

# ナタマメエキスが関節リウマチと歯周炎の相互作用 に対して与える効果について

著者	松本 光生
学位名	博士（歯学）
学位授与機関	北海道医療大学
学位授与年度	平成29年度
学位授与番号	30110甲第297号
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00064595/">http://id.nii.ac.jp/1145/00064595/</a>

# 論文要旨

ナタマメエキスが関節リウマチと歯周炎の  
相互作用に対して与える効果について

平成 29 年度

北海道医療大学大学院歯学研究科

松本 光生

## 【緒言】

歯周炎 (PD) は、全身疾患に影響を及ぼすことが報告されている。関節リウマチ (RA) は、手足の関節における慢性炎症を主体とする自己免疫疾患である。RA の本態は慢性滑膜炎であり、炎症性サイトカイン産生とリンパ球活性化の結果、関節内軟骨や骨の破壊が生じるとされている。RA と PD は、炎症性サイトカインの産生、骨の吸収など類似した点が多く認められる。RA と PD は、どちらも炎症性細胞 (T リンパ球, マクロファージ, 多核球) の浸潤が生じ、進行性の組織破壊を引き起こす。現在いくつかの疫学研究で、RA と PD との間に、相互作用があることが報告されている。しかし、相互作用のメカニズムは、明らかとなっていない。

一方、植物由来成分が抗炎症作用を有することが報告されている。我々は、予備実験で、ナタマメエキス (Sward Bean Extract : SBE) が、LPS 刺激 THP-1 細胞から産生される TNF- $\alpha$  と IL-1 $\beta$  を有意に抑制することを明らかにした。

今回の実験の目的は、実験的関節炎モデルマウスに歯周炎を誘導することによって RA と PD の双方向の関連性を検討すること、また、SBE の実験的歯周炎と実験的関節炎に対する効果について検討することとした。

## 【材料と方法】

### 〈動物〉

5 週齢雌性の SKG マウスを使用して実験を行った。今回の実験プロトコールは、北海道医療大学動物実験臨床委員会に承認されている。(承認番号 68) 条件は、各群 6 匹で、以下の通りである。Group1: Control 群, Group2: PD 群, Group3: RA 群, Group4: RA+PD, Group5: SBE 群, Group6: PD+SBE 群, Group7: RA+SBE 群, Group8: RA+PD+SBE 群とした。SBE 群では水の代わりに SBE を飲用させた。

### 〈ナタマメエキス (SBE) の調整〉

ナタマメの 50%エタノール抽出液を凍結乾燥後、粉末状にし、2000  $\mu$ g/ml の溶液としたものを SBE とした。

### 〈関節炎の誘導〉

RA 群は、6 週齢時にマンナン 20 mg を腹腔内投与した。その他の群は、同量の生理食塩水を腹腔内投与した。

### 〈歯槽骨吸収の誘導〉

PD 群は、10 週齢時にソムノペンチルによる麻酔下で、5-0 絹糸を両側上顎第二臼歯に結紮した。結紮糸は、3 週間保持し PD を誘導した。

### 〈形態学的評価〉

歯槽骨吸収の評価は、上顎骨の乾燥標本を作製し、上顎第二臼歯のセメントエナメル境から歯槽骨頂間の範囲を骨欠損面積として、画像解析ソフト Image J を用いて解析した。

#### <臨床的評価>

前後左右の足の腫脹，発赤をスコアをつけて評価した。

#### <組織学的評価>

採取した上顎骨と，前足の組織切片を作製し，ヘマトキシリン・エオジン(H.E)染色を行った。前足の切片は，炎症の程度に基づくスコアをつけて比較した。

#### <免疫学的評価>

前足関節の切片を抗 IL-17 抗体もしくは，抗カテプシン K 抗体を用いて，免疫染色を行い観察した。

#### <血清中 CRP 濃度の測定>

屠殺時に心臓から採血を行った。ELISA を用いて血清中 CRP 濃度を測定した。

#### <統計解析>

すべてのデータは，一元配置分析を用い，Tukey-Kramer 検定を用いて補正を行った。有意水準 0.05 以下を有意差ありと判断した。

### 【結果】

#### 関節炎に関する評価

##### <臨床的評価>

RA 群，RA+PD 群の前後足では，その他の群と比較して有意な腫脹発赤が認められた。特に RA+PD 群では顕著であった。RA+歯周炎群と比較して，RA+PD+SBE 群では，前後足の腫脹，発赤が減少する傾向を示した。

##### <組織学的評価>

RA 群と RA+PD 群の関節組織では，Control 群と比較して，有意に炎症スコアが大きかった。さらに，RA+PD 群では，RA 群と比較して有意に炎症スコアが大きかった。RA+PD+SBE 群では，RA+PD 群と比較して有意に炎症スコアが小さくなった。

##### <免疫学組織化学的評価>

RA 群と比較して RA+PD 群では，IL-17 陽性細胞，カテプシン K，陽性細胞の発現が増加していた。RA+PD 群と比較して，RA+PD+SBE では，IL-17 陽性細胞，カテプシン K 陽性細胞の発現が減少していた。

##### <血清中 CRP 濃度>

PD 群と RA 群と比較して RA+PD 群では，血清中 CRP 濃度が有意に高い値を示した。RA+PD 群と比較して RA+PD+SBE 群の血清中 CRP 濃度は，有意に低い値を示した。PD 群と比較して PD+SBE 群では有意な差は認められなかったが低い値を示した。RA 群と RA+SBE 群を比較しても同様の結果が認められた。

#### 歯周組織に関する評価

##### <歯槽骨吸収量>

PD 群と RA+PD 群の歯槽骨吸収量は，Control 群，RA 群と比較して有意に大き

い値を示した。さらに、RA+PD 群の歯槽骨吸収量は、PD 群と比較して有意に大きい値を示した。PD 群と比較して PD+SBE 群の歯槽骨吸収量は有意に小さい値を示した。RA+PD 群の歯槽骨吸収量と比較して、RA+PD+SBE 群の歯槽骨吸収量は有意に小さい値を示した。

#### <組織学的評価>

PD 群と RA+PD 群の歯周組織には、骨吸収像や多量の炎症性細胞の浸潤が認められた。さらに、RA+PD 群では、より多量の炎症性細胞の浸潤が観察された。PD+SBE 群と RA+PD+SBE 群では、骨吸収像、炎症性細胞の浸潤が PD 群、RA+PD 群と比較して少なくなった。

#### 【考察】

本研究において RA の存在下で PD が悪化し、さらに PD の影響で RA が悪化した。局所および全身の炎症反応は、相互に影響を及ぼすと考えることができる。SBE は、歯周組織における炎症反応と RA と PD が合併した際の関節での炎症を有意に抑制した。また関節における IL-17 産生と、カテプシン K の発現を抑制した。この結果は、SBE が炎症組織中で産生される骨吸収関連サイトカインである TNF- $\alpha$  や IL-1 $\beta$  を抑制したためと考えられる。

#### 【結論】

RA の存在下で歯周組織の炎症は悪化し、歯周組織に炎症が生じることで RA が悪化することが明らかとなった。

SBE は、実験的関節炎を有意に抑制することはできなかったが、実験的歯周炎モデルにおける歯槽骨吸収を抑制し、さらに、RA と PD の相互作用を抑制することが明らかとなった。このことは、SBE の有する炎症性サイトカイン産生抑制効果に起因する可能性が示唆された。