

学 位 論 文 要 旨 (事 務 用)

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

専攻分野 予防歯科学	身分 大学院生	氏名 粕山 健太
論文題名 Hydrogen-rich water attenuates experimental periodontitis in a rat model		
【緒言】 <p>歯周炎は、歯垢中の細菌が引き起こす、歯周組織の破壊を伴う慢性炎症性疾患である。歯周炎の進行に伴い生体防御反応として活性酸素種が産生される。しかし活性酸素種が過剰に産生されると歯周組織の破壊が進行することも明らかにされている。したがって、宿主の抗酸化力を高めることは、歯周炎の進行予防に効果があると推測される。</p> <p>水素水とは水素分子が水に溶けた溶液である。近年、水素水には体内で発生した活性酸素種を消去する作用があることが証明されている。したがって、水素水の摂取は全身の抗酸化力を増加させる方法の一つとして着目される。しかし、水素水が歯周炎にどのような効果を示すのかは不明であった。そこで本研究では、ラット実験モデルを用いて、水素水摂取による歯周炎への影響を、組織学的、生化学的に検討した。</p> 【方法】 <p>8週齢 Wistar 系雄性ラット 28 匹を 7 匹ずつ、対照群(Control : C 群)、水素水摂取群(Hydrogen-rich Water : HW 群)、歯周炎群(Periodontitis : P 群)、および歯周炎+水素水摂取群(Periodontitis + Hydrogen-rich Water : P+HW 群)の 4 群に分けた。実験期間は 4 週間とした。C 群に対しては通常飼育を行い蒸留水を与えた。P 群、P+HW 群では、上顎両側第二臼歯の歯頸部周囲に絹糸を結紮し、実験的歯周炎を惹起させた。さらに、HW 群、P+HW 群には実験期間の間、水素水(800~1000 µg/L)を与えた。実験開始時、2 週間経過時、実験終了時に採血を行い、血清中の reactive oxygen metabolites (ROM)値を測定した。</p> <p>実験期間終了後、上顎右側歯周組織の組織標本を作製した。ヘマトキシリンエオジン(HE)染色を行い、歯肉結合組織中の多核好中球数とセメントエナメル境から歯槽骨頂までの距離を計測した。また、8-hydroxydeoxyguanosine(8-OHdG)免疫染色、nitrotyrosine 免疫染色、tartrate-resistant acid phosphatase(TRAP)染色を行い、歯槽骨表面の 8-OHdG 陽性細胞数、nitrotyrosine 陽性細胞数、および TRAP 陽性破骨細胞数を計測した。そして総細胞数に対する陽性細胞数の割合を陽性率として求めた。上顎左側歯肉からはタンパクを抽出した。ELISA 法を用い、還元型グルタチオン(GSH)と酸化型グルタチオン(GSSG)の比(GSH/GSSG)を求めた。また、ウエスタンブロット法を用いて、c-Jun N-terminal kinase(JNK)、p38、extracellular signal-regulated protein kinase 1/2(ERK1/2)、リン酸化 JNK(p-JNK)、リン酸化 p38(p-p38)およびリン酸化 ERK1/2(p-ERK1/2)の発現量を求めた。</p> <p>血清 ROM 値、HE 染色および TRAP 染色による組織学分析の群間比較には一元配置分散分析と Tukey 法を、そして 8-OHdG 陽性細胞率、nitrotyrosine 陽性細胞率および GSH/GSSG の群間比較には t 検定を用いた。</p>		

事 務 用

【結果】

P 群の血清 ROM 値は経時的に上昇し、2 週目と 4 週目においては C 群と比べて有意に高くなった。P+HW 群も P 群と同様に血清 ROM 値は経時的に上昇したが、4 週目において P 群と比較すると有意に低い値を示した。

実験終了時における P 群、P+HW 群の歯周組織では、多核好中球数と破骨細胞数が C 群、HW 群よりも有意に多くなったが、P+HW 群では P 群と比較して有意に少なかった。また、セメントエナメル境から歯槽骨頂までの距離は C 群、C+HW 群と比較して P 群では有意に大きくなったが、P+HW 群と C 群との間では有意な差は認められなかった。

P 群と比較して、P+HW 群の GSH/GSSG は有意に高く、8-OHdG 陽性細胞数率と nitrotyrosine 陽性細胞率は有意に小さかった。さらに、P+HW 群における p-JNK、p-p38、および p-ERK1/2 の発現量も、P 群と比較して低かった。

【考察】

過去の研究では、ラット臼歯歯頸部に絹糸を結紮することで実験的歯周炎が惹起されることが示されている。本研究においても P 群、P+HW 群の多核好中球数と破骨細胞は C 群、C+HW 群の値よりも多くなっており、実験的歯周炎が惹起されていることが確認された。

P 群と比較し、P+HW 群では多核好中球数、および破骨細胞数が有意に少なかった。C 群、C+HW 群と比較し歯槽骨吸収の指標となるセメントエナメル境から歯槽骨頂までの距離は P 群で有意に高かったが、P+HW 群では有意な差を認めなかった。これらの結果から水素水の摂取により歯周組織の破壊が抑制されたことが示唆される。

また P 群と比較し、P+HW 群では GSH/GSSG は有意に高く、8-OHdG 陽性細胞率、nitrotyrosine 陽性細胞率は有意に低かった。過去の研究から GSH/GSSG は抗酸化力、そして 8-OHdG と nitrotyrosine は酸化ダメージの指標となることがそれぞれ報告されている。本研究の結果は水素水の摂取によって歯肉の抗酸化力が向上するとともに、歯肉の酸化ダメージが減少したことを示唆している。

P 群、P+HW 群では C 群、HW 群と比較し経時的に血清 ROM 値が上昇したが、P+HW 群は P 群と比較すると血清 ROM 値は有意に小さくなっていった。過去の研究から、水素分子に、活性酸素種を消去する作用があることが分かっている。したがって歯周炎進行に伴い産生される活性酸素種の増加が水素水によって抑えられたと考えられる。

P 群と比較し、P+HW 群では mitogen-activated protein kinase (MAPK; JNK, p-38, ERK1/2) のリン酸化が抑制されていた。MAPK は細胞内伝達経路の 1 つであり、細胞が酸化ダメージを受けるとリン酸化が起こり、炎症性の組織破壊が促進されることが知られている。これらのことから水素水による歯肉組織の破壊の抑制に MAPK のリン酸化抑制が関与していることが推測される。

過去の研究からカテキンなどの抗酸化物質には、歯周病病原細菌に対する殺菌作用を有するものがあると報告されている。本研究では、水素水による抗酸化作用による歯周炎抑制作用は示されたが歯周病病原細菌への影響は確認していない。今後は水素水による歯周病病原細菌への影響も検討する必要があるだろう。

【結論】

ラット実験モデルにおいて、水素水の摂取には、活性酸素種の消去とともに炎症の伝達経路を不活性化し、歯周炎の進行を抑制する効果があることが示唆された。