

平成 22 年 5 月 17 日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2008 ～ 2009  
 課題番号：20791622  
 研究課題名（和文）唾液の活性酸素消去能と歯周疾患の関連性の解明および新規歯周疾患評価指標の構築  
 研究課題名（英文）Elucidation of relationship of periodontitis and antioxidant property with saliva, and construction of a novel evaluation of periodontal disease index.  
 研究代表者  
 吉野 文彦（YOSHINO FUMIHIKO）  
 神奈川歯科大学・生体管理医学講座薬理学分野・講師  
 研究者番号：20308307

研究成果の概要（和文）：歯周病原菌の感染により、唾液の活性酸素（ $O_2^{\cdot-}$ ）に対する消去能の亢進が認められた。これは、口腔環境の恒常性を維持するため誘導される現象である可能性が示唆された。さらに、 $O_2^{\cdot-}$ に対する消去能測定は今後客観的な歯周疾患診断や予後判定に対する新規指標として確立が可能であることが考えられた。

研究成果の概要（英文）：The periodontal pathogenic bacteria infection was found to increase in reactive oxygen species ( $O_2^{\cdot-}$ ) scavenging ability of saliva. This phenomenon has been suggested that induced to maintain homeostasis of the oral environment. In addition,  $O_2^{\cdot-}$  scavenging for the measurement was considered that it is possible to establish a novel prognostic indicator and an objective diagnosis of periodontal disease in the near future.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：薬理学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：活性酸素、唾液、歯周疾患、抗酸化、電子スピン共鳴

## 1. 研究開始当初の背景

現在、唾液を用いた歯周疾患に関する研究は行われているが、これは唾液中に放出された酸化ストレスにより生じた歯周組織のDNA損傷物を測定するものである。しかしこの方法では、歯周疾患の罹患程度の推定を行うことが可能であっても、歯周疾患に罹患する予知性、あるいは歯周疾患

予防を行うことはできない。したがって採取に無侵襲な唾液を用い、歯周疾患評価を目的とした数値化可能な指標の構築・治療への応用が急務であると考え、このような背景から標記課題を着想するに至った。

## 2. 研究の目的

歯周疾患の罹患状態・進行程度を

把握し、ROS の消去能と歯周疾患との相関について関連性を精査し、その確立を研究目的とする。さらに、加齢変化にともなう唾液量変化を測定し、その唾液のもつ抗酸化能と加齢との相関関係についても明らかにし研究期間内の標記課題達成と、新しい知見の開拓を目指す。

### 3. 研究の方法

(1) 電子スピン共鳴法を用いて唾液の抗酸化能を測定する。

(2) 抗酸化能と歯周疾患 index との相関性の解析を行う。

(3) 歯周病原菌感染ラットを作成し、歯周疾患罹患状態に対しての唾液の抗酸化能をモニタリングする。また、歯周疾患罹患の確認および解析(骨吸収評価)は、マウス顎骨を通常に従って軟組織を除去し、歯槽骨吸収レベルの測定により行う。

(4) ボランティアに対して2ヶ月間の酸化食品の摂取を行い、その後の唾液抗酸化能と歯周疾患の相関性を検討する。

### 4. 研究成果

(1) 唾液の抗酸化能の解析

① スーパーオキシドアニオンラジカル ( $O_2^{\cdot-}$ ) に対する消去能の解析： $O_2^{\cdot-}$ は二酸化チタン光触媒反応に過酸化水素を添加することにより産生させ、さらに  $O_2^{\cdot-}$ の捕捉剤として 5-(2, 2-dimethyl-1, 3-propoxy cyclophosphoryl)-5-methyl-1-pyrroline N-oxide (CYPMPPO) を用い、発生系に唾液を添加することにより  $O_2^{\cdot-}$ に対する抗酸化能を解析した。その結果、被験唾液全てにおいて 27.3~85.1%の  $O_2^{\cdot-}$ 消去能が確認された。

② ヒドロキシルラジカル ( $OH^{\cdot}$ ) に対する消去能の解析： $OH^{\cdot}$ は二酸化チタン光触媒反応に過酸化水素を添加することにより産生させ、さらに  $OH^{\cdot}$ の捕捉剤として CYPMPPO を用い、発生系に唾液を添加することにより  $OH^{\cdot}$ に対する抗酸化能を解析した。その結果、被験唾液全てにおいて 9.4~94.5 %の  $OH^{\cdot}$ 消去能が確認された。

(2) 唾液抗酸化能と歯周疾患評価関連指標の関連性の解析

① 年齢との相関性： $O_2^{\cdot-}$ 、 $OH^{\cdot}$ 消去能は年齢の増加とともに上昇傾向が観察

された。

② Community Periodontal Index (CPI) との相関性： $O_2^{\cdot-}$ 、 $OH^{\cdot}$ ともに認められなかった。

③ Probing Depth： $O_2^{\cdot-}$ 、 $OH^{\cdot}$ 消去能は Probing Depthの増加とともに上昇傾向が観察された。

(3) 歯周病原菌感染による唾液抗酸化能の変化

Wistar ラットに対し *Porphyromonas Gingivalis* (PG) を感染させ、その後 Isoproterenol + Pirocarpine により唾液腺を刺激し、分泌した唾液を採取後、電子スピン共鳴法により唾液抗酸化を測定した結果、PG 感染群において PG 非感染群と比較し有意に  $O_2^{\cdot-}$  に対する消去能が亢進した ( $p < 0.05$ )。また、 $HO^{\cdot}$  に対する消去能に変化は認められなかった。

(4) 抗酸化剤を用いた唾液 ROS 消去能の向上と新規指標の構築

ボランティアに対し FPP を 60 日間投与した結果、 $O_2^{\cdot-}$  に対する消去能は有意に低下したが  $HO^{\cdot}$  に対しては有意に増加した。また、FPP 摂取により pocket depth のわずかな減少、および刺激時唾液量(ガムテスト)の増加が認められた。

以上より、唾液の  $O_2^{\cdot-}$  に対する消去能の亢進は PG 感染により炎症が惹起された結果、 $O_2^{\cdot-}$  を消去することで口腔環境の恒常性を維持するため誘導される現象である可能性が示唆された。そして抗酸化剤投与により  $O_2^{\cdot-}$  に対する消去能の低下を認めたが、恒常的に生体内で細菌などによる炎症性刺激が生じた場合、抗酸化剤は唾液抗酸化能や唾液分泌量に変化を生じさせ、その結果歯周疾患改善や進行抑制が可能であることを推察させた。加えて、 $O_2^{\cdot-}$  に対する消去能測定は今後客観的な歯周疾患診断や予後判定に対する新規指標として確立可能であることが考えられた。

### 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1件)

1. 吉野文彦、小林 杏、前畑洋次郎、万 建栄、本多和紀、鈴木博昌、李 昌一、電子スピン共鳴法 (ESR) を用いた魚肉ペプチド (FPP) の抗酸化能評価—第3報—、AOB 研究会プロシーディング、査読無、2009、6-8

[学会発表] (計2件)

1. 吉野文彦、歯科衛生士のためのアンチエイジング講座、よこすかデンタルフェア '09 2009.10.4 横須賀口腔衛生センター

2. Yoshino F., Maehata Y., Kobayashi K., Yoshida A., Sugiyama S., Honda K., Suzuki H., Lee M-C., Assessment of antioxidant property of peptide from boiled fish paste, International Association for Dental Research, 2009. 4. 3. Miami, Florida, USA.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉野 文彦 (YOSHINO FUMIHIKO)

神奈川歯科大学・生体管理医学講座薬理学

分野・講師

研究者番号：20308307