

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 18 日現在

機関番号：31602

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21592632

研究課題名（和文） 抗酸化剤で歯周疾患の予防と制御を図る研究

研究課題名（英文） Study on the prevention and regulation of periodontal diseases by using anti-oxidants

研究代表者

高橋 慶壮 (TAKAHASHI KEISO)

奥羽大学・歯学部・教授

研究者番号：70243475

研究成果の概要（和文）：歯周ポケットからの細菌感染によって歯周組織に炎症反応が長期に亘り持続することで歯周組織が破壊される。歯周組織では炎症物質および活性酸素が過剰に産生されている。抗炎症および抗酸化作用を有する物質を用いて歯周炎の進行を抑制する試みがなされている。本研究では、ボスウェリン酸を一ヶ月間経口投与した場合の唾液中の活性酸素および抗ストレスタンパク産生に及ぼす抑制効果を検討した。被験者の唾液中の活性酸素量は低下傾向を示したが統計学的な有意差は無かった。一方、唾液中のコルチゾール値は有意に低下した。ボスウェリン酸は口腔内の過剰な活性酸素やストレスタンパク産生を抑制できる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Recurrent bacterial infection from periodontal pockets affects chronic inflammatory reactions at periodontium and then the periodontal tissues tend to be destroyed. Many inflammatory mediators and reactive oxygen species (ROS) are aberrantly produced in periodontium. Therefore, anti-inflammatory and anti-oxidative products are used in order to analyze if they can inhibit the progression of periodontitis. In this study, we have investigated if oral administration of boswellic acid inhibit the production of ROS and anti-stress proteins. Boswellic acid tended to inhibit the ROS in the saliva of subjects, although its difference was not significant. The concentration of cortisol in the saliva was significantly reduced by boswellic acid administration. These results suggest the possibility that boswellic acid can manipulate the overproduction of ROS in the oral cavity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学 歯周治療系歯学

キーワード：ボスウェリン酸, 抗酸化作用, 抗炎症作用

## 1. 研究開始当初の背景

口腔疾患の感染予防としては細菌をターゲットにした抗菌剤あるいは抗生剤が使用されている。しかし、薬剤の副作用として、菌交代現象や薬剤耐性菌の出現が大きな社会問題になっている。これまでの医学は「抗医学」、すなわち抗菌薬や抗炎症薬を使用して「症状」を抑える対抗的あるいは抑圧的な医学であり、今後「患者自身の治癒力を高める医療」を確立することは医学当面の課題である。

米国歯周病学会は、host immune modulators (抗酸化剤、漢方、ビタミン類など)により歯周炎の増悪を抑制できるか検証している。この試みは、今後の医療の目指すべき方向性が西洋医学一辺倒の現代医療に東洋医学を融合した「統合医学」の推進であることを示している。すなわち、細菌を除去する医療から、生体防御能力や治癒力を高めて疾患を予防する「予防医療」への転換を意味する。

口腔領域の感染予防を考える上では、末梢血好中球と比較して、口腔内好中球の機能解析が重要であるにもかかわらず、口腔内好中球の高純度な分離が困難なため、これまでに研究があまり進展していない。申請者は、口腔内好中球の細胞機能を調べるため、簡便で、高純度に口腔内好中球を回収する方法を確立し、被験者1人あたり100万個以上の細胞を高純度で、しかも高い生存率のまま調整することを可能にし、細胞の活性化と細胞死の動態、活性酸素の関与、抗酸化剤の効果について報告した。具体的には、「抗酸化剤を用いて口腔内好中球機能および細胞死を制御する機序に関する研究を継続して行ってきた。(メ谷暁子、高橋慶壮、Chowdhury SA. 口腔内好中球の分離方法の確立と活性化および細胞死誘導のメカニズム 明海歯科医学 36 : 90~102, 2007.) (平成19・20年度,平成21~23年度 科学研究費補助金により実施)

申請者は、これまで歯周治療において天然素材の抗菌物質であるマスティック樹脂に着目し、口腔内の細菌増殖の抑制、プラーク付着および歯肉の炎症抑制効果があることを報告した (Takahashi K, et al. J Periodontol. 74 : 501~505.)。

申請者は、抗菌療法に加えて生体応答を制御することを目指して抗酸化剤やビタミン類の効果を検討している。

ボスウェリン酸は、抗炎症および抗酸化作用を有し、古くから変形性関節炎、高脂血症および気管支喘息の治療に用いられてきた。

最近では、慢性関節リウマチに対する効果も報告されている。

歯周炎局所で産生される活性酸素は歯周組織の破壊にも関与している可能性が高いため、強力な抗炎症および抗酸化作用を有するボスウェリン酸を歯周炎の治療にも有効に活用できる可能性は高い。これまでの研究から、口腔内好中球の活性化および細胞死誘導のメカニズムにも活性酸素が重要な役割を果たしており、過剰な活性酸素産生の抑制が歯周組織破壊の抑制に有効であろうと考えている。

## 2. 研究の目的

これまでに歯周炎の抑制あるいは治療効果を期待して各種 host immune modulators (抗酸化剤、漢方、ビタミン類など)の効果が検討されてきた。Omega-3、プロポリス、アルファリポ酸、ビタミンCなどの有効性が報告されている。

プロライン®はインドの乳香樹から抽出されたボスウェリン酸を主原料に、ビタミンCとB群および亜鉛などの微量ミネラルを加えた栄養機能食品である。

本研究では、このサプリメントの抗酸化効果を評価するために、一ヶ月間経口投与した被験者の唾液中の活性酸素濃度およびストレスマーカーの一つであるコルチゾール値の変動を解析した。

## 3. 研究の方法

本研究は、ヘルシンキ宣言に則り奥羽大学の倫理委員会の承認のもとに実施した。

奥羽大学歯学部在籍する学生33名と同大学附属病院に通院する歯周炎患者8名を被験者とした。被験者にプロラインを含有する錠剤あるいは含まない錠剤(プラシボ)をアットランダムに渡す二重盲検法の実験系を計画した。

被験者にプロライン(ボスウェリン酸300mg含有)またはプラシボ4粒を朝夕2回づつ30日間経口投与してもらい、投与前後の唾液を採取した。

遠心分離した唾液は、唾液量とpHを測定し、測定項目別に必要量を分注した。

採取した唾液のスーパーオキシド消去能、還元能およびコルチゾール値を測定した。スーパーオキシド消去能および還元能は電子

スピン共鳴 (ESR: Electron Spin Resonance) 装置 (JEOL-REIX, 日本電子社製) で測定した。

スーパーオキシドの消去は、ヒポキサンチンキサンチンオキシダーゼ系で行い、サンプルは  $10\mu\text{l}$  使用した。

2mMHypoxanthine (HX, SigmaChem. Co.), 1mM Diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA, Dojindo 和光純薬工業(株)), 1U/ml XanthineOxi-dase (XOD, SigmaChem. Co.), 10% 5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide (DMPO, Labotec 同仁化学研究所) を 0.1M Phosphate Buffer (pH7.4) 中で反応させ、石英偏平セルを使用し、ESR 装置で測定した。

コルチゾールの定量は Salivary Cortisol Enzyme Immno-assay Kit を用いて行った。標準液とサンプルは、 $25\mu\text{l}$  使用し二重測定を行った。反応停止後、450nm の吸収をマイクロプレートリーダー (日本バイオ・ラッド・ラボラトリーズ株式会社) で測定した。

統計処理は、平均値、標準偏差値を求め、それぞれの施術の前後および施術間で分散分析を行い危険率 5% 以下の場合有意とした。

#### 4. 研究成果

プロライン®投与群ではプラシボ群に比較して、コルチゾール値が有意に低下した ( $p=0.01$ )。BAP (鉄の還元能) およびスーパーオキシド消去活性では低下傾向を認めたが、有意差はなかった。

プロライン®は酸化ストレスを軽減する効果が期待される。現在、プロライン®の構成成分の配分量の変更や母集団の増員を行って検討することを計画している。また、有効成分の特定およびメカニズムの解析を進めたい。

#### 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 Papantonopoulos G, Takahashi K, Bountis T, Loos BG. Using cellular automata experiments to model periodontitis: A first theoretical step towards understanding the nonlinear dynamics of periodontitis. International Journal of Bifurcation and Chaos (in press)

[学会発表] (計 5 件)

- ① 高橋慶壮、実体顕微鏡を使用した歯周治療を考える、日本顕微鏡歯科学会会員限定セミナー、2011/10/22、上野
- ② 鈴木史彦, 中山大輔, 高橋慶壮、機能的ダイアグラムにおける「年齢に対する骨吸収指数」の変化と相関する因子に関する研究、日本歯周病学会、2011/9/19、下関市
- ③ 森 慎一郎, 高橋慶壮、機能的ダイアグラムにおける「年齢に対する骨吸収指数」の変化と相関する因子に関する研究、奥羽大学歯学会、2011/11/12、郡山市
- ④ 高橋慶壮、治療は外から 治癒は内から、特定非営利活動法人 日本歯周病学会 第 4 回東北地区臨床研修会 シンポジウム、2011/8/7、山形市
- ⑤ 高橋慶壮、歯周外科治療および外科的歯内療法のポイント、日本歯科保存学会、2011/6/9、浦安市
- ⑥ 山口英久, 高橋慶壮、慢性歯周炎患者に対し自家歯牙移植と歯周組織再生療法 (EMD) を試みた症例、日本歯周病学会、2011/5/27、福岡市
- ⑦ 中山大輔, 石澤正晃, 高橋慶壮、プロライン®の抗ストレス活性、日本歯周病学会、2011/5/27、福岡市

[図書] (計 2 件)

- ① 高橋慶壮、クインテッセンス出版株式会社、歯周治療 失敗回避のためのポイント 33 —なぜ歯周炎が進行するのか、なぜ治らないのか—、2011、214
- ② 高橋慶壮、他、Dental Diamond、インプラント時代の歯周マネジメント、2011、101

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 慶壮 (TAKAHASHI KEISO)  
奥羽大学・歯学部・教授  
研究者番号：70243475

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

佐藤和恵 (SATO KAZUE)  
昭和大学・医学部・教授  
研究者番号：90053941