

平成 23 年 5 月 20 日現在

機関番号：37114

研究種目：若手研究B

研究期間：2009～2010

課題番号：21791871

研究課題名（和文） 根尖病変のフレアアップと唾液中ストレスホルモンの関連の解明

研究課題名（英文） Association of periapical infection and salivary stress markers

研究代表者 茂山 千英子 (SHIGEYAMA CHIEKO)

福岡歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：50508976

研究成果の概要（和文）：

(1) 歯周炎動物モデルにおいては、細菌叢を確立させ、炎症と骨吸収に焦点を当てた報告が多く認められる一方、歯根膜に侵入した細菌と骨吸収との関連を検索した報告が少ない。そこで、ラット根尖性歯周炎実験系を確立し、病変の発症過程におけるサイトカインと骨系細胞の動態を解析するとともに、フレアアップの原因となる *P. gingivalis* を添加した場合の影響を検討した。

(2) 口腔疾患のひとつである BMS の病態と唾液中に検出されるストレス性内分泌ホルモンの関連について評価、検討した。

研究成果の概要（英文）：

(1) Studies on the mechanism of bone resorption and the relationship between the express of cytokines and the effect of *P. gingivalis* during apical periodontitis in rats.

(2) Burning mouth syndrome (BMS) is a poorly understood oral pain disorder characterized by a painful burning sensation in the oral cavity without any mucosal abnormalities. In this study, we evaluated the salivary cortisol and chromogranin A (CgA) levels of patients with burning mouth syndrome (BMS) in comparison with age-matched controls.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：歯科保存学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：ストレス
内分泌ホルモン
根尖病変
唾液

1. 研究開始当初の背景

近年、精神神経免疫学の概念から、神経-内分泌-免疫系が互いにクロストークしており、ストレスがこの経路を介して免疫低下をもたらし、宿主の健康状態に影響を与えることが明らかになってきた。しかしながら、歯内および歯周病変局所の免疫担当細胞とストレス性内分泌ホルモンとの関連については、全く明らかにはされていない。

2. 研究の目的

歯科領域において頻度が極めて多く、ほとんどの場合において疼痛を伴う歯内病変（歯髄炎および根尖性歯周炎）の病態を *in vitro* の実験系においてストレスに関わる内分泌ホルモンを用いて解析し、疾患の経時的変化に即した内分泌系ホルモンの動向を探る。

3. 研究の方法

- (1) フレアアップ原因菌による根尖病変動物モデルの確立
- (2) ストレス性内分泌ホルモンと病態との関連の解明

4. 研究成果

- (1) フレアアップ原因菌による根尖病変動物モデルの確立

歯周炎動物モデルにおいては、細菌叢を確立させ、炎症と骨吸収に焦点を当てた報告が

多く認められる一方、歯根膜に侵入した細菌と骨吸収との関連を検索した報告が少ない。そこで、ラット根尖性歯周炎実験系を確立し、病変の発症過程におけるサイトカインと骨系細胞の動態を解析するとともに、フレアアップの原因となる *P. gingivalis* を添加した場合の影響を検討した。

ラット下顎第一大臼歯を抜髄、開放し、14日目にPgATCC33277株をペーパーポイントにて根管内に留置し、ガラスアイオノマーセメントにて仮封した。その後、3, 7, 14日目に標本を採取した。

標本はPLPによる還流固定し、冷凍切片作成後、H.E染色を施し鏡検するとともに、破骨細胞のマーカーであるTRAP染色および骨芽細胞のマーカーであるALP染色を行った。また、マクロファージ系細胞のマーカーである抗ED1抗体と抗IL-1 α 、抗IL-1 β 、抗TGF- β 1抗体、抗RANKL抗体、抗CD5抗体を一次抗体とした免疫染色を行い、組織定量的に解析した。

①根尖病巣面積は抜髄後14日まで拡大傾向を示し、28、56日目では拡大傾向は認められなかった。病巣の拡大傾向にある7、14日目では根尖部に好中球およびマクロファージの著しい浸潤が認められ、歯根膜中には著しいIL-1 α および β 発現細胞の浸潤が観察された。骨面にはTRAP陽性を示す破骨細胞が多数観察された。一方、病巣の拡大が終息する28日目では、多数のマクロファージの浸潤が認められるものの好中球の浸潤、骨吸収は消退し、骨面に多数のALP陽性を示す骨芽細胞

が配列した所見が認められた。病巣中では14日目と比較してIL-1発現細胞の減少が認められた。56日目では病巣は線維化し、少数のIL-1発現細胞が認められた。実験期間中TGF- β 1発現細胞は14日および28日目に腫瘍周囲に散在性に観察された。

②Pg留置後、実験期間全般にわたって病巣中には著しいマクロファージの発現が認められた。また、多数のIL-1発現細胞およびRANKL発現細胞が継続して認められ、骨面では多数の破骨細胞が観察された。また、Pg留置後T細胞は、経時的に増加傾向を示した。

ラット根尖性歯周炎の成立過程にはIL-1を発現したマクロファージが破骨細胞性骨吸収を活性化している可能性が示唆された。一方、Pgを根管内に留置することにより病巣中にはマクロファージに加えて多数のT細胞の浸潤と骨吸収活性化因子であるIL-1およびRANKLの発現が継続して観察された。また、骨面では破骨細胞による骨吸収象が認められた。これらのことにより、Pgを根管内に留置した実験系はT細胞による破骨細胞活性化機構およびIL-1とRANKLのクロストークについての解析に有効である可能性が示唆された。

(2) ストレス性内分泌ホルモンと病態との関連の解明

これまでに、口腔乾燥症患者におけるストレス性内分泌ホルモンの変化について研究を行い、病態と唾液中コルチゾルおよびクロモグラニンAの間に有意な関連が認められた。他の口腔内領域での疾患においても同様の結果がみられるかを検討するため、BMS (Burning Mouth Syndrome) とストレス性内分

泌ホルモンとの関連を評価、検討した。

対象は、BMS患者81名と、年齢および性別をマッチングさせたコントロール群33名である。本研究に関する十分な説明を行い、文書による同意を得た後、口腔および全身に関する問診、口腔内診査、唾液流出量検査などを行った。唾液は、唾液収集用チューブを用いてガム法による唾液流出量を測定し、 -30°C で保存した。唾液中ストレスマーカーとして、コルチゾルおよびクロモグラニンAの測定をそれぞれコルチゾルEIAキット(サリメトリクス社)、クロモグラニンA EIAキット(Yanaihara社)を用いて行った。統計解析には、SPSS Ver. 11.0 for Windowsを用いた。

ケース群(BMS患者)とコントロール群を比較した場合、唾液中コルチゾル値およびクロモグラニンA値は、ケース群で有意に高い値を示した。BMS患者を症状の重症度により2群に分け(BMS1(軽度群):41名、BMS2(重度群):40名)、コントロール群と比較したところ、両群とも唾液中コルチゾル値において有意に高値であった。一方、クロモグラニンA値においては、BMS2ではコントロール群と比較して有意に高値であった。さらに、BMSの症状の一つである口腔乾燥に影響すると考えられる降圧剤、抗ヒスタミン薬、鎮痛薬、利尿剤、催眠薬、抗うつ薬、抗不安薬などの服用薬剤の有無によって比較を行ったところ、唾液中コルチゾル値およびクロモグラニンA値は服用薬剤の有無に影響されないことがわかった。

本結果から、唾液中に検出されるコルチゾルおよびクロモグラニンAはBMSの病態を反映していると考えられ、臨床評価マーカーの

ひとつとして有用であることが示唆された。

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)

[学会発表] (計 1 件)

Chieko Shigeyama

Association between salivary cortisol levels and BMS

International Association For Dental Research

2010年7月13~19日 スペイン・バルセロナ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

茂山 千英子

(福岡歯科大学 歯科保存学分野)

研究者番号 : 50508976

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :