

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：44512

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10128

研究課題名（和文）低栄養時の炎症の遷延化，創傷治癒遅延のメカニズム解明：HMGB1機能不全の可能性

研究課題名（英文）Malnutrition delayed wound healing by HMGB1-related prolonged inflammation

研究代表者

山城 圭介（Yamashiro, Keisuke）

神戸常盤大学短期大学部・口腔保健学科・教授

研究者番号：30581087

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）：本邦では平均寿命と健康寿命の乖離が問題となっている。この乖離は高齢者の骨折や生活習慣病などの疾病により生じる。これらの疾病がさらに悪化する原因の一つとして低栄養が挙げられる。本研究では低栄養時に炎症が遷延化する原因の一つとして、炎症メディエーターであるHMGB1が関与していると仮説を立てた。低栄養モデルマウスを抜歯し、創傷治癒過程を観察したところ、コントロール群と比較して、低栄養群では炎症に関わる因子（HMGB1およびIL-1 $\beta$ ）発現増加、再生や間葉系幹細胞に関わる因子の発現低下が見られた。これらのことから低栄養状態ではHMGB1を介した創傷治癒遅延が起こってい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

高齢者の低栄養はQOL向上の点からも大変重要な課題である。低栄養になると、傷が治癒しにくくなったり、すでに抱えている慢性疾患が悪化したりすることが考えられる。我々はHMGB1という因子が炎症を悪化させるだけでなく、傷が治る際にも重要な働きをすることを明らかとしてきた。本研究において、低栄養時のHMGB1の働きの一部が解明された。今後はHMGB1を検査に用いたり、また低栄養の患者に対して適切な栄養補助を行う際の指標になりうると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In Japan, the gap between average life expectancy and healthy life expectancy becomes a big problem. This divergence is caused by diseases such as fractures and lifestyle-related diseases in the elderly. Malnutrition is one of the causes of further exacerbation of these diseases. In this study, we hypothesized that HMGB1, an inflammation mediator, is involved as one of the causes of prolonged inflammation during malnutrition. We made the malnutrition model mice and observed the wound healing process after tooth extraction. The factors related to inflammation (HMGB1 and IL-1 $\beta$ ) expression were increased and the factors related to regeneration and mesenchymal stem cells were decreased in the malnutrition group compared to the control group. From these results, it was clarified that HMGB1-mediated delayed wound healing occurs in malnutrition.

研究分野：歯周病学

キーワード：歯周病 炎症 低栄養 創傷治癒 HMGB1

## 1. 研究開始当初の背景

日本は先進国の中でも著しく高齢化が進んでおり、平均寿命は世界のトップクラスである。しかし要支援・要介護の高齢者の割合は増加しており、いわゆる平均寿命と健康寿命の乖離が問題となっている。この乖離は高齢者の骨折や生活習慣病などの疾病により生じる。これらの疾病が悪化する原因として、低栄養による炎症の遷延化、創傷治癒遅延が挙げられる。我々は、これまでに High Mobility Group Box 1 (HMGB1) という因子が歯周病の炎症の遷延化に関与すること、また歯槽骨の創傷治癒に関与することを明らかとした。本研究ではそれを更に発展させ、低栄養状態のモデルマウスにおいて、**HMGB1** の機能不全が生じた結果、炎症の遷延化や創傷治癒遅延が起こるのかを検証する。これらのことが明らかとなれば、高齢者の栄養管理を適切に行うことで、疾病の発症予防や、早期回復に寄与し、健康寿命の増進に貢献できると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、低栄養時に **HMGB1** 分泌量の調整に不備があり、慢性炎症の遷延化と創傷治癒遅延に関与しているか検証することである。

## 3. 研究の方法

### 抜歯モデルマウスを用いた低栄養時の創傷治癒遅延のメカニズム解析

#### 1 モデルマウスの作成：

8週齢 C57BL/6 野生型マウスを2群に分け、各群にそれぞれ25%カゼイン食(標準群)及び1%カゼイン食(低栄養群)を2週間与える。上記2群のマウスの上顎左側第二大臼歯に絹糸を結紮後、Pg菌を3日毎に口腔内に投与し歯周炎マウスを構築する。2週間後に絹糸(起炎物質)を除去し、その2週間後に屠殺する。

#### 2 分子イメージング解析：

炎症特異的プローブと IVIS Imaging System を用いて屠殺直前に炎症の定量を行う。起炎物質除去により標準群では炎症が消失し、低栄養群では炎症が遷延化しているか解析を行う。

#### 3 組織学的解析：

$\mu$ CT を用いた骨吸収量の測定、マクロファージ、好中球の特異的抗体を用いた免疫組織染色、破骨細胞染色 (TRAP 染色) を行う。低栄養により炎症が増加し骨吸収が進行しているのか解析を行う。

#### 4 分泌 HMGB1 の定量解析；

抜歯後3日目、7日目の組織を用いて解析を行う。低栄養群では HMGB1 が継続して分泌されているのか検証する。

#### 5 免疫細胞分画の検討；

抜歯後3日目のサンプルを用いて免疫細胞の分画測定を行う。低栄養群では免疫細胞の遊走が低下しているか、幹細胞の集積が低下しているのか検証する。

## 4. 研究成果

低栄養群ではコントロール群と比較して体重が約30%減少しており、血液検査の結果、総蛋白量、アルブミン値、グルコース量なども低栄養群ではコントロール群と比較して有意に減少した。抜歯後の創傷治癒過程の比較検討の結果、抜歯後3日目では、コントロール群で血管新生が見られたのに対して、低栄養群では赤血球などの血球細胞の浸潤が見られた。抜歯後7日目ではコントロール群で新生骨の形成が見られたのに対して、低栄養群では依然炎症細胞の浸潤が持続していた。抜歯窩周囲組織を用いて定量 PCR 解析を行った結果、コントロール群と比較し低栄養群では、抜歯後3日目、7日目双方において炎症性サイトカイン(IL-1) 幹細胞(CD44, Nanog)、骨マーカー(Runx2)などの遺伝子発現量が有意に減少していた。フローサイトメトリー解析の結果、コントロール群と比較し低栄養群では、抜歯後3日目、7日目双方において、幹細胞の割合が有意に減少していた。IVISによる解析では、コントロール群では炎症は3日目にピークを迎え7日目にはほぼ消失しているのに対し、低栄養群では3日目の炎症は軽度で7日目のほうが高かった。炎症メディエーターHMGB1の発現および定量解析を免疫染色法およびELISA法を用いて行った。コントロール群では抜歯後7日目にはHMGB1の局在が核内に留まっているのに対し、低栄養群では依然核外に移行したままであった。抜歯窩に存在するM1, M2マクロ

ファージの割合の変化を、フローサイトメトリーを用いて検証した。抜コントロール群と比較して低栄養群では M1 マクロファージ の割合が有意に低く、M2 マクロファージの割合が有意に高かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Keisuke Yamashiro, Hidetaka Ideguchi, Hiroaki Aoyagi, Chiaki Yoshihara-Hirata, Anna Hirai, Risa Suzuki-Kyoshima, Yao Zhang, Hidenori Wake, Masahiro Nishibori, Tadashi Yamamoto, Shogo Takashiba	4. 巻 11
2. 論文標題 High Mobility Group Box 1 Expression in Oral Inflammation and Regeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 1461
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2020.01461	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Y. ZHANG, H. IDEGUCHI, H. AOYAGI, K. YAMASHIRO, T. YAMAMOTO, M. NISHIBORI, S. TAKASHIBA
2. 発表標題 Delayed Wound Healing after Tooth Extraction under Malnutrition
3. 学会等名 Japanese Association for Dental Research（国際学会）
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	青柳 浩明  (Aoyagi Hiroaki)  (10814501)	岡山大学・歯学部・客員研究員   (15301)	
研究分担者	宝田 剛志  (Tsuyoshi Takarada)  (30377428)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授   (15301)	

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	西堀 正洋  (Nishibori Masahiro)  (50135943)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・特命教授     (15301)	

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