ミニレビュー

歯周病の発症と進行への miRNA の役割

小方 頼昌^{*1,2}^{*1} 日本大学松戸歯学部歯周治療学講座^{*2} 口腔科学研究所

キーワード：歯周病，リスク因子，炎症，マイクロ RNA

はじめに

MicroRNA (miRNA) は、長さ 20～25 塩基の 1 本鎖 RNA で、標的遺伝子の発現を抑制するノンコーディング RNA であり、発生、形態形成、細胞増殖、ガン、炎症等の疾患に関与する¹⁻⁶⁾。そこで、歯周炎の発症と進行に関係する miRNA の解析およびそのメカニズムを解明するために、炎症歯肉と健康歯肉での遺伝子発現および miRNA 発現量の違いについて解析を行った。中等度～重度慢性歯周炎患者の歯周外科手術時に、切除除去された上皮と結合組織を含む炎症性歯肉と、インプラント埋入または 2 次手術時に切除除去された炎症の無い歯槽堤歯肉から全 RNA を抽出し、DNA マイクロアレイおよび miRNA マイクロアレイを行った。マイクロアレイで発現の増減が認められた遺伝子および miRNA は、リアルタイム PCR で再解析を行った。炎症歯肉では、炎症性サイトカインである interleukin-1 β (IL-1 β)、IL-1 α 、IL-6、エナメル芽細胞および接合上皮で発現する amelotin および odontogenic amelo-blast-associated protein (ODAM) の遺伝子発現の増加、asporin および aggrecan 遺伝子の発現減少が認められた⁷⁾。さらに、hsa-miR-150、hsa-miR-223、hsa-miR-200b の発現の増加と、hsa-miR-379、hsa-miR-199a-5p、hsa-miR-214 の発現の減少が認められた⁸⁾。我々は、Toll Like Receptor 4 (TLR4) 遺伝子の 3'側非翻訳領域 (3'-UTR) の一塩基多型が、miRNA の結合を介して TLR4 の発現量と歯周炎の発症に関連することを共同研究で以前に報告しており⁹⁾、歯周炎発症と進行に重要な miRNA と関連遺伝子を解析することで、新たな

診断基準となる病因論の解明を目指したいと考える。

歯周炎は歯の支持組織の炎症性疾患であり、特異的細菌やウイルス感染によって、歯根膜の破壊や歯槽骨吸収が生じ、歯周ポケットを形成する^{10, 11)}。歯周炎の発症と進行には、細菌因子に加え宿主因子と環境因子がさらに関与し、細菌とその産生物に対する免疫応答の結果、産生された炎症性サイトカイン等が歯周組織の破壊に関与することが示唆されている^{10, 12)}。

miRNA は、1 本鎖の長さ 20～25 塩基のノンコーディング RNA で、1000 以上の miRNA がヒトゲノムで同定されている¹⁾。miRNA は、複数の mRNA の 3'-UTR に部分相補的に結合し、mRNA の翻訳を抑制することで、様々な遺伝子発現を抑制する^{1, 2)}。また、miRNA は細胞の発生、増殖、分化、ガン、リウマチや炎症などの多くの生命現象の調節に関与することが報告されている³⁻⁶⁾。

歯周病と miRNA の関係については、健康歯肉と歯周炎罹患歯肉中での miRNA の発現を比較検討した我々の報告を含む 4 つの論文が報告されている^{8, 13-15)}。さらに、肥満者の歯周炎歯肉中では、健常者と比べて幾つかの miRNA の発現量が上昇することが報告された^{16, 17)}。また、miR-146 が歯周炎の病態を調節し、歯根膜細胞の分化誘導を示唆する論文が報告されている^{4, 18, 19)}。

本レビューでは、歯周病と miRNA に関する過去の研究と我々の最近の結果とあわせて紹介したい。

1. 健康歯肉と歯周炎罹患歯肉中での miRNA 発現の比較

中国の Shanghai Jiao Tong 大学附属 Ninth People's Hospital のグループは、10 名の歯周炎患者の 5 mm 以上の歯周ポケット部位からフラップ手術時に採取した炎症歯肉と、10 名の健康歯肉組織の 3 mm 未満のポケット部位の歯冠長延長術時に採取した健康歯肉を使用して miRNA マイクロアレイ (miRCURYTM array microarray kit, v.11.0, Exiqon, Denmark) を行った。

連絡先：小方 頼昌

〒271-8587 松戸市栄町西 2-870-1

日本大学松戸歯学部歯周治療学講座

E-mail: ogata.yorimasa@nihon-u.ac.jp

doi: 10.2329/periodo.59.125

91 の miRNA が、健康歯肉に比べて炎症歯肉で発現が増加し、その中の 5 つの miRNA は 5 倍以上発現が増加した。一方、34 の miRNA は 2~5 倍の範囲で発現が減少した。増加した代表的 miRNA は、hsa-miR-126*, hsa-miR-20a, hsa-miR-142-3p, hsa-miR-19a, hsa-let-7f, hsa-miR-203, hsa-miR-17, hsa-miR-223, hsa-miR-146b, hsa-miR-146a であり、減少した代表的 miRNA は、hsa-miR-155, hsa-miR-205 であった。上記 12 の miRNA の増減は、リアルタイム PCR による解析でマイクロアレイの結果が再確認できた。hsa-miR-146a, hsa-miR-146b および hsa-miR-155 は、炎症疾患における Toll-like receptor (TLR) の作用に関係する miRNA であるため、7 名の患者の健康および炎症歯肉からのサンプルを使用してリアルタイム PCR を行い、3 つの miRNA の発現を解析したところ、hsa-miR-146a と hsa-miR-146b の発現は炎症歯肉で有意に増加し、hsa-miR-155 の発現は有意に減少していた¹³⁾。

韓国の Pusan National University のグループは、歯周炎患者の 5 mm 以上の歯周ポケット部位から歯周外科手術時に採取した炎症歯肉と、健康歯周組織の 3 mm 未満のポケット部位の歯冠長延長術時に採取した健康歯肉を使用し（論文中に患者人数の記載なし）、miRNA マイクロアレイ (RT² miRNA PCR array system, SABiosciences, Frederick, MD, USA) を行った。6 つの miRNA (let-7a, let-7c, miR-130a, miR-301a, miR-520d, miR-548a) が炎症歯肉で発現が 8 倍以上増加し、21 の miRNA (let-7b, let-7d, let-7e, let-7f, let-7i, miR-101, miR-106b, miR-125a, miR-125b, miR-130b, miR-181b, miR-19b, miR-211, miR-23a, miR-23b, miR-30a, miR-30d, miR-340, miR-34c, miR-381, miR-548d) が 4 倍以上増加した。以上の中で、炎症関連 miRNA である miR-181b, miR-19b, miR-23a, miR-30a, let-7a, miR-301a, miR-520d-3P, miR-548a-3P の 8 つを選んでリアルタイム PCR で再解析を行った結果、miR-181b, miR-19b, miR-23a, miR-30a, let-7a, miR-301a の発現の増加が認められたことから、上記 6 つの miRNA が炎症と関連する可能性が高いと結論付けた¹⁴⁾。

米国の Columbia University College of Dental Medicine のグループは、86 名の歯周炎患者からの 198 の歯肉サンプル（内訳は、bleeding on probing (BOP) があり、5 mm 以上の歯周ポケット部位からの 158 の炎症歯肉サンプルと、BOP が無く、4 mm 以下のポケット部位からの 40 の健康歯肉サンプル）を使用して、miRNA マイクロアレイ (Agilent Platform with microarrays carrying probes for 1,205 human and 144 human viral miRNAs, Agilent Technologies, CA, USA) を行った。159 の miRNA が健康歯肉に比べて炎症歯肉で発現量が有意に増減し、その中で hsa-miR-451, hsa-miR-223, hsa-miR-486-5p, hsa-miR-3917 の 4

つの miRNA が炎症歯肉で最も発現が増加していた。一方、hsa-miR-1246, hsa-miR-1260, hsa-miR-141, hsa-miR-1260b, hsa-miR-203, hsa-miR-210, hsa-miR-205* の 7 つの miRNA の発現が減少していた¹⁵⁾。

我々は、3 名の慢性歯周炎患者 (6 mm 以上の歯周ポケットと 6 mm 以上のクリニカルアタッチメントレベルを 2 か所以上有する患者) のフラップ手術の際に採取した炎症歯肉と、3 名のインプラント手術時に切除除去した歯槽堤歯肉を使用して、miRNA マイクロアレイ (human miRNA microarray 8×15k kit, Agilent Technologies, CA, USA) を行った。17 の miRNA が炎症歯肉で発現量が増加し、22 の miRNA が炎症歯肉で発現量が減少した (図 1)。その中で、hsa-miR-150, hsa-miR-223, hsa-miR-200b の発現量が最も増加し、hsa-miR-379, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-214 の発現量が最も減少し、上記の miRNA の増減は、リアルタイム PCR による解析で再確認できた (表 1)。Ingenuity Pathway Analysis (IPA) 解析の結果、hsa-miR-150, hsa-miR-223, hsa-miR-200b は、炎症疾患、生物負傷、異常、泌尿器疾患およびガンと関連していると考えられた⁸⁾。

2. 歯周炎と肥満における miRNA 発現の変化

歯周炎歯肉と健康歯肉、さらに肥満の有無により、歯肉中で発現する miRNA の変化を定量 miRNA PCR アレイで 88 の候補 miRNA の中から解析した。肥満者 (平均 BMI 35.3 kg/m² ± 4.5) の健康歯肉では、miR-18a と miR-30e の発現上昇が認められ、肥満でない (平均 BMI 25.1 kg/m² ± 2.5) 患者の歯周炎歯肉では、miR-30e と miR-106b の発現上昇が認められた。肥満者の歯周炎歯肉では、肥満者の健康歯肉および肥満のない歯周炎患者歯肉に比べて miR-15a, miR-22, miR-30d, miR-103, miR-106b, miR-130a, miR-142-3p, miR-185, miR-210 の発現上昇が認められた。以上の結果から、肥満は歯周炎組織での miRNA の発現量を変化させ、歯周炎の病態の変化に関与することを示唆していた¹⁶⁾。

BMI が 20-24.9 kg/m² の正常体重または 30 kg/m² 以上の肥満者の歯周炎患者から歯肉組織を歯周外科手術時に採取し、miRNA アレイ (Affymetrix GeneChip miRNA 3.0 arrays) を行った。肥満者の歯周炎歯肉中では、肥満のない歯周炎歯肉に比べて 13 個の miRNA の発現が増加し、22 個の miRNA の発現が減少した。その中から増加 (miR-323a-3p, miR-200b-5p, miR-188-5p) および減少 (miR-4721, miR-577 および miR-196a) した miRNA を、変化量と P value から 3 つずつ選び、リアルタイム PCR で再解析を行った。miR-200b は、肥満者の歯周炎歯肉中で有意に発現が増加し、miRNA アレイで発現が減少した miR-4721 と miR-577 は、リアルタイム PCR の結果では、有意な発現増加が認めら

Telomerase reverse-transcriptase 遺伝子を導入することで不死化させた歯根膜細胞を 300 μ M または 500 μ M アスコルビン酸, 100 mM β -グリセロリン酸を含有した培地で 10 日間培養すると alkaline phosphatase (ALP), osteopontin (OPN), osteocalcin (OC) および periostin (PON) の mRNA 量の増加が認められ

表 1 炎症歯肉と非炎症歯肉で発現が増加または減少した miRNA のリスト

miRNAs overexpressed in inflamed gingiva	Fold-change	miRNAs underexpressed in inflamed gingiva	Fold-change
hsa-miR-150	3.20	hsa-miR-379	0.36
has-miR-223	2.73	has-miR-199a-5p	0.38
hsa-miR-200b	2.72	hsa-miR-214	0.39
hsa-miR-429	2.68	hsa-miR-30a	0.41
hsa-miR-95	2.48	hsa-miR-886-3p	0.43
hsa-miR-200a	2.36	hsa-miR-125b-2*	0.43
hsa-miR-142-3p	2.33	hsa-miR-222	0.44
hsa-miR-625	2.17	hsa-miR-26a	0.45
hsa-miR-96	2.09	hsa-miR-193a-3p	0.47
hsa-miR-144*	2.08	hsa-miR-127-3p	0.47
hsa-miR-513c	2.04	hsa-miR-381	0.47
hsa-miR-203	2.02	hsa-miR-154	0.48
hsa-miR-671-5p	2.00	hsa-miR-30a*	0.48
hsa-miR-135b	1.90	hsa-miR-181a	0.50
hsa-miR-371-5p	1.76	hsa-miR-34a	0.51
hsa-miR-766	1.70	hsa-miR-376c	0.52
hsa-miR-663	1.63	hsa-miR-376a	0.53
		hsa-miR-125b	0.55
		hsa-miR-100	0.57
		hsa-miR-218	0.57
		hsa-miR-99a	0.60
		hsa-let-7c	0.65

たが、石灰化結節の形成は認められなかった。300 μ M アスコルビン酸存在下で不死化歯根膜細胞を培養すると、ALP タンパク質の発現が増加し、コンフォーカル顕微鏡観察すると、歯根膜細胞表面に ALP タンパク質が認められた。さらに、miR-146a 発現量の増加が認められた。不死化歯根膜細胞で miR-146a を過剰発現させると ALP, OPN, OC および PON の mRNA 量の増加と ALP および OPN タンパク質の発現増加を認め、細胞増殖の遅延と石灰化結節形成が観察された。miR-146a を過剰発現させた不死化歯根膜細胞では、IRAK-1 と TRAF6 のタンパク質発現量の減少が認め

られたことから、miR-146a は NF- κ B シグナルを抑制して、歯根膜細胞の分化を促進していることが示唆された¹⁹⁾。

5. miR-223 の機能と歯周炎との関係

我々は、miR-223 と歯周病の関係に注目し研究を行った。歯肉線維芽細胞を、IL-1 β (1 ng/ml), IL-6 (1 ng/ml) および TNF- α (10 ng/ml) で 24 時間刺激すると、歯肉線維芽細胞での miR-223 発現量の増加が認められた。歯肉線維芽細胞に miR-223 発現プラスミド

図2 A: IL-1β mRNA 発現量に対する miR-223 の影響。歯肉線維芽細胞にコントロールプラスミドまたは miR-223 発現プラスミドを導入し, IL-1β (1 ng/ml) または TNF-α (10 ng/ml) で 24 時間刺激を行った。B: 歯肉線維芽細胞にネガティブインヒビターまたは miR-223 インヒビターを導入し, IL-1β または TNF-α で 24 時間刺激した細胞での IL-1β mRNA 量の変化。

を導入すると, コントロールプラスミドを導入した歯肉線維芽細胞と比べて, IL-1β mRNA 量の増加が認められ, さらに IL-1β または TNF-α で 24 時間刺激すると, 両サイトカイン刺激で増加した IL-1β mRNA 量が miR-223 過剰発現によりさらに増加した(図 2A)。歯肉線維芽細胞にネガティブインヒビターまたは miR-223 インヒビターを導入し, IL-1β または TNF-α で刺激すると, ネガティブインヒビターを導入した細胞で IL-1β mRNA 量の増加が認められ, miR-223 インヒビターを導入すると, IL-1β または TNF-α 刺激で増加した IL-1β mRNA 量は有意に部分抑制された(図 2B)。歯肉線維芽細胞にコントロールまたは miR-223 発現プラスミドを導入し, IL-1β または TNF-α で 24 時間刺激すると, IL-1β 刺激で増加した IL-1β タンパク質発現量は miR-223 過剰発現でさらに増加した。一方, TNF-α 刺激で増加した IL-1β タンパク質発現量は miR-223 過剰発現では変化しなかった(図 3A)。Inhibitor of kappa-B kinase α (IKKα, 別名 conserved helix-loop-helix ubiquitous kinase (CHUK)) および MAPK phosphatase-5 (MKP-5, 別名 dual specificity phosphatase 10 (DUSP10)) は, miR-223 の標的遺伝子であり, 両遺伝子とも 3'-UTR 配列中に miR-223 結合配列を有する。歯肉線維芽細胞を IL-1β で刺激しても IKKα mRNA 量は変化しなかったが, TNF-α で 24 時間刺激すると, IKKα mRNA 量は有意に減少した。しかし miR-223 を過剰発現しても IKKα mRNA 量は変化しなかった(図 3B)。歯肉線維芽細胞を IL-1β または TNF-α で 24 時間刺激すると, MKP-5 mRNA 量は増加し, miR-223 の過剰発現により MKP-5 mRNA 量は有意に減少した(図 3C)。ウェスタンブロットの結果,

歯肉線維芽細胞での IKKα タンパク質発現量は, IL-1β および TNF-α 刺激で減少し, miR-223 の過剰発現によりさらに減少した。p38 MAPK リン酸化は IL-1β および TNF-α 刺激で増加するが, miR-223 の過剰発現でさらに増加した²⁰⁾。以上の結果から, miR-223 は, 歯周組織において炎症性サイトカインの発現を IKKα および MKP-5 を介して調節していると考えられた。

おわりに

miRNA マイクロアレイ解析の結果⁸⁾, 炎症歯肉で発現が増加した 3 種類の miRNA (miR-223, miR-150 および miR-200b) に焦点を絞り, 炎症組織での役割を解明したいと考える。miR-223 は, 血小板から分泌され, 終末糖化産物により誘導される血管内皮細胞のアポトーシスを引き起こし, ガン, 炎症, 2 型糖尿病, リウマチ, 自己免疫性疾患等に関与することから²¹⁻²⁶⁾, 歯周病への関与が示唆される。miR-150 の過剰発現は, インバリアント NKT (iNKT) 細胞の減少を引き起こす。リウマチ, シューグレン症候群, 全身性エリテマトーデス, 全身性強皮症等の自己免疫性疾患では, iNKT 細胞の減少が認められることから, miR-150 の自己免疫性疾患への関与が示唆される²⁷⁻³⁰⁾。miR-200b は, 肥満者の歯周炎歯肉中で有意に発現が増加していた¹⁷⁾。2 型糖尿病マウスの血管平滑筋細胞 (VSMC) では, 炎症性サイトカインと miR-200 の発現が増加しており, miR-200b は E-box 結合転写抑制転写因子である Zeb1 を抑制し, 炎症の進行に関与すると考えられる^{31, 32)}。以上の研究成果を基に, miRNA マイクロアレイと同じ全 RNA を使用した DNA マイクロアレイの

図3 A: IL-1βタンパク質発現量に対するmiR-223の影響。歯肉線維芽細胞にコントロールプラスミドまたはmiR-223発現プラスミドを導入し、IL-1β (1 ng/ml) またはTNF-α (10 ng/ml) で24時間刺激を行い、ELISAにて培地中のIL-1βタンパク質量を定量した結果。B: IKKα mRNA発現量に対するmiR-223の影響。歯肉線維芽細胞にコントロールプラスミドまたはmiR-223発現プラスミドを導入し、IL-1β (1 ng/ml) またはTNF-α (10 ng/ml) で24時間刺激を行った。C: MKP-5 mRNA発現量に対するmiR-223の影響。歯肉線維芽細胞にコントロールプラスミドまたはmiR-223発現プラスミドを導入し、IL-1β (1 ng/ml) またはTNF-α (10 ng/ml) で24時間刺激を行った。

結果を総合し、炎症歯肉組織におけるmiRNAとmiRNAに関連した遺伝子を同時に解析し、歯周外科手術時に切除除去した炎症性歯肉中のmiRNAの発現を*in situ* ハイブリダイゼーションで、miRNAの作用で発現が変化する関連タンパク質発現を免疫組織化学で検索することで、miRNAおよびmiRNAの作用で発現が変化する遺伝子またはタンパク質の歯肉組織中での局在および発現する細胞等を明らかにしたいと考える。新たな視点に立った歯周病の病態の理解が、新しい治療および予防法の開発に繋がることが期待される。

今回の論文に関連して、開示すべき利益相反状態はありません。

文 献

- 1) Maqbool R, Hussain MU: MicroRNAs and human diseases: diagnostic and therapeutic potential. *Cell Tissue Res*, 358: 1-15, 2014.
- 2) Kozomara A, Griffiths-Jones S: miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res*, 39: D152-157, 2011.
- 3) Nakasa T, Miyaki S, Okubo A, Hashimoto M, Nishida K, Ochi M, Asahara H: Expression of microRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue. *Arthritis Rheum*, 58: 1284-1292, 2008.
- 4) Nahid MA, Rivera M, Lucas A, Chan EKL, Kesavalu L: Polymicrobial infection with periodontal pathogens

- specifically enhances microRNA miR-146a in ApoE^{-/-} mice during experimental periodontal disease. *Infect Immun*, 79: 1597-1605, 2011.
- 5) Hung PS, Chen FC, Kuang SH, Kao SY, SLin SC, Chang KW: miR-146a induces differentiation of periodontal ligament cells. *J Dent Res*, 89: 252-257, 2010.
- 6) Park MG, Kim JS, Park SY, Lee SA, Kim HJ, Kim CS, JKim JS, Chun HS, Park JC, Kim DK: MicroRNA-27 promotes the differentiation of odontoblastic cell by targeting APC and activating Wnt/ β -catenin signaling. *Gene*, 538: 266-272, 2014.
- 7) Nakayama Y, Takai H, Matsui S, Matsumura H, Zhou L, Kato A, Ganss Bernhard, Ogata Y: Proinflammatory cytokines induce amelotin transcription in human gingival fibroblasts. *J Oral Sci*, 56: 262-268, 2014.
- 8) Ogata Y, Matsui S, Kato A, Zhou L, Nakayama Y, Takai H: MicroRNA expression in inflamed and noninflamed gingival tissues from Japanese patients. *J Oral Sci*, 56: 253-260, 2014.
- 9) Sato K, Yoshimura A, Kaneko T, Ukai T, Ozaki Y, Nakamura H, Li X, Matsumura H, Hara Y, Ogata Y: A single nucleotide polymorphism in 3'-untranslated region contribute to the regulation of Toll-like receptor 4 translation. *J Biol Chem*, 287: 25163-25172, 2012.
- 10) Kato A, Imai K, Ochiai K, Ogata Y: Higher prevalence of Epstein-Barr virus DNA in deeper periodontal pockets of chronic periodontitis in Japanese patients. *PLoS One*, 8: e71990, doi: 10.1371/journal.pone.0071990, 2013.
- 11) Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW: Periodontal diseases. *Lancet*, 366: 1809-1820, 2005.
- 12) Seymour GJ, Powell RN, Cole KL, Aitken JF, Brooks D, Beckman I, Zola H, Bradley J, Burns GF: Experimental gingivitis in humans. A histochemical and immunological characterization of the lymphoid cell subpopulations. *J Periodontal Res*, 8: 375-385, 1983.
- 13) Xie Y, Shu R, Jiang S, Liu D, Zhang X: Comparison of microRNA profiles of human periodontal diseased and healthy gingival tissues. *Int J Oral Sci*, 3: 125-134, 2011.
- 14) Lee YH, Hee SN, Jeong SY, Jeong SH, Park, HR, Chung J: Comparison of inflammatory microRNA expression in healthy and periodontitis tissues. *Biocell*, 35: 42-49, 2011.
- 15) Stoecklin-Wasmer C, Guarnieri P, Celenti R, Demmer RT, Kebschull M, Papapanou PN: MicroRNAs and their target genes in gingival tissues. *J Dent Res*, 91: 934-940, 2012.
- 16) Perri R, Nares S, Zhang S, Barros SP, Offenbacher A: MicroRNA modulation in obesity and periodontitis. *J Dent Res*, 91: 33-38, 2012.
- 17) Kalea AZ, Hoteit R, Suvan J, Lovering RC, Palmen J, Cooper JA, Khodiyar VK, Harrington Z, Humphries SE, D'Aiuto F: Upregulation of gingival tissue miR-200b in obese periodontitis subjects. *J Dent Res*, 94(3 Suppl): 59S-69S, 2015.
- 18) Xie Y, Shu R, Jiang S, Liu D, Zhang X: MicroRNA-146 inhibits pro-inflammatory cytokine secretion through IL-1 receptor-associated kinase 1 in human gingival fibroblasts. *J Inflammation*, 10: 20, 2013.
- 19) Hung PS, Chen FC, Kuang SH, Kao SY, Lin SC, Chang KW: miR-146a induces differentiation of periodontal ligament cells. *J Dent Res*, 89: 252-257, 2010.
- 20) Matsui S, Ogata Y: Effects of miR-223 on expression of IL-1 β and IL-6 in human gingival fibroblasts. *J Oral Sci*, 58: 101-108, 2016.
- 21) Eyholzer M, Schmid S, Schardt JA, Haefliger S, Mueller BU, Pabst T: Complexity of miR-223 regulation by CEBPA in human AML. *Leuk Res*, 34: 672-676, 2010.
- 22) Fulci V, Scappucci G, Sebastiani GD, Giannitti C, Franceschini D, Meloni F, Colombo T, Citarella F, Barnaba V, Minisola G, Galeazzi M, Macino G: miR-223 is overexpressed in T-lymphocytes of patients affected by rheumatoid arthritis. *Hum Immunol*, 71: 206-211, 2010.
- 23) Zhuang G, Meng C, Guo X, Cheruku PS, Shi L, Xu H, Li H, Wang G, Evans AR, Safe S, Wu C, Zhou B: A novel regulator of macrophage activation: miR-223 in obesity-associated adipose tissue inflammation. *Circulation*, 125: 2892-2903, 2012.
- 24) Sugatani T, Hruska KA: MicroRNA-223 is a key factor in osteoclast differentiation. *J Cell Biochem*, 101: 996-999, 2007.
- 25) Rangrez AY, M'Baya-Moutoula E, Metzinger-Le Meuth V, Henaut L, Djelouat MS, Benchitrit J, Massy ZA, Metzinger L: Inorganic phosphate accelerates the migration of vascular smooth muscle cells: evidence for the involvement of miR-223. *PLoS One*, 7: e47807, doi: 10.1371/journal.pone.0047807, 2012.
- 26) Pan Y, Liang H, Liu H, Li D, Chen X, Li L, Zhang C, Zen K: Platelet-Secreted microRNA-223 promotes endothelial cell apoptosis induced by advanced glycation end products via targeting the insulin-like growth factor 1 receptor. *J Immunol*, 192: 437-446, 2014.
- 27) Zhou B, Wang S, Mayr C, Bartel DP, Lodish HF: miR-150, a microRNA expressed in mature B and T cells, blocks early B cell development when expressed prematurely. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 7080-7085, 2007.
- 28) Roderburg C, Luedde M, Vargas Cardenas D, Vucur M, Scholten D, Frey N, Koch A, Trautwein C, Tacke F, Luedde T: Circulating microRNA-150 serum levels

- predict survival in patients with critical illness and sepsis. PLoS One, 8: e54612, doi: 10.1371/journal.pone.0054612, 2013.
- 29) Bezman NA, Chakraborty T, Bender T, Lanier LL: miR-150 regulates the development of NK and iNKT cells. J Exp Med, 208: 2717-2731, 2011.
- 30) Kojo S, Adachi Y, Keino H, Taniguchi M, Sumida T: Dysfunction of T cell receptor AV24AJ18 + , BV11 + double-negative regulatory natural killer T cells in autoimmune diseases. Arthritis Rheum, 44: 1127-1138, 2001.
- 31) Jiang Q, Zhao F, Liu X, Li R, Liu J: Effect of miR-200b on retinal endothelial cell function under high glucose environment. Int J Clin Exp Pathol, 28: 10482-10487, 2015.
- 32) Baud J, Varon C, Chabas S, Chambonnier L, Darfeuille F, Staedel C: Helicobacter pylori initiates a mesenchymal transition through ZEB1 in gastric epithelial cells. PLoS One, 8: e60315, doi: 10.1371/journal.pone.0060315, 2013.
-

Elucidation of miRNA function on onset and progression of periodontal disease

Yorimasa Ogata^{*1,2}

^{*1}Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

^{*2}Research Institute of Oral Science, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

Key words: periodontal disease, risk factors, inflammation, microRNA

Corresponding author: Yorimasa Ogata

Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

2-870-1 Sakaecho-nishi, Matsudo, Chiba 271-8587, Japan

E-mail: ogata.yorimasa@nihon-u.ac.jp