

令和 3 年 5 月 28 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22714

研究課題名（和文）数値モデリングによる歯周組織再生メカニズムの解明と再生効果予測

研究課題名（英文）Elucidation of mechanisms of regeneration of periodontal tissue by mathematical modelling

研究代表者

藤原 千春 (Fujihara, Chiharu)

大阪大学・歯学研究科・助教

研究者番号：00755358

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：現在、多様な歯周組織再生療法が開発されているが、その効果は患者ごとに異なります。再生誘導効果に影響を及ぼす宿主因子を多面的に解析し、治療効果の予測に繋げることができれば、効果的な再生療法の選択や新規再生療法の開発にも益する基盤情報を得ることができます。本研究では、マウスを用いて歯周組織再生モデルを構築し、歯周組織再生の鍵となる多数の分子を同定し、これらの分子情報と発現情報を基に、歯周組織再生機構を数値モデルで表しました。さらに、シミュレーション解析を行うことで、歯周組織再生分子機構の統合的に理解し、歯周組織再生メカニズムの一端を解明しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により構築した数値モデルを応用することで、将来的に、患者は確実性の高い再生治療法を選択できるようになります。加えて、現行の再生予後診断技術を大きく革新することが可能となります。さらに、実用的な再生効果予測技術は、開発中の歯周組織再生医療薬の効果や適切な処方予測することにも利用できるため、新規歯周組織再生治療剤の開発促進や、再生医療産業の活性化にも繋がることを期待できます。

研究成果の概要（英文）：Currently, various therapies for regeneration of periodontal tissue have been developed. However, the efficacy of the therapies depends on patients. If the factors affecting the efficacy of regeneration are understood and linked to the prediction of the rate of regeneration, it will be useful for proper selection of effective regenerative therapies or development of new regenerative therapies. Therefore, in this study, by introducing a mathematical modeling of regeneration of periodontal tissue, we attempted to comprehensively understand the molecular mechanisms of regeneration of periodontal tissue. Furthermore, by applying the mathematical model, we elucidated a mechanism of regeneration of periodontal tissue at a system level.

研究分野：口腔科学

キーワード：歯周組織 再生機構 数値モデル

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

これまでに、様々な歯周組織再生療法が開発されているが、その治療効果は患者ごとに異なる。そのため、歯周組織再生に影響を及ぼす宿主因子を多面的に解析し、治療効果の予測に繋げることができれば、治療法の選択、新規再生療法の開発にも益する基盤情報が構築されと考えられる。しかしながら、単一遺伝子に絞った従来型の硬組織再生機構に関する代表的解析方法では、歯周組織の再生機構を部分的にしか解明できず、再生機構の全体像を把握できないことが課題となっていた。

歯周組織の再生は、組織の炎症、細胞増殖、組織修復、細胞分化などの組織学的変化が連続して発生することにより実現する。さらにこの変化は、分子レベルにおいて、サイトカインや細胞外基質などの様々な分子が連携して作用することで精密に制御されており、これら分子の相互作用が再生効果を左右する。そのため、歯周組織再生過程において、経時的に変化する分子の相互作用を統合して理解することが再生効果を予測する上で必須となる。

そこで研究代表者は、近年、飛躍的な進歩を遂げている数理モデリングの手法を歯周組織の再生機構の解明に導入することに世界で初めて挑み、本課題の解決に迫る。

### 2. 研究の目的

本研究は、歯周組織再生を数理モデルで表し、構築したモデルの解析を行うことで、歯周組織の再生分子制御機構の統合的理解を目指すことを目的として行われた。

### 3. 研究の方法

#### 歯周組織再生制御の鍵となる分子の抽出

マウス歯周組織再生モデルを用いて、歯周組織再生に必須となる分子を検討した。すなわち、マウス絹糸結紮モデルを用いて歯周病を誘導した後、糸を除去することで歯周組織の再生を誘導した。上顎骨を採取してマイクロCTを用いて再生誘導の程度を検討した。その上で、再生開始から時系列で歯周組織のサンプルを回収し、歯周組織再生過程で発現が大きく変動する分子を、RNA シークエンス解析を用いて抽出した。

#### 歯周組織再生分子制御機構を表す数理モデルの構築

歯周組織再生過程における分子相互作用を表す経路図と RNA シークエンス解析の結果で得られた遺伝子の発現量を基に、歯周組織再生の数理モデルを構築した。

#### シミュレーションによる歯周組織再生分子制御機構の解明

歯周組織の再生にいずれのパラメーターの変動が鍵となるのかを *in silico* で解析した。

### 4. 研究成果

#### 歯周組織再生制御の鍵となる分子の抽出

歯周組織再生を誘導したマウスより上顎骨を採取し、マイクロCTにて撮影した。タイムポイント毎にコントロールと比較した結果、誘導 9 日目でコントロールと同様の歯槽骨レベルまで骨再生を認めた。そこで、再生誘導のエンドポイントを 12 日とし、3 日おきに上顎組織から RNA を抽出し、遺伝子発現解析を行うことにした。得られた RNA サンプルを RNA シークエンス解析した結果、コントロールと比較して log2 以上の発現上昇を満たす遺伝子を約 500 個同定した。同定された遺伝子を機能別にクラスター解析を行った。その結果、誘導 0-3 日目までは、炎症関連遺伝子が多く抽出されたことに対し、誘導 6-9 日目では組織の修復に関する遺伝子が多く抽

出された。誘導 12 日目では、発現変動する遺伝子の数が著しく減少した。それぞれの分子の特徴と動的発現変化から、各分子の関連性を見出し、歯周組織再生過程における分子相互作用を表す経路図を作成した。

#### 歯周組織再生分子制御機構を表す数理モデルの構築

歯周組織再生過程における分子相互作用を表す経路図と RNA シークエンス解析の結果より得られた遺伝子の発現量を基に、歯周組織再生の数理モデルを構築した。

#### シミュレーションによる歯周組織再生分子制御機構の解明

歯周組織の再生にいずれのパラメーターの変動が鍵となるのかを *in silico* で解析し、歯周組織再生において重要な因子を同定した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fujihara C, Kanai Y, Masumoto R, Kitagaki J, Matsumoto M, Yamada S, Kajikawa T, Murakami S	4. 巻 234(5)
2. 論文標題 Fibroblast growth factor-2 inhibits CD40-mediated periodontal inflammation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Cellular Physiology	6. 最初と最後の頁 71497-7160
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jcp.27469	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 -

1. 著者名 松本昌大, 藤原千春, 鳥袋善夫, 山本 優, Teerachate Nantakeeratipat, 北垣 次郎太, 八木寛子, 林 聡子, 岩山智明, 柏木陽一郎, 三木康史, 北村正博, 沢田啓吾, 木下茉優, 村上伸也	4. 巻 63(6)
2. 論文標題 生物学的直接覆髄剤開発に向けた生理活性物質RVX-208の 歯髄細胞における機能解析	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本歯科保存学雑誌	6. 最初と最後の頁 527-535
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤原 千春
2. 発表標題 CD40-CD40Lクロストークによる歯周組織の炎症と再生誘導機構
3. 学会等名 第61回日本歯科基礎医学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤原 千春
2. 発表標題 侵襲性歯周炎の遺伝子多型を考える
3. 学会等名 日本歯周病学会 臨床研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Teerachate Nantakeeratipat, Chiharu Fujihara, Johannes Nicolaus Wibisana, Hiroaki Imoto, Keita Iida, Mariko Okada and Shinya Murakami
2. 発表標題 Building a mathematical model of periodontal disease
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤原 千春, Teerachate Nantakeeratipat, Wibisana, Johannes Nicolaus, 飯田 溪太, 井元 宏明, 岡田 眞里子、村上伸也
2. 発表標題 オミクス解析を用いた歯周病による組織破壊機構の理解
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会
4. 発表年 2020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
研究分担者	北村 正博  (Kitamura Masahiro)  (10243247)	大阪大学・歯学研究科・准教授   (14401)	臨床検体サンプル採取
研究分担者	竹立 匡秀  (Takedachi Masahide)  (60452447)	大阪大学・歯学部附属病院・講師   (14401)	動物実験
研究分担者	Canela Andres  (Canela Andres)  (90837585)	京都大学・白眉センター・特定准教授   (14301)	RNAシーケンス解析

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
---------	---------