

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 25 日現在

機関番号：32710
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2011～2012
課題番号：23792393
研究課題名（和文）メラトニンの口腔粘膜における生理的役割の解明と口内炎治療薬としての可能性
研究課題名（英文）A physiologic role of the melatonin in oral mucosa and the melatonin as a novel therapeutic drug for stomatitis
研究代表者
熊坂 祝 (KUMASAKA SHUKU)
鶴見大学・歯学部・学部助手
研究者番号：00598055

研究成果の概要（和文）：ラット頬粘膜を用いて、メラトニン 1a レセプターの発現につき免疫組織化学的検討でその発現が確認された。ヒト口腔粘膜上皮細胞において、*in vitro* でもメラトニン 1a レセプターの発現が確認された。またヒト口腔粘膜上皮細胞の増殖および分化においてメラトニンの影響は認められなかった。ラビットを用いて、口腔粘膜創傷の治癒に対するメラトニンの影響を検討したが、その影響は認められなかった。

研究成果の概要（英文）：Expression found immunohistochemical study for expression of the MellaR using Rat oral mucosa. Expression of MellaR in human oral mucosa epithelial cells, *in vitro*. Effect of melatonin on the proliferation and differentiation is not significant in human oral mucosa epithelial cells. Effect of melaton on Rabbit oral mucosa wound healing is not significant.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：メラトニン・口内炎・創傷治癒

1. 研究開始当初の背景

主に夜間、松果体より分泌されるホルモンであるメラトニンは、1958年にLernerらによって、ウシ松果体より分離・精製された。その分泌は光刺激により調節されており、夜間には多く分泌され、日中にはほとんど分泌されない。現在までに報告されているメラトニンの生理作用として、概日リズム調節作用、抗性腺作用に起因するとされる季節繁殖動物の性周期の調節、また抗老化作用として老齢マウスの生存率を高める作用やリンパ球や単球に作用してインターフェロンやインターロイキン-2, 4, 6などのサイトカインの産生を促す免疫賦活作用、

さらにはMCF-7などの乳癌細胞の増殖を抑制するという抗腫瘍作用などが報告されている。また、メラトニンがヒトやマウスの骨形成を促進する作用を有していることも報告されている(J. Pineal Res. 42:231-239, 2007)。最近、研究代表者はメラトニン受容体がヒト、マウスおよびラットの歯に存在し、メラトニンが歯の形成・発育に関与している可能性があることを報告した(Histochem Cell Biol. 133(5):577-584, 2010)。さらに、歯原性間葉細胞であるヒト歯乳頭細胞を用いてメラトニンの増殖・分化への影響につき分子細胞生物学的に検討を行ったところ、培養4週目において、メラトニン 200 μ M を添加し

て培養を行った群において、石灰化器質と思われる nodule 形成を認めた。この結果は、メラトニンが歯原性間葉系蛋白質の分泌を促進していることが、強く示唆されると考えられる。

さらに、唾液中にもメラトニンの存在が確認されており (*J. Clin. Endocrinol. Metab.* **83: 1013-1015 1998**)、その存在意義についてはいまだ明らかではない。そこで、現在までに骨および歯の形成を促進することが明らかとなっている概日リズム調節ホルモンであるメラトニンが、顎骨や歯と同じ口腔内にあること、さらに口腔内を湿潤し保護する役割をもつ唾液中に存在することからその機能、特に創傷の治癒に対しても何らかの生理的作用を有している可能性に着目し、さらに口内炎治療薬としてのメラトニン利用の有用性について検討を行うこととした。

2. 研究の目的

われわれが保有しているヒトの口腔粘膜上皮細胞の増殖・分化に対するメラトニンの作用を分子細胞生物学的に解明することを目指す。さらに、ラビットの口腔粘膜の創傷の治癒速度に対するメラトニン投与の影響を明らかにすることにより、口内炎治療薬としてのメラトニンの有用性について検討する。

3. 研究の方法

(1) ラットの頬粘膜におけるメラトニンレセプター (Mell1aR) の発現。ラットの頬粘膜の切片を製作して、免疫組織学染色により Mell1aR の発現を検討した。

(2) ヒト口腔粘膜上皮細胞における Mell1aR の発現。通常の単層細胞培養系を用いて、ヒト口腔粘膜上皮細胞の増殖に対するメラトニンの影響を crystal violet 染色法により検討した。またヒト口腔粘膜上皮細胞の分化に対するメラトニンの作用について、上皮細胞関連遺伝子であるインボルクリン、トランスグルタミナーゼ I、ケラチン 4、ケラチン 10、ディフェンシン β 1 の遺伝子発現およびタンパク質発現を指標として、RT-PCR 法により検討した。

ラビットへのメラトニン投与 (貼付) により、口腔粘膜の創傷治癒に対するメラトニンの作用について分子細胞生物学的手法、組織学的手法により解明する。

4. 研究成果

(1) ラット頬粘膜におけるメラトニンレセプターの発現。免疫組織学的染色にて、ラット頬粘膜の上皮層のうち有棘細胞層及び顆粒細胞層において Mell1aR の発現を確認した。

(図 1)

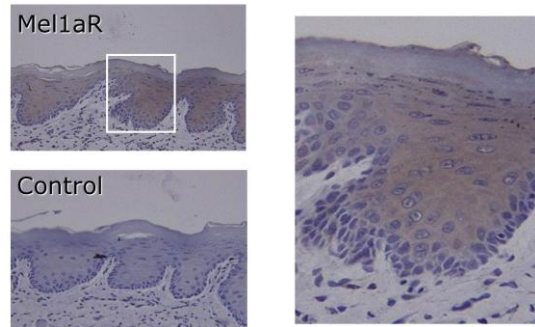


図 1
免疫組織学的検討によるラット頬粘膜における Mell1aR の発現

(2) ヒト口腔粘膜上皮細胞における mRNA レベルでの Mell1aR の発現を RT-PCR 法にて確認した。(図 2)

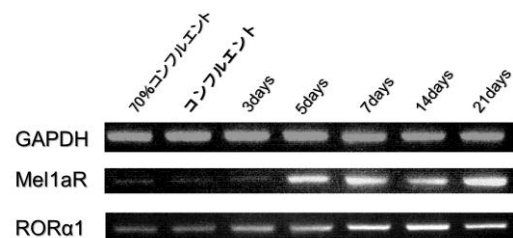


図 2
ヒト口腔粘膜上皮細胞における Mell1aR の発現

(3) ヒト口腔粘膜上皮細胞の増殖および分化に対するメラトニンの影響は認められなかった。(図3~5)

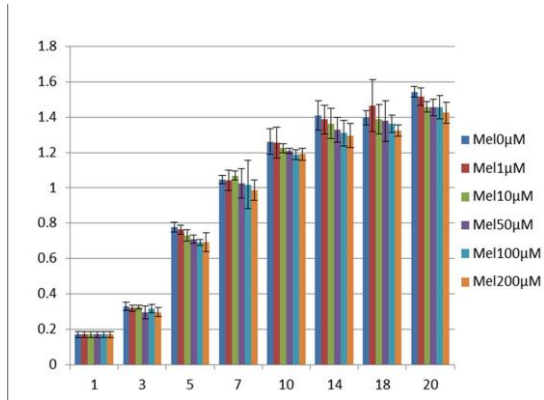


図3
ヒト口腔粘膜上皮細胞の増殖に対するメラトニンの影響

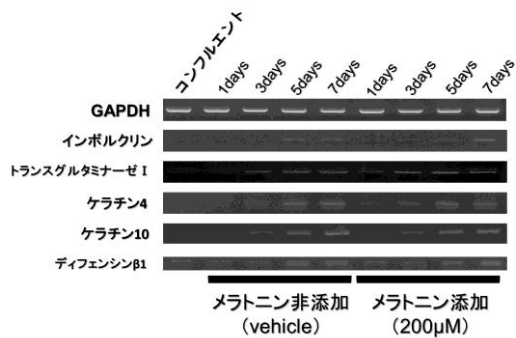


図4
ヒト口腔粘膜上皮細胞の分化に対するメラトニンの影響

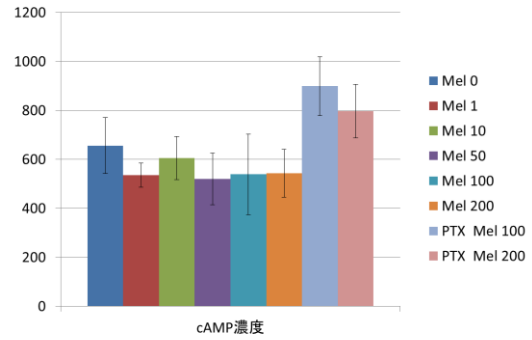


図5
ヒト口腔粘膜上皮細胞における細胞内 cAMP 測定

(5) ラビットにおいて歯肉の創傷治癒に対するメラトニンの影響は認められなかった。(図6)

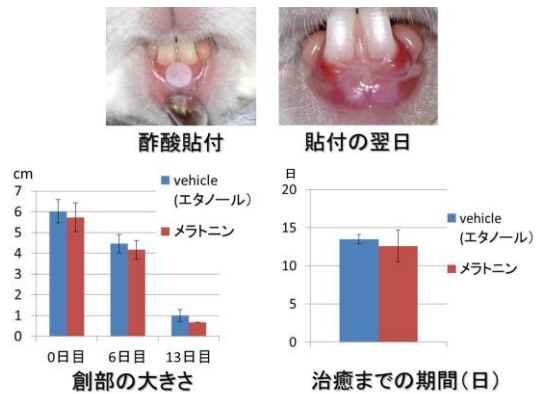


図6
ラビットにおける創傷治癒の作製方法と創傷範囲の縮小速度と治癒速度の測定

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)

[学会発表] (計 1 件)

- ① 梅木 泰親、徳山 麗子、井出 信次、
下間 政史、田所 晋、熊坂 祝、館原
誠晃、鎌田 伸之、里村 一人、ヒト口
腔粘膜上皮細胞に対するメラトニンの役
割、2012、第 75 回鶴見大学歯学会例会、
7 月 21 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

熊坂 祝 (KUMASAKA SHUKU)
鶴見大学・歯学部・学部助手
研究者番号：00598055

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし