

**【目的】** 近年、本邦では、加熱式たばこが製造・販売されている。燃焼タバコは、心臓血管疾患、呼吸器疾患、口腔がん、歯周炎の発症に関係している。加熱式たばこは、燃焼式たばこと同様にエアロゾルが発生するため、加熱式たばこによる種々の疾病の発症リスクは、可燃性の紙巻きタバコと同じかそれ以上になる可能性も考えられる。最近になって加熱式たばこの使用が気道上皮細胞と血管内皮細胞に損傷を与えることが報告された。加熱式たばこを使用すると、エイジングのリスクも高まる可能性がある。本研究では、加熱式たばこ抽出物 (HTP) が、歯肉上皮細胞のエイジングのメカニズムを解明するために、RNA-seq にて遺伝子発現およびRRBS にて DNA メチル化を網羅的に解析した。

**【方法】** Ploom TECH<sup>+</sup> たばこカプセルを分解し、たばこカプセル内のたばこ葉を 1.5 ml チューブに回収した。タバコ葉 1 g あたり 3 ml の水を添加混合後、60°C で 120 分間加熱した。加熱後、15,000 rpm で 15 分間の遠心分離によりタバコの葉と上澄みを分離し、上澄みを回収して抽出物 (HTP) とした。正常歯肉上皮細胞 (HGEP) は Epithelial Culture Medium に HTP を添加したものと非添加したものを 3 日間ずつ交互に交換し、1 ヶ月間培養を行った。コントロールには超純水を添加したものをを用いた。それぞれ RNA および DNA を抽出した後、次世代シーケンサーを用いて網羅的にゲノム解析を行った。RNA-seq のデータは、Trimmomatic、HISAT2、featureCounts で処理した。さらに、iDEP を用い生物学的解釈について検討した。RRBS のデータは、Trim galore、Bismark、methylKit で処理し、CpG-island のメチル化レベルを解析した。

**【結果】** 全遺伝子中、2 倍以上の遺伝子発現増加が認められたのは 284 遺伝子、1/2 以下の遺伝子発現低下が認められたのは 145 遺伝子であった。GO 解析では、HTP の長期刺激により Cornification、Keratinization、Epidermis development、Epidermal cell differentiation、Skin development、Keratinocyte differentiation、Epithelial cell differentiation のパスウェーが上昇した。HTP の長期刺激により歯肉上皮細胞の上皮の角化に影響する可能性が示唆された。RRBS から CpG-island のメチル化が 2 倍以上に上昇したものは 158 遺伝子、1/2 以下に低下したものは 171 遺伝子認められた。これらの CpG-island のメチル化と遺伝子発現レベルの変化に相関性は認められなかった。一方、老化に関連する遺伝子に関して RNA-seq および RRBS からは認められなかった。

遺伝子発現プロファイリング

