

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09917

研究課題名（和文）酸化ストレス可視化マウスにおける加齢を考慮した三次喫煙による全身と歯周病への影響

研究課題名（英文）Effects of Age-Related Tertiary Smoking on Systemic and Periodontal Disease in Oxidative Stress Visualized Mice

研究代表者

福原 大樹（Fukuhara, Daiki）

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：10779721

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：高齢の酸化ストレス可視化マウスを用いてリアルタイムに酸化ストレスをモニタリングし、三次喫煙と歯周病および全身への影響を調べた。酸化ストレス可視化マウスを以下の3群に分類した；コントロール群（C群）、歯周病群（P群）、三次喫煙+歯周病群（三次+P群）。マウス体表における酸化ストレス発光量の増加率は、C群およびP群と比較して三次+P群は有意に高かった。血清中の酸化ストレスインデックスは、P群と比較して三次+P群は有意に低かった。歯肉組織において、酸化ストレスの指標となる遺伝子H0-1の発現量は、各群の比較において有意な変化を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周病のリスク因子のなかで機序が未解明である受動喫煙、特に残留受動喫煙（三次喫煙）の影響を調査し、さらに加齢による「酸化ストレス」の影響差を調べた。酸化ストレス可視化マウスを用いることにより、三次喫煙の影響をリアルタイムに確認できる。本研究において、三次喫煙と歯周病が組み合わせることにより有意に酸化ストレス状態へ移行することが確認できた。一方で、血清中の酸化ストレスは逆に三次喫煙の影響により低下することも確認された。これらのことから、全身における酸化ストレスと抗酸化能の影響をより詳細に調査する必要があることが分かった。

研究成果の概要（英文）：We investigated the effects of tertiary smoking and periodontal disease and systemic effects by real-time monitoring using aged (20-week-old) oxidative stress visualized mice. Oxidative stress visualized mice were classified into the following three groups; (1) control group (group C), (2) periodontal disease group (group P), and (3) tertiary smoking + periodontal disease group (tertiary + P group). The rate of increase in oxidative stress luminescence on the mouse body surface was significantly higher in the tertiary + P group than in the C and P groups. The oxidative stress index in serum was significantly lower in the tertiary + P group compared to the P group. In gingival tissues, the expression level of the gene H0-1, an indicator of oxidative stress, did not change significantly in the comparison of the groups.

研究分野：歯周病

キーワード：歯周病 酸化ストレス 受動喫煙

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯周病は日本国民の多くが罹患する生活習慣病であり、高齢者の QOL を確保するうえで重要視されている。また、歯周病は歯を失う主な原因になるだけでなく、全身に悪影響を及ぼすため、歯周病の予防・治療がより重要な意義を持つ。

喫煙は歯周病の代表的リスク因子であり、能動喫煙と受動喫煙(二次喫煙)に分類されている。しかし、近年では、たばこ由来のニコチンや化学物質は、喫煙者の毛髪や衣類、部屋のソファやカーペット、カーテンなどの表面に付着して残留することが明らかになり、たばこの火が消された後も残留する化学物質を吸入することを新たに「三次喫煙」と定義された。2016年に公開された「喫煙と健康 喫煙の健康影響に関する検討会報告書」(厚生労働省)によれば、日本人における喫煙者本人への影響(能動喫煙)として、歯周病と喫煙との関連について「科学的証拠は、因果関係を推定するのに十分である」と判定されている。しかしながら、受動喫煙の歯周病への影響については記載がない。さらに、三次喫煙による影響についてはデータがかなり不足している。

「酸化ストレス」のリスク因子として、加齢があげられる。加齢により抗酸化系の活性が低下し、酸化ストレス状態に陥りやすい。そのため、三次喫煙が歯周病や全身へ与える影響にも差が出てくると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の学術的な特色は、「酸化ストレス」の観点から三次喫煙が歯周病そのものや全身にどのような増悪作用をもたらすのか、また、加齢による「酸化ストレス」感受性の変化により、どのような影響差があるのかを明らかにすることにある。さらに、リアルタイムで生体内での「酸化ストレス」の分布と経時的变化を把握すること、三次喫煙の直接刺激に対する生体反応を明らかにすることを盛り込んでおり、研究内容が多岐に及んでいる。三次喫煙が歯周病や全身へ与える影響を明確にし、さらに、加齢による「酸化ストレス」への処理能力を観察することにより、たばこに対する認識やたばこフリーを意識した環境づくりに影響を与えると考えられる。

3. 研究の方法

高齢の酸化ストレス可視化マウスを用いてリアルタイムにモニタリングし、三次喫煙と歯周病および全身への影響を調べた。三次喫煙は、基準たばこ1本分のたばこ煙を曝露させた布をマウスケージに設置して、マウスに三次喫煙を曝露させた。酸化ストレス可視化マウスを以下の3群に分類した；コントロール群(C群)、歯周病群(P群)、三次喫煙+歯周病群(三次+P群)。歯周病群は下顎臼歯に絹糸を結紮し、実験的歯周病を誘発した。各群を初日と14日後に酸化ストレス発光を測定した。

4. 研究成果

酸化ストレス発光量の増加率を比較したところ、C群およびP群と比較して、三次+P群で有意に高かった($p=0.013$, $p=0.001$)(図1)。と殺後に採血し、血清を抽出した後、d-ROMテスト(酸化ストレス)とOXY吸着テスト(抗酸化能)を評価した。血清中において、両テストともに有意な差を認めなかったが、d-ROMテスト(U.CARR)では、P群(112.8 ± 19.2)、C群(97.6 ± 7.6)、三次+P群(94.7 ± 6.7)の順で高い傾向にあり、OXY吸着テスト($\mu\text{mol/ml}$)では、三次+P群(426.7 ± 41.8)、P群(383.1 ± 67)、C群(377.7 ± 32.5)の順で高い傾向にあった(図2, 3)。また、d-ROMとOXYを用いた酸化ストレスインデックスにおいて、P群と比較して、三次+P群は有意に低かった($p=0.019$)(図4)。と殺後に歯肉組織を採取し、RNAを抽出しリアルタイムPCRにて比較検討した。酸化ストレスに関連するHo-1は、各群において有意な差はなかった(図5)。

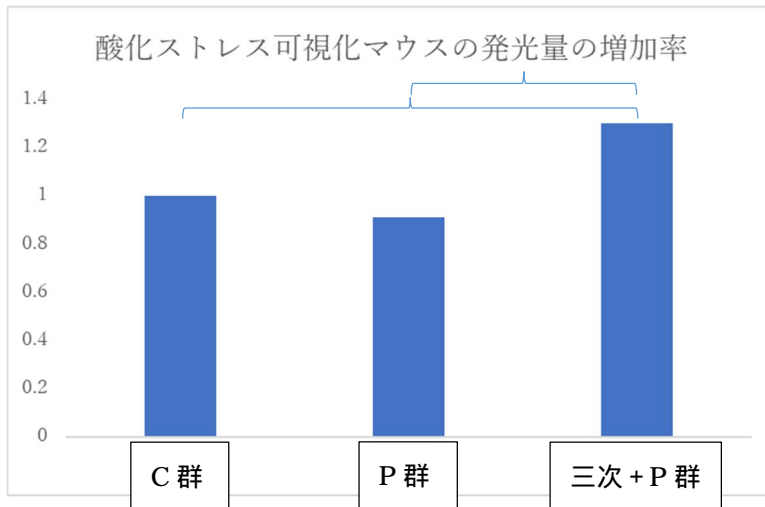


図 1

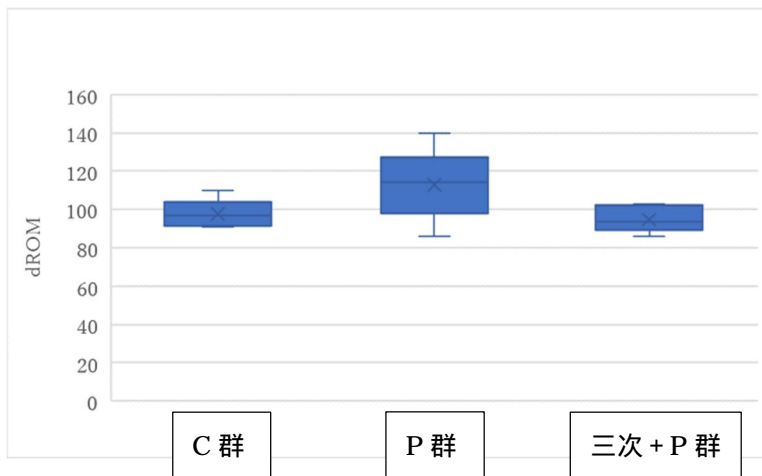


図 2 d-ROM テスト (U.CARR)

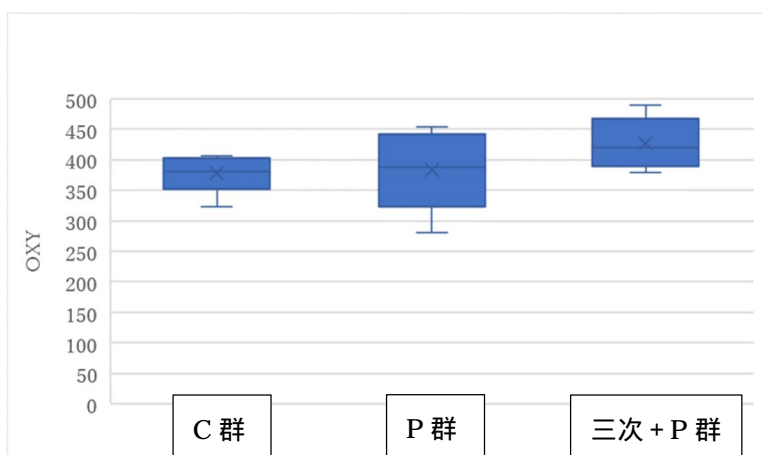


図 3 OXY 吸着テスト ($\mu\text{mol/ml}$)

独立サンプルによる Kruskal-Wallis の検定

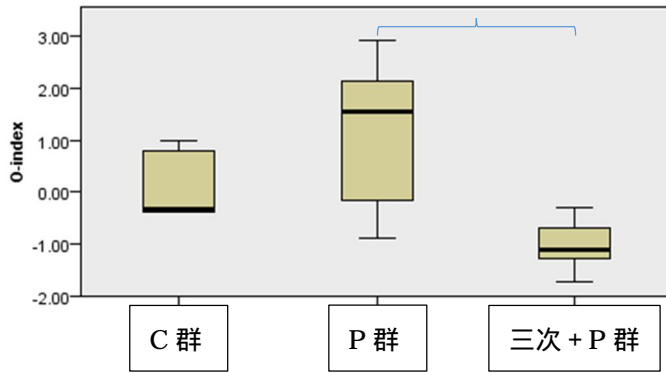
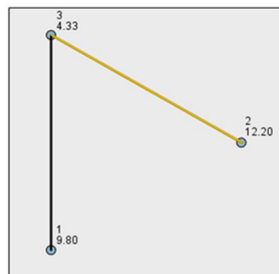


図 4 酸化ストレスインデックス

分類3のペアごとの比較



各ノードには分類3の平均順位が示されます。

サンプル 1-サン...	検定 統計	標準 エラー	Std. 検定 統計	有意確率	調整済み有意確率
3-1	5.467	2.883	1.896	.058	.174
3-2	7.867	2.883	2.729	.006	.019
1-2	-2.400	3.011	-.797	.425	1.000

各行は、サンプル1とサンプル2の分布が同じであるというヌル仮説を検定します。漸進有意確率(両側検定)が表示されます。有意水準は.05です。有意確率値は、複数のテストに対して Bonferroni 訂正により調整されていません。

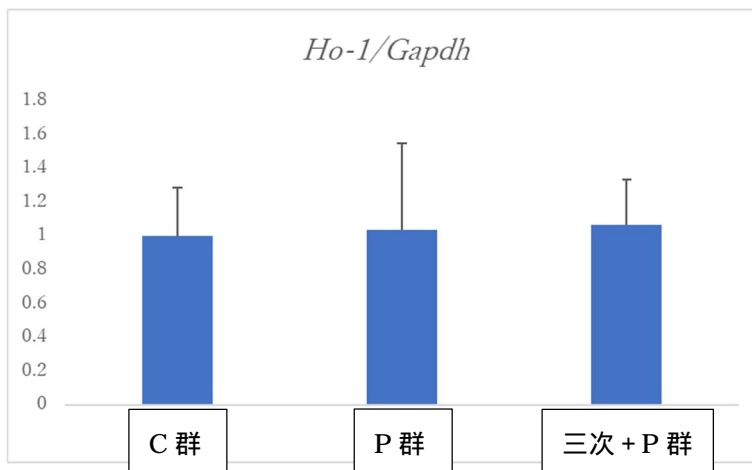


図 5 歯肉組織における *Ho-1* 遺伝子発現量の比較

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中原 桃子 (Nakahara Momoko) (00885139)	岡山大学・大学病院・医員 (15301)	
研究分担者	森田 学 (Morita Manabu) (40157904)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・特命教授 (15301)	
研究分担者	福原 瑶子(内田瑶子) (Fukuhara Yoko) (60779742)	岡山大学・医歯薬学域・助教 (15301)	
研究分担者	江國 大輔 (Ekuni Daisuke) (70346443)	岡山大学・医歯薬学域・教授 (15301)	
研究分担者	片岡 広太 (Kataoka Kota) (80744185)	岡山大学・歯学部・客員研究員 (15301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------