

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月31日現在

機関番号：34408

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22592105

 研究課題名（和文） 歯周病における細胞内グルココルチコイド活性化酵素  $11\beta$ -HSD1 の役割の解明

 研究課題名（英文） The role of  $11\beta$ -HSD1, an intracellular glucocorticoid-activating enzyme, in periodontal disease

研究代表者

澤井 宏文 (SAWA HIROFUMI)

大阪歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：40298823

研究成果の概要（和文）：メタボリックシンドロームにおいて脂肪組織における細胞内グルココルチコイド活性化酵素  $11\beta$ -HSD1 ( $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1) の活性化が重要な役割を担うことが近年明らかになってきた。メタボリックシンドロームは脂肪組織の慢性炎症状態と考えられており、歯周組織の慢性炎症状態である歯周病における  $11\beta$ -HSD1 の役割について検討した。その結果、歯周病患者の歯肉組織においては健常者の歯肉組織に比して  $11\beta$ -HSD1 の発現が有意に亢進しており、また、歯周ポケットの深さと  $11\beta$ -HSD1 遺伝子発現との間には有意な正の相関関係が認められたことから、 $11\beta$ -HSD1 発現亢進が歯周病発症に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：It has been suggested that  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 ( $11\beta$ -HSD1), a glucocorticoid-activating enzyme, plays an important role in metabolic syndrome. Although the relationship between periodontal disease and metabolic syndrome has been established, the involvement of  $11\beta$ -HSD1 in periodontal disease has not been reported. This study was performed to elucidate the role of  $11\beta$ -HSD1 in periodontal disease. As a result, a statistically significant increase of  $11\beta$ -HSD1 mRNA expression was detected in the periodontal disease group compared with the controls. Furthermore, the depth of periodontal pockets significantly correlated with the increased expression of  $11\beta$ -HSD1 mRNA. These results suggest that the increased expression of  $11\beta$ -HSD1 may play a role in the progression of periodontal disease.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学、病態科学系歯学

キーワード：歯周病、メタボリックシンドローム、 $11\beta$ -HSD1、グルココルチコイド

## 1. 研究開始当初の背景

$11\beta$ -HSD1 ( $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1) は不活性型のコルチゾンを活性型のコルチゾルに変換する酵

素であり、研究分担者の益崎らはメタボリックシンドロームにおける  $11\beta$ -HSD1 の関与を報告した (Science 294, 2166-2170, 2001; Journal of Clinical Investigation

112, 83-90, 2003)。すなわち、 $11\beta$ -HSD 1 を脂肪組織において特異的に発現するトランスジェニックマウスは、内臓脂肪型肥満、インスリン抵抗性糖尿病、高脂血症、高血圧症などメタボリックシンドローム類似の表現形を示した。また、メタボリックシンドロームの患者において、脂肪組織(特に内臓脂肪)での $11\beta$ -HSD 1 の発現亢進が認められた。これらの結果から、脂肪組織における $11\beta$ -HSD 1 の高発現によるコルチゾルの増加によりメタボリックシンドロームが生じることが示唆されており、 $11\beta$ -HSD 1 阻害剤はメタボリックシンドロームの新規治療薬として期待されている。研究代表者は研究分担者の益崎らと共同で $11\beta$ -HSD 1 の発現制御メカニズムについて報告した (Endocrinology 148, 5268-5277, 2007)。

メタボリックシンドロームは脂肪組織の慢性炎症状態と考えられており、最近では他の組織の慢性炎症(関節リウマチ、非アルコール性脂肪肝炎、潰瘍性大腸炎など)においても $11\beta$ -HSD 1 の関与が報告されている。これらのことから、慢性炎症状態である歯周病においても $11\beta$ -HSD 1 の発現が亢進し慢性炎症の原因の一つとなっている可能性が高いと考えられる。歯周病とメタボリックシンドロームとの関連については知られているが、そのメカニズムは明らかではなく、歯周病における $11\beta$ -HSD 1 の関与については今まで報告されていない。

## 2. 研究の目的

メタボリックシンドロームにおいて脂肪組織における細胞内グルココルチコイド活性化酵素 $11\beta$ -HSD 1 の活性化が重要な役割を担うことが近年明らかになってきた。メタボリックシンドロームは脂肪組織の慢性炎症状態と考えられており、他の組織の慢性炎症状態における $11\beta$ -HSD 1 の関与も報告されてきている。本研究では、歯周組織の慢性炎症状態である歯周病における新たな治療ターゲットとして $11\beta$ -HSD 1 の役割について解明し、メタボリックシンドロームの新規治療薬として期待されている $11\beta$ -HSD 1 阻害剤による歯周病治療の可能性を探求する。

## 3. 研究の方法

健常人および歯周病患者から歯周組織を採取し、RANK (receptor activator of NF- $\kappa$ B)、RANKL (receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand)、OPG (osteoprotegerin)

および $11\beta$ -HSD 1 の発現について比較検討した。RANK、RANKL、OPGおよび $11\beta$ -HSD 1 の発現の検討には、リアルタイムRT-PCR法によるmRNA発現量の定量的測定を行い、歯周病の状態とRANK、RANKL、OPGおよび $11\beta$ -HSD 1 の発現量との間に相関関係があるかどうか検討した。

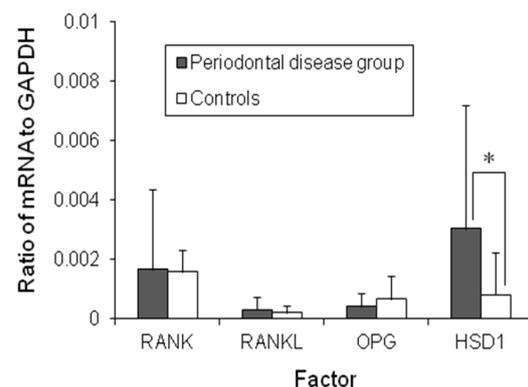
具体的には、TRIzol (Invitrogen) を用いて歯周組織からtotal RNAを抽出し、プライマーとしてRANK、RANKL、OPGおよび $11\beta$ -HSD 1 のそれぞれに対するTaqMan Gene Expression Assayを使用し、TaqMan RNA-to- $C_T$  1-Step Kit およびStepOnePlus Real Time PCR System (いずれもApplied Biosystems) を用いて、リアルタイムreverse transcription-PCRを行った。

データ解析は、Wilcoxon-Mann-WhitneyのU検定にはKaleida Graph (Synergy Software)、Spearmanの相関係数にはSPSS software (IBM) を用いて行った。

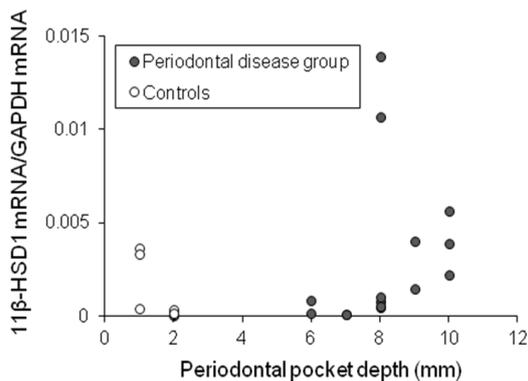
なお、本研究は大阪歯科大学の倫理委員会により承認され(承認番号第090921号)、患者のインフォームドコンセントを得た上で行った。

## 4. 研究成果

(1) 歯周病患者の歯肉組織においては健常者の歯肉組織に比して、RANK、RANKL、OPGの発現には有意差はなかったが、 $11\beta$ -HSD 1 の発現は有意に亢進していることが認められた (Wilcoxon-Mann-Whitney のU検定にて、 $p < 0.05$ )。



(2) 歯周ポケットの深さと $11\beta$ -HSD 1 遺伝子発現の間には有意な正の相関関係が認められた (Spearman の相関係数 0.518,  $p < 0.01$ )。



(3) これらの結果より、 $11\beta$ -HSD1 遺伝子発現亢進が歯周病発症に關与する可能性が示唆された。

(4) 今後は、メタボリックシンドロームの新規治療薬として期待されている  $11\beta$ -HSD1 阻害剤を歯周病治療に応用するために、歯周病モデル実験動物を用いて  $11\beta$ -HSD1 阻害剤の歯周病に対する効果を検討したい。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

① Masanori Shiraishi、Hirofumi Sawai、Yutaka Nagano、Masatoshi Ueda、Makoto Umeda、Involvement of  $11\beta$ -HSD1 in metabolic syndrome and periodontal disease、Journal of Osaka Dental University、査読有、47、2013、7-10

② Hirofumi Sawai、Differential effects of caspase inhibitors on TNF-induced necroptosis、Biochemical and Biophysical Research Communications、査読有、432、2013、451-455

DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.01.126

③ Mika Shishido、Hirofumi Sawai、Kaoru Inami、Yuko Katao、Naoyuki Matsumoto、Facilitation of experimental tooth movement by NOC-18, a long-acting nitric oxide donor、Orthodontic Waves、査読有、72、2013、43-48

DOI: 10.1016/j.odw.2012.12.001

④ Yuko Katao、Hirofumi Sawai、Mika Shishido、Aki Omae、Wen Liao、Kaoru Inami、Naoyuki Matsumoto、Augmentation of

RANKL-induced osteoclast differentiation by Z-VAD-fmk, a pan-caspase inhibitor、Journal of Osaka Dental University、査読有、47、2013、41-46

⑤ Yutaka Nagano、Kumiko Arishiro、Masako Uene、Tatsuro Miyake、Masaki Kambara、Yasuhiro Notohara、Masanori Shiraishi、Masatoshi Ueda、Naochika Domae、A low ratio of high molecular weight adiponectin to total adiponectin associates with periodontal status in middle-aged men、Biomarkers、査読有、16、2011、106-111  
DOI: 10.3109/1354750X.2010.533286

⑥ Hirofumi Sawai、Naochika Domae、Discrimination between primary necrosis and apoptosis by necrostatin-1 in Annexin V-positive/propidium iodide-negative cells、Biochemical and Biophysical Research Communications、査読有、411、2011、569-573

DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.06.186

⑦ Yuko Katao、Hirofumi Sawai、Kaoru Inami、Naochika Domae、Naoyuki Matsumoto、Direct effects of estrogen on differentiation and apoptosis of osteoclasts、Orthodontic Waves、査読有、70、2011、8-14

DOI: 10.1016/j.odw.2010.07.002

⑧ Kaoru Inami、Hirofumi Sawai、Yuko Katao、Mika Shishido、Yousuke Ujii、Misa Shimozuma、Kensuke Nobata、Naochika Domae、Naoyuki Matsumoto、Effect of long acting nitric oxide donors on the differentiation of osteoclasts derived from mouse bone marrow macrophages、Journal of Osaka Dental University、査読有、44、2010、133-138

[学会発表] (計 15 件)

① 居波薫、Mouse Bone Marrow Macrophage の破骨細胞様細胞分化における長時間作用型 NO 供与体の影響、第 22 回日本歯科医学会総会、2012 年 11 月 9 日、インテックス大阪

② 片尾祐子、破骨細胞分化および成熟破骨細胞のアポトーシスに及ぼすエストロゲンの直接的影響、第 22 回日本歯科医学会総会、2012 年 11 月 9 日、インテックス大阪

③ 宍戸美香、実験的歯の移動における一酸化窒素 (NO) の影響、第 22 回日本歯科医学

会総会、2012年11月9日、インテックス大阪

④ Masanori Shiraishi、Involvement of  $11\beta$ -HSD1 in metabolic syndrome and periodontal disease, The 98th Annual Meeting of American Academy of Periodontology in collaboration with the Japanese Society of Periodontology、2012年10月1日、Los Angeles Convention Center、USA

⑤ 宍戸美香、長時間作用型NO供与体NOC-18による実験的歯の移動の促進、第71回日本矯正歯科学会大会、2012年9月27日、盛岡市民文化ホール

⑥ 白石真教、歯周病におけるメタボリックシンドローム関連酵素  $11\beta$ -HSD1 の関与、日本歯周病学会 2012 秋季学術大会(第 55 回)、2012 年 9 月 23 日、つくば国際会議場

⑦ Kaoru Inami、Induction of osteoclast differentiation by NOC-18, a long-acting nitric oxide donor、2012 Sino-Japan Dental Conference、2012 年 4 月 27 日、Sichuan University、China

⑧ Mika Shishido、Effects of nitric oxide (NO) on experimental tooth movement、2012 Sino-Japan Dental Conference、2012 年 4 月 27 日、Sichuan University、China

⑨ 片尾祐子、破骨細胞分化における Caspase 阻害剤の影響、第 70 回日本矯正歯科学会大会、2011 年 10 月 19 日、名古屋国際会議場

⑩ 宍戸美香、一酸化窒素(NO)による実験的歯の移動の促進、第 70 回日本矯正歯科学会大会、2011 年 10 月 19 日、名古屋国際会議場

⑪ 白石真教、歯周病患者における血清 MDA-LDL 濃度の上昇と歯周治療による改善、日本歯周病学会 2011 秋季学術大会(第 54 回)、2011 年 9 月 23 日、海峡メッセ下関

⑫ Masanori Shiraishi、Serum MDA-LDL level is elevated in periodontitis patients and is reduced by standard periodontal treatment、第 43 回日本動脈硬化学会総会・学術集会、2011 年 7 月 15 日、ロイトン札幌

⑬ 片尾祐子、破骨細胞分化および成熟骨芽細胞のアポトーシスに及ぼすエストロゲンの直接的影響、第 69 回日本矯正歯科学会大会、2010 年 9 月 29 日、パシフィコ横浜

⑭ 宍戸美香、実験的歯の移動における一酸化窒素(NO)の影響、第 69 回日本矯正歯科学会大会、2010 年 9 月 29 日、パシフィコ横浜

⑮ Yuko Katao、The effects of estrogen on differentiation and apoptosis of osteoclasts、88th General Session & Exhibition of the IADR、2010 年 6 月 14 日、Barcelona、Spain

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

澤井 宏文 (SAWAI HIROFUMI)  
大阪歯科大学・歯学部・講師  
研究者番号：40298823

### (2) 研究分担者

益崎 裕章 (MASUZAKI HIROAKI)  
琉球大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：00291899

堂前 尚親 (DOMAE NAOCHIKA)  
大阪歯科大学・歯学部・名誉教授  
研究者番号：60115889

長野 豊 (NAGANO YUTAKA)  
大阪歯科大学・歯学部・講師 (非常勤)  
研究者番号：80228048

居波 薫 (INAMI KAORU)  
大阪歯科大学・歯学部・助教  
研究者番号：40548327

能登原 靖宏 (NOTOHARA YASUHIRO)  
大阪歯科大学・歯学部・講師 (非常勤)  
研究者番号：10548324