

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：32667

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16979

研究課題名（和文）糖尿病患者の歯周病病態変化に対する阻害機構の解明と新たな治療法の確立

研究課題名（英文）Elucidation of the inhibitory mechanism for periodontal disease pathological changes in diabetic patients and establishment of new treatment methods

研究代表者

丸山 昂介（Maruyama, Kosuke）

日本歯科大学・新潟生命歯学部・助教

研究者番号：60756930

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、ヒト歯周組織由来血管内皮細胞を用いて糖尿病罹患患者における歯周病の病理病態変化に対する阻害機構を解明し、レーザー治療による歯周組織の生理活性を解明することである。まず本研究では、歯周組織内の免疫応答に重要な役割を果たす血管内皮細胞に注目し、糖尿病に罹患した際の細胞変化について検討した。その結果、血管内皮細胞は、糖尿病に罹患した場合、正常時と比較し、細胞の増殖が停滞し、炎症を促すタンパク質を多く出すことが明らかとなった。また、糖尿病に罹患した血管内皮細胞にレーザー照射を行うと、細胞の増殖が促進される可能性が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周病と糖尿病に罹患する人は、年々増加している中、糖尿病に罹患した際に歯周組織にどのような変化が起こっているかは未だ不明な点が多い。本研究は歯周組織の免疫応答で重要な役割を果たしている血管内皮細胞に注目している。研究成果から、糖尿病に罹患した場合、歯周組織の血管内皮細胞の活動性が低下することが明らかになった。一方、糖尿病に罹患した歯周組織に低出力のレーザーを照射することで、活動性が低下した血管内皮細胞の動きを回復させる可能性についても明らかとした。これは、糖尿病患者が歯周病に罹患した際の、新たな歯周治療法となると考える。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to elucidate the inhibitory mechanism of pathological changes in periodontal disease in diabetic patients using vascular endothelial cells derived from human periodontal tissue, and to elucidate the physiological activity of periodontal tissues by laser treatment. First, this study focused on vascular endothelial cells, which play an important role in the immune response in periodontal tissues, and examined the cellular changes that occur when patients are affected by diabetes. As a result, it was revealed that when patients are affected by diabetes, vascular endothelial cells show stagnant cell proliferation and secrete more proteins that promote inflammation compared to normal cases. It was also revealed that laser irradiation of vascular endothelial cells affected by diabetes may promote cell proliferation.

研究分野：歯周病

キーワード：歯周病 糖尿病 血管内皮細胞 Nd-YAGレーザー

### 1. 研究開始当初の背景

近年の高齢化、生活習慣病の増加に伴い、糖尿病と歯周病罹患者は増加の一途を辿っている。しかし、糖尿病罹患者に対しての歯周病予防と炎症の抑制法は未だに確立されておらず、対症療法を行っているのが現状の姿である。糖尿病罹患時における歯周組織の病理と病態変化についての症例報告は極めて少なく、基礎研究についてはほとんど進んでいない。また、糖尿病に罹患している歯周病患者に対して歯周治療を行なったところ、歯周組織の炎症改善とともに血糖値と HbA1C の改善も認めたとの報告がある。つまり、両疾患を持つ患者において、歯周病の治療が糖尿病の改善に繋がることを意味しているとともに、歯周病を予防し、専門的な口腔ケアを行えば、将来的に糖尿病の発症を抑えることが出来ると考えらる。そのため、両疾患の病理学的・病態生理学的な知見を蓄積することが重要である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、ヒト歯周組織由来血管内皮細胞を用いて糖尿病罹患者における歯周病の病理病態変化に対する阻害機構を解明し、レーザー治療による歯周組織の生理活性を解明することである。糖尿病や歯周病に罹患している人数は、年々増加しており、その上糖尿病に罹患し、歯周病でもある患者の歯周組織の病態は悪化の一途を辿っている。そこで、本研究においては、病態の悪化を招く因子と、それを阻害する因子を探り、かつレーザー照射による歯周組織の活性を明らかにすることで、糖尿病罹患者に対しての歯周病予防と炎症の抑制法を確立するための基盤を構築したい。

### 3. 研究の方法

(1) 全身疾患を持たない健康な歯周組織を有する人を対象とし、矯正治療などの理由で抜歯を行なった歯に付着している歯根膜からヒト歯周組織由来血管内皮細胞を分離・培養した。分離したヒト歯周組織由来血管内皮細胞を、グルコース (5.5mM、11.0mM、22.0mM) を添加した培地を用いて培養を行い、その後起こる細胞の性状変化について検討を行う。

(2) 全身疾患を持たない健康な歯周組織を有する人を対象とし、矯正治療などの理由で抜歯を行なった歯に付着している歯根膜からヒト歯周組織由来血管内皮細胞を分離・培養した。分離したヒト歯周組織由来血管内皮細胞に対して、Nd:YAG レーザーの照射を行い、細胞の生理的变化について検討を行う。

### 4. 研究成果

(1) ヒト歯周組織由来血管内皮細胞の増殖の検討  
血管内皮細胞の細胞増殖は、培養4日から6日の間に増殖を示した。培養8日で一定となった。グルコース濃度が高くなるにつれ、増殖が抑制された。培養8日で5.5mMと11.0mM、5.5mMと22.0mMで有意差を認めた。

(2) ヒト歯周組織由来血管内皮細胞のアポトーシスの検討

血管内皮細胞は、培養2、4、6日でアポトーシス陽性細胞の割合が増加した。培養2日、4日では、各濃度のアポトーシス陽性細胞の割合は有意な差を認めなかった。培養6日では、5.5mMと11.0mM、5.5mMと22.0mMで有意差を認めた。(図1)

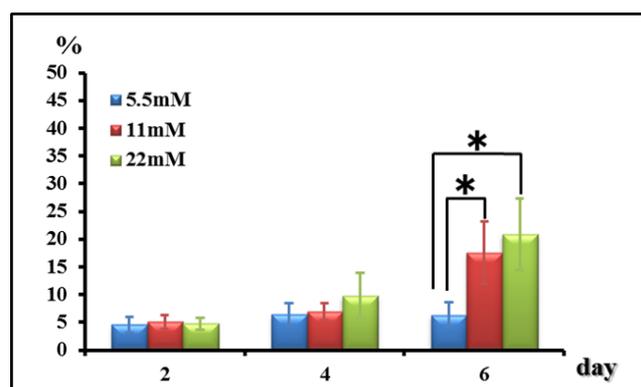


図1

(3) ヒト歯周組織由来血管内皮細胞の管腔形成の検討

各濃度の血管内皮細胞は、管腔形成を行なった。5.5mMの血管内皮細胞は、播種後12時間で管腔形成を維持し、11.0mMと22.0mMの血管内皮細胞は、

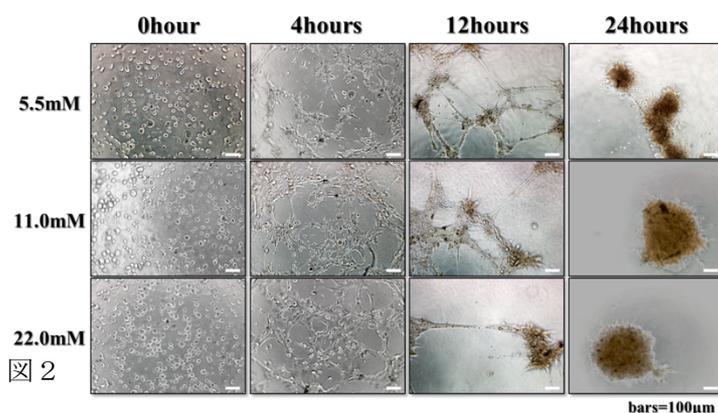


図2

bars=100µm

管腔形成の崩壊を認めた。播種後 24 時間では、すべての濃度で管腔の崩壊を認めた。

(図 2)

#### (4) ヒト歯周組織由来血管内皮細胞の炎症性サイトカインの発現の検討

各濃度の血管内皮細胞は、培養 2 日目では、ICAM-1、VCAM-1 の発現量に Real-time PCR、ELISA 共に有意差を認めなかった。培養 6 日目では、ICAM-1、VCAM-1 共に遺伝子発現量・タンパク発現量の増加を認めた。また、5.5mM と 11.0mM、5.5mM と 22.0mM で Real-time PCR、ELISA で有意差を認めた。(図 3、図 4)

図 3

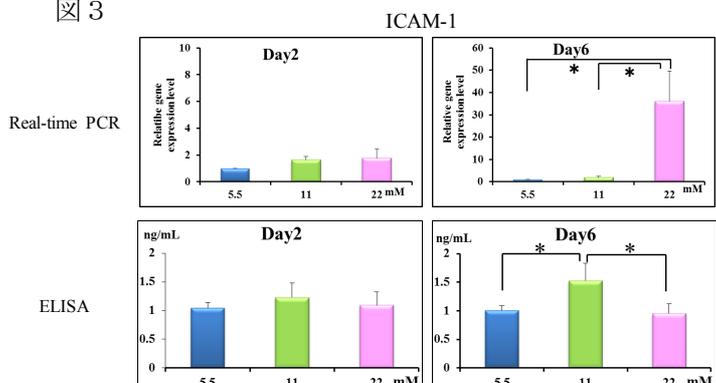
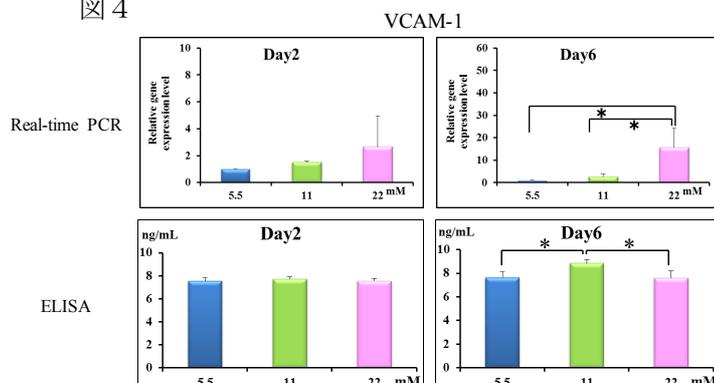


図 4



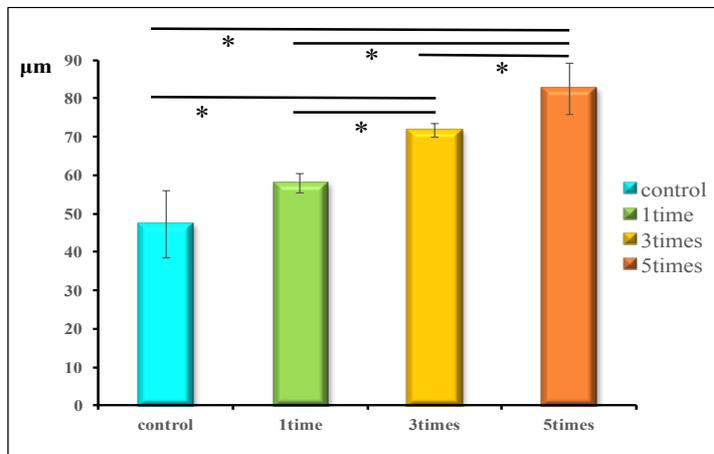
#### (5) Nd-YAG レーザーを照射されたヒト歯周組織由来血管内皮細胞の増殖の検討

Nd-YAG レーザーを照射された血管内皮細胞は、照射エネルギーが低い場合、照射エネルギーが高い場合よりも、有意に細胞増殖が促進された。

#### (6) Nd-YAG レーザーを照射されたヒト歯周組織由来血管内皮細胞の形態変化の検討

Nd-YAG レーザーを照射されたヒト歯周組織由来血管内皮細胞は、照射回数が増加するにつれ、細胞核の肥厚・紡錘形の形態が伸長する変化を認めた。また、照射回数が増加するにつれ、細胞長径が有意に増加した。(図 5)

図 5



#### (7) 高グルコースを曝露されたヒト歯周組織血管内皮細胞に Nd-YAG レーザーを照射した際の細胞増殖の検討

高グルコースで培養されたヒト歯周組織血管内皮細胞に Nd-YAG レーザーを照射した場合、レーザーを照射しなかったヒト歯周組織由来血管内皮細胞の増殖と比較し、増殖が促進される傾向を示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------