

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 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：2012～2013

課題番号：24792262

研究課題名(和文) 口腔粘膜疾患治療薬としてのメラトニンの可能性

研究課題名(英文) Potential role of melatonin on wound healing of oral mucosa

研究代表者

下間 雅史 (Shimozuma, Masashi)

鶴見大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：50612008

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：概日リズム調節ホルモンとして知られるメラトニンは、様々な生理的役割を担うことが報告されている。また、唾液中にもメラトニンの存在が報告されており、われわれは唾液中のメラトニンが口腔粘膜疾患の予防や創傷治癒促進といった何らかの生理的作用を果たしている可能性に着目し、まずメラトニン合成酵素が唾液腺に発現していることを確認し、唾液中のメラトニンが唾液腺で産生・分泌されている可能性を確認した。またメラトニンの局所投与が創傷治癒に及ぼす影響に付き検討したところ、創傷治癒促進傾向はあるものの、有意差は認めなかった。口腔粘膜上皮細胞に対するメラトニンの影響を検討したところ、明らかな影響は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：Melatonin is known to regulate a variety of physiological processes including control of circadian rhythms. Recently, it was reported that melatonin is present in saliva, but it is not certain where melatonin was synthesized and whether it was secreted into saliva and what function it may have in saliva. The present study was performed to investigate these things. As we performed immunohistochemical analysis and real-time PCR analysis of the expression of both AANAT and HIOMT in salivary glands, we evaluated the expression of these enzymes. Moreover, we investigated the physiological role of melatonin in the oral cavity by focusing on its effect on wound healing in the oral mucosa. Topical administration of melatonin promoted wound healing, but a significant difference was not accepted. On the other hand, the proliferation and differentiation of oral mucosal epithelial cells were not affected by melatonin.

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 口腔粘膜疾患 治療薬

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会を迎えたわが国においては、高齢者人口の増加に伴って口腔粘膜疾患は増加傾向にある。しかし、扁平苔癬や白板症などの代表的口腔粘膜疾患においてもその原因はいまだ解明されておらず、明確な治療法も確立していない。また、糖尿病などの生活習慣病では、口腔粘膜の治癒の遷延による難治性口内炎や、高齢癌患者に対する放射線治療の適用に伴う放射線性口内炎の増加がQOLの維持、向上の上で問題となりつつある。このことから、これら、現在の日本の超高齢社会を反映する代表的な口腔粘膜疾患に対する予防法や治療法の確立が強く求められている。

口腔粘膜上皮細胞は、基底層から角化層(表層)へと向かう活発な細胞新生のシステムにより、その構造を維持している。組織や細胞では生命活動のためにミトコンドリア内でATPが産生される際に生じるROS(活性酸素やフリーラジカルなど)の作用による、ミトコンドリア膜タンパクや脂質の酸化、ミトコンドリアDNAの損傷により、ミトコンドリアの機能異常を引き起こし、細胞老化につながるものと考えられている。口腔粘膜疾患においてもこのような酸化ストレスが口腔粘膜疾患の発症の一因となっている可能性が考えられる。生体内ではこの酸化ストレスに対してカタラーゼなどの様々なフリーラジカルスカベンジャーが働くことで酸化ストレスを抑制していることが報告されている。

一方、メラトニンは、1958年にラーナーらによって、ウシ松果体より分離・精製された概日リズム調節ホルモンであり、概日リズムの調節以外にも現在までに、体温調節作用、免疫賦活作用、抗腫瘍作用、さらには強い抗酸化作用を持つことが知られている。これまでにわれわれは顎口腔領域に関連して、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(J. Pineal Res. 42:231-239, 2007)、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(Histochem Cell Biol. 133(5):577-584, 2010)を報告してきた。近年メラトニンは松果体だけでなく、網膜や水晶体、卵巣、消化管、免疫系細胞といった種々の臓器や組織においても合成・分泌され局所的に作用していることが報告されてきている。唾液中においてもメラトニンの存在が確認されている(J. Clin. Endocrinol. Metab. 83:1013-1015 1998)が、その合成・分泌系や存在意義についてはいまだ不明である。しかし、現在までにメラトニンが様々な臓器や組織において合成・分泌され各々の臓器や組織に対して局所的に作用しているという報告が多数なされていることを考慮すると、唾液中のメラトニンが唾液腺により合成・分泌され

ている可能性が高く、さらにメラトニンが極めて強い抗酸化作用や広範な免疫賦活作用を有しているという事実より口腔粘膜疾患の予防や創傷治癒の促進といった、何らかの生理的役割を果たしている可能性があることに着目した。

口腔粘膜は常に唾液に覆われており、唾液による保湿、保護、緩衝、消化、抗菌、組織修復などの働きにより、恒常性が維持されている。このことから、口腔粘膜疾患の原因のひとつに、唾液の粘膜保護作用が低下していることもあげられる。特に、老化による唾液の機能低下や量の減少は、高齢者に口腔粘膜疾患罹患率が高いことの一因であると考えられることから、加齢による唾液の粘膜保護作用の低下を抑制することにより、これら口腔粘膜疾患の予防や治療を図ることができると考えられる。

そこでまずわれわれは唾液中のメラトニンが唾液腺由来であることを確認するため、メラトニン合成酵素が唾液腺に発現しているか否かについて検討したところ、予備的実験結果ながら律速酵素であるarylalkylamine N-acetyltransferase (AANAT)がラット唾液腺(耳下腺、顎下腺、舌下腺)において導管上皮細胞に発現していることを確認した。これらの所見から唾液中のメラトニンが、唾液腺によって合成・分泌されていることが強く示唆され、この事実はメラトニンが口腔粘膜に対してなんらかの生理的役割を果たすために唾液中に分泌されていることを示唆しているものと考えられる。

このような観点から、本研究においては、唾液中のメラトニンの合成・分泌系を明らかにするとともに口腔粘膜におけるメラトニンの生理的作用、特に粘膜の保護および創傷治癒促進に関与している可能性につき検討を行う。本研究を遂行することにより、メラトニンの口腔粘膜における生理的役割が解明されることで、超高齢社会を迎え今後増加するであろう口腔粘膜疾患の予防や治療に大きく貢献し得ると考えている。

2. 研究の目的

酸化ストレスは超高齢社会を迎え増加する口腔粘膜疾患においても、多くの病態・疾病の発症に関与している。このことから本研究では、唾液中にも存在する極めて強力な抗酸化作用を有するメラトニンに着目した。唾液中のメラトニンの合成・分泌系はいまだ明らかではないが、近年、多く報告されている種々の臓器や組織における合成や局所作用を考慮すると、唾液中のメラトニンが唾液腺より合成・分泌され、常時唾液によって湿潤されて

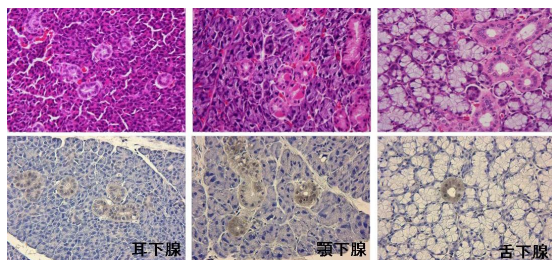
いる口腔粘膜に対し、何らかの生理的役割を果たしている可能性が高いと考えた。本研究では、唾液中のメラトニン合成・分泌経路および口腔粘膜における生理的役割を明らかにするとともに、口腔粘膜疾患の予防・治療におけるメラトニンの応用の可能性を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

唾液中のメラトニンが唾液腺自身によって合成・分泌されていることを確認し、口腔粘膜疾患の予防・治療におけるメラトニンの有用性を明らかにすることを目的に、ヒトおよびラットの唾液腺におけるAANAT、HIOMT およびメラトニンの発現について検討し、またヒト口腔粘膜上皮細胞を用いてその増殖や分化に対するメラトニンの影響について検討する。さらに、口腔粘膜創傷治療に対するメラトニンの応用について検討するために動物を用いた口腔粘膜損傷にメラトニンを作用させ、その治療を促進することが可能かどうかにつき検討する。

4. 研究成果

唾液中に含まれるメラトニンがどこで産生・分泌されているのか確認するため、唾液腺におけるメラトニン合成の律速酵素、AANAT、HIOMT の発現について免疫組織化学的に検討したところ、いずれの酵素も唾液腺組織に発現し、またメラトニンそのものも唾液腺組織において発現していることを確認した。



このことから、唾液中におけるメラトニンは唾液腺から産生・分泌されていることが強く示唆された。また、唾液腺におけるこれら律速酵素の mRNA 発現についてもリアルタイム PCR にて確認したところ、これらの mRNA 発現が確認された。

さらにヒト口腔粘膜上皮細胞を用いて、その増殖、分化、細胞遊走に対するメラトニン

の影響について検討したところ、増殖に対しては抑制傾向を認め、また、分化に対してはやや促進する傾向が認められたが明らかな有意差は認められなかった。また細胞遊走に関しても明らかな影響は認められなかった。ただし、ヒト口腔粘膜上皮細胞に予め酸化ストレスを加え、その後、メラトニンを加えることで、増殖に対する抑制傾向がやや軽減され、ダメージを受けた細胞に対するメラトニンの効果に特徴的なものが存在する可能性が示唆された。これは分化に関しても細胞遊走に関しても通常の細胞と酸化ストレスを受けた後の細胞では反応に差があり、これらはさらに今後検討が必要であると考えられる。

また、口腔粘膜創傷治療に対するメラトニンの影響につき検討するために、日本家兔の下顎歯肉に化学熱傷を作製し、同部にメラトニンをゲル化させたものを貼付し、口腔粘膜創傷治療の促進効果について検討したところ、メラトニン投与により創傷の治療促進傾向は認められたものの、有意差は認められなかった。このことから、メラトニンの影響についてはその障害の種類や程度により効果に差があることが考えられ、今後の検討課題である。

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)

〔学会発表〕(計 3 件)

梅木 泰親、徳山 麗子、下間 雅史、
他 ヒト口腔粘膜上皮細胞に対するメラトニンの影響 日本口腔科学会学術集会
2012.5.17-18 広島

梅木 泰親、徳山 麗子、下間 雅史、
他 ヒト口腔粘膜上皮細胞に対するメラトニンの影響 鶴見歯学会
2012.6.9 横浜

梅木 泰親、徳山 麗子、下間 雅史、
他 ヒト口腔粘膜上皮細胞に対するメラトニンの影響 日本抗加齢
医学会総会 2012.6.22-24 横浜

6. 研究組織

(1)研究代表者

下間 雅史 (SHIMOZUMA Masashi)

鶴見大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号： 24792262

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし