

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20791642

研究課題名（和文） 肥満による歯周病悪化機序の解明：酸化ストレスの観点から

研究課題名（英文） Effects of obesity on oxidative stress and periodontitis progression

研究代表者

友藤 孝明（TOMOFUJI TAKAAKI）

岡山大学・岡山大学病院・講師

研究者番号：80335629

研究成果の概要（和文）：

肥満と歯周病との間に正の相関があることが知られている。本研究では、肥満に伴う酸化ストレスが歯周組織にダメージを与えているのではないかという仮説を検証した。遺伝性の肥満ラット 14 匹と対照ラット 14 匹をそれぞれ 7 匹ずつ 2 群に分け、片方の群には 4 週間絹糸を巻いて歯周病を惹起させた。その結果、肥満ラットの歯肉 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)（酸化による DNA ダメージの指標）濃度は、血清の酸化ストレス度の増加と共に対照ラットよりも有意に高かった。また、歯周病を惹起させた肥満ラットの歯肉 8-OHdG と炎症性細胞浸潤の程度は、単に歯周病を惹起させたラットの値よりもそれぞれ大きくなった。さらに、チトクローム P450 の遺伝子発現の低下も肥満によって認められた。これらの結果は、肥満による血清と歯肉の酸化ストレスの増加は、歯周組織における代謝機能を乱し、歯周病を増悪させる一因になっていることを示唆している。

研究成果の概要（英文）：

Studies indicate a correlation between obesity and periodontitis. We hypothesized that increased blood oxidative stress following obesity might damage periodontal tissues. The obese Zucker rats (n= 14) and their lean littermates (n= 14) were divided into two groups of 7 rats, respectively. In one of each group, periodontitis was ligature-induced for 4 wks, while the other group was left unligated. Compared to lean Zucker rats, obese Zucker rats showed enhanced gingival 8-hydroxydeoxyguanosine levels, with increasing serum reactive oxygen metabolites. The periodontal lesion in obese rats also showed higher 8-hydroxydeoxyguanosine levels and polymorphonuclear leukocyte infiltration than the inflamed ones in lean rats, with down-regulation of multiple cytochrome P450 gene expression. These findings suggest that obesity induced gingival oxidative damage by increasing blood oxidative stress and augmented periodontal inflammation due to a reduced capacity for xenobiotic detoxification in rats.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：予防歯科学分野

科研費の分科・細目：歯学・社会系歯学

キーワード：歯学、栄養、トランスレーショナルリサーチ

## 1. 研究開始当初の背景

国民の健康増進を目的とした健康づくり運動「健康日本21」が、2000年度から開始されている。この運動では歯の健康も重点分野の一つとなっており、歯の喪失防止や成人期の歯周病予防などが目標として掲げられている。2005年に行われた歯科疾患実態調査の結果をみると、前回の調査結果と比べて歯の喪失は減少しているものの、65歳以上における歯周病を有する者の割合は増加傾向にあることが分かる。今後、歯周病の対策が今以上に重視されることが予想される。

近年の研究は、肥満が血液中の活性酸素種や炎症性サイトカイン濃度を高めることを示唆している。そのような状況では、組織の酸化ストレスが上昇する。また、近年の研究は歯肉の酸化ストレスが歯周病の進行に深く関わっていることを明らかにしている。以上のことから、肥満が歯肉の酸化ストレスを介して歯周病を悪化させているという可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、肥満による歯周病悪化の機序を、ラットモデルを用いて酸化ストレスの観点から検討することであった。

## 3. 研究の方法

### (1) 実験デザイン

8週齢の Zucker 雄性ラット 20 匹と Lean 雄性ラット 20 匹を以下の 4 群に分ける。

対照群：Lean ラットを通常飼育する。

肥満群：Zucker ラットを通常飼育する。

歯周病群：Lean ラットの上顎臼歯に絹糸を

巻き、歯周病を惹起させる。

複合群：Zucker ラットの上顎臼歯に絹糸を巻き、歯周病を惹起させる。

実験期間は 8 週間とし、実験開始から 4 週間後に絹糸を巻く。動物の管理は、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科動物実験施設の指針に従って行い、管理人の助言を適時受ける。

### (2) 血液分析

実験期間終了時に、心臓から採血を行う。血液から血清を分離し、酸化ストレスに関連する指標として Reactive Oxygen Metabolites (ROM) を定量する。

### (3) 歯周組織の組織定量分析

実験期間終了後、ラットを麻酔下で屠殺し、歯周組織の組織標本作製する。ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、セメント・エナメル境から接合上皮最根尖側までの距離、セメント・エナメル境から歯槽骨頂までの距離、結合組織中の好中球数および血管腔数を測定する。

### (4) 歯周組織中の酸化ストレスの評価

実験終了時に歯肉の Biopsy を行い、ホモジネートした後、ELISA 法を用いて 8-OHdG を定量する。

### (5) PCR アレイ

Biopsy した歯肉の一部を凍結保存し、歯肉 8 匹分をプールしたサンプルから RNA を抽出して PCR で増幅した後、DNA チップを用いたマイクロアレイ解析を行う。分析では、酸化ストレスに関わる遺伝子群の変化に注目し、対照群と肥満群、歯周病群と複合群との比較を

それぞれ行う。

#### (6) 統計分析

一元配置分散分析と Tukey 法を用いる。対照群と肥満群の比較より、肥満が直接的な歯周病の原因となるかどうかを検討する。また、歯周病群と複合群の比較から、歯周病の増悪因子としての肥満の影響をみる。

#### 4. 研究成果

肥満と歯周病との関連性を示唆する国内・国外の疫学研究は多く認められる。しかし、因果関係については未だ不明であった。本研究の結果は、肥満による血清と歯肉の酸化ストレスの増加は、歯周組織における代謝機能を乱し、歯周病を増悪させる一因になっていることを示唆している。すなわち、本研究は肥満と歯周病との因果関係を解明した初めての動物実験である。

我々歯科医師は、ほとんどの場合、口腔内に限局して歯周病予防や治療を行ってきた。しかし、それだけでは不十分なのかもしれない。例えば、近年では喫煙が歯周病の危険因子であることが科学的に証明され、歯科医療において禁煙指導を行う動きが現われている。本研究は、全身の抗酸化力を高めることもまた肥満に起因する歯周病の予防に重要であることを示唆している。したがって、本研究は全身への抗酸化療法を歯周病対策に取り入れるための根拠になると期待される。

#### 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)

[雑誌論文] (計 6 件)

① Tomofuji T, Yamamoto T, Tamaki N, Ekuni D, Azuma T, Sanbe T, Irie K, Kasuyama K, Umakoshi M, Murakami J, Kokeyuchi S, Morita M: Effects of obesity on gingival oxidative stress in a rat model. J Periodontol, 2009: 80, 1324-1329. (査読有)

② Ekuni D, Tomofuji T, Sanbe T, Irie K, Azuma T, Maruyama T, Tamaki N, Murakami J, Kokeyuchi S, Yamamoto T: Vitamin C intake attenuates the degree of experimental atherosclerosis induced by periodontitis in the rat by decreasing oxidative stress. Arch Oral Biol, 2009: 54, 495-502. (査読有)

③ Tomofuji T, Ekuni D, Sanbe T, Azuma T, Tamaki N, Irie K, Maruyama T, Yamamoto T, Watanabe T, Miyauchi M, Takata T: Effects of improvement of periodontal inflammation by toothbrushing on serum lipopolysaccharide concentration and liver injury in rats. Acta Odontol Scand, 2009: 67, 200-205. (査読有)

④ Tomofuji T, Irie K, Sanbe T, Ekuni D, Azuma T, Tamaki N, Yamamoto T, Morita M: Periodontitis and increase in circulating oxidative stress. Jap Dent Sci Rev, 2009: 45, 46-51. (査読有)

⑤ Ekuni D, Tomofuji T, Sanbe T, Irie K, Azuma T, Maruyama T, Tamaki N, Murakami J, Kokeyuchi S, Yamamoto T. Periodontitis-induced lipid peroxidation in rat descending aorta is involved in initiation of atherosclerosis. J Periodont Res, 2009: 44, 434-442. (査読有)

⑥ Sanbe T, Tomofuji T, Ekuni D, Azuma T, Irie K, Tamaki N, Yamamoto T, Morita M: Vitamin C intake inhibits serum lipid peroxidation and osteoclast differentiation on alveolar bone in rats fed on a high-cholesterol diet. Arch Oral Biol, 2009: 54, 235-240. (査読有)

[学会発表] (計 11 件)

① Irie K, Tamaki N, Maruyama T, Tomofuji T, Ekuni D, Yamanaka R, Takeuchi T,

Yamamoto T: Relationship between periodontal condition and plasma reactive oxygen metabolites in patients in the maintenance phase of periodontal treatment. 第1回岡山医療教育国際シンポジウム, 岡山, 2月1日, 2008年

②丸山貴之, 玉木直文, 友藤孝明, 江國大輔, 山中玲子, 竹内倫子, 山本龍生: 歯周組織の状態と血漿の酸化ストレス度・抗酸化力との関係. 第51回日本歯周病学会春季学術大会, 大宮, 4月25日, 2008年

③古田美智子, 山中玲子, Akhter Rahena, 小山玲子, 友藤孝明, 江國大輔, 玉木直文, 東 哲司, 山本龍生, 岸本悦央: 小学生における食習慣と咬合力・咬合接触面積の関係. 第19回日本口腔衛生学会近畿・中国・四国地方会総会, 徳島, 6月22日, 2008年

④小山玲子, 玉木直文, 丸山貴之, 友藤孝明, 江國大輔, 山中玲子, 東 哲司, 山本龍生: アンケートによる歯周疾患スクリーニングの有効性. 第19回日本口腔衛生学会近畿・中国・四国地方会総会, 徳島, 6月22日, 2008年

⑤友藤孝明: 歯の健康に関する保健指導. 特定検診・保健指導実践者育成研修会, 岡山, 7月30日, 2008年

⑥友藤孝明: 予防歯科学の基礎研究の一例. 第57回日本口腔衛生学会・総会, 埼玉, 10月2日~4日, 2008年

⑦入江浩一郎, 友藤孝明, 江國大輔, 三部俊博, 東 哲司, 丸山貴之, 玉木直文, 山本龍生, 森田 学: 歯周炎モデルラットにおける歯肉酸化ストレス度・抗酸化力に対するビタミンC全身投与の効果. 第57回日本口腔衛生学会・総会, 埼玉, 10月2日~4日, 2008年

⑧三部俊博, 友藤孝明, 江國大輔, 東 哲司, 入江浩一郎, 玉木直文, 山本龍生, 森田 学: 高コレステロール食によるラットの血清過酸化脂質の増加と歯槽骨における破骨細胞の分化: ビタミンC摂取の影響. 第29回岡山歯学会学術大会, 岡山, 11月24日, 2008年

⑨小山玲子, 玉木直文, 丸山貴之, 友藤孝明, 江國大輔, 山中玲子, 東 哲司, 山本龍生, 森田 学: アンケートによる歯周疾患スクリーニングの有効性. 第29回岡山歯学会学術大会, 岡山, 11月24日, 2008年

⑩Tamaki N, Yamanaka R, Ekuni D, Tomofuji T, Yamamoto T, Morita M: Effect of non-surgical periodontal therapy on plasma reactive oxygen metabolites. The 56th Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, Nagoya, November 29-30, 2008.

⑪Tomofuji T, Sanbe T, Tamaki N, Ekuni D, Kasuyama K, Umakoshi M, Irie K, Azuma T, Murakami J, Kokeyuchi S, Yamamoto T, Morita M: Effects of Obesity on Oxidative Stress in Rat Gingiva. The 56th Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, Nagoya, November 29-30, 2008.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

友藤 孝明 (TOMOFUJI TAKAAKI)  
岡山大学・岡山大学病院・講師  
研究者番号: 80335629