

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2021

課題番号：18H06287・19K21376

研究課題名（和文）メリンジョ由来レスベラトロールを用いた歯周組織治癒のメカニズムの解明

研究課題名（英文）Healing effects of meloinjo resveratrol in murine periodontitis model

研究代表者

池田 恵莉（Ikeda, Eri）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・特任助教

研究者番号：40822565

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：歯周炎誘発モデルマウスに対するレスベラトロール単量体とレスベラトロール二量体の歯周炎治癒効果の比較を行い、レスベラトロール単量体も二量体も骨吸収抑制効果を有しているが、レスベラトロール二量体が有意に高い作用を有することを明らかにした。さらに、レスベラトロール二量体投与群では炎症性サイトカイン IL-1ベータの発現が減少していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗酸化物質レスベラトロールを利用した疾患の予防・治療を目的とした動物実験は数多く行われているが、そのほとんどはレスベラトロール単量体を使用したものである。本研究ではレスベラトロール二量体のより高い効果を報告することで、レスベラトロールを利用した疾患治療戦略に、新しい知見をもたらした。歯周炎の内科的な治療法開発の一步として社会的意義があると思われる。

研究成果の概要（英文）：Resveratrol dimer showed higher periodontal bone healing although healing of the bone occurred in both monomer and dimer group. Resveratrol dimer group also inhibited downregulation of a proinflammatory cytokine, IL-1B.

研究分野：歯周病学

キーワード：レスベラトロール 歯周炎 抗酸化作用

## 1. 研究開始当初の背景

歯の喪失の主原因となっている歯周炎は、歯周病原細菌と呼ばれる細菌群が主原因であるところまで考えられてきた。しかし、細菌因子のみでは歯周病の病態を完全に説明することはできず、近年では宿主の免疫システムが過剰に働くことで引き起こされる歯周組織破壊が歯周炎の主原因となっているのではないかと考えられ始めた。しかし、歯周炎治療は依然として細菌量をコントロールする治療が主であり、世界的な歯周病の蔓延を食い止めるために、炎症応答に着目した新しい治療法の開発が必要とされている。

レスベラトロール(RSV)はポリフェノール的一种で、高い抗酸化/炎症作用が認められる。その中でも安定性の高いRSV二量体を豊富に含むメリンジョ粉末(MSE)は、動物モデルで歯周炎の治療を促進すると報告されている。しかし、そのメカニズムは未だ不明な点が多い。一方で、酸化ストレスや炎症の防御に中心的な役割を果たす転写因子 Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2(Nrf2)は、歯周炎患者において有意に減少していることが明らかになっている。RSVにはNrf2を活性化する働きがあることから、申請者はRSV単量体/二量体の歯周炎に対しての効果にNrf2が関連するのではないかと考えた。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、抗酸化・抗炎症物質であるレスベラトロール類(RSV単量体、RSV二量体)が歯周炎に対して効果の違いがあるかどうか、またどのような作用機序で効果をもたらしているのか検討することである。

## 3. 研究の方法

実験A「歯周炎モデルマウスを用いたRSV単量体と二量体の効果の比較検討」

C57BL/6J野生型マウスを用いて実験を行う。上顎臼歯に麻酔下で9-0絹糸を結紮し14日間歯周炎を誘発し、14日目にRSV単量体溶液、RSV二量体溶液のいずれかを腹腔内に投与する。マイクロCTを用いて骨吸収量を経時的に測定する。結紮系周囲の歯肉組織からはメッセンジャーRNAを抽出し炎症性サイトカインレベル(IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ )をqPCR法で測定する。組織学的解析として、採取した歯周組織サンプルから切片を作成する。切片はHE染色、8-OHdG抗体での免疫染色などを行い、形態、酸化ストレスレベルなどを観察する。

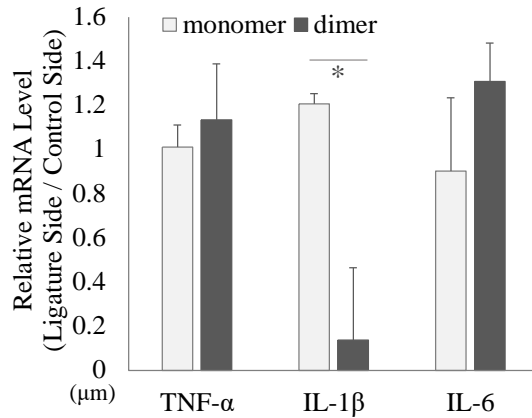
実験B「歯周炎誘発Nrf2ノックアウト(KO)マウスに対するRSVの効果の検討」

Nrf2の関与を検討するため、Nrf2ノックアウト(KO)マウスを用いて実験を行う。上顎臼歯に麻酔下で9-0絹糸を結紮し14日間歯周炎を誘発し、14日目にRSV単量体、二量体もしくはプラセボ溶液を腹腔内に投与する。マイクロCTを用いて骨吸収量を経時的に測定する。

#### 4. 研究成果

##### 実験 A 「歯周炎モデルマウスを用いた RSV 単量体と二量体の効果の比較検討」

RSV 単量体と二量体を投与した群で、どちらも歯槽骨吸収は治癒傾向にあったが、RSV 二量体投与群は、有意に骨治癒が促進された。また、結紮系周囲の歯肉組織炎症性サイトカインレベルは、IL-1 が二量体群で有意に減少した。IL-6, TNF- $\alpha$  については変化がなかった。また、歯周組織の免疫染色による酸化ストレスは、二量体群で減少していた。



##### 実験 B 「歯周炎誘発 Nrf2 ノックアウト(KO)マウスに対する RSV の効果の検討」

Nrf2 ノックアウト(KO)マウスに RSV 単量体や二量体を投与しても、野生型マウスと違い骨治癒は生じなかった。RSV の骨治癒作用には抗酸化物質 Nrf2 が関与していることが明らかとなった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Wongtim Keeratika, Ikeda Eri, Ohno Tatsukuni, Nagai Shigenori, Okuhara Shigeru, Kure Keitetsu, Azuma Miyuki	4. 巻 93
2. 論文標題 Overexpression of PD L1 in gingival basal keratinocytes reduces periodontal inflammation in a ligature induced periodontitis model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Periodontology	6. 最初と最後の頁 146 ~ 155
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/JPER.21-0017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kawasaki Machiko, Ikeda Yuichi, Ikeda Eri, Takahashi Momoko, Tanaka Daiki, Nakajima Yasuaki, Arakawa Shinichi, Izumi Yuichi, Miyake Satoshi	4. 巻 127
2. 論文標題 Oral infectious bacteria in dental plaque and saliva as risk factors in patients with esophageal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer	6. 最初と最後の頁 512 ~ 519
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cncr.33316	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ikeda Yuichi, Kawada Ayako, Tanaka Daiki, Ikeda Eri, Kobayashi Hiroaki, Iwata Takanori	4. 巻 19
2. 論文標題 A comparative questionnaire study of patient complaint levels between magnetostrictive ultrasonic scaler (Cavitron <sup>&lt;sup&gt;&lt;/sup&gt; ) and piezoelectric ultrasonic scalers</sup>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Dental Hygiene	6. 最初と最後の頁 273 ~ 278
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/idh.12478	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka Daiki, Ikeda Yuichi, Ikeda Eri, Yokose Mako, Ganss Bernhard, Iwata Takanori	4. 巻 49
2. 論文標題 Effect of Amelotin on Bone Growth in the Murine Calvarial Defect Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Biomedical Engineering	6. 最初と最後の頁 3676 ~ 3684
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10439-021-02867-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ikeda Yuichi、Holcroft James、Ikeda Eri、Ganss Bernhard	4. 巻 15
2. 論文標題 Amelotin Promotes Mineralization and Adhesion in Collagen-Based Systems	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Bioengineering	6. 最初と最後の頁 245 ~ 254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12195-022-00722-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------