

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月25日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22792094

研究課題名（和文）：梅抽出液MK615の抗炎症作用、骨破壊抑制作用の解析：新たな歯周病予防への可能性

研究課題名（英文）：Analysis of the effects of MK615 for anti-inflammation and inhibition of bone destruction：The novel possibility of prevention for periodontal disease.

研究代表者：森元 陽子 (MORIMOTO YOUKO)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・助教

研究者番号：30437967

研究成果の概要（和文）：

今回の研究において梅肉抽出エキス MK615 の抗炎症作用に着目し、歯周病原細菌の LPS 刺激下での MK615 による炎症性サイトカイン産生抑制効果、骨破壊抑制効果を解析した。その結果、歯肉線維芽細胞やマクロファージ様細胞からの TNF- α や IL-6,8 などのサイトカイン産生は MK615 の濃度依存的に抑制され、それは MAPKs/ NF- κ B 経路の阻害によるものであることが示された。また、MK615 添加によって破骨細胞前駆細胞から破骨細胞への分化を抑制し、骨破壊も抑制できることも示された。

研究成果の概要（英文）：

Focused on the anti-inflammatory effect of MK615 (an extract of compounds from Japanese apricot), we were analyzed the inhibitory effect of MK615 for inflammatory cytokine production under LPS stimulation of periodontal pathogenic bacteria, the effect of inhibiting bone destruction, in this study. As a result, production of cytokines such as TNF- α , IL-6 and IL-8 from macrophage-like cells and gingival fibroblasts is suppressed in a dose-dependent manner of MK615, it should be due to inhibition of the pathway MAPKs / NF- κ B has been shown. In addition, it was also shown that the inhibition of osteoclast differentiation from osteoclast progenitor cells by the addition of MK615.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：【医歯薬学】

科研費の分科・細目：【歯学・歯周治療系歯学】

キーワード：歯周病、MK615、抗炎症、骨吸収抑制

1. 研究開始当初の背景

歯周病は、軽度から重度に至るまで成人の80%以上が罹患する疾患であり、歯を喪失する最大の原因であるばかりでなく、全身疾患

との関連が深いため、高齢化社会を豊かに過ごすためには解決しなければならない重要な課題である。

歯周病は歯周病原細菌（嫌気性グラム陰性菌）の口腔内感染によって惹起される慢性炎症性疾患で、最終的には歯槽骨やセメント質などの歯周組織の破壊を来す。そのため、**炎症の原因除去**と同時に、**炎症性骨吸収を阻害することが歯周病の確実な治療に繋がる**と考えられる。

古来より日本の梅は健康増進効果に着目されている。近年、梅肉抽出エキスには抗腫瘍作用、抗酸化作用、ピロリ菌に対する殺菌作用などがあることが報告されており、我々はMK615の抗酸化作用により炎症性サイトカン様物質 (High Mobility Group Box-1: HMGB1) の産生が抑制されることを明らかにした。しかし、MK615の歯周組織における効果は確認されていない。そこで今回、MK615の抗炎症作用に着目し、MK615により歯周病原細菌のLPS刺激での炎症性サイトカイン産生を抑制でき、また、MK615により破骨細胞形成作用と破骨細胞の骨吸収作用が阻害できるのではないかとの着想を得た。

2. 研究の目的

今回、梅肉抽出エキス MK615 の抗炎症作用に着目し、歯周病原細菌 LPS 刺激下での MK615 による炎症性サイトカイン産生抑制効果、骨破壊抑制効果を解析することにより歯周病予防・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する。

3. 研究の方法

- (1) 歯肉線維芽細胞やマクロファージ様細胞 (RAW264.7 cells) を歯周病原菌 (*P.gingivalis* や *A.actinomycetemcomitans*) の LPS で刺激した際の TNF- α や IL-6,8 などのサイトカイン産生を MK615 が抑制するか検討した。
- (2) MK615 のサイトカイン産生の抑制経路を解析した。

- (3) MK615 が破骨細胞前駆細胞から破骨細胞への分化を抑制するか TRAP 染色で解析した。

- (4) MK615 添加によって破骨細胞の骨吸収作用が阻害されるかどうかピットアッセイにて解析した。

4. 研究成果

- (1) 歯肉線維芽細胞や RAW264.7 cells を *P.gingivalis* や *A.actinomycetemcomitans* の LPS で刺激した際の TNF- α や IL-6,8 などのサイトカイン産生は MK615 の濃度依存的に抑制された。

- (2) RAW264.7 cells において、MK615 により *P.gingivalis* LPS(100ng/ml) 刺激による MAPKs(ERK1/2, p38MAPK, JNK) のリン酸化が有意に抑制された。また、RAW264.7 cells において、MK615 により *P.gingivalis* LPS 刺激による I κ B の degradation は有意に抑制され、NF- κ B p65 のリン酸化も有意に抑制された。

- (3) MK615 が破骨細胞前駆細胞から破骨細胞への分化を抑制するか TRAP 染色で解析したところ、Positive control と比較して MK615 を添加したものは低濃度でも破骨細胞の大きさや核の数に変化が認められ、濃度依存的に有意に破骨細胞前駆細胞から破骨細胞への分化が抑制された。10 μ l/ml の濃度では破骨細胞への分化は認められなかった。

- (4) MK615 添加によって破骨細胞の骨吸収作用が阻害されるかどうかピットアッセイにて解析したところ、Positive control と比較して MK615 を添加したものは濃度依存的に破骨細胞によって吸収された面積が小さくなっていった。10 μ l/ml の濃度では吸収は認められなかった。

今回の結果により MK615 の抗炎症作用や骨吸収阻害作用が示されたことから MK615

が歯周病予防・治療への新たなアプローチとなる可能性が示唆された。

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 11 件)

- ① **Yoko Morimoto-Yamashita**, Miki Matsuo, Hitoshi Komatsuzawa, Ko-ichi Kawahara, Kiyoshi Kikuchi, Mitsuo Torii, Masayuki Tokuda.
MK615: A new therapeutic approach for the treatment of oral disease.
Medical Hypotheses, 77: 2011, 258-260. 査読有
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306987711001903>
- ② 川上克子, 徳田雅行, **山下・森元 陽子**, 梶原武弘, 藤澤真理, 宮下桂子, 江本真規子, 鳥居光男
エンドウエープ™システムによる彎曲根管へのポイントの適合性
日本歯科保存学雑誌 54 (5); 2011, 341-345. 査読有
- ③ Kiyoshi Kikuchi, Naoki Miura, **Yoko Morimoto**, Takashi Ito, Salunya Tancharoen, Kei Miyata, Chiemi Kikuchi, Narumi Iida, Nobuyuki Takeshige, Hisaaki Uchikado, Naohisa Miyagi, Naoto Shiomi, Terukazu Kuramoto, Teruto Hashiguchi, Ikuro Maruyama, Motohiro Morioka and Ko-ichi Kawahara
Beneficial Effects of the Free Radical Scavenger Edaravone (Radicut) in Neurologic Diseases
J Neurol Neurophysiol, 1; 2011. 1-5. 査読有
- ④ Kiyoshi Kikuchi, Ko-ichi Kawahara, Hisaaki Uchikado, Naohisa Miyagi,

Terukazu Kuramoto, Tomoya Miyagi, **Yoko Morimoto**, Salunya Tancharoen, Naoki Miura, Teruto Hashiguchi, Ikuro Maruyama, Takashi Tokutomi, and Minoru Shigemori

Minocycline attenuates both OGD-induced HMGB1 release and HMGB1-induced apoptosis in ischemic neuronal injury in PC12 cells.

Neurotraumatology, 33 (2): 2010, 241-243. 査読有

- ⑤ Kiyoshi Kikuchi, Ko-ichi Kawahara, Kamal Krishna Biswas, Takashi Ito, Salunya Tancharoen, Naoto Shiomi, Yoshiro Koda, Fumiyo Matsuda, **Yoko Morimoto**, Yoko Oyama, Kazunori Takenouchi, Naoki Miura, Noboru Arimura, Yuko Nawa, Shinichiro Arimura, Xiaojie Meng, Binita Shrestha, Masahiro Iwata, Kentaro Mera, Hisayo Sameshima, Yoshiko Ohno, Ryuichi Maenosono, Yutaka Tajima, Hisaaki Uchikado, Terukazu Kuramoto, Kenji Nakayama, Minoru Shigemori, Yoshihiro Yoshida, Teruto Hashiguchi and Ikuro Maruyama.
HMGB1: A new marker for estimation of the postmortem interval.
Experimental and Therapeutic Medicine, 1 (1): 2010, 109-111. 査読有
<http://www.spandidos-publications.com/etm/1/1/109>
- ⑥ Kikuchi K, Kawahara K, Miyagi N, Uchikado H, Kuramoto T, **Morimoto Y**, Shigemori M. Edaravone: a new therapeutic approach for the treatment of acute stroke.
Medical Hypotheses, 75(6): 2010,

583-585. 査読有

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306987710002859>

- ⑦ Kiyoshi Kikuchi, Ko-Ichi Kawahara, Chiyoko Tsuji, Yutaka Tajima, Terukazu Kuramoto, Miwako Shihara, Yukari Koga, Naoto Shiomi, Hisaaki Uchikado, **Yoko Morimoto**, Naoki Miura, Kentaro Mera, Yoshiko Ohno, Naohisa Miyagi, Teruto Hashiguchi, Ikuro Maruyama, Naohumi Hayabuchi, Kenji Nakayama and Minoru Shigemori.

Post mortem contrast-enhanced computed tomography in a case of sudden death from acute pulmonary thromboembolism.

Experimental and Therapeutic Medicine, 1 (3): 2010, 503-505.

査読有

<http://www.spandidos-publications.com/etm/1/3/503>

[学会発表] (計 3 件)

- ① **森元陽子**、徳田雅行、鳥居光男
歯周病と糖尿病の病態ネットワークにおける HMGB1 の関与
第 54 回日本歯周病学会秋季学術大会
(2011 年 9 月 24 日、山口県, 下関市)
- ② **Yoko Morimoto-Yamashita**, Masayuki Tokuda, Mitsuo Torii,
MK615 attenuates *P. gingivalis* lipopolysaccharide-induced IL-6 release in RAW264.7 cells.
96th AAP annual meeting,
(2010 年 11 月 1 日アメリカ、ハワイ)
- ③ **Yoko Morimoto-Yamashita**, Masayuki Tokuda, Mitsuo Torii,
MK615 attenuates *P. gingivalis*

lipopolysaccharide-induced TNF- α release in RAW264.7 cells.

88th General Session and Exhibition of the IADR,

(2010 年 7 月 15 日スペイン、バルセロナ)

[図書] (計 4 件)

- ① **Yoko Morimoto-Yamashita**, Masayuki Tokuda, Kiyoshi Kikuchi, Ikuro Maruyama, Mitsuo Torii, and Ko-ichi Kawahara.
HMGB1: A Novel Inflammatory Mediator in Chronic Periodontitis.
Periodontal Disease: Symptoms, Treatment and Prevention.
2011 1st quarter pp.273-286, 2011
(NOVA Publishers)

https://www.novapublishers.com/catalog/product_info.php?products_id=24242

- ② **森元陽子**、徳田雅行、鳥居光男
梅肉抽出エキス MK615 は歯周病抑制に効果あり、**鹿児島県歯科医師会会報**
6・7月号、2011 pp.8-10.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森元 陽子 (MORIMOTO YOUKO)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・助教
研究者番号：30437967