

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18529

研究課題名（和文）糖尿病モデル動物の歯周組織の創傷治癒に経口糖尿病治療薬が与える効果

研究課題名（英文）the effect of medications on the wound healing of periodontal tissue in diabetic animals

研究代表者

城戸 大輔 (Kido, Daisuke)

東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・助教

研究者番号：40822549

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では、糖尿病モデル動物の歯周組織における創傷治癒に経口糖尿病治療薬の服用が与える影響について検討した。実験の結果、動物実験の歯周組織において経口糖尿病治療薬の服用が、高血糖状態によって遅延する創傷治癒を改善することを明らかにした。また、細胞レベルにおいて、ビグアナイド系薬剤であるメトホルミンは歯肉線維芽細胞が高血糖状態によって傷害された細胞機能を改善することを示した。これらの研究結果から、経口糖尿病治療薬の服用は単に血糖値を改善する効果のみならず、低下した細胞機能を改善する可能性があることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は糖尿病と歯周病の関連性について創傷治癒の観点から明らかにすることを目的とし、糖尿病モデルラットに対し経口糖尿病治療薬であるビグアナイド系薬剤およびチアゾリジン系薬剤を用いて血糖コントロールを行うことが歯周組織にどのような影響を与えるかについて明らかにすることを目的としていた。本研究の結果、経口糖尿病治療薬が歯肉の創傷治癒の遅延を改善する可能性が示唆された。本研究によってもたらされる結果は、糖尿病患者における歯周組織の創傷治癒の遅延の改善および歯周炎重症化予防への一助となることから医学臨床応用への発展に寄与し、国民の健康の向上への糸口となることが見込まれる。

研究成果の概要（英文）：This study investigated the effects of diabetes medications on wound healing in the periodontal tissues of diabetic model animals. The experimental results revealed that the administration of oral diabetes medications improved the delayed wound healing in periodontal tissues caused by hyperglycemia in diabetic animals. Additionally, at the cellular level, it was shown that metformin, a biguanide drug, improved the impaired cellular functions of gingival fibroblasts affected by hyperglycemia. These findings suggest that the administration of oral diabetes medications not only improves blood glucose levels but also has the potential to enhance diminished cellular functions.

研究分野：歯周病

キーワード：歯周病 創傷治癒 糖尿病

### 1. 研究開始当初の背景

本研究の学術的背景として、予てより指摘される糖尿病と歯周病の相互関係性が挙げられる。細菌感染症である歯周炎と、代謝疾患である糖尿病の相互関係については多くの研究がなされており、近年では、好中球の機能不全、コラーゲン合成阻害、微小循環障害、線維芽細胞機能不全、最終糖化産物や酸化ストレスによる組織破壊への関与などが報告されているが、未だ詳細は不明である。申請者は、糖尿病と歯周病の関係性の解明における一つの仮説として、糖尿病の合併症が糖尿病の特徴である持続する高血糖状態が引き起こす酸化ストレスによって引き起こされる点に着目している。これまでの研究において高血糖状態が引き起こす酸化ストレスによって歯周組織にインスリン抵抗性が発現し、歯肉線維芽細胞の機能不全が起こり歯肉の創傷治癒が遅延することを示した。現在我が国では経口糖尿病治療薬として 7 系統の薬剤が用いられており、そのうちピグアナイド系薬剤は糖代謝に関与する AMP キナーゼを活性化し糖代謝を促進する特徴を、またチアゾリジン系薬剤は細胞内インスリンシグナルを正常化する特徴を有することが報告されている。そこで申請者はこれら 2 系統の糖尿病治療薬の特徴を鑑み、これらの薬剤が歯周組織においても糖代謝を改善しインスリン抵抗性を改善するとの仮説を立てた。本研究の研究課題の核心をなす学術的「問い」は、高血糖環境に長期間曝露された歯周組織は、経口糖尿病治療薬による血糖コントロールによってその細胞機能の低下を緩和できるのか、というものである。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、糖尿病患者における歯科治療時における経口糖尿病治療薬の実効性を明らかにするために、糖尿病モデルラットの歯周組織における経口糖尿病治療薬の効果を *in vivo*、*in vitro* で示すことである。本研究の創造性は、経口糖尿病治療薬の効果を単に血糖コントロールだけでなく、歯周組織への効果を検討している点であり、今後増加が予想される歯周病患者への包括的ケアの一環となる可能性があり、社会的貢献度が非常に大きく波及効果のある研究と考えられる。

### 3. 研究の方法

令和 2 年度実験では、*in vivo* 実験において糖尿病による歯周組織への影響や創傷治癒への影響を明らかにした。2 型糖尿病モデルとして、2 型糖尿病を自然発症する 4 週齢雄性ラット (ZDF-Leprfa/CrlCrlj : Zucker Diabetic Fatty Rat) を用い、対照群として正常な 4 週齢雄性ラット (Zucker lean) を用いた。実験動物は、対照群、糖尿病対照群の 2 群となり、対照群、糖尿病対照群ともに通常飼料を与え 60 日間飼育する。飼育期間中、耐糖能の評価として、空腹時血糖、血中インスリン値、腹腔内耐糖能試験を行った。60 日間の飼育後、2 群それぞれのラットについて上顎左右側口蓋粘膜に全層弁粘膜欠損(1.5 × 5.0 mm)を形成し(図 3)、術後 7、14、21、28 日後にラットを安楽殺した。創部閉鎖については、開口器を用いて開口状態とし咬合平面より 70 度上方より 1.5 倍の拡大率で規格写真を撮影し評価した。創部組織については、組織切片を作成し、H-E 染色、マッソントリクローム染色、免疫染色による評価を行った。全身的な酸化ストレスレベルの評価として、尿、動脈血を採取し、8-hydroxydeoxyguanosine(8-OHdG)値を測定した。さらに、欠損部の肉芽組織より mRNA を抽出し、Collagen type I、Fibroblast growth factor (FGF-2)、Vascular endothelial growth factor (VEGF)、Endothelial nitric oxide synthase (e-NOS)、tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、Nox1、Nox2、Nox4、p-47 の発現の検討を行った。令和 3 年度実験では、前年度の *in vivo* 実験を踏まえ、*in vitro* 実験において高血糖状態が歯肉線維芽細胞に与える影響を明らかにし、続く *in vivo* 実験において経口糖尿病治療薬が糖尿病ラットの歯周組織に与える影響について明らかにするためにラット各群より単離した歯肉線維芽細胞を、高血糖状態を再現した培養液および通常培養液で培養した。培養した細胞を使用して、スクラッチアッセイにて細胞遊走能を、5-ethynil-2 deoxyuridine(EdU)および(2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H tetrazolium) monosodium salt(WST-8)分析にて細胞増殖能を、活性酸素種(ROS)測定および Nox ファミリーの mRNA 発現量分析によって酸化ストレスを、インスリンシグナル下流の PI3K/Akt 経路や MAPK/Erk 経路の活性化の解析にてインスリン抵抗性の評価を行った。前年度に使用したのと同じ 4 週齢の 2 型糖尿病モデルラットに経口糖尿病治療薬を添加した飲用水を 60 日間経口投与し糖尿病治療群とした。糖尿病治療群はさらに 2 群に分け、それぞれピグアナイド薬(メトホルミン)、チアゾリジン薬(ロシグリタゾン)を使用し、外科手術については前年度実験と同様に実施し評価した。令和 4 年~5 年度実験では *in vitro* 実験によって高血糖状態によって歯肉線維芽細胞に発生した傷害に対する経口糖尿病治療薬の有効性を明らかにした。前年度実験と同様に歯肉線維芽細胞を単離した。各群由来の細胞の培養に使用する培養液に対して前年度の *in vivo* 実験に使用した 2 種類の経口糖尿病治療薬をそれぞれ添加した。経口糖尿病薬の各種細胞への効果については令和 3 年度と同様の測定項目で評

価した。

#### 4．研究成果

本研究では、糖尿病モデル動物の歯周組織における創傷治癒に経口糖尿病治療薬の服用が与える影響について検討した。実験の結果、動物実験の歯周組織において経口糖尿病治療薬の服用が、高血糖状態によって遅延する創傷治癒を改善することを明らかにした。また、細胞レベルにおいて、ピグアナイド系薬剤であるメトホルミンは歯肉線維芽細胞が高血糖状態によって傷害された細胞機能を改善することを示した。これらの研究結果から、経口糖尿病治療薬の服用は単に血糖値を改善する効果のみならず、低下した細胞機能を改善する可能性があることを明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6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 5件）

1. 著者名 Kominato Hiromi, Takeda Kohei, Mizutani Koji, Mikami Risako, Kido Daisuke, Buranasin Prima, Saito Natsumi, Takemura Shu, Nakagawa Keita, Nagasawa Toshiyuki, Iwata Takanori	4. 巻 93
2. 論文標題 Metformin accelerates wound healing by Akt phosphorylation of gingival fibroblasts in insulin resistant prediabetes mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Periodontology	6. 最初と最後の頁 258 ~ 270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/JPER.21-0362	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 該当する
1. 著者名 Mikami Risako, Mizutani Koji, Gohda Tomohito, Gotoh Hiromichi, Matsuyama Yusuke, Aoyama Norio, Matsuura Takanori, Kido Daisuke, Takeda Kohei, Izumi Yuichi, Fujiwara Takeo, Iwata Takanori	4. 巻 25
2. 論文標題 Association between circulating tumor necrosis factor receptors and oral bacterium in patients receiving hemodialysis: a cross-sectional study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Nephrology	6. 最初と最後の頁 58 ~ 65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10157-020-01952-2	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 Kido Daisuke, Komatsu Keiji, Suzumura Toshikatsu, Matsuura Takanori, Cheng James, Kim Jeong, Park Wonhee, Ogawa Takahiro	4. 巻 24
2. 論文標題 Influence of Surface Contaminants and Hydrocarbon Pellicle on the Results of Wettability Measurements of Titanium	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 14688 ~ 14688
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms241914688	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 該当する
1. 著者名 Takemura Shu, Mizutani Koji, Mikami Risako, Nakagawa Keita, Hakariya Masahiro, Sakaniwa Eri, Saito Natsumi, Kominato Hiromi, Kido Daisuke, Takeda Kohei, Aoki Akira, Iwata Takanori	4. 巻 23
2. 論文標題 Enhanced periodontal tissue healing via vascular endothelial growth factor expression following low level erbium doped: yttrium, aluminum, and garnet laser irradiation: In vitro and in vivo studies	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Periodontology	6. 最初と最後の頁 458
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/JPER.23-0458	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 Mikami Risako, Mizutani Koji, Matsuyama Yusuke, Gohda Tomohito, Gotoh Hiromichi, Aoyama Norio, Matsuura Takanori, Kido Daisuke, Takeda Kohei, Saito Natsumi, Fujiwara Takeo, Izumi Yuichi, Iwata Takanori	4. 巻 17
2. 論文標題 Association of type 2 diabetes with periodontitis and tooth loss in patients undergoing hemodialysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 267494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0267494	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 Saito Natsumi, Mikami Risako, Mizutani Koji, Takeda Kohei, Kominato Hiromi, Kido Daisuke, Ikeda Yuichi, Buranasin Prima, Nakagawa Keita, Takemura Shu, Ueno Takeshi, Hosaka Keiichi, Hanawa Takao, Shinomura Tamayuki, Iwata Takanori	4. 巻 57
2. 論文標題 Impaired dental implant osseointegration in rat with streptozotocin induced diabetes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Periodontal Research	6. 最初と最後の頁 412 ~ 424
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jre.12972	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Daisuke Kido, Keiji Komatsu, Toshikatsu Suzumura, Takanori Matsuura, Takahiro Ogawa
2. 発表標題 Clinical Determinants of Hydrophilic State of Titanium Surfaces
3. 学会等名 the 2023 IADR/LAR General Session & Exhibition with WCPD (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹村修、水谷幸嗣、三上理沙子、中川佳太、秤屋雅弘、坂庭愛理、齋藤夏実、城戸大輔、武田浩平、小湊広美、青木章、岩田隆紀
2. 発表標題 The effect of low-level Er:YAG laser irradiation on endothelial cells
3. 学会等名 第66回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 坂庭愛理, 三上理沙子, 水谷幸嗣, 齋藤夏実, 小湊広美, 竹村修, 中川佳太, 秤屋雅弘, 城戸大輔, 武田浩平, 美馬晶, 岩田隆紀
2. 発表標題 Porphyromonas gingivalis 由来LPSによる高血糖状態でのメサンギウム細胞の線維化への影響
3. 学会等名 第66回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中川佳太, 水谷幸嗣, 渡辺数基, 齋藤夏実, 竹村修, 坂庭愛理, 三上理沙子, 城戸大輔, 武田浩平, 小湊広美, 服部淳彦, 岩田隆紀
2. 発表標題 Comprehensive gene expression analysis during the healing phase of ligature-induced experimental periodontitis in diabetic rats
3. 学会等名 第66回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2023年

〔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		
米国	University of California, Los Angeles		