

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24593153

研究課題名(和文) 口腔組織に対する還元型コエンザイムQ10の抗加齢作用の検討

研究課題名(英文) Anti-aging effects of ubiquinol on oral tissues

研究代表者

友藤 孝明 (Tomofuji, Takaaki)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：80335629

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：酸化ストレスは、歯周組織の老化に關与する。還元型コエンザイムQ10(ユビキノール)の抗酸化作用は、歯周組織の老化に影響を与えるかもしれない。本研究では、ラット歯周組織の老化に対するユビキノールの影響を検討した。4ヶ月齢のFischer 344雄性ラットを2群に分けて、単軟膏もしくは1%ユビキノール配合軟膏を6ヶ月齢に達するまで塗布した。その結果、ユビキノール配合軟膏を塗布した群では、単軟膏を塗布した群と比べて、歯周組織の酸化ダメージと破骨細胞数が少なかった。これらの結果は、ユビキノールの抗酸化作用には、老化に伴う歯周組織の破骨細胞の分化を抑える効果があることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：Oxidative stress is associated with aging of the periodontal tissue. The anti-oxidative effects of a reduced form of co-enzyme Q10 (ubiquinol) may affect periodontal tissue aging. We examined the effects of topically applied ubiquinol on periodontal tissue aging in a rat model. Male Fischer 344 rats received topically applied ointment with or without 1% ubiquinol on the gingival surface until they reached 6 mos of age. Ubiquinol decreased oxidative DNA damage and tartrate-resistant acid-phosphatase-positive osteoclasts in the periodontal tissue as compared with the control. The results indicate that topical application of ubiquinol could suppress age-related osteoclast differentiation by inhibiting oxidative stress.

研究分野：予防歯科学

キーワード：抗加齢 ユビキノール

1. 研究開始当初の背景

近年の研究から、加齢と酸化ストレスとの間に関連性があることが指摘されている。歯周組織においても、加齢によって酸化ストレスの上昇や歯槽骨レベルの低下などの病理的变化が起こることが分かっている。抗酸化物質は酸化ストレスを軽減させる物質であり、抗酸化成分配合軟膏を塗布することは歯周組織の加齢による変化に対して抑制的に働く可能性がある。

コエンザイム Q10 は、安全性の高い抗酸化物の一つである。そして、粘膜に浸透させやすいユビキノール（還元型コエンザイム Q10、rCoQ10）が、近年開発されている（特開 2003-26567）。しかし、口腔局所に塗布したユビキノールが、老化に伴う酸化ストレスの増大にどのように作用するのかはまだ分かっていない。

2. 研究の目的

本研究では、歯周組織に抗酸化物であるユビキノールを配合した軟膏を塗布し、加齢に伴う歯肉酸化ストレスの増加への影響を、正常組織と損傷組織に分けて検討した。

3. 研究の方法

(1) 正常組織への影響の検討

4 ヶ月齢の Fischer 雄性ラット 12 匹を 6 匹ずつ、実験群（1%の濃度で rCoQ10 を配合した単軟膏を塗布）と対照群（単軟膏を塗布）の 2 群に分けた。軟膏塗布は 1 日 1 回、週 5 回の頻度で、2 ヶ月間行った。実験期間終了後にラットを屠殺し、

血清、歯周組織および歯肉の Biopsy サンプルを採取した。血清中の 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) と総コエンザイム Q10 濃度を測定した。また、上顎の歯周組織について組織標本を作製し、8-OHdG と tartrate resistant acid phosphate (TRAP) を標的とした免疫染色を行った。さらに歯肉の Biopsy サンプルからは、Nod-like receptor protein 3 (NLRP3)、caspase-1、apoptosis-associated speck like protein (ASC)、interleukin-1 β (IL-1 β) および nuclear factor (NF)- κ B の遺伝子発現を、逆転写リアルタイム PCR 法を用いて確認した。

(2) 損傷組織への影響の検討

8 週齢の Fischer 雄性ラット(n=27)の上顎左右第 1 臼歯を抜歯し、実験群(5% rCoQ10 配合軟膏を塗布)と対照群(rCoQ10 非配合軟膏を塗布)とに分けた(n=6-7/group)。軟膏は、1 日 1 回の頻度で 3 日間もしくは 8 日間塗布した。

4. 研究成果

(1) 正常組織への影響の検討

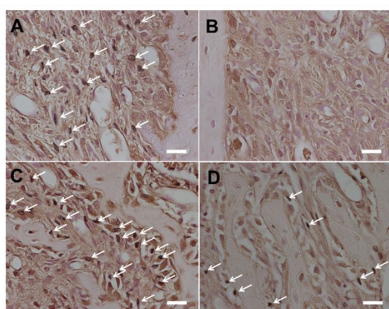
実験群における血清中の 8-OHdG 濃度は、対照群と比べて有意に低く(p< 0.05)、また総コエンザイム Q10 濃度は対照群よりも有意に高くなった(p< 0.05)。実験群の歯周組織では、8-OHdG 陽性細胞数と TRAP 陽性破骨細胞数が対照群と比べて有意に少なかった(p< 0.05)。さらに、実験群における NLRP3、caspase-1、ASC、ASC および NF- κ B の遺伝子発現も対照群と比べて低く、いずれも有意差があっ

た ($p < 0.05$)。

(2) 損傷組織への影響の検討

3 日後において、実験群の抜歯窩上部におけるコラーゲン密度は対照群と比較して有意に高く ($p < 0.05$)、多核好中球数も、対照群と比べて実験群が有意に少なかった ($p < 0.05$)。また、実験群は対照群よりも、抜歯窩上部における fibroblast growth factor-2 陽性細胞が多く、8-OHdG 陽性細胞が少なかった。さらに、実験群の matrix metalloproteinase-3、NF- κ B、interleukin-1 β 、tumor necrosis factor- α 、heme oxygenase-1 の遺伝子発現が対照群と比べて有意に低くなっていた ($p < 0.05$)。しかし、抜歯窩底部においては、実験群と対照群との間に有意な差はなかった。

一方、8 日後においては、実験群と対照群双方ともに軟組織の治癒が進んでおり、大きな違いは認めなかった。また、骨形態についても 2 群間で有意な差はなかった。



図．対照群の 3 日目 (A)、8 日目 (C) および実験群の 3 日目 (B) および 8 日目 (D) の 8-OHdG 染色像。(Scale bar = 20 μ m、矢印は 8-OHdG 陽性細胞を示す)。

(3) 成果の国内外における位置づけ

生体の老化メカニズムには、いくつか提唱されているが、特に酸化ストレスにより細胞老化、ひいては生体の老化が引き起こされると考えられている。そのため、酸化ストレスを消去する抗酸化物の抗加齢作用を検証した国内外の研究が、医科の領域では多くなされている。

急速な高齢化が進んでいる我が国では、高齢者の人達の肉体的・精神的健康を維持し、個人としても社会においても生産的な老後を送ること (productive aging) を可能にすることが、喫緊の課題である。本研究の成果は、口腔の領域において、抗酸化物を用いた抗加齢が可能であることを世界で初めて示唆している。口腔の抗加齢を目的とした本研究は、productive aging な社会を形成するために必須であり、そこに本研究の意義がある。

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 3 件)

Yoneda T, Tomofuji T, Kawabata Y, Ekuni D, Azuma T, Kataoka K, Kunitomo M, Morita M. Application of coenzyme Q10 for accelerating soft tissue wound healing after tooth extraction in rats. *Nutrients*. 2014 Dec 10;6(12):5756-69. (査読有)
doi: 10.3390/nu6125756.

Irie K, Tomofuji T, Ekuni D, Endo Y, Kasuyama K, Azuma T, Tamaki N, Yoneda T,

Morita M. Anti-ageing effects of dentifrices containing anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-bacterial agents (Tomarina®) on gingival collagen degradation in rats. Arch Oral Biol. 2014 Jan;59(1):60-65. (査読有)

Yoneda T, Tomofuji T, Ekuni D, Azuma T, Endo Y, Kasuyama K, Machida T, Morita M. Anti-aging effects of co-enzyme Q10 on periodontal tissues. J Dent Res. 2013 Aug;92(8):735-9. (査読有)
doi: 10.1177/0022034513490959

〔学会発表〕(計 2 件)

Tomofuji T. Effects of periodontal condition on systemic oxidative stress and hepatic health. 92nd General Session & Exhibition of the IADR, Cape town, South Africa, 2014年6月28日.

米田俊樹、友藤孝明、川端勇也、江國大輔、東 哲司、片岡広太、國友宗義、森田 学. 還元型コエンザイム Q10 の抜歯窩創傷治癒への効果の検討. 第25回近畿・中国・四国口腔衛生学会総会, 神戸, 2014年10月5日.

〔図書〕(計 2 件)

Tomofuji T, Ekuni D, Mizutani S, Morita M: Chapter 18 Effects of antioxidants on periodontal disease. In: Studies on periodontal disease, Oxidative stress in applied basic research. Editors: Ekuni D, Battino M, Tomofuji T, Putnins EE. Humana Press, pp 279-306, 2014.

Tomofuji T, Ekuni D, Morita M: Chapter 10 Effects of periodontal therapy on circulating oxidative stress. In: Studies on periodontal disease, Oxidative stress in applied basic research. Editors: Ekuni D, Battino M, Tomofuji T, Putnins EE. Humana Press, pp 147-156, 2014.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

http://www.cc.okayama-u.ac.jp/~preventive_dentistry/top.html

6 . 研究組織

(1)研究代表者

友藤 孝明 (TOMOFUJI, Takaaki)
岡山大学・大学病院・講師
研究者番号 : 80335629

(2)研究分担者

森田 学 (MORITA, Manabu)
岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授
研究者番号 : 40157904

江國 大輔 (EKUNI, Daisuke)
岡山大学・大学病院・講師
研究者番号 : 70346443

東 哲司 (AZUMA, Tetsuji)
岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・助教
研究者番号 : 80432649