

令和元年6月25日現在

機関番号：32703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11901

研究課題名(和文)メンタルストレスで生ずる活性酸素種の同定と抗酸化物質によるストレス軽減法の検討

研究課題名(英文) Identification of reactive oxygen species generated by mental stress and examination of stress reduction method by antioxidant

研究代表者

李 昌一 (Lee, Masaichi)

神奈川歯科大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号：60220795

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究により、唾液を用いた電子スピン共鳴(ESR)法を用いた活性酸素種消去能(抗酸化能)評価を確立した。また、安静時唾液と刺激唾液で抗酸化能の相違も確認した。このESR法による抗酸化能評価は採取後4 保管における安静時唾液48時間以内で測定値に影響を与えないことを確認したことから、被災地での唾液採取条件の標準化を可能とし、抗酸化能のモニタリングによる災害関連死を含めたメンタルストレスによるリスク評価法開発への可能性が示唆された。また、アスコルビン酸などの抗酸化物質の検討なども行い、唾液中抗酸化能を確認したことから、抗酸化物質のスクリーニングに唾液を用いたESR法が有用であることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メンタルストレスを評価するマーカーはあるが、酸化ストレスの面から評価した研究、とくに、活性酸素種の直接的な抗酸化能評価を唾液を検体として行った研究は皆無であることから、本研究成果が学術的意義が高い成果である。さらに、最終的にこのように本研究で得られたメンタルストレス評価を我が国においても極めて重要な課題ある災害のメンタルストレス評価に臨床応用可能な知見にまで研究成果として得られたことはさらに社会的に意義深い研究になったと考えている。

研究成果の概要(英文)：This study established the evaluation of reactive oxygen species scavenging activity (antioxidant activity) using electron spin resonance (ESR) method using saliva. In addition, differences in antioxidant capacity were also confirmed in resting and stimulated saliva. As it became clear that the evaluation of the antioxidant activity by those ESR method did not affect the measured value within 48 hours of resting saliva at 4 storage after collection, it is possible to standardize the condition of saliva collection in the disaster area. It was suggested that the possibility of developing a risk assessment method due to mental stress including disaster related death by monitoring the antioxidant capacity. Furthermore, we confirmed antioxidant such as ascorbic acid etc. in saliva using ESR method. Thus, it was confirmed that the ESR method using saliva for screening of antioxidants is useful.

研究分野：酸化ストレス医学

キーワード：メンタルストレス 活性酸素種 酸化ストレス 唾液 抗酸化物質 電子スピン共鳴法 災害医学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

厚生労働省が実施している患者調査によれば、メンタルストレスによる精神疾患患者は、2011 (平成 23) 年は 320.1 万人となっており、いわゆる 4 大疾患 (がん、脳卒中、急性心筋梗塞、糖尿病) よりも多い状況となっている。また、研究代表者は 2011 年より災害医学歯科学を担当しており、東日本大震災では建物の倒壊や火災、津波などによる直接的な被害でその後の避難生活での体調の悪化や過労など間接的な原因で死亡する、いわゆる災害 (震災) 関連死にも関与するメンタルストレスの研究に従事してきた。災害前から疾病の治療中断、避難所における生活環境の変化が重なると、メンタルストレスによるうつ病に代表される精神疾患と既往症 (とくに循環器系疾患) の増悪が起こり、その過程で口腔領域にも関わる脳血管障害からの摂食嚥下障害から誤嚥性肺炎を含めた肺炎が起きやすくなることが知られている。復興庁による東日本大震災における震災関連死の死者数は 3,331 人 (平成 27 年 3 月 31 日現在調査結果) にまでになっていることも報告されている。

メンタルストレスを有する抑うつ状態の患者は、味覚異常や口腔乾燥感、義歯不適合感などの様々な口腔症状を訴えることも多く、潜在的に相当数の患者が歯科を初診しているものと推測される。そこで、これまでの、かかりつけ身体科医では対応しきれなかった症例を歯科医師が補う形でうつ病などの「メンタルストレス評価」を行えば、うつ病予防などの精神疾患のゲートキーパーとなる可能性がある。また、大規模災害時においても、メンタルストレスによって災害関連死に至る危険性の高い人の早期発見にも役立つ評価となり、歯の身元鑑定以外の災害医学領域における歯科医療従事者の参入にもつながる。

メンタルストレスに発症の要因の一つとして環境要因により生じる酸化ストレスによる抗酸化システムの破綻が想定されており、この酸化ストレスは活性酸素種 (reactive oxygen species; ROS) を発生し、細胞の構造や機能の維持に関わる蛋白質、脂質、酵素、DNA などに障害を与えることが示されており、このような生体の機能に影響・障害することが災害関連死にも関わるメンタルストレスだけではなく、生活習慣病 (とくに循環器系疾患) 等様々な疾患の病因となる。一方、非侵襲的で簡便に採取可能である唾液を用いたメンタルストレス評価はこれまで唾液コルチゾール、クロモグラニン A、アミラーゼなどが用いられてきたが、あくまでこれらのマーカーはメンタルストレスの評価であって、ROS による酸化ストレス評価ではない。唾液を用いて、メンタルストレスにどのような ROS が主たる役割を持っているのか、あるいは ROS による酸化ストレスを中和・消去する作用を有する抗酸化物質に関するメンタルストレス評価についてはこれまで行われていないので、本研究プロジェクトを着想した。

2. 研究の目的

メンタルストレスにどのような ROS が主たる役割を持っているのか、あるいは ROS による酸化ストレスを中和・消去する作用を有する抗酸化物質に関するメンタルストレス評価についてはこれまで行われていない。そこで、本研究では唾液による酸化ストレス評価を行うことで、精神疾患に関わるメンタルストレスに関与する ROS の同定・検出と抗酸化物質の評価を行うことで、メンタルストレス評価法として災害関連死の予防含めた精神疾患検査法の開発のための臨床的基盤の構築を行うことである。

3. 研究の方法

● 唾液検査項目

コントロール群は、精神疾患既往症のない健康ボランティアの唾液を用いる。インフォームドコンセントを十分に行って同意が得られた両対象者の安静時唾液と刺激唾液を採取し、唾液分泌量、唾液酸化測定する。

● 唾液の ROS 消去能 (抗酸化能) の解析

研究代表者らが報告した (総説: 日本薬理学会誌, 2006, 薬学雑誌, 2008, J Clin Biochem Nutr, 2013.) 方法に従って、ESR スピントラップ法を駆使して以下の ROS 産生系に対する前記唾液消去能の解析を行う。これらの唾液の ROS 消去能に対する結果を、ロジスティック回帰分析から健常者とメンタルストレス対象者あるいは MUS 対象者を鑑別可能かを判断し、前述した ROS 同定結果の解析結果と総括して、メンタルストレスに関与する ROS の役割をさらに明確にする。

- 抗酸化物質の唾液抗酸化能評価

本研究計画での実験データと、これまで研究代表者、研究分担者の教室で検討した抗酸化物質における ESR 法による唾液抗酸化能評価法を用いて抗酸化物質の評価を進める。とくに、本研究計画で検討されたメンタルストレスによる精神疾患の診断を受けた者および歯科医師によって MUS と診断された者に特化した抗酸化物質の評価を行い、これら対象者に抗酸化物質の臨床応用を可能にする基礎的・臨床的研究を行う。

4. 研究成果

本研究の目的は非侵襲的で簡便に採取できる唾液を用いて、メンタルストレスに關与する活性酸素種 (ROS) による酸化ストレスの直接的な抗酸化物質評価法を確立し、災害関連死を含めたメンタルストレスによる疾患予防に役立つ評価法の開発である。健常被験者の唾液における ROS の役割の解明のため、唾液による電子スピン共鳴 (ESR) 法を用いた ROS の検出・同定を試み、健常被験者の唾液による ROS 消去能は確認された。さらに、安静時唾液中の ROS の消去能は、刺激唾液と比較して、すべての経過時間において安静時唾液で有意に高い値を示した。このように唾液の ROS 消去能は安静時唾液と刺激唾液で違いがあることが明らかになった。すべての ROS 消去能では、刺激唾液に比較して安静時唾液で高値を示した。すなわち、採取する唾液について安静時唾液、刺激唾液の鑑別が必要であり、また、採取後 4 保管における安静時唾液 48 時間以内、刺激唾液 24 時間以内では ESR 測定値に影響を与えないことが明らかとなった。これにより、被災地での唾液採取の条件を基準化でき、定期的、継続的な唾液中の抗酸化能のモニタリングによる避難所・仮設住宅における個々の被災者の酸化ストレス度の変動による生活習慣病の予防、災害関連疾患の早期発見につながるリスク評価への応用の可能性が示唆された。この結果から、抗酸化物質のメンタルストレス由来 ROS への消去能の解析による抗酸化物質のスクリーニングをおこなった。有効な抗酸化物質の絞り込みを実施するための基礎的実験として、代表的な抗酸化物質であるアスコルビン酸の検討なども行い、アスコルビン酸の唾液中 ROS 消去活性を確認し、抗酸化物質のスクリーニングに唾液を用いた ESR 法が有用であることが確認された。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文) (計 8 件)

1. Kobayashi K, Dong R, Nicolalde RJ, Calderon P, Du G, Williams BB, Lee MC, Swartz HM, Flood AB. Development of a novel mouth model as an alternative tool to test the effectiveness of an in vivo EPR dosimetry system. *Phys Med Biol*. 2018 Aug 10;63(16):165002. doi: 10.1088/1361-6560/aad518. 査読有
2. 李 昌一 , 健康寿命延伸のための食品開発に向けた抗酸化評価の動向, *食品と開発*, 53, 2, 14-16, 2018. 査読無
3. 李 昌一 , 小松知子. 唾液を用いた食品の抗酸化評価-歯周病・生活習慣病予防のための食品抗酸化評価への展望-, *食品と開発*, 53, 2,14-16, 2018. 査読無
4. Saita M, Ikeda T, Yamada M, Kimoto K, Lee MC, Ogawa T. UV photofunctionalization promotes nano-biomimetic apatite deposition on titanium. *Int J Nanomedicine*. 2016 Jan 12;11:223-34. doi: 10.2147/IJN.S95249. eCollection 2016. 査読有

5. Tanaka Y, Toyama T, Wada-Takahashi S, Sasaki H, Miyamoto C, Maehata Y, Yoshino F, Yoshida A, Takahashi SS, Watanabe K, Lee MC, Todoki K, Hamada N. Protective effects of (6R)-5,6,7,8-tetrahydro-l-biopterin on local ischemia/reperfusion-induced suppression of reactive hyperemia in rat gingiva. *J Clin Biochem Nutr.* 2016 Jan;58(1):69-75. doi: 10.3164/jcfn.15-69. Epub 2015 査読有
6. Funaki S, Tokutomi F, Wada-Takahashi S, Yoshino F, Yoshida A, Maehata Y, Miyamoto C, Toyama T, Sato T, Hamada N, Lee MC, Takahashi SS. Porphyromonas gingivalis infection modifies oral microcirculation and aortic vascular function in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHRSP). *Microb Pathog.* 2016 Mar;92:36-42. doi: 10.1016/j.micpath.2015.12.009. Epub 2015 査読有
7. Saita M, Kaneko J, Sato T, Takahashi SS, Wada-Takahashi S, Kawamata R, Sakurai T, Lee MC, Hamada N, Kimoto K, Nagasaki Y. Novel antioxidative nanotherapeutics in a rat periodontitis model: Reactive oxygen species scavenging by redox injectable gel suppresses alveolar bone resorption. *Biomaterials.* 2016 Jan;76:292-301. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.10.077. Epub 2015 査読有
8. 片山幸太郎, 糸賀 裕, 山下浩司, 李 昌一. 東日本震災災害派遣の歯科業務で得られた教訓 - 第2報 壊死性潰瘍性歯肉炎(NUG)への対応 -, 防衛衛生 63(1,2):37-44, 2016. 査読有

[学会発表] (計 22 件)

1. 李 昌一, ダウン症候群の食と栄養を考える, 第1回ダウン症候群口腔ケア・フォーラム in 神奈川, 2019.
2. 李 昌一, 小松知子, 赤崎さとみ, 菅野範, 吉田圭司郎, 岡部愛子, 森本佳成, 平山 暁, 佐藤圭創, 口腔機能の新しい生理学・病態生理学的役割への ESR エビデンスによるトランスレーショナルリサーチ, 第2回九州トランスレーショナル ESR 研究会, 2019.
3. 小松知子, 重藤良太, 赤坂 徹, 石井裕美, 宮崎沙良, 松澤直子, 森本佳成, 李 昌一, オーラルフレイル予防への抗酸化食品のトランスレーショナルリサーチ - 医科・歯科・栄養多職種連携による地域歯科医療への臨床展開, 平成30年度 神奈川県地域歯科医療研修会, 2019.
4. 李 昌一, 重藤良太, 横山滉介, 高野知子, 宮城 敦, 岩口真路, 大賀誠一, 石田 瞭, 片山幸太郎, 森本佳成, 小松知子, オーラルフレイル予防のための抗酸化食品の臨床応用への基礎的検討-超高齢者社会対策としての医科・歯科・栄養多職種連携による臨床展開, 第39回日本歯科薬物療法学会総会・学術大会, 2019.
5. 李 昌一, 小松知子, 赤崎さとみ, 山本伊佐夫, 大平 寛, 木本一成, 二瓶智太郎, 山田良広, 平山 暁, 佐藤圭創, 片山幸太郎, 槻木恵一, 大規模災害時における唾液を用いた災害関連死疾患のリスク評価法 歯科医師の新しい災害時の役割の可能性, 第39回日本歯科薬物療法学会総会・学術大会, 2019.
6. Lee MC, Shigefugi R, Komatsu T, Oxidative Stress and Periodontal Disease in Down Syndrome, FDI 2018.
7. Komatsu T, Shigefugi R, Morimoto Y, Lee MC, Total Oral Care of Down Syndrome Comorbid with Regression, FDI 2018.

8. 李 昌一, 菅野 範, 吉田圭司郎, 船木純三, 岡田康江, 岡田永三, 岡部愛子, 森本佳成, 小松知子, 電子スピン共鳴(ESR)法を用いた食品素材のヒト唾液抗酸化評価 健康長寿を目指した抗酸化医療への応用, 第 18 回日本抗加齢医学会総会, 2018.
9. 小松知子, 重藤良太, 能地玲子, 高野知子, 近藤 永, 宮城 敦, 森本佳成, 李 昌一, 高齢者オーラルフレイル予防の魚肉ペプチド臨床応用への基礎的検討 医科・歯科・栄養連携による新しい臨床展開, 第 29 回日本老年歯科医学会総会学術大会, 2018.
10. 小松知子, 重藤良太, 森本佳成, 李 昌一, 口腔疾患改善に対する AOB 臨床応用に向けた基盤研究 -医科・歯科・栄養連携による臨床展開への AOB 応用の可能性, 第 18 回 AOB 研究会, 2018.
11. 小松知子, ダウン症者の歯周病の病態メカニズム~唾液タンパク質の抗酸化能との関連性~, 第 2 回成人期ダウン症研究会, 2018.
12. 李 昌一, 松澤直子, 重藤良太, 石井裕美, 岩崎克夫, 吉岡裕史, 高満幸宜, 西山和彦, 森本佳成, 小松知子. 障害者オーラルフレイル予防を目指した歯科・栄養連携による臨床展開への基礎的検討 魚肉ペプチドの抗酸化作用の臨床応用, 第 35 回日本障害者歯科学会総会および学術大会, 2018.
13. 李 昌一, 小松知子, 山本伊佐夫, 大平寛, 木本一成, 二瓶智太郎, 山田良広, 槻木恵一, 避難所における唾液を用いた災害関連死疾患のリスク評価法開発のための基礎的研究, 第 23 回日本集団災害医学会総会・学術集会, 2018.
14. 李 昌一, 新しい歯科治療・診断法への ESR トランスレーショナルリサーチ, 第 1 回九州トランスレーショナル ESR 研究会(招待講演), 2018.
15. Komatsu T, Shimada S, Watanabe K, Morimoto Y, Hamada N, Lee MC, Effects of mouth cleansing using by reactive oxygen species for elderly with long-time care, International Conference on Dental Science and Oral Care 2017, 2017.
16. 李 昌一, 抗酸化歯科医療の展開, ウェルネスフードジャパン(招待講演), 2017.
17. 小松知子, 島田 茂, 塩田剛太郎, 森本佳成, 李 昌一, Down 症候群患者における抗菌・抗酸化作用を併用した歯周治療の効果, 第 14 回日本口腔ケア学会総会・学術大会, 2017.
18. Komatsu T, Shiota G, Lee MC, Antioxidant Properties of Salivary Proteins Using Electron Spin Resonance-based Technique, SFRBM/SFRRI 2016, 2016.
19. 小松知子, 小林 杏, 船木誠子, 岡田康江, 岡田永三, 田中優作, 宮城 敦, 李 昌一, 活性酸素の特性を生かした歯周療法の効果-Down 症候群患者における検討, 第 16 回日本抗加齢医学会総会, 2016.
20. 小松知子, 島田 茂, 平良 哲, 知念由紀, 高瀬敏子, 宮城 敦, 森本 佳成, 李 昌一, 要介護高齢者における口腔 Candida 菌の保菌状態と関連要因について, 第 27 回日本老年歯科医学会学術大会, 2016.
21. 小松知子, 小林 杏, 宮城 敦, 森本佳成, 李 昌一, 電子スピン共鳴法を用いた唾液タンパク質の抗酸化能評価, 第 16 回 AOB 研究会, 2016.
22. 李 昌一, レドックスバイオロジーと歯科疾患 -レドックスバランス変調による血管病としての歯周病-, 第 58 回歯科基礎医学会学術集会(招待講演), 2016.

(図書)(計 2 件)

1. 小松知子, 李 昌一 : 第三章ドライシンドローム医学の基礎 酸化ストレスとドライシンドローム . pp.106-112. 坪田一男, 斎藤一郎監修 : ドライシンドロームの基礎と臨床 . 第 1 版, メディカルレビュー社, 大阪, 2016.
2. 小松知子, 李 昌一 : 災害時の歯科診療 災害時の摂食嚥下サポートと栄養管理について, 新潟大学医学部災害医療教育センター E-learning 教材, ページ数無, 発行年無

(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:
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:
国内外の別:

(その他)

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 小松 知子

ローマ字氏名: Komatsu Tomoko

所属研究機関名: 神奈川歯科大学

部局名: 大学院歯学研究科

職名: 講師

研究者番号(8 桁): 20234875

研究分担者氏名: 斎藤 一郎

ローマ字氏名: Saito Ichiro

所属研究機関名: 鶴見大学

部局名: 歯学部

職名: 教授

研究者番号(8 桁): 60147634

(2) 研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。