

様 式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

科学研究費助成事業

研究成果報告書



平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25862058

研究課題名(和文) 糖尿病の創傷治癒におけるビタミン B6, B12 および葉酸の影響

研究課題名(英文) The effect of B vitamin supplementation on wound healing in type 2 diabetes mellitus

研究代表者

高野 麻由子 (TAKANO, Mayuko)

日本大学・歯学部・専修医

研究者番号：90623968

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000 円

研究成果の概要(和文)：本研究では、糖尿病の創傷治癒遅延に対するビタミンB6、B12および葉酸の影響を検証した。糖尿病マウスを用い、ビタミン溶液または蒸留水の経口投与を開始し、投与2週間後、マウス背部に皮膚全層欠損創を作成し術後2週間の変化を評価した。結果、ビタミン投与糖尿病マウス群では蒸留水投与群と比較し血糖値が有意に減少し、肝臓中TNF- α およびIL-6遺伝子発現にも著しい減少がみとめられ、CBS遺伝子発現は有意な増加がみとめられた。創傷面積でも有意な創傷治癒遅延の改善が観察された。以上のことから糖尿病の病態におけるビタミンB6、B12および葉酸の摂取は、創傷治癒遅延改善の一助となる可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to test the effects of B-group vitamin supplements on wound healing in diabetic mice. The mice in the experimental group were treated daily with B6, B12, and folic acid in their drinking water. Full-thickness excision wounds were created with 6-mm skin biopsy punches. Each wound closure was digitally photographed. Beginning on day 3 after wounding, the wound area in the diabetic mice was statistically larger than that of normal mice ($P < 0.05$; vs diabetic mice). The diabetic mice treated with B vitamins displayed accelerated wound closure on day 3 (wound area $42.8 \pm 11.3\%$; $P < 0.05$). The diabetic mice treated with B vitamins displayed accelerated wound closure on day 3 (wound area $13.2 \pm 16.8\%$; $P < 0.05$). In addition, the high glucose level in the diabetic animals decreased significantly in response to B vitamin treatment. In conclusion, the results of this study indicate that B vitamin supplementation may improve wound healing in diabetic mice.

研究分野：歯周病学

キーワード：糖尿病 創傷治癒 ビタミンB6 ビタミンB12 葉酸 肝臓 炎症性サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

歯周病と糖尿病は相互に関連し合う疾患として注目されている。糖尿病による持続的な高血糖状態は、終末糖化産物による炎症の亢進に加え、歯肉の微細な血管の障害をきたし、白血球機能障害、コラーゲン代謝障害や創傷治癒遅延を引き起こす。そして、それらが歯周病原細菌感染に対する免疫応答や組織修復能を低下させ、歯周病の病態を悪化させるリスクファクターの 1 つとして考えられている。ビタミン B6、B12 および葉酸は免疫応答および組織修復に深く関与する因子として知られており、糖尿病の病態におけるビタミン B6 の欠乏が報告されている (Saito M et al. Osteoporos Int, 2006)。これは、糖尿病患者の体内では糖代謝に代わりタンパク質の代謝が優位となり、ビタミン B6、B12 および葉酸の消費量が増加するためであると考えられている。また、ビタミン B6、B12 および葉酸の欠乏によりコラーゲンの脆弱化がおり、創傷治癒遅延・骨質低下・骨低形成となることや、ビタミン B6、B12 および葉酸の低下がホモシステインの増加を引き起こし骨折リスクを高めるとした動物研究 (Saito M et al. Osteoporos Int, 2006; Tucker KL et al. J Bone Miner Res, 2005)、そしてビタミン B12 および葉酸投与による骨質改善や骨折リスクの低下を示した疫学研究が報告されている (Saito M et al. JAMA, 2005)。

2. 研究の目的

本研究ではこのような背景のもと、糖尿病動物モデルにおける創傷治癒遅延、骨質低下、骨低形成にビタミン B6、B12、および葉酸がどのように影響するかに着目し、皮膚全層欠損および骨欠損に対する作用とメカニズムの解明に着想し、この点について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

生後 6 週齢の糖尿病マウス (KKAy/Ta) と、コントロールマウス (C57BL/6) を用い、2 週間の予備飼育後、ビタミン B6、B12 および葉酸を含んだ溶液または蒸留水の経口投与を開始する。創傷治癒の検討を行うため、投与 2 週間後、マウス背部に皮膚トレパンにて 6.0 mm の皮膚全層欠損創を作成し、術後 2 週間の創傷治癒およびメディエーター (Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6) および cystathionine β -synthase (CBS)) の変化を評価した。

4. 研究成果

(1) 血糖値および体重の変化

ビタミン B6、B12 および葉酸溶液を経口投与した糖尿病マウス群では、蒸留水を経口投与した糖尿病マウス群と比較し、著しい血糖値の減少効果がみとめられた (Fig.1)。

体重の著明な変化はみとめられなかった (Fig.2)。

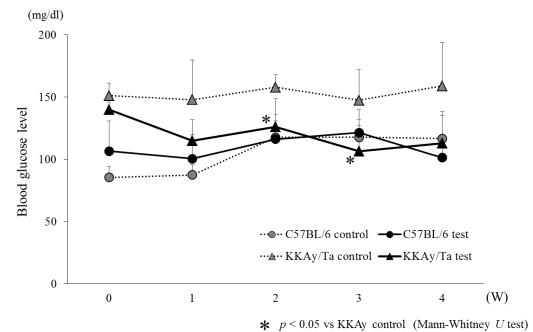


Figure 1

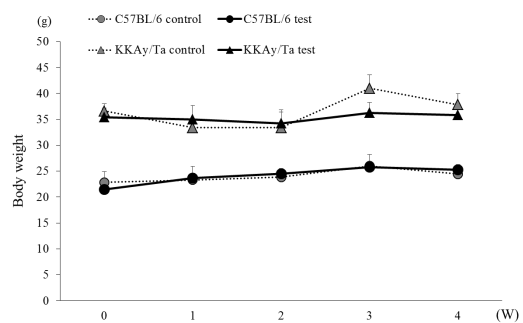


Figure 2

(2) 血清中 TNF- α および IL-6 タンパク量の変化

皮膚全層欠損創作成後 14 日目における血清中 TNF- α および IL-6 タンパク質濃度を ELISA 法を用いて検証したところ、ビタミン投与による著明な変化はみとめられなかった (Fig.3A,B)。

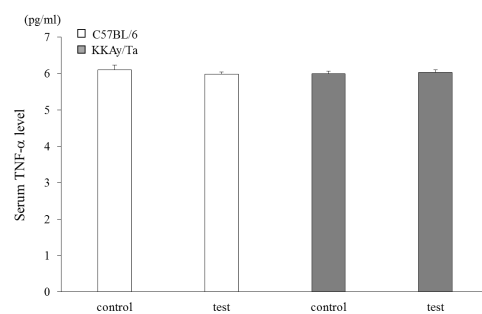


Figure 3 A

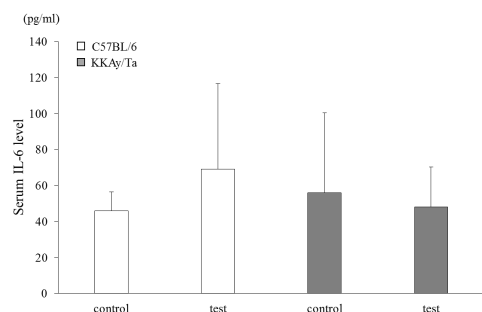


Figure 3 B

(3) 肝臓中 TNF- α , IL-6 および CBS 遺伝子発現量の変化

リアルタイム PCR 法を用いて肝臓中 TNF- α , IL-6 および CBS 遺伝子発現量の変化について検証した結果、ビタミン投与を行った糖尿病マウス群において TNF- α および IL-6 といった炎症性サイトカイン遺伝子発現の著しい減少がみとめられた (Fig.4A,B)。また、肝臓中 CBS 遺伝子発現はビタミン投与を行った糖尿病群において有意な増加がみとめられた (Fig.4C)

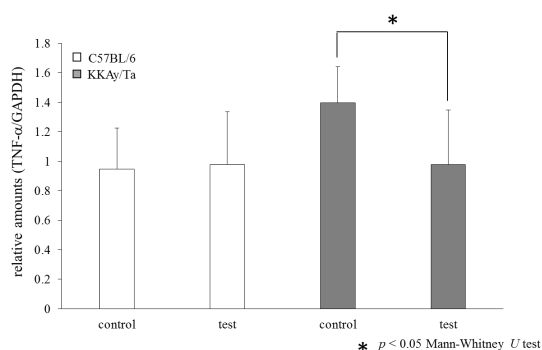


Figure 4 A

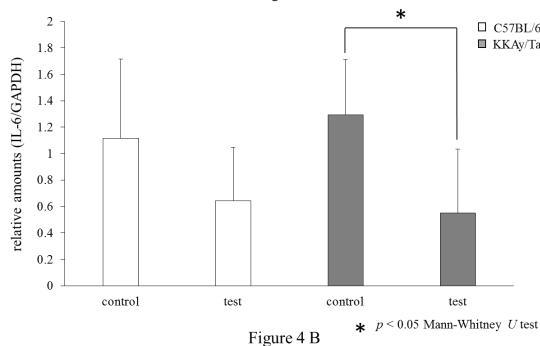


Figure 4 B

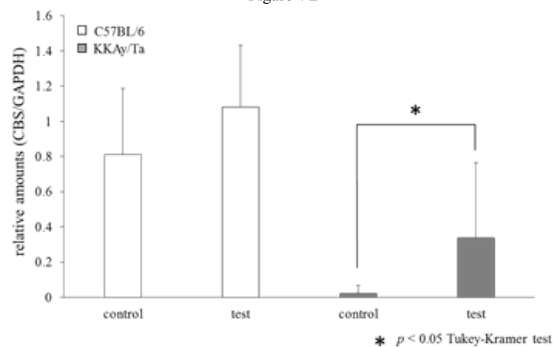


Figure 4 (C)

(4) 皮膚全層欠損創に対する治癒遅延の変化

皮膚全層欠損創製作後3日の時点において、蒸留水を経口投与したコントロールマウス群の創傷面積は $30.2 \pm 12.9\%$ であったのに対し、蒸留水経口投与を行った糖尿病マウス群では $63.4 \pm 21.4\%$ と明らかな創傷治癒遅延が観察されたが、ビタミン B6, B12 および葉酸投与によって糖尿病マウス群の創傷面積は $42.8 \pm 11.3\%$ に改善し、有意な創傷治癒遅延の改善が蒸留水経口投与糖尿病マウス群と比較して観察された (Fig.5)。

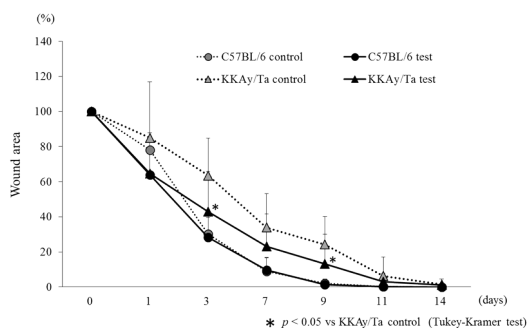


Figure 5

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 1 件)

Mochizuki S, Takano M, Sugano N, Ohtsu M, Tsunoda K, Koshi R, Yoshinuma N. The effect of B vitamin supplementation on wound healing in type 2 diabetic mice. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition. 査読有, 2016.

Jan;58(1):64-68

DOI:10.3164/jcbl.14-122

〔学会発表〕(計 4 件)

Takano M, Mochizuki S, Sugano N, Iguchi S, Suzuki D, Ozawa Y, Yoshinuma N, Sato S. Effects of vitamin B complex supplementation on bone regeneration in rat calvarium. 102th American Academy of Periodontology Annual Meeting. San Diego. USA. 12/9/2016.

Takano M, Mochizuki S, Sugano N, Otsu M, Orii H, Goke E, Sato S. The effect of vitamin B supplementation on *Porphyromonas gingivalis* infection in type 2 diabetic mice. 101th American Academy of Periodontology Annual Meeting. Orland. USA. 15/11/2015.

Takano M, Iwano Y, Mochizuki S, Otsu M, Kishida O, Makino N, Sugano N. The effect of oral infection with *Porphyromonas gingivalis* on cytokine levels in liver using a type 2 diabetic mouse model. 100th American Academy of Periodontology Annual Meeting. San Francisco. USA. 21/9/2014.

Mochizuki S, Sugano N, Takano M, Otsu M, Uchiyama T, Ogiso B, Ito K. The effect of Vitamin B6, B12 and folic acid on wound healing in type 2 diabetic mice. 100th American Academy of Periodontology Annual Meeting. San Francisco. USA. 21/9/2014.

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 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 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

高野 麻由子 (TAKAN0 Mayuko)
日本大学・歯学部・専修医
研究者番号：90623968

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：