

平成 30 年 9 月 3 日現在

機関番号：34408

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11438

研究課題名(和文)胎盤製剤(プラセンタ)による歯周組織再生治療薬への展開研究

研究課題名(英文)The study of the periodontal tissue regeneration medicine by the plasenta

研究代表者

王 宝禮(OH, Hourei)

大阪歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：20213613

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：過去に本邦ではプラセンタは慢性歯周病治療に適応症があり、その臨床研究での有効性の報告は多数あるが、プラセンタの基礎医学的解明の報告はない。本研究ではプラセンタによる歯周病治療薬の可能性を探求することが目的である。第1の実験系ではヒト歯肉線維芽細胞を用いた歯周病培養モデルにおいてプラセンタが細胞増殖能、コラーゲン産生能、炎症性サイトカイン抑制能を確認できた。第2の実験系ではプラセンタの骨再生能の可能性を探求するために、骨芽細胞への影響を検討し、細胞増殖能、コラーゲン産生能、ALP分泌能を確認できた。以上の結果はプラセンタが歯周病に対する抗炎症作用と歯周組織再生能の可能性がある事を示唆した。

研究成果の概要(英文)：Placental extract, which contains various bioactive agents, is thought to be a prospective medicine for systematic and oral diseases. However, in-depth information regarding its mechanisms with respect to treating periodontal diseases is not available, thereby hindering its reliable application in dentistry. Firstly, this study demonstrated that P-placental extraction, isolated from porcine tissue, increased collagen type-1 production and hindered pro-inflammatory cytokine secretion from human gingival fibroblasts in vitro. Next, the study examined the effect of the extract on cellular metabolism of osteoblastic cell line Saos-2 cells. Here we demonstrated that the placenta at the optimal dosage enhanced the proliferation, collagen type 1 production, and alkaline phosphatase secretion of Saos-2 in vitro. From these results, it is suggest that the placenta have anti-inflammatory and periodontal tissue regeneration on periodontal disease.

研究分野：臨床薬理学

キーワード：胎盤製剤 プラセンタ 歯周疾患 抗炎症作用 細胞増殖能 コラーゲン産生能 ALP 歯周組織再生能

## 1. 研究開始当初の背景

歯周病は世界的にも罹患率の多い疾患であり、歯周組織再生療法は極めて注目されている。本研究は、プラセンタによる歯周組織再生療法開発への基礎医学的研究である。

1980年代以降、GTR法やエナメルマトリクスタンパク等を用いた歯周組織再生療法が次々と紹介され、臨床の現場で一定の成果を挙げてきている。近年これらの治療法に加えて、サイトカインとよばれるタンパクを歯周外科時に歯周組織欠損部へ投与することで同部の歯周組織再生を図る試みが注目を集めている。

現在、米国で販売が開始された GEM-21S は、血小板由来増殖因子 (PDGF-BB) とよばれるサイトカインと -TCP (骨補填材) を組み合わせた歯周組織再生誘導用 device であり、サイトカインを歯周組織再生誘導に応用した一例といえる。また、BMP-2 とよばれるサイトカインとコラーゲンスポンジを組み合わせたものが、骨再生誘導用 device として米国にて発売されている塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) とよばれるサイトカインを歯周外科時に歯槽骨欠損部に局所投与する方法の臨床研究が報告され、近年本邦で医薬品として認可された。

一方、1950年代旧ソ連邦の医学者フィラートフは、「生体組織(細胞)は、その生活をおびやかすような外的因子に作用するとき、組織の中には、生物学的過程を刺激する物質-生物原刺激素-が産生される」という仮説をたて、これを「組織療法」として応用し、胎盤を用いた。この埋没組織療法が日本に伝わり、活発に行われるようになった。しかし、組織を直接埋め込むという煩雑さと安全性の問題から、現在では安全で簡単に投与できる胎盤製剤注射薬(メルスモン、ラエンネック)が製造され、医科では保険適用されている。中国では胎盤製剤は中医薬として存在する。また、興味深いことに1960年代にはインタセリンという胎盤製剤(プラセンタ)が発売され、歯周病治療に用いられ、有効性があるという数多くの臨床研究論文が報告されている。このような背景から、プラセンタが次世代の歯周組織再生療法の候補の薬剤になると考える。

## 2. 研究の目的

現在、わが国の歯科医療の現場では、歯周組織再生療法が「骨移植」「GTR法」「エムドゲイン」「GEM-21S」「b-FGF」などを用いた様々な薬剤や手術法が普及している。本研究では胎盤製剤(プラセンタ)に注目した。その背景には、1960年代インタセリン(プラセンタ)という薬剤が日本薬局方において「歯槽膿漏の適応」を持ち、臨床研究で歯周病に対して有効性が数多く原著論文で報告されていたからである。それゆえ、医科ではプラセンタ療法の専門医が歯周病にも有効であると説明している。しかし、歯周病への

薬理作用は基礎医学的には全く解明されていない。本研究では、プラセンタに歯周組織再生能力があることを作業仮説にし、基礎医学的な研究を通じてEBMの確立と、本研究がプラセンタによる新しい歯周予防治療薬や再生療法薬に発展することである。

## 3. 研究の方法

本研究では作業仮説をもとにプラセンタによる細胞増殖能、コラーゲン産生能、抗炎症作用、骨再生能を検討するものである。

胎盤製剤はヒト由来プラセンタ(プラセンタ)を用いた。細胞はヒト歯肉線維芽細胞(HGFs)を用いた。HGFsにプラセンタ添加により細胞増殖能はMTT assayとBrdU Cell Proliferation Assay Kit、コラーゲン産生能はELISA法で解析した。HGFsに歯周病原菌 *Porphyromonas gingivalis* LPS 刺激により炎症性サイトカイン産生(IL-6、IL-8)状況を解析した。次に、ヒト骨芽細胞様骨肉腫細胞株(Saos-2)にプラセンタ添加により細胞増殖能はMTT assayとBrdU Cell Proliferation Assay Kit、コラーゲン産生能はELISA法で解析した。ALP分泌量とALP活性率産生能はLabAssay ALP kitを用いた。

## 4. 研究成果

HGFsに対してプラセンタは細胞増殖能を確認できた(図1)。HGFsに対してプラセンタはコラーゲン能を確認できた(図2)。HGFsに歯周病原菌 *Porphyromonas gingivalis* LPS 刺激により炎症性サイトカイン産生(IL-6、IL-8)を抑制した(図3)。

Saos-2に対してプラセンタは細胞増殖能を確認できた(図4)。Saos-2に対してプラセンタはコラーゲン能(図5)とALP分泌量とALP活性率(図6)を確認できた。

以上の結果からプラセンタによるHGFsとSaos-2への培養実験から、細胞増殖能、コラーゲン産生能、抗炎症作用、骨再生能を確認できた。この結果はブタ由来プラセンタと同傾向であった。

現在、医科では胎盤製剤として、皮下注射で更年期障害改善と乳汁分泌不全解消、慢性肝疾患における肝機能改善に対して保険適用で用いられている。さらに既にヒトの胎盤エキスは注射薬、ブタの胎盤エキスは漢方薬や健康食品、化粧品に利用され安全性は高い事が認知されている。プラセンタは、基礎代謝向上、細胞活性化、疲労回復、自律神経調節、免疫強化、活性酸素除去、創傷回復促進、抗炎症作用などにおける種々の生理活性物質を含有している。またプラセンタには、タンパク質・脂質・糖質の三大栄養素や少なくとも100種類を超える酵素が含まれていることも確認されている。また、増殖因子が含有されている報告もある。本実験結果から、細胞増殖能はプラセンタに含まれる増殖因子様物質の関与を推測するが、プラセン

タの有効成分を単一または数種の物質に特定することはできない。現在、薬理作用のメカニズムは解明中であるが、各増殖因子の受容体が HGFs や Saos-2 に存在すると考える。その受容体を介して細胞内の情報伝達を通じて、炎症性サイトカインの抑制、コラーゲン産生能向上、ALP 活性能向上に繋がったと考えることができる。本研究からプラセンタによる細胞増殖能、コラーゲン産生能、抗炎症作用、骨再生能を明らかにしたことから、歯周病の再生療法の併用療法として有効であると考えられる。今後、歯周病モデル動物実験を用いる歯周病治療薬の創薬の候補となる。

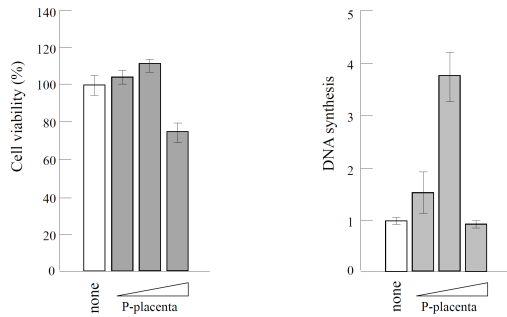


図1 プラセンタによるヒト歯肉線維芽細胞への細胞増殖能

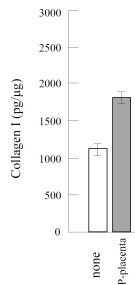


図2 プラセンタによるヒト歯肉線維芽細胞へのコラーゲン産生能

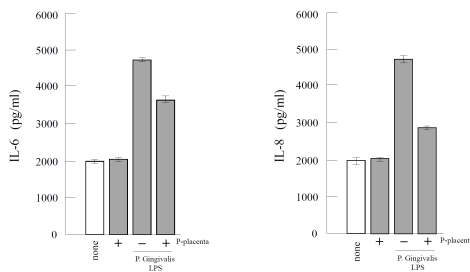


図3 プラセンタによるヒト歯肉線維芽細胞への抗炎症作用

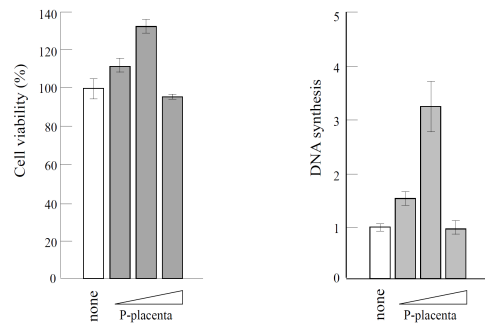


図4 プラセンタによるヒト骨芽細胞への細胞増殖能

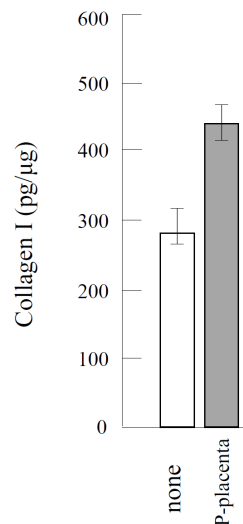


図5 プラセンタによるヒト骨芽細胞へのコラーゲン産生能

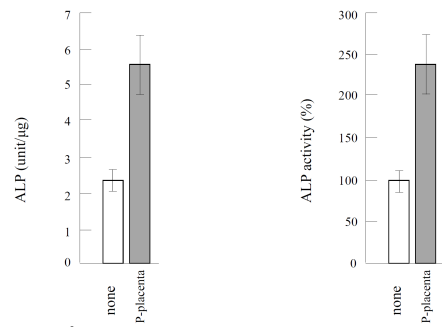


図6 プラセンタによるヒト骨芽細胞へのALP分泌量と活性率

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計5件)

1. Imamura Y, Honda Y, Masuno K, H Nakamura, Wang PL. Effects of placental extract on cell proliferation, type 1 collagen production, and alp secretion in human

**osteosarcoma cell line Saos-2. Journal of Hard Tissue Biology, 2017; 26(2):157-160.**  
(査読有)

2. 王 宝禮. プラセンタによる歯周組織再生への解明. オラルプラセンタ医学研究会報誌, 2017; 1:1-4. (査読無)

3. 王 宝禮. プラセンタサプリメントとプラセンタ注射に薬物差はあるのか? オラルプラセンタ医学研究会報誌, 2016; 1:1-4. (査読無)

4. **Akagi H, Imamura Y, Makita Y, H Nakamura, Hasegawa N, Fujiwara S, Wang PL . Evaluation of collagen type-1 production and anti-inflammatory activities of human placental extracts in human gingival fibroblasts. Journal of Hard Tissue Biology, 2016; 25:277-281.**  
(査読有)

5. 本田義知, 今村泰弘, 福井達也, 益野一哉, 王 宝禮. プラセンタ(胎盤製剤)によるヒト歯肉線維芽細胞の型コラーゲンと炎症性サイトカイン産生に及ぼす影響. 歯科薬物療法, 2015; 34:94-99.(査読有)

[学会発表](計5件)

1. 福井達也, 益野一哉, 赤木 誉, 王 宝禮. 胎盤性剤(プラセンタ)の骨芽培養細胞に対する骨再生能の基礎医学的解明 2017年度第47回公益社団法人日本口腔インプラント学会総会・学術大会 2017.9.23 仙台国際センター (宮城県・仙台市)

2. 益野一哉, 福井達也, 赤木 誉, 王 宝禮. プラセンタによるインプラント治療への基礎医学的研究 2016年度第46回公益社団法人日本口腔インプラント学会総会・学術大会 名古屋国際会議場 2016.9.18 (愛知県・名古屋市)

3. 益野一哉, 福井達也, 赤木 誉, 王 宝禮. 胎盤製剤(プラセンタ)の骨芽細胞の歯周炎に対する薬理作用の解明 第35回公益社団法人日本口腔インプラント学会近畿・北陸支部総会学術大会 2015.12.13 (石川県・金沢市)

4. 益野一哉, 今村泰弘, 本田義知, 王 宝禮. プラセンタ(胎盤製剤)によるヒト歯肉線維芽細胞の型コラーゲンと炎症性サイトカイン産生に及ぼす基礎医学的研究 第57回歯科基礎医学会学術大会・総会 2015.9.12 (新潟県・新潟市)

5. 本田義知, 今村泰弘, 益野一哉, 王 宝禮. ヒト歯肉線維芽細胞を利用した歯周病に対するプラセンタの薬理効果の解明 第24回硬組織再生生物学会学術大会 2015.8.21

(大阪府・大阪市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

王 宝禮 (OH, Hourei)  
大阪歯科大学・歯学部・教授  
研究者番号: 20213613

(2) 研究分担者

益野一哉 (MASUNO, Kazuya)  
大阪歯科大学・歯学部・准教授  
研究者番号: 40288775