

平成 2 9 年 6 月 1 8 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2012～2016

課題番号：24593161

研究課題名（和文）MK615の歯科医学への応用に向けて：抗う蝕・抗歯周病特性の解析

研究課題名（英文）Toward the application of MK 615 to dental medicine:Analysis of anti-carries & middot; anti-periodontal disease characteristics

研究代表者

森元 陽子（Morimoto, Yoko）

鹿児島大学・医歯学域附属病院・助教

研究者番号：30437967

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）：本研究は、古来より健康増進に寄与することが知られている梅肉エキ스가、う蝕や歯周病治療および予防に効果があるか検証した。歯周病原細菌のLPSで刺激した歯肉組織細胞から産生される炎症性サイトカインは、梅肉抽出エキスMK615を添加することにより有意に抑制されることが示された。また、MK615は破骨細胞の成熟化を抑制することにより、歯周病による骨破壊を抑制することが示された。更には、う蝕関連細菌や歯周病原細菌の増殖はMK615を添加することにより、有意に抑制されることが示された。これらのことから、梅肉抽出エキスMK615は抗う蝕・抗歯周病に効果があることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：This study examined whether plum meat extract, which is known to contribute to health promotion since ancient times, is effective for dental caries and periodontal disease treatment and prevention. Inflammatory cytokines produced from gingival tissue cells stimulated with LPS in the periodontal pathogenic bacteria has been shown to be significantly suppressed by the addition of plum extract MK615. In addition, MK 615 was shown to suppress bone destruction due to periodontal disease by suppressing the maturation of osteoclasts. Furthermore, it was shown that proliferation of dental caries-related bacteria and periodontal pathogenic bacteria can be suppressed significantly by adding MK615. From these facts, it was suggested that Plum Meat Extract Extract MK 615 is effective for anti-carries and anti-periodontal disease.

研究分野：歯科保存学 歯周病治療学

キーワード：MK615 抗炎症 抗菌 骨破壊抑制

1. 研究開始当初の背景

う蝕と歯周病は歯を喪失する2つの大きな原因であるとともに、近年、全身疾患との関連性が注目されている。また、梅は古来より健康増進作用があることが知られており、これまでに抗腫瘍効果やピロリ菌に対する抗菌効果が確認されている。

2. 研究の目的

これまでに我々は梅肉抽出成分 MK615 の抗炎症効果をマクロファージ系細胞を用いて検討し、歯周病治療・予防への可能性を報告してきた。

今回の研究において MK615 による植物化学療法を歯科医学へ応用するため、歯肉組織細胞や破骨細胞、骨芽細胞を用いた実験に加え、抗菌活性の測定と検討を行うことで、安全性に立脚したう蝕や歯周病予防・治療への新しいアプローチとして発展させることを目的とした。

3. 研究の方法

歯肉線維芽細胞における検討：マクロファージ系細胞における MK615 の抗炎症作用は認められていたため、歯肉組織細胞を用いて MK615 の抗炎症作用を検討した。ヒト歯肉線維芽細胞 (Gin-1) を *Porphyromonas gingivalis* の LPS で刺激し、MK615 で pretreat した際の炎症性サイトカインの産生を ELISA を用いて検討した。また、その際の活性化経路を Western blot 法を用いて検討した。

骨芽細胞における検討：骨芽細胞には破骨細胞の成熟に関与する RANKL 発現が認められ、RANKL 発現が上昇すると破骨前駆細胞から破骨細胞へと成熟し、さらには破骨細胞の活性化が惹起され骨破壊が起こる。そのため骨芽細胞の RANKL 発現が MK615 により抑制されるか検討した。マウス骨芽細胞 (MC3T3-E1) を TNF で刺激し、MK615 で pretreat した際の RANKL 発現をリアルタイム PCR を用いて検討した。

破骨細胞における検討：歯周病における骨破壊に大きく関与する破骨細胞の成熟を MK615 が抑制するか mouse RAW264.7D cell を用いて検討した。RANKL 刺激することによる破骨細胞の成熟化に関与する mRNA の発現の上昇が、MK615 で pretreat した場合に抑制されるか real time PCR で確認した。また、TRAP 染色法により破骨細胞の分化を測定した。

細菌学的検討：歯病原細菌である *Streptococcus mutans* や歯周病原細菌である *P. gingivalis* と *A. actinomycetemcomitans* に対する MK615 の抗菌効果を最小発育阻止濃度 (MIC) を用いて検討した。また、*S. mutans* のプラーク形成能における MK615 の阻止効果を検討した。

4. 研究成果

歯肉線維芽細胞における検討：MK615 はヒト歯肉線維芽細胞 (Gin-1) を *P. gingivalis* の LPS 刺激した際の IL-6 および IL-8 産生を抑制し、それは p38MAPK 経路の阻害によるものであることが示された。

骨芽細胞における検討：マウス骨芽細胞 (MC3T3-E1) を TNF で刺激し、MK615 で pretreat した際の RANKL 発現は MK615 の濃度依存的に抑制された。

破骨細胞における検討：mouse RAW264.7D cell を用いて RANKL 刺激した際の破骨細胞への分化を測定したところ、MK615 の濃度依存的に細胞の多角化、成熟化を抑制した。また、活性化に必要な p-38 のリン酸化は有意に抑制された。RANKL 刺激による RANK, DC stamp, TRAP の mRNA の発現の上昇を real time PCR で確認したところ、MK615 で pretreat した場合に MK615 の濃度依存的に抑制された。

細菌学的検討：*P. gingivalis* や *A. actinomycetemcomitans* に対して MK615 は 1024 倍希釈まで最小発育阻止を示し、*S. mutans* は 16 倍希釈まで最小発育阻止を示した。*S. mutans* のプラーク形成能は 128 倍希釈まで抑制が認められた。

本研究により MK615 によって、歯周病原菌由来の歯肉組織の炎症や骨破壊を抑制できる可能性が示唆された。また、MK615 には抗炎症作用だけでなく、

A. actinomycetemcomitans や *P. gingivalis* に対する抗菌効果があることを明らかにできた。MK615 は植物由来の天然産物であり、生体にとって安全性が高いことも確認できているため、小児から高齢者まで安心して使用できる新たな歯周病の予防・治療法として早期に臨床応用できる可能性が高い。

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 10 件)

Yoko Morimoto-Yamashita, Masayuki Tokuda, Yoshihiro Nishitani

Japanese Apricot (Ume): Potential Oral Health Benefits

Apricots and Peaches: Nutritional Properties, Post-Harvest Management and Potential Health Benefits. P9-2

4, 2016 (NOVA Publishers)、査読有

Yoko Morimoto-Yamashita,

Yoshiko Kawakami, Syoko Tatsuyama,
Keiko Miyashita, Makiko Emoto,
Kiyoshi Kikuchi, Ko-ichi Kawahara,
Masayuki Tokuda,
A natural therapeutic approach for the
treatment of periodontitis by MK615
Med Hypotheses. 85(5): 618-621. 2015、
査読有

Tokuda M, Tatsuyama S, Fujisawa M,
Morimoto-Yamashita Y, Kawakami Y,
Shibukawa Y, Torii M.
Dentin and pulp sense cold stimulus.
Med Hypotheses. 84(5):442-4. 2015、
査読有

Tokuda M, Fujisawa M, Miyashita K,
Kawakami Y, **Morimoto-Yamashita Y**,
Torii M.
Involvement of TRPV1 and AQP2 in
hypertonic stress by xylitol in
odontoblast cells.
Connect Tissue Res. 56(1):44-9. 2015、
査読有

Masayuki Tokuda, Yoshiko
Kawakami, **Yoko**
Morimoto-Yamashita, Mitsuo Torii
Subcutaneous Emphysema Caused by
Sodium Hypochlorite plus RC-Prep
Open Journal of Stomatology. 4:
527-532. 2014、査読有

Kikuchi K, Tanchaoen S, Ito T,
Morimoto-Yamashita Y, Miura N,
Kawahara K, Maruyama I, Murai Y,
Tanaka .

“Potential of the Angiotensin Receptor
Blockers (ARBs) Telmisartan, Irbesartan,
and Candesartan for Inhibiting the
HMGB1/RAGE Axis in Prevention and
Acute Treatment of Stroke. ”
Int. J. Mol. Sci. 14(9): 18899-18924.
2013、査読有

平石勝也、神間史恵、相馬洋之、**森
元陽子**、足立太郎、足立正一
青梅加熱濃縮エキス成分「MK615」の
医薬素材としての可能性
Personalized Medicine Universe
(Japanese edition);1(1):17-28. 2013、
査読有

Yoko Morimoto-Yamashita,
Masayuki Tokuda, Kiyoshi Kikuchi,
Takashi Ito, Ikuro Maruyama, Mitsuo
Torii, and Ko-ichi Kawahara.
Japanese apricot (Ume): A novel
therapeutic approach for the treatment of
periodontitis.**Pathogenesis and**
Treatment of periodontitis. P145-156 ,
2012. Jan (INTECH OPEN ACCESS
PUBLISHER)、査読有

Yoko Morimoto-Yamashita, Takashi
Ito, Ko-ichi Kawahara, Kiyoshi Kikuchi,
Shoko Tatsuyama-Nagayama, Yoshiko
Kawakami-Morizono, Mari Fijisawa,
Keiko Miyashita, Makiko Emoto, Mitsuo
Torii, Masayuki Tokuda
Periodontal disease and type 2 diabetes
mellitus: is the HMGB1–RAGE axis the

missing link?

Medical Hypotheses, Oct;79(4):452-5.
2012、査読有

Mari Fujisawa, Masayuki Tokuda,
Yoko Morimoto-Yamashita, Shoko
Tatsuyama, Szilvia Arany, Toshihiko
Sugiyama, Chiaki Kitamura, Yoshiyuki
Shibukawa, Mitsuo Torii
Hyperosmotic Stress Induces Cell Death
in an Odontoblast-lineage Cell Line
Journal of Endodontics (J Endod.),
38(7); 931-935. 2012、査読有

〔学会発表〕(計 3 件)

徳田雅行、藤澤真理、宮下桂子、川上克子、
森元陽子、鳥居光男
TRPV1 と AQP2 を介して高浸透圧刺激による細胞傷害を回避する
平成 27 年度日本歯科保存学会春季大会
2015 年 6 月 25 - 26 日 北九州国際会議場および西日本総合展示場(福岡県 北九州市)

徳田雅行、森元陽子、川上克子、中杉 徹、
村川拓土、渋谷耕司、西谷佳浩
ブラッククミン種子精油の *Fusobacterium nucleatum* に対する抗菌作用
平成 27 年度日本歯科保存学会秋季大会
2015 年 11 月 12 - 13 日 文京シビックホール(東京都 文京区)

徳田雅行、川井絢矢、作田哲也、小山 徹、
藤澤真理、宮下桂子、江本真規子、森元陽子、
鳥居光男、松下健二
ヤマブシダケ抽出物の抗菌活性 試験管内およびヒト口腔内における検討
平成 26 年度日本歯科保存学会秋季大会
2014 年 10 月 30 - 31 日 山形テルサ(山形県 山形市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森元 陽子 (MORIMOTO, Yoko)
鹿児島大学・医歯学域附属病院・助教
研究者番号：30437967

(2) 研究分担者

川原 幸一 (KAWAHARA, Ko-ichi)
大阪工業大学工学部生命工学科 機能性
食品研究室・教授
研究者番号：10381170
徳田 雅行 (TOKUDA, Masayuki)
鹿児島大学・医歯学域歯学系・准教授
研究者番号：20253891
菊池 清志 (KIKUCHI, Kiyoshi)
久留米大学・医学部医学科生理学講座
・助教
研究者番号：60404539
鳥居 光男 (TORII, Mitsuo)
鹿児島大学・医歯学総合研究科・教授
(H27, 3, 31 まで参画)
研究者番号：30116066

(3) 連携研究者

なし()

研究者番号：

(4) 研究協力者

なし()