

令和 6 年 9 月 13 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03852

研究課題名（和文）メカノセンサーを標的とした歯周病制御

研究課題名（英文）Involvement of mechanosensors in periodontal disease

研究代表者

城戸 瑞穂 (Kido, Mizuho)

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：60253457

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：国民の多くが歯周病による歯の喪失がまねく食事や発語困難などの生活の質を低下を経験している。さらに歯周病の罹患は心血管障害、糖尿病や認知症などの増悪等にも関わる。しかし、歯周病の予防や治療方法は未だその開発の途上にある。歯周病の発症は、歯エナメル質に直に接する歯肉付着上皮と歯との接合の破綻による。そこで、本研究では、歯肉上皮に特有の力学的環境に着目し、メカノセンサーを介した粘膜上皮と歯との封鎖調節の一部を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

a口腔上皮あるいは歯肉付着上皮は常に口腔からの多様な温度および物理機械刺激などに曝され、その刺激に適応し粘膜組織構築をダイナミックに変化させている。

私たちは、温かい温度および機械刺激により活性化されるTRPV4が歯肉付着上皮に強く発現していることを見出した。TRPV4は細胞間接着複合体を構成する分子群と直接タンパク間相互作用をすることが報告されている。そこで、歯肉付着上皮に高発現するメカノセンサーTRPV4を介した細胞間接着制機能解明が治療戦略の一つになり得るとの着想に至った。

研究成果の概要（英文）：The majority of Japanese population experiences a decline in quality of life due to periodontal disease, such as difficulty in eating and speaking. Furthermore, periodontal disease is associated with cardiovascular disease, diabetes, and dementia. However, methods for the prevention and treatment of periodontal disease are still under development. The onset of periodontal disease is caused by the breakdown of the "junctional epithelium", which located between the gingival epithelium and the tooth enamel. In this study, we focused on the mechanical environment specific to the junctional epithelium and found that the mechanosensors play a part in regulating epithelial cell-cell junctions and cell migration.

研究分野：組織細胞生物学

キーワード：上皮 付着上皮 イオンチャネル

1. 研究開始当初の背景

成人の8割が罹患するとされる歯周病による歯の喪失は、食事や発語の困難などにつながり生活の質を大きく低下させる。さらに、歯周病の罹患が、心血管障害の増悪や早産・低体重児の出産、糖尿病の増悪、誤嚥性肺炎の惹起、認知症・ガンの増悪など広範な全身への影響が知られるようになった。ゆえに、歯周病の予防および効果的な治療の開発は社会の課題の一つである。現在の歯周病治療は、感染巣の除去、歯面の清掃あるいは喪失した骨や歯の代替等の対症療法に域にあることは否めず、根本的解決には至っていない。

歯周病は「歯肉付着上皮」の炎症から始まる。歯肉付着上皮は歯をぐるりと取り囲み、硬組織である歯との間に「上皮性の付着」を形成する体内で唯一の上皮である。咀嚼による力の荷重や細菌や細菌由来の外毒素などの外的刺激は、歯肉に炎症を惹起する。すると、歯肉付着上皮は歯根方向に伸長し、歯周ポケットを形成する。さらに加齢による組織の脆弱化も伴い、組織破壊が広がると考えられている。それゆえ、歯肉付着上皮における適正な封鎖、つまり、歯肉付着上皮細胞間結合、歯肉付着上皮-エナメル質あるいは歯肉付着上皮-粘膜固有層との結合を適正に保つことが、歯周病制御の重要なアプローチになる。古くよりJEは特徴ある上皮として知られている。歯肉付着上皮は入れ替わりが速く、広い細胞間隙を有するが故に侵襲を受けやすい。この性質に、歯肉付着上皮特有の力学環境すなわち、硬いエナメル質に面する歯肉溝に向かい上皮自由端を有す咬合力によるメカノセンサー刺激によると仮説を立てた。

2. 研究の目的

歯肉付着上皮におけるメカノセンサーイオンチャンネルが、歯肉付着上皮の特徴である、細胞の入れ替わり、すなわち細胞の移動や加わる力と組織の硬さを感知し、その環境に応じて振る舞うことが歯肉付着上皮の脆弱性に繋がっていると仮説を立てた。

- ・歯肉付着上皮に発現するメカノセンサーを明らかにする。
- ・歯肉付着上皮の特徴である速やかな細胞移動へのメカノセンサーイオンチャンネルの関与を明らかにする
- ・歯肉付着上皮の特徴である細胞移動へのメカノセンサーイオンチャンネルの関与を明らかにする
- ・加齢に伴う歯周組織における分子発現を明らかにすることで、歯周組織の脆弱化への関与を調べる。
- ・歯肉付着上皮に特徴的に発現するメカノセンサーイオンチャンネルが歯肉付着上皮近傍の歯周組織に与える影響を明らかにする。

3. 研究の方法

近年、力学的な刺激により活性化するカルシウム透過性イオンチャンネルが同定されている。その中で transient receptor potential channel vanilloid 4 (TRPV4) は細胞膜の伸展刺激により活性化し、細胞の体積調節や細胞増殖・移動を制御することが報告されている。そこで、野生型 C57BL/6 マウスおよび TRPV4 遺伝子欠失 (TRPV4KO) マウス、若齢として6週齢、老齢として20ヶ月齢を用いることとした。

マウス歯周組織におけるメカノセンサー分子群の免疫組織化学

私たちが作製した特異性の高いTRPV4抗体を用い、関連するメカノセンサー分子群として細胞間の接着や細胞移動に関連する分子、引張力を生み出す線維状アクチン・非筋ミオシン、リン酸化ミオシン調節軽鎖(アクチンとミオシンの収縮力の調節の主たる分子)、上皮間葉転換マーカー E-cadherin, N-cadherin, integrin, Merlin 等を観察した。

細胞および組織レベルでの超解像イメージングによるメカノセンサー分子の解明

超解像レーザー顕微鏡 Carl Zeiss 社製 LSM880 Airyscan (解像度 XY 方向 140nm, Z 方向 300nm) を用い、これまで識別できなかった歯周組織の微細構造学的環境、細胞形態や細胞内局在 (移動方向の前方あるいは後方の極性、細胞の辺縁、核周囲に区画分けして観察) に着目しメカノセンサー分子群による環境を三次元的に明らかにした。

個体レベルでの歯周組織の加齢変化の解明

加齢変化を明らかにするため、若齢として 6 週齢マウス、老齢として 20 ヶ月齢マウスから組織を採取し、歯肉上皮および周辺組織における分子発現を比較した。

4. 研究成果

TRPV4 は、非選択的陽イオンチャネルであり、2000 年に Liedtke らの研究グループと Strotmann らの研究グループから浸透圧により活性化するイオンチャネルとしてそれぞれ別々にほぼ同時に発表された。その後も TRPV4 研究は発展し、低浸透圧刺激だけでなく、アラキドン酸やその代謝産物、機械的刺激により活性化する polymodal な受容体として TRPV4 は広く知られるようになった。その後、広く研究されたことで、神経系や腎臓や膀胱、皮膚、血管、肺、食道や小腸、大腸などで多様な物理化学刺激を感知し、生理機能や病態に関わることがわかってきている。さらに、TRPV4 のヒト遺伝子変異が、神経変性疾患や骨形態異常などに関与することから、我が国においても TRPV4 異常症は指定難病となっている。しかし、歯周組織における機能はまだほとんどわかっていない。

私たちは、TRPV4 が口腔粘膜に発現し、特に上皮に強い発現を示すこと、さらに急性単離した口腔上皮細胞が薬理的刺激、温度刺激により活性化することを見出した。さらに私たちが作製した特異的抗体による免疫組織化学により、マウスの歯肉付着上皮に TRPV4 が他の上皮よりも特徴的に強く発現していることがわかった。TRPV4 は歯肉付着上皮のエナメル質に近い部位でより発現が顕著で、それに比べると歯肉付着上皮の歯肉粘膜固有層側は弱い発現を示した。一方で、歯肉溝上皮や口腔上皮にも TRPV4 発現は認められたが、歯肉付着上皮とは異なり、基底細胞層の細胞膜近傍に強く認められた。よって TRPV4 は、歯肉の部位により異なる位置的局在を示すことが判った。

TRPV4 の機能的意義を知るため、口腔上皮細胞の初代培養および株化細胞を用いて観察を行った。TRPV4 の遺伝子欠失マウスより採取した細胞との比較により、TRPV4 が細胞間の結合を促すことがわかった。さらに、TRPV4 の遺伝子欠失により細胞の移動が促進されることから、TRPV4 が細胞移動を負に制御していることが示唆された。

個体および細胞の超解像イメージングにて、メカノセンサーの発現局在を比較し、位置的な関係を観察した。すると、TRPV4 は歯肉付着上皮において線維状アクチンと密接な関係を示し、さらに非筋ミオシンとも関連が深いことが示された。歯肉付着上皮の特徴である速やかな細胞の移動や緩やかな細胞間の結合との関連が示唆された。

歯周病は、加齢に伴い罹患率が上がることから、老化が歯肉組織に与える影響を調べた。若齢として 6 週齢、老齢として 20 ヶ月齢の歯肉上皮の分子発現を比較したところ、細胞外基質や血管新生、血管透過性に関わる分子群の発現に差が認められた。さらに、TRPV4 の遺伝子欠失マウスと野生型マウスとの比較により、歯周組織の形態には違いが認められたことから、歯周組織の形態形成への TRPV4 の関与も示唆された。

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 Kentaro Ono, Takao Ueno, Mizuho A. Kido, Suzuro Hitomi, Mako Naniwa, Chihiro Nakatomi, Reiko U. Yoshimoto, Takeshi Sawada, and Takafumi Kato	4. 巻 -
2. 論文標題 Recent advances in the treatment of oral ulcerative mucositis from clinical and basic perspectives	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	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） 10.1016/j.job.2024.06.002	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14件（うち招待講演 3件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 城戸瑞穂, 吉本怜子
2. 発表標題 上皮細胞の集団移動を調節する温度感受性TRPチャネル.
3. 学会等名 129回日本解剖学学会総会・全国学術集会（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 吉本怜子, 台島怜央奈, 澤田孟志, 高イ琦, 曹愛琳, 大崎康吉, 城戸瑞穂
2. 発表標題 温度感受性イオンチャネルTRPV4によるアクトミオシン動態と損傷治癒の制御.
3. 学会等名 129回日本解剖学学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Reiko U. Yoshimoto, Reona Aijima, Yasuyoshi Ohsaki, Takeshi Sawada, Ailin Cao, Mizuho A.Kido.
2. 発表標題 Warm-activated TRP channels regulate oral epithelial regeneration.
3. 学会等名 The 20th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of taste and Olfactory Perception (ISMNTOP/YRUF/AISCRIB 2023). (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 城戸瑞穂, 吉本怜子
2. 発表標題 口腔粘膜上皮における温度感受性 TRPチャンネルと上皮再生「歯科臨床と基礎研究を繋ぐ口腔粘膜研究の最前線」.
3. 学会等名 第65回歯科基礎医学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉本怜子, 大崎康吉, 澤田孟志, 高イ琦, 曹愛琳, 城戸瑞穂.
2. 発表標題 口腔上皮における TRPV4を介した細胞内アクチン動態調節と創傷治癒の関連.
3. 学会等名 第65回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉本怜子, 台島怜央奈, 大崎康吉, 曹愛琳, 高イ琦, 澤田孟志, 城戸瑞穂
2. 発表標題 口腔粘膜上皮創傷治癒におけるTRPV4とアクチン動態の関連
3. 学会等名 生理学研究所 第18回TRP研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉本怜子, 台島怜央奈, 大崎康吉, 曹愛琳, 高イキ, 城戸瑞穂
2. 発表標題 温度感受性イオンチャンネルTRPV4はアクチン・ミオシンの調節を介して口腔粘膜上皮細胞の移動および細胞間接着を制御する
3. 学会等名 第44回分子細胞生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 城戸瑞穂, 吉住潤子, 吉本怜子, 松本明子
2. 発表標題 口腔粘膜の慢性の痛みとTRPV1チャネル
3. 学会等名 第43回日本疼痛学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉本怜子, 合島怜央奈, 大崎康吉, 曹愛琳, 高イキ, 内野加穂, 澤田孟志, 城戸瑞穂
2. 発表標題 温度感受性イオンチャネルTRPV4によるアクチン・ミオシンの調節と口腔粘膜創傷治癒の関連
3. 学会等名 第127回解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kido MA, Yoshizumi J, Yoshimoto R, Oike M, Takaoka Y, Takao T, Ohyama Y, Aijima R, Mori Y, Toyofuku A, Kajioka S
2. 発表標題 Genetic polymorphisms of TRPV1 association with Oral Capsaicin perception and burning mouth syndrome.
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第98回日本生理学会大会合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉本怜子, 合島怜央奈, 大崎康吉, 曹愛琳, 高イキ, 西山めぐみ, 本田裕子, 内野加穂, 澤田孟志, 城戸瑞穂
2. 発表標題 口腔粘膜上皮の創傷治癒における温度感受性イオンチャネルTRPV4
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第98回日本生理学会大会合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉本 怜子, 合島 怜央奈, 大 康吉, 曹 愛琳, 高 イキ, 本田裕子, 内野加穂, 澤田孟志, 城戸瑞穂
2. 発表標題 口腔粘膜創傷治癒におけるTRPV4の影響
3. 学会等名 TRP研究会2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松本健次郎, 末永美奈子, 林大成, 城戸瑞穂, 加藤伸一
2. 発表標題 難治性消化管疾患モデル動物におけるTRPV2の発現と機能解析
3. 学会等名 TRP研究会2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉本 怜子, 合島 怜央奈, 高 イキ, 曹 愛琳, 本田裕子, 内野加穂, 澤田孟志, 清島保, 城戸瑞穂
2. 発表標題 口腔粘膜創傷治癒におけるアクトミオシン細胞骨格の変化とTRPV4 の影響
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会学術大会
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	吉本 怜子 (Yoshimoto Reiko) (70878181)	佐賀大学・医学部・助教 (17201)	

6. 研究組織（つづき）

	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	山口 優 (yamaguchi Yu) (50823308)	長崎大学・医歯薬学総合研究科（歯学系）・助教 (17301)	
研究分担者	門脇 知子 (Kadawaki Tomoko) (70336080)	長崎大学・医歯薬学総合研究科（歯学系）・教授 (17301)	
研究分担者	本田 裕子 (Honda Yuko) (60295053)	佐賀大学・医学部・教務職員 (17201)	
研究分担者	西山 めぐみ (Nishiyama Megumi) (00802844)	佐賀大学・医学部・助教 (17201)	

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