



Title	アロマターゼ阻害薬が歯周組織構成細胞に及ぼす影響
Author(s)	長谷川, 詩織
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61665
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏名 (長谷川詩織)	
論文題名	アロマターゼ阻害薬が歯周組織構成細胞に及ぼす影響
【研究目的】	
<p>我が国は超高齢者化社会を迎える、様々な基礎疾患を抱える患者が増加し、長期にわたる薬剤服用患者数も増加の一途をたどっている。一部の薬剤はその副作用として歯肉増殖を誘発することが知られており、そのような薬剤性歯肉増殖症に罹患すると、増殖した歯肉がブラークコントロールを妨げ、ブラークが蓄積しやすくなることで歯肉増殖の程度がさらに著しくなるという悪循環を繰り返し、歯周組織の健康を大きく損なうものである。現在までに一部のカルシウム拮抗剤や抗てんかん薬、免疫抑制剤の長期服用により歯肉増殖が生じることは多数報告されている。近年では様々な作用機序を有する新薬の誕生に伴い、前述の3種の薬剤以外にも歯肉増殖症と認められる症状を引き起こす薬剤の存在が報告されており、これらの薬剤が新たな歯周病リスク因子として注目されている。</p>	
<p>大阪大学歯学部附属病院口腔治療・歯周科では2013年に閉経後の女性に対する乳がん治療薬であるアロマターゼ阻害薬アナストロゾールを服用した70代の女性患者において、薬剤投与後に著明な浮腫性の歯肉腫脹を認めた一例を経験した。患者は2011年に乳がん切除術を受け、同時にアナストロゾールの服用を開始し、その後1か月以内に歯肉腫脹が出現した。近医にて歯周治療を受けていたものの症状は改善せず、2013年に近医より当院に紹介された。近医初診時(歯肉腫脹出現前)と当院来院時の口腔内写真を比較すると、薬剤服用後では前歯部を中心に全顎的な浮腫性の歯肉増殖が認められ、デンタルX線写真からは全顎的に重度の歯槽骨吸収が認められた。興味深いことに、2016年にアロマターゼ阻害薬の服用患者のポケット深さ、アタッチメントレベル等の歯周状態が健常者と比較して悪化するとの報告がなされ、アロマターゼ阻害薬が歯周病の進行、特に歯槽骨吸収に関与する可能性が示唆されている。しかしながら現在までにアロマターゼ阻害薬を服用することにより浮腫性の歯肉腫脹が発症したとの報告は皆無である。近年乳がん患者数は増加傾向にあり、将来的にアロマターゼ阻害薬を服用する患者数もさらに増加することが予想される。それに伴い、アロマターゼ阻害薬による歯肉腫脹の発症例も増加する可能性が考えられ、アロマターゼ阻害薬による歯肉腫脹の発症メカニズムの詳細な検討は、その予防、治療において意義を持つものと思われる。</p>	
<p>アロマターゼ阻害薬が歯肉腫脹及び骨吸収を誘発するメカニズムとしては以下の可能性が考えられる。まずアロマターゼ阻害薬がアロマターゼの機能、すなわちアンドロゲンからエストロゲンへの変換を阻害することにより生じる性ホルモンバランスの変化が歯周組織に影響を及ぼす可能性、次にアロマターゼ阻害薬が直接的に歯周組織に影響を及ぼす可能性である。本研究では上記の2つの可能性を検討することで、アロマターゼ阻害薬アナストロゾールが歯周組織構成細胞の細胞機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。</p>	
【材料および方法】	
<p>本研究ではアロマターゼ阻害薬として非ステロイド系アロマターゼ阻害薬のアナストロゾールを、歯周組織構成細胞として歯肉線維芽細胞(HGF)及びヒト臍帯静脈血管内皮細胞(HUVEC)を用いて以下の実験を行った。</p>	
<p>アナストロゾールは男性ホルモンであるテストステロンを女性ホルモンであるエストロゲンに変換するアロマターゼの機能を阻害し、生体内での女性ホルモン濃度を低下させ、それに伴い体内の男性ホルモン濃度を増加させることが報告されている。そこで、本薬剤服用により生じると想定されるβ-エストラジオールの濃度低下及びテストステロンの濃度増加がHGF及びHUVECに及ぼす影響について以下の方法にて検討した。はじめにHGF及びHUVECにおけるエストロゲン受容体及びテストステロン受容体の発現をReal-time PCR法にて検討した。β-エストラジオール及びテストステロンの濃度変化がHGFの細胞外基質(ECM)タンパク産生及び分解に及ぼす影響を検討するため、コラーゲンをはじめとするECMタンパクの発現及びそれらの分解に関与するプロテアーゼ及びCathepsin Bの発現をReal-time PCR法にて検討した。次に性ホルモン濃度の変化がHUVECの血管透過性に及ぼす影響をFITC-dextran permeability assayにて検討した。さらに細菌感染時において性ホルモン濃度の変調がHGFに及ぼす影響を検討するため、歯周病原性細菌<i>Porphyromonas gingivalis</i> (P.g.)のLPS及びβ-エストラジオールまたはテストステロン共刺激時におけるHGFの炎症性及び骨吸収に関連するサイトカイン発現をReal-time PCR法及びELISA法にて測定した。</p>	
<p>さらにアナストロゾールが性ホルモンの濃度変化とは非依存的にHGF及びHUVECに直接及ぼす影響については以</p>	

下の方法にて検討した。アナストロゾールがHGFの細胞増殖に及ぼす影響についてはWST-1法にて検討した。次にアナストロゾールがHGFのECMタンパク産生及び分解に及ぼす影響を検討するため、コラーゲンをはじめとするECMタンパクの発現及びそれらの分解に関与するプロテアーゼ及びCathepsin Bの発現を前述した方法と同様の方法で検討した。アナストロゾール存在下でのHUVECの透過性に関しては前述の方法にて検討した。また血管内皮細胞の細胞間接着分子のうち、血管内皮細胞の透過性に大きく関与するVE-cadherinの発現については、Real-time PCR法、免疫蛍光細胞染色及びフローサイトメトリー法にて検討した。さらに細菌感染時にアナストロゾールがHGFに及ぼす影響を検討するため、*P.g* LPS及びアナストロゾール共刺激時におけるHGFの炎症性及び骨吸収に関連するサイトカイン発現をReal-time PCR法及びELISA法にて測定した。

【結果】

HGF、HUVEC両細胞においてエストロゲン受容体及びテストステロン受容体のmRNA発現を確認した。テストステロン濃度の増加によりHGFにおけるI型及びIII型コラーゲンのmRNA発現が上昇した。さらにMMP(Matrix metalloproteinase)-1・3mRNA発現は抑制され、MMPの作用と拮抗するTIMP(Tissue inhibitor of metalloproteinase)-1mRNA発現が増加した。また、 β -エストラジオール濃度低下によりHUVECの血管透過性は亢進した一方、テストステロン濃度上昇に対しては減少する結果が得られた。さらに*P.g* LPS刺激により惹起されるIL-6、IL-8、MCP-1及びIL-17A mRNA発現は β -エストラジオール濃度低下により有意に亢進する結果が得られた。なおこれらのサイトカイン発現に関して、テストステロンは設定した濃度の範囲内では、HGFに対し有意な発現変化を及ぼさなかった。以上の結果よりエストロゲン濃度が低下した歯周組織では、歯周病原性細菌感染時に生じる炎症性及び骨吸収に関連するサイトカインの遺伝子発現が有意に増強され、炎症反応、骨吸収が亢進する可能性が示唆された。

アナストロゾールが性ホルモン濃度変化とは非依存的にHGF及びHUVECに及ぼす影響として、アナストロゾールはHGFの増殖能を亢進し、HGFにおけるI型及びIII型コラーゲン、フィブロネクチン及びデコリン発現を亢進させた。またアナストロゾールはMMP-1・3及びCathepsin B発現を抑制し、TIMP-1・2・3のmRNA発現上昇を認めた。HUVECの血管透過性はアナストロゾール存在下において有意に亢進し、HUVECの細胞間接着分子であるVE-Cadherinの発現が減弱した。*P.g* LPS及びアナストロゾールの共刺激下で、HGFにおいて*P.g* LPS単独刺激群と比較してIL-6、IL-8、TNF- α 、MCP-1、IL-17A mRNA発現が上昇し、IL-6、IL-8に関してはタンパクレベルでも有意な発現上昇を認めた。

【考察および結論】

本研究結果より、アナストロゾール服用によって生体内で生じると想定されるエストロゲン濃度低下及びアンドロゲン濃度増加という性ホルモンバランスの変調は、歯肉線維芽細胞におけるI型及びIII型コラーゲンのmRNA発現を亢進させると同時に、ECM分解に関与するプロテアーゼのmRNA発現を抑制した。また性ホルモンバランスの変調のうち、とりわけエストロゲン濃度の減少は歯肉線維芽細胞の炎症反応及び血管内皮細胞の血管透過性を亢進させた。これらの結果は性ホルモンバランスの変調が歯周組織構成細胞に影響を及ぼし、浮腫性の歯肉増殖の発症に関与している可能性を示唆するものである。

またアナストロゾールが生体内での性ホルモン濃度を変調させ歯周組織構成細胞に与える影響以外に、アナストロゾールは直接歯肉線維芽細胞の増殖能を亢進し、歯肉線維芽細胞のECMタンパク産生を増加させる一方でそのECM分解に関与するプロテアーゼの発現を阻害した。同時にHUVECに対してはVE-Cadherin発現を抑制することで血管透過性を亢進させた。さらに歯肉線維芽細胞において細菌感染刺激により生じる炎症性及び骨吸収に関連するサイトカイン発現はアナストロゾール存在下にて有意に増強した。これらの結果よりアナストロゾールは歯肉線維芽細胞及び血管内皮細胞に作用して浮腫性の歯肉腫脹を引き起こすだけではなく、骨吸収を亢進させ歯周病の病態を悪化させる可能性があることが示唆された。

本研究において、アロマターゼ阻害薬アナストロゾールは、ホルモンバランスを変調させることで歯周組織構成細胞に作用するだけでなく、歯周組織構成細胞に直接作用し、浮腫性歯肉腫脹の病態を引き起こすと同時に骨吸収を亢進させる可能性があることが示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (長谷川 詩織)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主査 教授 村上 伸也 副査 教授 仲野 和彦 副査 准教授 秋山 茂久 副査 講師 高橋 雄介

論文審査の結果の要旨

本研究は、閉経後の女性に対する乳がん治療薬であるアロマターゼ阻害薬アナストロゾールを服用した70代女性において、薬剤服用後に全顎的な浮腫性の歯肉腫脹を発症した一例を受け、アナストロゾールが歯周組織構成細胞である歯肉線維芽細胞及び血管内皮細胞に及ぼす影響を *in vitro* にて解析したものである。

その結果、アナストロゾールは薬剤服用により生じる性ホルモンバランスの変調、すなわちエストロゲン濃度の減少及びアンドロゲン濃度の上昇による影響のみならず、歯周組織構成細胞に対する直接的な作用により、歯肉線維芽細胞におけるコラーゲンをはじめとした細胞外基質の産生を亢進させると同時に、細胞外基質分解に関するプロテアーゼの発現を抑制し、血管内皮細胞の血管透過性を亢進させた。さらに、歯肉線維芽細胞における歯周病原性細菌依存性の炎症反応を亢進させることができた。

これらの研究成果は、アナストロゾールが歯周組織構成細胞に作用し、浮腫性歯肉腫脹の病態を誘発する可能性を初めて明らかにするものである。また、近年増加傾向にある乳がん患者が本薬剤を服用する上で医療関係者や患者に注意喚起を促し、口腔機能や審美性の維持向上に意義をもつものであり、博士（歯学）の学位を授与するに値するものと認める。