

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 24 年 5 月 14 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22792088

研究課題名（和文）

糖化最終産物の受容体を介した歯周病と糖尿病の悪化メカニズムの解明

研究課題名（英文） Elucidate of deteriorating mechanism of diabetic and periodontitis via receptor of advanced glycation endproducts

研究代表者

内田 雄士（UCHIDA YUSHI）

広島大学・大学院歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：40363080

研究成果の概要（和文）：S100 タンパク質は歯肉上皮細胞において IL-8 を誘導する。s100 を 48 時間作用させた群ではヒト歯肉上皮細胞（HGEC）の IL-8 産生量は S100 未刺激群のそれと比較して 1.5 倍程度であった。また、1 μ g/ml の S100 タンパク質を HGEC に 6 時間作用させることでコネクシン 43 の産生は誘導される。しかし、10 μ g/ml の S100 タンパク質を 24 時間 HGEC に作用させるとコネクシン 43 の産生は要請された。その他、歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* は HGEC の糖化最終産物の受容体を介して IL-8 の産生を誘導する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：S100 protein increased the IL-8 levels in HGEC. Amounts of IL-8 in HGEC stimulated by S100 protein were 1.5 times higher than non-stimulated cells for 48 hours. Production of connexin43 in HGEC was induced by 1 μ g/ml S100 protein for 6 hours. However, production of connexin43 declined in HGEC stimulated by 10 μ g/ml S100 protein for 24 hours. Gap junctional intercellular communication was induced by 1 μ g/ml S100 protein for 12 hours, but inhibited by 10 μ g/ml S100 protein for 24 hours. *Porphyromonas gingivalis* might induce IL-8 in HGEC via Receptor of advanced glycation endproducts.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯周治療系歯学

キーワード：S100 タンパク質、歯肉上皮細胞、歯肉線維芽細胞、IL-8、細胞間コミュニケーション、connexin43、骨髄由来間葉系幹細胞、石灰化能

1. 研究開始当初の背景

現在、歯周病は糖尿病の第6の合併症として認知されるようになってきている。糖尿病と歯周病を結びつける因子は炎症性サイトカインがよく研究されているが、その他にも重要な役割を果たしている因子があると考えられる。RAGEの発現は、歯肉線維芽細胞や骨芽細胞でも報告があり、申請者は歯肉上皮細胞におけるRAGEの発現を確認している。炎症の憎悪因子であるAGEは糖尿病に罹患すると血中で産生され、歯周組織の細胞や骨芽細胞のRAGEに結合し、歯周病を憎悪させる可能性が考えられる。また、S100A8とS100A9の過剰な発現は歯周病患者の歯肉溝滲出液や唾液中に検出される。申請者はこれまで歯周病原細菌がヒト歯肉上皮細胞とヒト歯周靭帯由来線維芽細胞におけるS100タンパク質の産生を増加させること、および、S100タンパク質が好中球の活性酸素の産生を促進させることを示した。一方、AGEは骨格筋の糖取り込み能を低下させる。RAGEに結合するS100タンパク質も骨格筋の糖取り込み能に関与する可能性がある。

2. 研究の目的

AGEとS100タンパク質、RAGEを中心に糖尿病と歯周病の関連性を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

1. AGE とS100 がRAGE を介して歯肉上皮細胞・歯肉線維芽細胞・歯周靭帯由来線維芽細胞へ及ぼす影響を炎症性サイトカインと活性酸素の産生について調べる。

2. AGE とS100-RAGE を介して骨芽細胞の骨形成能へ及ぼす影響を石灰化能と骨関連タンパク質について調べる。

3. 炎症時の歯周組織細胞における産生物が骨格筋の糖取り込み能に与える影響を糖取り込み速度とGLUT4 の発現・トランス

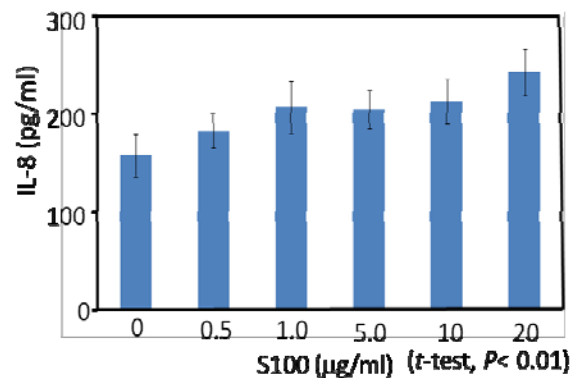
ロケーションについて調べる。

4. 糖尿病モデルラットの歯周炎モデルを用いた歯周病と糖尿病の関連性を血中のAGE とS100濃度、歯周組織の炎症性サイトカイン、骨吸収の程度と血糖レベルの推移を指標に調べる。

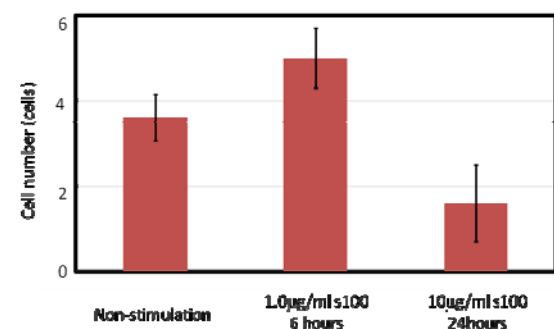
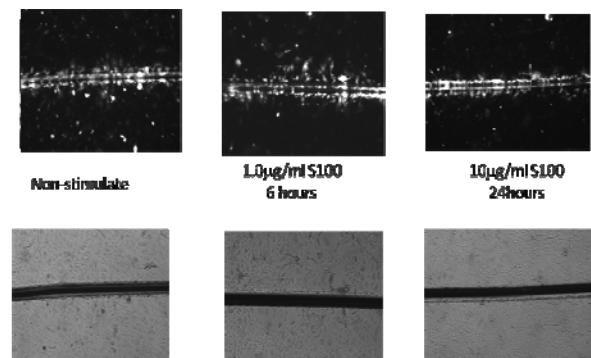
4. 研究成果

・S100 はRAGE を介して歯肉上皮細胞のIL-8産生を誘導する。

Production of IL-8 in HGEC stimulated by S100

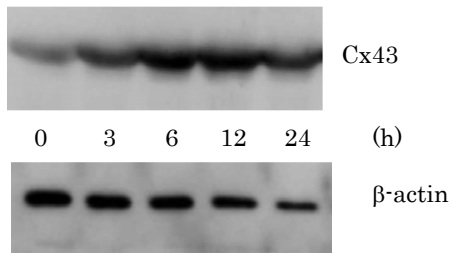


・RAGE のリガンドである S100 タンパク質は歯肉上皮細胞のギャップ Junction を介した細胞間コミュニケーションの亢進・抑制に関与している。

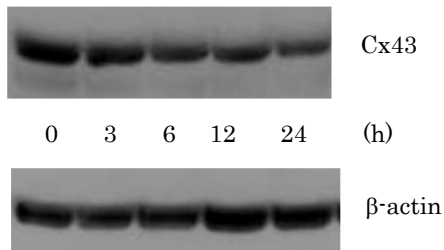


・S100 タンパク質はギャップジャンクションの構成タンパクであるコネクシン 43 の発現に関与している。S100 タンパク質を低濃度では HGEC に 6 時間作用させると Cx43 の発現は増加する一方で、高濃度で 24 時間作用させると Cx43 の発現は減少する。

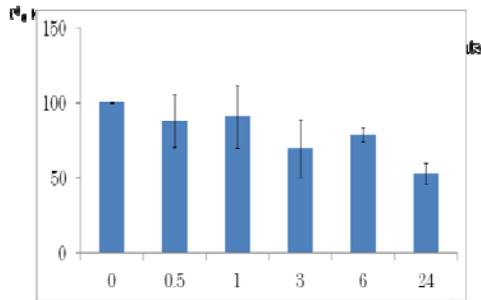
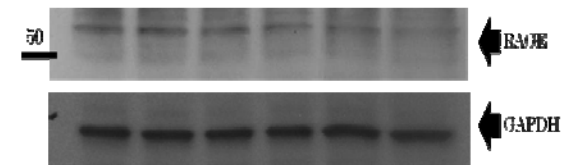
1.0 µg/ml S100



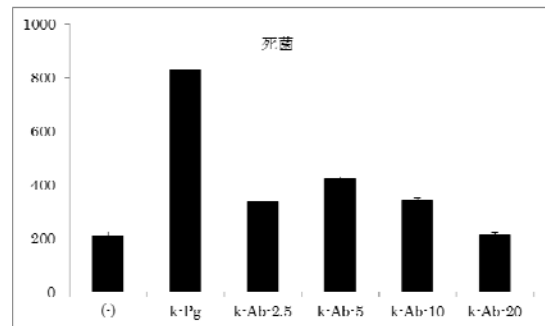
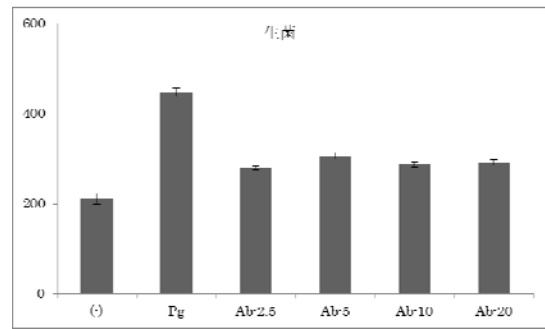
10 µg/ml S100



・ *Porphyromonas gingivalis* は時間依存的に歯肉上皮細胞の RAGE 産生を抑制している。



・ *P. gingivalis* は RAGE を介して歯肉上皮細胞の IL-8 産生を誘導している。しかし、死菌と生菌では HGEC の IL-8 産生量に相違がある。生菌は 24 時間でのコントロールと比較し約 300 pg/ml の IL-8 を誘導していたのですが、死菌は 24 時間で約 2 倍に相当する 600pg/ml の IL-8 を誘導していた。またその際、死菌と生菌の両方において RAGE の抗体を用いた、阻害実験で IL-8 産生は抑制されていた。このことから、*P. gingivalis* は細胞膜上の構成成分が RAGE のリガンドとなり、RAGE と結合することによって HGEC の IL-8 産生に影響していることが示唆される。



このようにこれまで、明らかにされていなかった RAGE のリガンドの炎症に対する影響を明らかにした一方で、歯周病原細菌が RAGE を介して炎症に関与している可能性を明らかにした。糖尿病患者における歯周病悪化のメカニズムに RAGE の存在は大きな役割を果たしている可能性が示唆された。

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 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

1. Inflammatory reaction of S100 protein in human gingival epithelial cells ; Y. Uchida、国際歯科研究学会 (IADR)、2011年3月19日、アメリカ合衆国(サンディエゴ)

2. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 刺激によって誘導されるヒト歯肉上皮細胞の S100 タンパク質発現 ; 内田雄士その他、第132回日本歯科保存学会学術大会、2010年6月5日、熊本

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内田 雄士 (Uchida Yushi)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号 : 40363080

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :