られている。

歯肉組織の細胞成分の約 8 割を占める線維芽細胞は、コラーゲンやエラスチンおよび糖タンパクなど細胞外基質タンパクを合成する一方で、MMP やそれらの内因性の阻害剤である tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) を活性化させることで歯肉結合組織のリモデリングにおいて中心的な役割を担っている。菌の侵襲を受けた歯肉組織は、これらのリモデリングが破綻することで、より炎症性細胞の浸潤が進み歯周病を増悪させる。

これらの背景をもとに、申請者は、電動歯ブラシの使用することで、刷毛部の振動は歯面のみならず歯周組織へも伝達されると考え、振動刺激における線維芽細胞の増殖能、ECM タンパク合成能および MMP や TIMP の発現に着目した細胞研究を企図した。

2. 研究の目的

健常者の歯周病ケアはもちろんのこと、自身での口腔内の清掃が不可能な要介護高齢者や障害者などに対しても家族や福祉士などが簡単に導入可能な口腔ケアの確立を行うことで増加傾向にある歯周病の進行抑制を目的とした。

そこで本研究で、電動歯ブラシを正しく使用することで、歯周組織の線維芽細胞の増殖、コラーゲン線維の合成の促進、細胞外基質の分解能の抑制などの効果を明らかにするため研究を行った。

3. 研究の方法

歯肉線維芽細胞としてヒト口腔組織由来の HOrF 細胞を用いた。HOrF 細胞を 6 穴培養プレート (Bioflex plate) に播種し、10% ウシ胎児血清および 1% 抗生物質を含む Dulbecco's modified Eagle's medium で 37℃、5% CO₂ 存在下で培養後、電動歯ブラシの振動刺激を細胞に加えた。(動刺激を加えないものをコントロールとした。)

電動歯ブラシによる細胞への振動刺激を行った後、コラーゲンおよび非コラーゲンの染色はシリウスレッド・ファストグリーン染色法を用いて行った。ECM タンパクである

Ⅰ型コラーゲン、Ⅲ型コラーゲン、エラスチン、フィブロネクチンの遺伝子発現は real-time PCR 法にてタンパク発現は ELISA 法を用いて調べた。

4. 研究成果

HGnF 細胞を、培養 5 日目にシリウスレッド・ファストグリーンで染色を行ったところコラーゲンおよび非コラーゲン性タンパク質の沈着が観察された。電動歯ブラシによる刺激を行った細胞は、コントロールと比較して顕著に増加することが確認された(図1)。

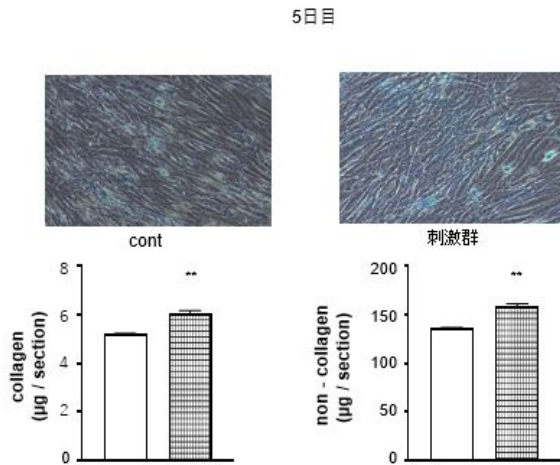


図 1

これらの知見に基づいて、電動歯ブラシの振動刺激が線維芽細胞の細胞外マトリックスタンパク質の発現に影響を与える可能性があるのではないかと仮説を立て、さらに実験を行った。

その結果、培養 3 日目、5 日目、および 7 日目の HGnF 細胞における I 型コラーゲン、III 型コラーゲン、エラスチンの遺伝子発現は、培養の 3 日目、5 日および 7 日目のコントロールと比較して、電動歯ブラシの振動刺激を受けた細胞において有意に増加した。フィブロネクチンの遺伝子発現も 3 日目以降、有意に増加した(図 2)。タンパク質発現においては、I 型コラーゲンおよびエラスチンは、3 日目、5 日目、7 日目の電動歯ブラシによる振動刺激によって、フィブロネクチンは培養 5 日目および 7 日目の振動刺激によってタンパク発現が増加したが、I 型コラーゲンはタンパク発現に顕著な影響を及ぼさなかった。(図 2)

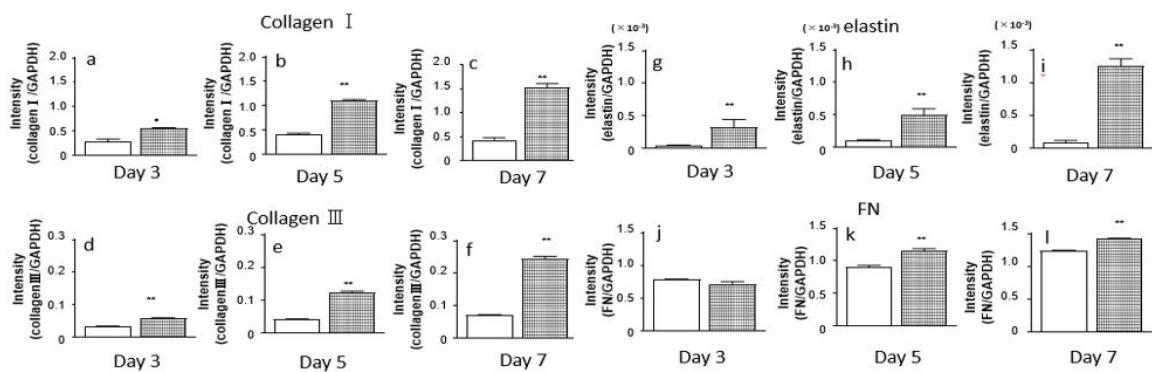


図 2

健康な歯肉は、約 4%の接合上皮、27%の口腔歯肉上皮、および 69%の結合組織で構成される。結合組織の体積の約 55~60%を占めるコラーゲン繊維束は、結合組織内の細胞外空間に構造的

サポートを提供し、正常な歯肉組織には、5 : 1 の比率で I 型コラーゲンと II 型コラーゲンが含まれており、これらはコラーゲン全体の 99% を占めている。また、エラスチンは架橋構造の弾性繊維であり、結合組織に広く存在する。コラーゲンとエラスチンは歯周組織再生のための足場を提供し、ECM タンパク質の成分の組成においてとても重要である。

この研究では、電動歯ブラシによる振動刺激に反応して、コラーゲンとエラスチンの両方の発現が増加することを発見した。

したがって、電動歯ブラシの振動は、線維芽細胞でのコラーゲンとエラスチンの産生のアップレギュレーションを介して、歯肉組織での細胞外マトリックスの安定性を高める可能性がある。フィブロネクチンもまたコラーゲンが集合するための重要な足場となり、細胞外マトリックスタンパク質の組成において重要な役割を果たしている。

本研究では、フィブロネクチンの遺伝子発現とタンパク質の発現は、5 日目と 7 日目の電動歯ブラシの振動に反応して増加することがわかった。これらの結果は、電動歯ブラシの振動によるフィブロネクチン産生の上昇が、歯肉組織の細胞外マトリックスの成熟に寄与している可能性があることを示唆している。

さらに、II 型コラーゲンの遺伝子発現は、培養の 3、5、および 7 日目に、コントロールと比較して振動刺激群でより増加することがわかった。

しかし、I 型コラーゲンのタンパク質発現は、コントロールと比較して振動によって 3 日目でのみ増加し 5 日目と 7 日目では差は見られなかった。これらの結果は、必要量のコラーゲンマトリックスが合成されると、線維芽細胞によって生成された TGF- β が線維芽細胞自体に作用して、コラーゲンマトリックスの合成を調節する可能性があることを報告している既出の論文結果と一致した。

つまり、電動歯ブラシを使用すると、ECM タンパクが増加することで歯周病や老化によって損傷した結合組織の修復が促進される可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yoji Yamazaki Toyoko Morita Kumiko Nakai Yumi Konishi Ayae Goto Takashi Yamamoto Misae Seto Manami Ozaki Hideki Tanaka Masao Maeno Takayuki Kawato	4. 巻 -
2. 論文標題 Impact of dental health intervention on cardiovascular metabolic risk: a pilot study of Japanese adults	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Human Hypertension	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41371-021-00551-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中井久美子 加藤史恵 福澤京子 中嶋淳也 田中秀樹 前野正夫 川戸貴行
2. 発表標題 電動歯ブラシの刺激が歯肉線維芽細胞に及ぼす影響について
3. 学会等名 第29回 硬組織再生生物学会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------