

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21059

研究課題名（和文）歯周組織の治癒過程におけるCGRPの機能解析

研究課題名（英文）Elucidation of the function of CGRP in the healing process of periodontal tissue

研究代表者

竹下 登 (Takeshita, Noboru)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：80967688

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) は、カルシトニン遺伝子を選択的スプライシングして作られる37個のアミノ酸からなる神経ペプチドで、強力な血管拡張作用を示し、炎症時には同ペプチドの合成が促進される。近年CGRPは、免疫細胞の調整や骨代謝に関与していると多数報告されている。本研究では、CGRP受容体の特異的構成要素であるRAMP1遺伝子のノックアウトマウスと野生型マウスを用い、歯周組織の破壊、治癒過程に及ぼす影響の解析を行った。その結果、RAMP1遺伝子欠損マウスは、野生型マウスと比較し、歯槽骨の回復が遅延することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

三叉神経節で生成されるCGRPが歯周組織の治癒・再生に関与しているとの結果が得られた。本研究結果は、歯根膜における神経が従来知られてきた末梢における感覚受容のみならず、歯周組織の恒常性維持や組織修復に重要な機能を果たしていることを示しており、全身的にも神経系が組織の恒常性維持や骨代謝に大いに関与していることが示唆される。

研究成果の概要（英文）：Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) is a neuropeptide consisting of 37 amino acids produced by selective splicing of the calcitonin gene. Recently, many reports have suggested that CGRP plays important roles in immune cell regulation and bone metabolism. In this study, we used gene knockout mice of Ramp1, a specific component of the CGRP receptor, to analyze its effects on the destruction of periodontal tissue and the healing process. The results showed that alveolar bone recovery was delayed in Ramp1 gene-deficient mice compared to wild-type mice.

研究分野：歯周病学

キーワード：CGRP RAMP1 歯周組織再生

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

神経科学、骨代謝研究分野の新たな知見として、神経ペプチドなどの神経関連分子が骨芽細胞や破骨細胞の増殖、分化を調整し、骨代謝をはじめ炎症制御などの生理機能を発揮していることが報告されており、加齢や全身疾患に伴う骨代謝や炎症制御機能の低下に神経関連分子の関与が想定されている。一方、歯周組織において歯根膜は脈管のみならず感覚神経や自律神経など豊富な神経支配をうけており、様々な神経関連分子の分泌や受容体の発現が認められる。実際に歯根膜は加齢に伴い、神経線維の変性が多く見られるようになり、歯根膜空隙の狭窄、細胞成分の減少が観察される。また歯周病のリスク因子である糖尿病では末梢循環および神経障害がおき、歯根膜においても同様の障害が懸念される。すなわち加齢や全身疾患に伴う歯周病の病態形成や、歯周組織の創傷治癒・再生過程にも、神経関連分子による制御およびその変調が深く関与していると推察される。末梢神経は運動神経と感覚神経に分類されるが、感覚神経は神経終末で受けたシグナルを脳に伝達するのみならず、痛覚等の伝達に伴い脊髄神経節や三叉神経節で神経ペプチドを生成し、同ペプチドの作用により局所の恒常性維持に関与している。歯周組織においても三叉神経節で産生された神経ペプチドが、末梢神経神経終末より分泌される。その一つである CGRP は末梢神経終末から分泌される神経ペプチドで、37 個のアミノ酸で構成されている。CGRP には、血管の拡張作用があり、局所の炎症反応に関与していると考えられているが、近年、免疫細胞の調整や骨代謝に関与していることが数多く報告されている。しかしながら歯周組織におけるこれらの役割に関しては報告が少ない。

### 2. 研究の目的

本研究では、CGRP 受容体の特異的構成タンパクである RAMP1 の遺伝子欠損マウスを用いて歯周組織の治癒・再生過程における同分子の関与を *in vivo* にて解析することにより、CGRP シグナルが歯周組織の恒常性維持・再生に及ぼす影響を解明することを目的とする。

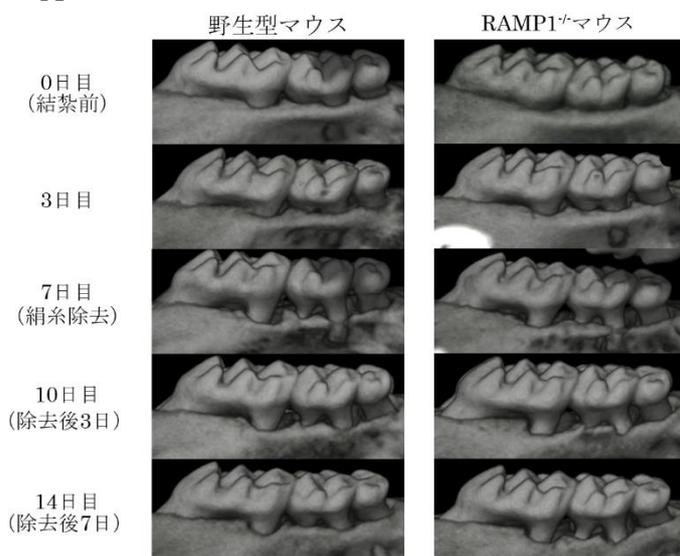
### 3. 研究の方法

本研究におけるすべての実験は、大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会の定める動物実験ガイドに従って行った（大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会 受付番号：動歯 R-01-019-0、遺伝子組み換え承認番号：04484）。野生型マウスは日本 SLC 株式会社（静岡、日本）から購入した。RAMP1 遺伝子欠損マウスは、理化学研究所 BRC から入手した RAMP1<sup>-/-</sup>マウスで繁殖させ、ジェノタイプピングを行うことで、RAMP1<sup>-/-</sup>マウスを作製した。それぞれのマウスを 3 種混合麻酔薬の腹腔内投与による深麻酔下で行い、絹糸結紮によるマウス実験的歯周炎モデルを作製した。すなわち、双眼実体顕微鏡下でマウスの上顎第二臼歯に 5-0 絹糸を結紮し、7 日間飼育した後に絹糸の除去を行い、除去後さらに 7 日間飼育し、0、3、7、10、14 日目に上顎骨の  $\mu$ CT 撮影を行った。

### 4. 研究成果

得られた  $\mu$ CT 画像（図 1a）を用いて、野生型マウスと Ramp1<sup>-/-</sup>マウスの歯周組織の破壊と治癒過程における歯槽骨レベルの比較を行った。その結果、0 日目の歯槽骨の状態には、野生型マウスと Ramp1<sup>-/-</sup>マウスの間に有意差は認められなかった。一方、10 日目および 14 日目において、Ramp1<sup>-/-</sup>マウスは、歯槽骨の回復が野生型マウスに比べて有意に低下していることが明らかとなった（図 1b, c）。

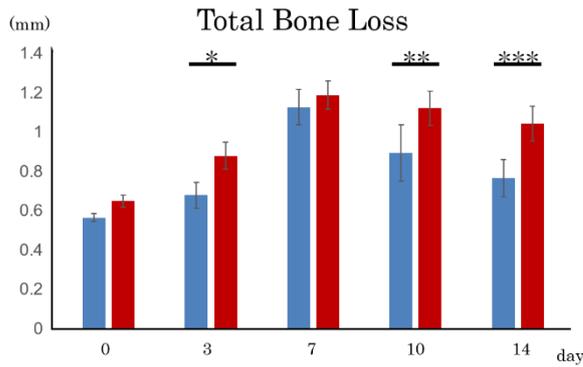
A



B



C



- 図1.  $\mu$  CT 画像を用いた野生型マウスと RAMP1<sup>-/-</sup>マウスの歯周組織の破壊と治癒の検討
- 結紮 0、3、7、10、14 日目の野生型マウス、RAMP1<sup>-/-</sup>マウスの  $\mu$  CT 像。
  - 黄色線で示したように、上顎第一臼歯の遠心根、上顎第二臼歯の近心根・遠心根、上顎第三臼歯の近心根の 4 根について、根中央部のセメントエナメルジャンクションから歯槽骨頂までの距離を計測し、その合計を Total Bone Loss として評価した。
  - 0~14 日目における野生型マウス、RAMP1<sup>-/-</sup>マウスの Total Bone Loss をグラフに示した (青: 野生型マウス、赤: Ramp1<sup>-/-</sup>マウス、n=5、\*: P<0.05、\*\*: P<0.01、\*\*\*: P<0.001)。

本研究結果は、CGRP シグナルが歯槽骨の再生に重要な役割を果たしている可能性を示している。歯根膜における神経が従来知られてきた末梢における感覚受容のみならず、歯周組織の恒常性維持や組織修復に重要な機能を果たしていることを示唆するものである。本研究成果は、CGRP の制御に基づく新規の歯周組織再生療法の開発につながるものとして期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 Miki Koji, Takeshita Noboru, Yamashita Motozo, Kitamura Masahiro, Murakami Shinya	4. 巻 14
2. 論文標題 Calcitonin gene-related peptide regulates periodontal tissue regeneration	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1344
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-024-52029-z	査読の有無 無
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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三木康史、竹下登、山下元三、北村正博、村上伸也
2. 発表標題 歯周組織の治癒過程におけるCGRPの機能解析
3. 学会等名 日本歯科保存学会2022年度秋季学術大会（第157回）
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------