

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09963

研究課題名(和文) 歯と骨の恒常性維持における脂質代謝関連分子の機能解明

研究課題名(英文) Lipid metabolic functions in tooth and bone homeostasis

研究代表者

坂井 信裕 (Sakai, Nobuhiro)

昭和大学・歯学部・教授

研究者番号：90286849

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：脂質異常症は血液中の中性脂肪やコレステロールが高値の状態であるが、食事の脂質とコレステロールの配合比が骨代謝への影響を示唆した報告はない。本研究はマウス餌中の脂質とコレステロールの配合比の異なる5種類の餌を12週間与え、骨と歯の恒常性維持に与える影響を詳細に検討した。その結果、培養破骨細胞形成に影響はなかったが、コレステロール量に関わらず脂質量が多い場合、歯髄狭窄を認め、さらに高脂質量(36%) + 高コレステロール(1.25%) 餌群は標準餌群と比べ骨量と骨密度は有意に低下したことから、脂質とコレステロールがともに多く含まれる餌では、骨の恒常性維持の破綻を引き起こすことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、脂質のみが多い餌とコレステロールのみが多い餌では骨量に変化はなかったが、脂質とコレステロールがともに多く含まれる場合、骨の恒常性維持の破綻を引き起こすことが示された。しかし、破骨細胞と骨芽細胞に直接的な影響は認められず、脂質とコレステロールが他の炎症性サイトカインやホルモン、脂質代謝関連因子に影響を与え、骨量低下を引き越している可能性がある。また、コレステロール量に関わらず、脂質量が多いと歯の恒常性維持に影響を及ぼすことが示されたことから、食事の脂質とコレステロール量は歯と骨では異なる機序で恒常性維持が保たれていることを初めて報告することが出来た重要な研究結果である。

研究成果の概要(英文)：Dyslipidemia is a condition of high levels of triglycerides and cholesterol in the blood, and high levels of cholesterol is associated with a variety of systemic diseases. The effects of a high-fat diet on bone have been reported, however, it is not clear which components of a high-fat diet affect bone. This study was conducted to examine the effects of dietary lipids and cholesterol on bone homeostasis maintenance. Mice fed a diet high in both fat (36%) and cholesterol (1.25%) showed decreased bone volume fraction as compared to the standard diet group. However, bone mass was unaffected in the high fat only (36%) and high cholesterol only (1.25%, 5%) groups. Mice given a high fat (36%) diet also demonstrated significantly narrowed incisor pulp. In contrast, osteoclast formation was not significantly different among the groups. These results suggest that a diet with high amounts of both fat and cholesterol induces bone loss.

研究分野：硬組織薬理学

キーワード：骨代謝 脂質代謝 骨 破骨細胞

様式 C - 19 , F - 19 - 1 , Z - 19 ( 共通 )

## 1 . 研究開始当初の背景

高脂肪食を継続的に摂取すると慢性疾患として脂質異常症 , 肥満 , 糖尿病など生活習慣病の発症は広く知られている。特に脂質異常症は血管壁や肝臓に脂質が蓄積するなど , 全身組織の深刻な組織変化をもたらすが , 脂質代謝の変化が石灰化組織の表現型の変化を引き起こす。中でもアテローム性動脈硬化の原因物質である低密度リポタンパク質 (LDL) は硬組織の代謝にも関連しており , 酸化 LDL は骨髄間質細胞の骨形成分化よりも脂肪生成分化を促進することにより骨粗鬆症を促進する報告がある。また LDL 受容体の変異によって家族性高コレステロール血症 (FH) がある。症状は高 LDL コレステロール値 , 早発性冠動脈疾患 , 皮膚黄色腫さらにアキレス腱肥大を引き起こす ( FH ガイドライン 2017 ) 。つまりコラーゲン合成にも異常が考えられるが , 幼少期からの食事制限により骨密度の変化や歯の異常に関する所見の報告はほとんどないのが現状である。象牙質形成に関しては , 後天的因子として , 齲蝕や機械的刺激により修復象牙質の形成は知られているが , それ以外に環境要因 ( 口腔内 ) や薬剤性 , 栄養 ( 脂質 ) による全身疾患に関連する歯の形成異常の研究はこれまでほとんど報告されていない。

## 2 . 研究の目的

本研究では骨および歯の恒常性維持における脂質代謝分子を解明することを目的とする。生活習慣病の 1 つである動脈硬化症の主要な原因物質である低密度リポタンパク質 (LDL) の変動は生体の恒常性維持に重要である。LDL をリガンドとする LDL 受容体は脂質の輸送とコレステロール代謝を司るだけでなく , そのシグナル伝達が免疫応答にも影響を及ぼすことも知られているが , 骨組織や特に歯に対する詳細な影響はまだ不明である。本研究ではマウスに高脂肪食 ( 脂質分量を数種類に調整 ) を摂餌し脂質異常症を発症させ , 骨および歯の恒常性維持に関する影響を解析する。LDL 受容体欠損 ( *Ldlr*<sup>-/-</sup> ) による脂質代謝不全マウスを用いて , 脂質代謝が及ぼす骨および歯という硬組織変化の発症のメカニズムを解明する。

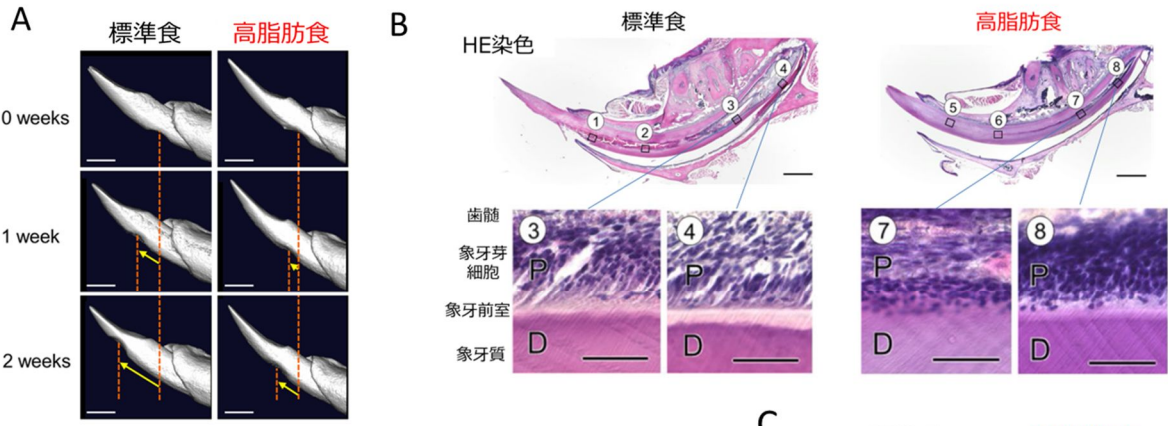
## 3 . 研究の方法

( 実験 1 ) 8 週齢雄マウスに標準食 ( 脂肪量 14 % ) または高脂肪食 ( 脂肪量 36 % ) を 12 週間与え , 摂餌後 10 週目に下顎切歯唇側歯頸部に歯科用エンジンバーで切削痕をつけ , 2 週間後の切削痕の移動距離から歯の伸長速度を求めた。歯の形態と組織像は  $\mu$ CT 及び組織切片を通常法により作製して解析した。また LDL 受容体欠損 ( *Ldlr*<sup>-/-</sup> ) マウスを用いて同様の方法で実験した。

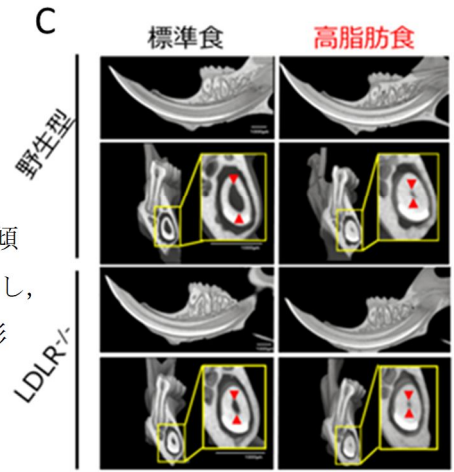
( 実験 2 ) 8 週齢雄性マウスに脂質量 ( 14% , 36% ) とコレステロール量 ( 0.01% , 1.25% , 5% ) の配合量の異なる 5 種類の餌を作製した。12 週間与え , 血液採取と大腿骨頸骨 , 頭部を摘出し , 血清脂質マーカーの測定 ,  $\mu$ CT と組織学的観察による骨形態計測を行った。また , マウスの骨髄細胞から破骨細胞分化誘導培養を行い , qPCR 法により破骨細胞分化マーカーを解析した。

## 4 . 研究成果

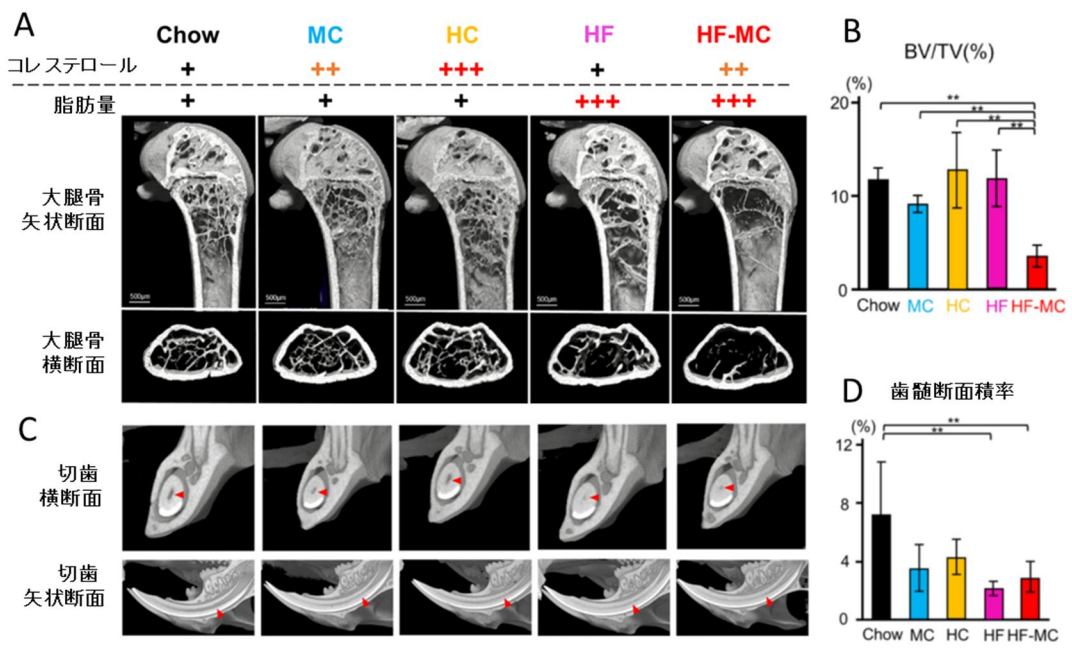
( 結果 1 - )  $\mu$ CT による解析結果から , 高脂肪食群では , 切歯の伸長速度が低下し , 象牙質肥厚による歯髄狭窄が認められた。組織学的解析から狭窄部の象牙前質の消失と象牙芽細胞の形態異常が認められ , 象牙質形成量は減少傾向にあった。臼歯は歯髄狭窄を認めなかった。血清脂質値は高脂肪食群で有意に増加した ( 図 A , B )<sup>1)</sup>。



(結果 1 - ②) 一方, *ldlr*<sup>-/-</sup>マウスの標準食群では, 切歯の伸長速度は野生型と有意差は認めなかったが, 歯髄は狭窄傾向にあった。さらに高脂肪食群では血清脂質値が 10 倍に増加し, 切歯の歯髄狭窄, 狭窄部の象牙前質の消失と象牙芽細胞の形態異常が認められた (図 C) 1)。



(結果 2 - ) 脂質 (36%) + コレステロール (1.25%) 餌群は, 標準餌 (脂質 14% + コレステロール 0.01%) と比べ, 総コレステロールと LDL 値が高値で, 骨量と骨密度は有意に低下した (図 A, B) 。一方, 培養破骨細胞は餌の種類による分化活性に有意な差はなかった。また, 脂質量が 36%である 2 つの群で, 標準餌と比べて有意な歯髄狭窄を認めた (図 C, D) 2)。



[ 考察と結論 ]

野生型マウスと *Ldlr*<sup>-/-</sup>マウスは、いずれにおいても高脂肪食の摂餌により、著しい歯髄の狭窄が生じたことから、餌中に含まれる脂質が歯の形成や構造をコントロールする要因の1つであることが明らかとなった。また、*Ldlr*<sup>-/-</sup>マウスは標準食群でも歯髄の狭窄傾向を示したことから、LDL 受容体を介した脂質代謝が歯の形成と恒常性の維持に関与するものと推察された。

さらに餌中の脂質とコレステロール量の配合量を変えて行った実験では、脂質のみが多い餌とコレステロール量のみが多い餌では骨量に変化はなかったが、脂質とコレステロール量がともに多く含まれる場合、骨の恒常性維持の破綻を引き起こすことが示された。しかし、破骨細胞と骨芽細胞による培養実験では直接的な影響は認められず、脂質とコレステロールが他の炎症性サイトカインやホルモン、脂質代謝関連因子に影響を与え、骨量低下を引き越している可能性があると考えられる。食事中的脂質とコレステロールがどのようなメカニズムで骨量減少を引き起こしているのか、詳細なメカニズムまでは解明出来ていないことから、今後さらなる研究を進めていく必要がある。また、コレステロール量に関わらず、脂質量が多いと歯の恒常性維持に影響を及ぼすことが示されたことから、象牙質形成に脂質量が関与していることが示唆された。今回の研究により、食事中的脂質とコレステロール量は硬組織の恒常性維持に重要であると考えられ、歯と骨の恒常性維持には異なる機序によって制御されていることが解明された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sato Yurie, Hosonuma Masahiro, Sugawara Daiki, Azetsu Yuki, Karakawa Akiko, Chatani Masahiro, Funatsu Takahiro, Takami Masamichi, Sakai Nobuhiro	4. 巻 156
2. 論文標題 Cholesterol and fat in diet disrupt bone and tooth homeostasis in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedicine & Pharmacotherapy	6. 最初と最後の頁 113940
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.biopha.2022.113940	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 該当する
1. 著者名 Takizawa Hideomi, Karakawa Akiko, Suzawa Tetsuo, Chatani Masahiro, Ikeda Megumi, Sakai Nobuhiro, Azetsu Yuki, Takahashi Masahiro, Urano Eri, Kamijo Ryutarō, Maki Koutaro, Takami Masamichi	4. 巻 146
2. 論文標題 Neural crest-derived cells possess differentiation potential to keratinocytes in the process of wound healing	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedicine & Pharmacotherapy	6. 最初と最後の頁 112593
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.biopha.2021.112593	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 -
1. 著者名 Ikeda Megumi, Karakawa Akiko, Takizawa Hideomi, Azetsu Yuki, Sakai Nobuhiro, Chatani Masahiro, Suzuki Noriyuki, Takami Masamichi	4. 巻 48
2. 論文標題 Effects of Anti- $\alpha$ Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand Antibody and Zoledronic Acid on Periapical Lesion Development in Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Endodontics	6. 最初と最後の頁 632 ~ 640
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.joen.2022.02.002	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 -
1. 著者名 Kurotaki Yutaro, Sakai Nobuhiro, Miyazaki Takuro, Hosonuma Masahiro, Sato Yurie, Karakawa Akiko, Chatani Masahiro, Myers Mie, Suzawa Tetsuo, Negishi-Koga Takako, Kamijo Ryutarō, Miyazaki Akira, Maruoka Yasubumi, Takami Masamichi	4. 巻 10
2. 論文標題 Effects of lipid metabolism on mouse incisor dentinogenesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5102
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-61978-0	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 -

1. 著者名 Hosonuma Masahiro, Sakai Nobuhiro, Furuya Hidekazu, Kurotaki Yutaro, Sato Yurie, Handa Kazuaki, Dodo Yusuke, Ishikawa Koji, Tsubokura Yumi, Negishi-Koga Takako, Tsuji Mayumi, Kasama Tsuyoshi, Kiuchi Yuji, Takami Masamichi, Isozaki Takeo	4. 巻 60
2. 論文標題 Inhibition of hepatocyte growth factor/c-Met signalling abrogates joint destruction by suppressing monocyte migration in rheumatoid arthritis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 408 ~ 419
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rheumatology/keaa310	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 Dodo Yusuke, Chatani Masahiro, Azetsu Yuki, Hosonuma Masahiro, Karakawa Akiko, Sakai Nobuhiro, Negishi-Koga Takako, Tsuji Mayumi, Inagaki Katsunori, Kiuchi Yuji, Takami Masamichi	4. 巻 133
2. 論文標題 Myelination during fracture healing in vivo in myelin protein zero (p0) transgenic medaka line	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 115225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2020.115225	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 Yamakawa Tomoyuki, Okamatsu Nobuaki, Ishikawa Koji, Kiyohara Shuichi, Handa Kazuaki, Hayashi Erika, Sakai Nobuhiro, Karakawa Akiko, Chatani Masahiro, Tsuji Mayumi, Inagaki Katsunori, Kiuchi Yuji, Negishi-Koga Takako, Takami Masamichi	4. 巻 138
2. 論文標題 Novel gene Merlot inhibits differentiation and promotes apoptosis of osteoclasts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 115494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2020.115494	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 Kiyohara Shuichi, Sakai Nobuhiro, Handa Kazuaki, Yamakawa Tomoyuki, Ishikawa Koji, Chatani Masahiro, Karakawa Akiko, Azetsu Yuki, Munakata Motohiro, Ozeki Masahiko, Negishi-Koga Takako, Takami Masamichi	4. 巻 62
2. 論文標題 Effects of N-methyl-d-aspartate receptor antagonist MK-801 (dizocilpine) on bone homeostasis in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 131 ~ 138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2020.03.003	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15件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤 ゆり絵, 坂井 信裕, 栗谷 未来, 唐川 亜希子, 畔津 佑季, 茶谷 昌宏, 高見 正道
2. 発表標題 脂質およびコレステロールの摂取バランスがマウスの硬組織の恒常性に及ぼす影響
3. 学会等名 第7回日本骨免疫学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤ゆり絵, 細沼雅弘, 菅原大輝, 畔津佑季, 唐川亜希子, 茶谷昌宏, 船津敬弘, 高見正道, 坂井信裕
2. 発表標題 餌中のコレステロールと脂質がマウスの骨と歯の恒常性を破壊する
3. 学会等名 第69昭和大学学士会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 細沼 雅弘, 坂井 信裕, 松島 英輝, 高木 孝士, 武部 明, 高見 正道
2. 発表標題 Focused Ion Beam Scanning Electron Microscope (FIB-SEM)を用いた破骨細胞の超微細立体構造の解析
3. 学会等名 第7回日本骨免疫学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 畔津 佑季, 栗谷 未来, 山口 真帆, 茶谷 昌宏, 唐川 亜希子, 坂井 信裕, 高見 正道
2. 発表標題 ラットの骨髄 - 骨芽細胞共存培養系では破骨細胞が形成されない原因の解明
3. 学会等名 第7回日本骨免疫学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 瀧澤 秀臣, 唐川 亜希子, 須澤 徹夫, 茶谷 昌宏, 池田 めぐみ, 坂井 信裕, 畔津 佑季, 高橋 正皓, 浦野 絵里, 上條竜太郎, 横 宏太郎, 高見 正道
2. 発表標題 神経堤由来細胞は創傷治癒過程においてケラチノサイトへの分化能を有する
3. 学会等名 第7回日本骨免疫学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山口 真帆, 坂井 信裕, 唐川 亜希子, 茶谷 昌宏, 畔津 佑季, 高見 正道
2. 発表標題 妊娠マウスへの骨吸収抑制薬投与は仔マウスの歯の成長障害をもたらす
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤ゆり絵, 坂井信裕, 唐川亜希子, 畔津佑季, 茶谷昌宏, 高見正道
2. 発表標題 脂質およびコレステロール摂取量がマウスの歯と骨の恒常性に及ぼす影響
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山口真帆, 坂井信裕, 佐藤ゆり絵, 唐川亜希子, 畔津佑季, 茶谷昌宏, 高見正道
2. 発表標題 妊娠マウスへの抗RANKL抗体及びゾレドロンート投与は新生仔における歯の発生障害をもたらす
3. 学会等名 第39回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 山川智之, 岡松伸明, 石川紘司, 清原秀一, 飯田和章, 坂井信裕, 唐川亜希子, 茶谷昌宏, 辻まゆみ, 稲垣克記, 木内祐二, 根岸貴子, 高見正道
2. 発表標題 新規遺伝子Merlot は破骨細胞分化を阻害しアポトーシスを促進させる
3. 学会等名 第39回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 瀧澤秀臣, 唐川亜希子, 茶谷昌宏, 須澤徹夫, 坂井信裕, 畔津佑季, 浦野絵里, 上條竜太郎, 槇宏太郎, 高見正道
2. 発表標題 口蓋創傷治癒過程における神経堤由来細胞の役割
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池田めぐみ, 瀧澤秀臣, 唐川亜希子, 坂井信裕, 畔津佑季, 茶谷昌宏, 鈴木規元, 高見正道
2. 発表標題 骨吸収抑制薬が実験的根尖性歯周炎の成立に及ぼす影響の解析
3. 学会等名 第39回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤ゆり絵, 坂井信裕, 黒滝優太郎, 細沼雅弘, 唐川亜希子, 畔津佑季, 茶谷昌宏, 高見正道
2. 発表標題 高コレステロール食によって誘発されるマウス骨量低下の解析
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 池田めぐみ, 瀧澤秀臣, 唐川亜希子, 坂井信裕, 茶谷昌宏, 畔津佑季, 鈴木規元, 高見正道
2. 発表標題 抗RANKL 抗体とゾレドロネートがマウス実験的根尖性歯周炎の成立に及ぼす影響
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

1. 発表者名 坂井信裕, 黒滝優太郎, 佐藤ゆり絵, 畔津佑季, 唐川亜希子, 茶谷昌宏, 高見正道
2. 発表標題 脂質の過量摂取が歯の恒常性維持機構に及ぼす影響
3. 学会等名 第142回日本薬理学会関東部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 畔津佑季, 茶谷昌宏, 唐川亜希子, 坂井信裕, 高見正道
2. 発表標題 骨および歯の恒常性維持におけるグルココルチコイド受容体の機能-遺伝子改変メダカを用いた解析
3. 学会等名 第142回日本薬理学会関東部会
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	高見 正道  (Takami Masamichi)  (80307058)	昭和大学・歯学部・教授    (32622)	

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	根岸 貴子 (古賀貴子)  (Negishi takako)  (90451905)	順天堂大学・大学院医学研究科・特任准教授     (32620)	

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