

原 著

タデ藍水抽出エキスの歯肉の炎症に対する効果

畑中加珠^{*1}, 福家教子^{*1,2}, 妹尾京子^{*1}, 富山高史^{*1},
 岩城完三^{*3}, 國方敏夫^{*3}, 政木直也^{*3}, 福田恵温^{*3},
 前田博史^{*1}, 新井英雄^{*1,4}, 高柴正悟^{*1}

^{*1}岡山大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病態学分野

^{*2}国立療養所大島青松園歯科

^{*3}株式会社林原生物化学研究所

^{*4}国立療養所邑久光明園歯科

(受付日: 2008年5月9日 受理日: 2008年6月24日)

Effect of *Polygonum tinctorium* extract against gingival inflammation

Kazu Hatanaka^{*1}, Kyoko Fuke^{*1,2}, Kyoko Seno^{*1}, Takashi Tomiyama^{*1},
 Kanso Iwaki^{*3}, Toshio Kunikata^{*3}, Naoya Masaki^{*3}, Shigeharu Fukuda^{*3},
 Hiroshi Maeda^{*1}, Hideo Arai^{*1,4} and Shogo Takashiba^{*1}

^{*1}Department of Pathophysiology-Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine,
 Dentistry and Pharmaceutical Sciences

^{*2}National Sanatorium Oshima Seisho-en

^{*3}Hayashibara Biochemical Laboratories, Inc.

^{*4}National Sanatorium Oku Komyo-en

(Received: May 9, 2008 Accepted: June 24, 2008)

Abstract: An indigo dye plant, *Polygonum tinctorium* has been shown to have anti-inflammatory and antibacterial effects against pathogens causing periodontitis. In this study, the effect of *Polygonum tinctorium* extract on gingival inflammation was investigated in a double-blind fashion.

Thirty patients with chronic periodontitis who had received supportive periodontal therapy (SPT) were enrolled. All subjects rubbed one gram of jelly including *Polygonum tinctorium* extract on the gingiva three times per day after each meal and oral care for ten weeks. The clinical examinations of plaque index (P_{LI}), probing pocket depth (PPD) and bleeding score (BOP) on four subjective teeth were performed before test and after five and ten weeks. We also measured the weight of gingival crevicular fluid (GCF) and TNF- α levels in the GCF at same periods.

連絡先: 畑中加珠

〒700-8525 岡山県岡山市鹿田町2-5-1

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病態学分野

Kazu Hatanaka

Department of Pathophysiology-Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

2-5-1 Shikata-cho, Okayama 700-8525, Japan

E-mail: kazu_t@md.okayama-u.ac.jp

In all the subjects, P ℓ I and BOP tended to improve gradually regardless of the presence of *Polygonum tinctorium* extract. On the other hand, in subjects whose average P ℓ I before testing was over 1.5, BOP tended to improve gradually depending on the concentrations of *Polygonum tinctorium* extract. Moreover, in a high-dose group, the weight of the GCF gradually decreased, and a significant decrease was observed at ten weeks compared with those in the low-dose and placebo groups. No significant differences were observed in PPD and TNF- α levels in the GCF.

These results suggested that *Polygonum tinctorium* extract is effective for application in poor self-brushing subjects, and may inhibit gingival inflammation.

Nihon Shishubyo Gakkai Kaishi (J Jpn Soc Periodontol) 50(3) : 167-175, 2008.

Key words : *Polygonum tinctorium* extract, gingival crevicular fluid (GCF), gingival inflammation

要旨 : タデ藍は染料用植物としてよく知られている一方で、そのエキスが抗炎症作用および歯周病原菌に対する抗菌作用を有することも明らかにされている。本研究の目的は、このタデ藍水抽出エキスを用いて、歯肉の炎症に対する効果を調べることとした。

本研究は、病状安定期(SPT期)にある慢性歯周炎患者30名を対象とした二重盲検法にて実施した。被験者は、10週間にわたって、1日3回食後の口腔清掃後に、タデ藍エキス含有ジェル1gを歯肉に塗布した。開始前、5週目および10週目に、被験歯4歯のプラーク指数(P ℓ I)、プロービングポケット深さ(PPD)、およびプロービング時出血(BOP)を評価した。また、同時期に歯肉溝滲出液(GCF)を採取し、その重量とTNF- α 濃度を測定した。

被験者全体でみると、タデ藍水抽出エキス含有濃度に関わらず経時的にP ℓ IおよびBOPが減少する傾向にあった。一方、開始時の平均P ℓ Iが1.5以上の被験者に絞ってみると、含有濃度依存的に経時的にBOPが減少する傾向にあり、また、GCFの重量は、高濃度群で経時的に有意に減少し、かつ10週目において対照群および低濃度群と比較して有意に低値を示した。なお、いずれにおいてもPPDおよびGCF中のTNF- α 濃度には変化が見られなかった。

以上の結果から、タデ藍水抽出エキスは自身での清掃が十分でない人への応用が有益であり、歯肉の炎症を抑制する可能性が示唆された。

日本歯周病学会会誌(日歯周誌)50(3) : 167-175, 2008

キーワード : タデ藍水抽出エキス, 歯肉溝滲出液(GCF), 歯肉の炎症

緒 言

タデ藍(学名 *Polygonum tinctorium* Lour.)は、東南アジア原産のタデ科タデ属の一年草で、日本では藍染めのための染料用植物としてよく知られている。その一方、中国医学では大青葉という名前で、二千年以上前から薬用植物として用いられており、「中薬大辞典」にも解毒・解熱・消炎などの効果があると記載されている。

タデ藍水抽出エキスは、抗ピロリ菌作用、抗ウイルス作用、抗酸化作用、抗癌作用、抗アレルギー作用、抗炎症作用などの様々な生理作用を有する¹⁻⁹⁾。そのうち主な作用は抗炎症作用であり、その活性成分の一つはトリプタンスリンという含藍植物に特徴的な物質であることが明らかにされている⁸⁾。トリプタンスリンは、一酸化窒素の合成酵素であるiNOSの発現を抑制すること、およびプロスタグランジン E₂(PGE₂)合

成系の律速酵素であるシクロオキシゲナーゼの活性を抑制することが解明されている⁸⁾。さらに、歯周病原菌(*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* および *Campylobacter rectus* の4菌種7菌株)やう蝕原因菌(2菌種8菌株)に対する抗菌活性も確認された¹⁰⁾。

以上の活性を基に、タデ藍水抽出エキスを20%配合した歯磨剤を開発し、慢性歯周炎患者に適用したところ、本歯磨剤の有効性が示唆された¹¹⁾。すなわち、本歯磨剤を使用することによって経時的に歯周ポケットの深さや歯肉からの出血が改善されるとともに、唾液中の炎症性サイトカインの量も減少した。しかしながら、本歯磨剤にはタデ藍水抽出エキス以外に、抗炎症作用を有する β -グリチルレチン酸、および抗菌作用を有する塩化セチルピリジニウムといった有効成分も含まれている。したがって、タデ藍水抽出エキス自体の臨床的効果については不明な点がある。

表1 被験物質の組成

含有成分	対照	低濃度	高濃度
タデ藍水抽出エキス	—	20%	40%
精製水	99%	79%	59%
ハイビスワコー(基剤)	1%	1%	1%
合成着色料 ¹⁾	適量	適量	—
水酸化ナトリウム ²⁾	適量	適量	適量

¹⁾ タデ藍水抽出エキスは茶褐色であるため、全ての被験物質の色調を合わせるように加えた。

²⁾ pHを調整するために加えた。

表2 被験者の背景因子

	性別(男/女)	年齢(歳)	残存歯数(歯)
対照群	1/10	66.9 ± 7.8	22.8 ± 4.0
低濃度群	2/7	68.1 ± 8.4	23.2 ± 5.1
高濃度群	1/9	66.0 ± 7.8	23.4 ± 6.3

平均値 ± 標準偏差

そこで、今回我々は、タデ藍水抽出エキス以外の他の有効成分を一切含まないタデ藍水抽出エキス含有ジェルを用いて、歯周病に対する臨床的效果を検討した。

材料および方法

1. 被験物質の調製

被験ジェルは、対照(プラセボ)、低濃度および高濃度の3種類を林原生物化学研究所医薬研究部門において作製した。その成分については表1に示す通りである。低濃度に含有されるタデ藍水抽出エキスは、前述の藍入り歯磨剤と同じ濃度、すなわち被験ジェル1gに藍固形分として2mgを含む量(藍エキスとして20%)に設定し、高濃度は、その2倍の量(40%)に設定した。ハイビスワコーは被験物質をジェル化する基材である。また、タデ藍水抽出エキスは茶褐色であるため、全ての被験物質の色調を合わせるように合成着色料を加えた。なお、添加した合成着色料およびpH調整用の水酸化ナトリウムは微量であり、これらの成分による本試験への影響はないものとする。

2. 被験者の選択

被験者は、岡山大学医学部・歯学部附属病院歯周科にSPTのため来院中の慢性歯周炎患者で、重篤な全

身的基礎疾患を有さない非喫煙者を対象とした。本研究の目的および方法を文書にて説明し、同意が得られた30名(男性4名、女性26名、平均年齢67.0 ± 7.7歳)を対照群、低濃度群および高濃度群の3群に割り付け、二重盲験試験を実施した。各群の性別、年齢および残存歯数を表2に示した。これら背景因子で3群間に有意な差を認めなかった。なお、本研究は、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会(受付番号141、平成19年1月23日)の承認を得て行われた。

3. 試験方法

被験者は、10週間にわたって、対照ジェル、低濃度ジェルもしくは高濃度ジェルを1日3回食後の口腔清掃後に歯肉に塗布した。1回1gのジェルを共通の歯ブラシ(GUM® #211M, SUNSTAR, 大阪)に取り、歯肉に軽く塗りこみ、塗布後30分間は含嗽や飲食を控えてもらった。試験期間中はブラッシングの習慣や方法の変更は行っていない。被験者には塗布チェックシートを記録してもらい、ジェルの塗布率が66.7%以下の場合は評価対象から除外することとした。試験開始前、開始後5週目と10週目の計3回、臨床指標の測定のための口腔内検査、炎症関連物質の測定のための歯肉溝滲出液(gingival crevicular fluid; GCF)の採取を実施した。

4. 臨床指標の測定および試料の採取

試験開始前, 5 週後および 10 週後に評価を行った。初回までの検査で歯周ポケットからの出血が認められた部位のうち深いポケットを有する 4 歯を被験歯として選定し, 各被験者に対しては同一術者が以下の項目について, 口腔内検査を行った。

1) Plaque index; P ℓ I

Löe と Silness の基準¹²⁾に準じて, 4 歯面のプラークの付着状況から測定した。

2) Probing pocket depth; PPD

ペリオプローブ[®](YDM, 東京)を用いて 6 点法にて 1 mm 単位で計測した。測定は通法に従った。

3) Bleeding Score (Bleeding on probing); BOP

PPD 測定後に生じた出血を肉眼にて以下のスコアで評価した。

スコア 0; 出血なし, 1; 点状に出血, 2; 線状(帯状)に出血, 3; 自然出血

また, 上記の被験歯 4 歯のうち初回の検査で PPD が大きい 2 歯(2 部位)から GCF を採取した。採取前に, ローラーコットンを用いて簡易防湿を行い, 採取部位を綿球およびエアーにて乾燥させた。エッペンドルフチューブに準備した 6 本のペーパーポイント(ZIPPERER[®] #45, DENTSPLY, York, PA, USA)を 2 部位の歯肉溝内に 3 本ずつ挿入し, 30 秒間放置した後取り出して, 元のチューブに回収した。電子微量天秤で採取前後のチューブの重量を測定することによって, 採取した GCF の重量を算出した。その後, 直ちに -30°C で保存し, 炎症性サイトカイン TNF- α の測定に供した。

5. TNF- α の測定

GCF は, 解凍後 0.5% FCS, 1% BSA, 1 M NaCl を含む PBS(抽出バッファー)を 70 μ l 加え, 氷冷下で 30 分間静置した。15,000 rpm, 3 分間遠心することで, ペーパーポイントに吸収された抽出バッファーを分離し, 回収したものを測定用検体とした。TNF- α 量の測定は, 林原生物化学研究所医薬研究部門において確立した検出限界が 1 pg/ml のサンドウィッチ ELISA 法を用いて行った。GCF の重量をもとに, GCF 1 ml あたりの TNF- α 量を算出した。

6. 統計処理

試験開始前, 5 週後および 10 週後の各臨床指標の被験者群間における比較は, Mann-Whitney U 検定を用いて解析を行った。また, 群内の経時変化は, Wilcoxon の符号付順位検定で解析を行った。統計学的検討に際しては, 統計解析用ソフト Stat View J-5.0(SAS Institute Inc.)を用い, 検定における有意水準は両側 5% とした。

結 果

1. 被験者全員の臨床指標の変化

試験開始前の臨床指標において, 被験者群間に有意な差はなかった(表 3)。P ℓ I および BOP の全被験者平均は, いずれの群でも試験開始前から 5, 10 週目の間に減少傾向が見られたが, 有意な差はなかった(表 3)。PPD の全被験者平均は, いずれの群でも試験期間中に有意な変化を示さなかった(表 3)。また, 健常者の平均 GCF 重量は, 表中には示さなかったが, 0.77 \pm 0.64 mg であったのに対し, 全被験者の平均 GCF 重量は, 試験開始前において平均 4.46 \pm 2.03 mg であり, 健常者の約 6 倍高値を示した。高濃度群では経時的に減少傾向が見られたが, 有意な差を認めず, 被験者群間にも有意な差はなかった(表 3)。

2. 平均 P ℓ I \geq 1.5 被験者の臨床指標の変化

試験開始前の 1 歯あたり平均 P ℓ I が 1.5 以上の被験者に絞った場合の臨床指標の変化を表 4 に示した。被験者は 18 名(男性 2 名, 女性 16 名, 平均年齢 67.9 \pm 8.0 歳)で, 各群の性別, 年齢および残存歯数を表 5 に示した。BOP の被験者平均は, タデ藍エキス含有群で濃度依存的に経時的に減少傾向が見られたが, 群間および群内に有意な差はなかった(表 4)。PPD の被験者平均は, 全被験者平均と同様, いずれの群でも有意な変化を示さなかった(表 4)。一方, GCF 重量の被験者平均は, 高濃度群で試験開始前から 10 週目の間に 4.08 \pm 1.03 mg から 2.57 \pm 1.19 mg へと有意な減少が見られ($p < 0.05$), 10 週目において対照群および低濃度群と比較して有意に低値を示した($p < 0.05$)(表 4, 図 1)。

3. GCF 中の TNF- α レベルの変化

GCF 1 ml あたりの TNF- α 量の変化を表 6 に示した。いずれの群でも, GCF 中の TNF- α 濃度は試験期間中に有意な変化を示さなかった。

考 察

歯周ポケットから滲出する組織液(GCF)は, 一時間におよそ 20 μ l の分泌があり, 炎症があるとその量が増加し, 組織液中のサイトカインの産生量が増加すると言われている¹³⁾。今回の試験では, タデ藍水抽出エキスを 40% 含有したジェルを塗布した群で平均 P ℓ I が 1.5 以上の被験者に限り, 経時的にかつ他群と比較して有意な GCF 重量の減少を示した。過去にタデ藍水抽出エキス配合歯磨剤を用いた臨床試験において, TNF- α は, 最も分泌抑制が見られた唾液中の炎症性

表3 被験者全員の臨床指標の変化

	P ℓ I	PPD (mm)	BOP	GCF (mg)	
対照群 (n=11)	2.05 \pm 1.72	2.84 \pm 0.32	2.75 \pm 1.60	4.80 \pm 2.63	0週
	1.52 \pm 1.23	2.58 \pm 0.34	2.02 \pm 1.32	4.30 \pm 2.14	5週
	1.39 \pm 1.47	2.63 \pm 0.35	2.07 \pm 2.29	4.82 \pm 2.10	10週
低濃度群 (n=9)	2.31 \pm 1.15	2.75 \pm 0.58	2.14 \pm 1.69	4.21 \pm 2.15	0週
	2.03 \pm 0.93	2.62 \pm 0.71	1.69 \pm 1.84	3.79 \pm 2.23	5週
	1.00 \pm 0.68	2.68 \pm 0.50	1.72 \pm 1.61	4.63 \pm 2.59	10週
高濃度群 (n=10)	1.63 \pm 1.03	2.82 \pm 0.48	2.23 \pm 1.48	4.30 \pm 1.12	0週
	1.35 \pm 0.77	2.66 \pm 0.44	1.95 \pm 1.08	3.70 \pm 1.57	5週
	1.25 \pm 1.06	2.62 \pm 0.52	1.70 \pm 1.33	3.07 \pm 1.49	10週

平均値 \pm 標準偏差

表4 平均P ℓ I \geq 1.5 被験者の臨床指標の変化

	P ℓ I	PPD (mm)	BOP	GCF (mg)	
対照群 (n=6)	3.33 \pm 1.18	2.82 \pm 0.28	2.92 \pm 1.72	4.40 \pm 1.33	0週
	2.08 \pm 1.34	2.59 \pm 0.40	2.54 \pm 4.61	4.53 \pm 2.79	5週
	2.04 \pm 1.69	2.69 \pm 0.42	2.88 \pm 2.92	5.62 \pm 2.40	10週
低濃度群 (n=6)	3.00 \pm 0.61	2.94 \pm 0.61	3.00 \pm 1.35	4.30 \pm 1.35	0週
	2.33 \pm 0.70	2.85 \pm 0.74	2.42 \pm 1.88	3.67 \pm 1.85	5週
	1.17 \pm 0.65	2.86 \pm 0.54	2.38 \pm 1.62	5.18 \pm 2.61	10週
高濃度群 (n=6)	2.25 \pm 0.76	2.63 \pm 0.39	2.88 \pm 1.63	4.08 \pm 1.03	0週
	1.46 \pm 0.51	2.38 \pm 0.23	2.25 \pm 1.29	2.82 \pm 1.39	5週
	1.46 \pm 1.12	2.42 \pm 0.43	2.13 \pm 1.50	2.57 \pm 1.19*	10週

平均値 \pm 標準偏差

* 統計学的に有意差あり, 0週との経時比較および対照群との比較 (p < 0.05)

表5 平均P ℓ I \geq 1.5 被験者の背景因子

	性別(男/女)	年齢(歳)	残存歯数(歯)
対照群	1/5	69.2 \pm 6.4	23.3 \pm 2.0
低濃度群	1/5	69.0 \pm 9.7	25.5 \pm 1.9
高濃度群	0/6	65.5 \pm 8.5	25.2 \pm 6.0

平均値 \pm 標準偏差

サイトカインであり¹¹⁾, また, 破骨細胞の分化を誘導することも報告されている¹⁴⁾。そこで, 今回我々は, このTNF- α を被験対象にしたが, GCF中のTNF- α 濃度は変化がなかった。ただし, 歯周ポケット中の

TNF- α の総量で比較すると, 前述のようにGCF重量はタデ藍水抽出エキス含有ジェルの塗布によって減少したため, 低下しているとも考えられる。歯周炎患者から採取したGCFとサイトカインに関する報告に

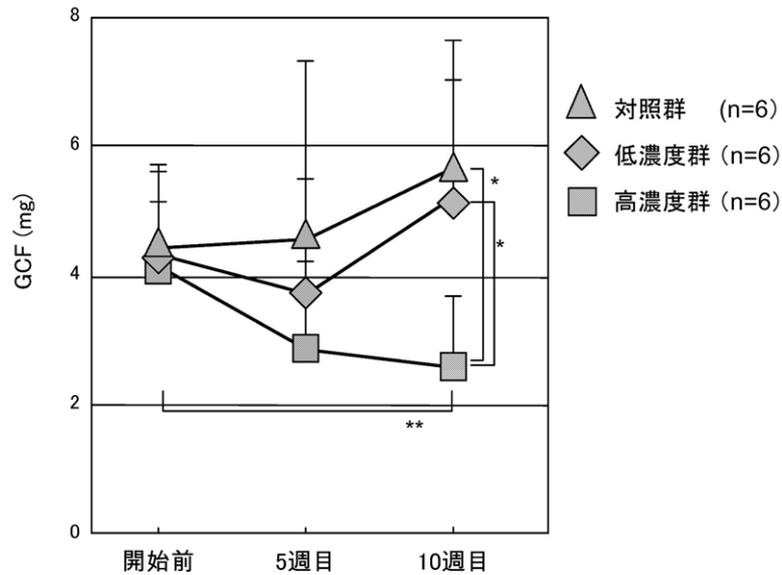


図1 被験者(平均 P \geq 1.5)の GCF 重量の変化
 *p < 0.05 (Mann-Whitney U test)
 **p < 0.05 (Wilcoxon-signed rank test)

表6 GCF 中の TNF- α レベルの変化

	被験者全員	P \geq 1.5被験者	
対照群	375.9 \pm 441.1	218.0 \pm 89.5	0週
	318.8 \pm 276.4	297.8 \pm 296.4	5週
	289.0 \pm 348.7	366.8 \pm 471.2	10週
低濃度群	242.5 \pm 129.2	249.6 \pm 101.2	0週
	427.6 \pm 264.7	443.4 \pm 315.6	5週
	219.6 \pm 194.6	248.2 \pm 234.0	10週
高濃度群	298.2 \pm 239.5	280.2 \pm 128.2	0週
	392.6 \pm 391.6	277.5 \pm 256.7	5週
	348.8 \pm 435.6	195.9 \pm 85.5	10週

平均値 \pm 標準偏差 (pg/ml)

は、IL-1 α の高発現を示し骨吸収に関与すること¹⁵⁾、および Interleukin-17 (IL-17)が高発現すること¹⁶⁾などがあげられる。IL-17は、近年同定された破骨細胞の分化誘導能を有するヘルパー T(Th)細胞すなわち Th17細胞が産生する主要なサイトカインであり、さらに、ヒト Th17細胞の分化誘導には IL-1が必要であることがわかってきている¹⁷⁾。また、タデ藍の活性

成分であるトリプタンスリンは PGE₂の産生を抑制することが明らかになっている⁸⁾が、健常者に比べ歯周炎患者では、GCF中の PGE₂の濃度が有意に高いという報告¹⁵⁾がある。これらの報告から考えると、GCF中に発現するサイトカインのうち、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-17 および PGE₂の変化を調べると興味深い結果が得られたかも知れない。しかし、サイトカインの発現

は炎症の時期において種類が異なり、発現の持続期間も様々である。さらに、GCF 中への血液の混入の有無によってもその量は左右されるであろう。ただし、本試験では、ペーパーポイントに付着した血液の有無についても記録しておいたが、血液の混入が GCF 重量および TNF- α 濃度に影響を与えている傾向は認められなかった。また一方で、Cimasoni¹⁸⁾ は、GCF の成分が血清と類似していることを報告し、彼らのグループは、GCF 中に含まれる蛋白において GCF 特有で歯周病のマーカーとなり得るものを同定している¹⁹⁻²¹⁾。加えて、GCF 中のエラスターゼ濃度は、実験的歯肉炎で、あるいは組織破壊の大きい部位でそれぞれ高いという報告^{22,23)} もある。したがって、炎症の指標として蛋白濃度に着目することも一つの方法であったかも知れない。いずれにしても、炎症の指標となる適切な因子を決定することは非常に難しく今後の課題である。

次に、本研究の臨床指標の結果を被験者全員で見た場合、いずれの群でも P ℓ I および BOP が改善傾向にあった。その理由として、分量を一定にする目的でジェルの塗布に歯ブラシを用いたことによって機械的清掃効果が加わったことが考えられる。また、歯周治療の影響を受けにくい SPT 期の患者を被験者に選択したために、試験開始時の歯肉の炎症程度が比較的軽微であり、タデ藍水抽出エキスの効果による変化の判定が難しかったことも考えられる。そこで、被験者を統計処理が可能な範囲で清掃状態の良好でないもの、すなわち、試験開始前の 1 歯あたりの平均 P ℓ I が 1.5 以上のものに絞ってみた。その場合、群間および群内に有意な差はないものの、タデ藍水抽出エキス含有群で濃度依存のかつ経時的に BOP が改善傾向を示した。さらに、高濃度群で明らかな GCF 重量の減少を示した。一方、結果には示していないが、試験開始前の清掃状態が比較的良好な被験者において比較すると、タデ藍エキス含有の有無による群間の差は認めなかった。以上のことから、自身でのプラークコントロールが十分でない人に対して、タデ藍水抽出エキスの応用が有用であることがわかる。また、表 3 および表 4 から、高濃度群の試験開始時の P ℓ I の平均値が、有意差はないものの他群と比較して低値であった。しかし、10 週後には他群と同程度であることから、高濃度群では P ℓ I の改善幅が少ないにもかかわらず GCF 重量が減少したと解釈できる。このことは、タデ藍水抽出エキスが、プラーク付着の阻害や清掃性の向上など P ℓ I 改善を促すものではないけれども、BOP の改善傾向や GCF 重量の減少といった歯肉の炎症に抑制効果を有するものであるといえる。

近年、Periodontal Medicine (歯周医学) という言葉も生まれ、歯周病と糖尿病、肥満、虚血性心疾患、誤嚥性肺炎、早期低体重児出産、骨粗鬆症、免疫・アレルギー疾患および胃潰瘍などの関連性²⁴⁻³⁴⁾ が盛んに報告されている。一方、タデ藍は炎症抑制作用の他に、血小板の凝集抑制作用³⁵⁾、コレステロールの低下作用³⁶⁾ アレルギー反応の抑制作用^{6,7)}、およびピロリ菌に対する抗菌作用^{1,2)} も有していることが明らかになっている。したがって、藍エキスの口腔内への応用は、歯周病のみならず全身疾患の改善や健康の維持・増進にも有益な影響を与える可能性が考えられる。

本研究の結果から、タデ藍水抽出エキスは単独で歯肉に対する抗炎症効果を有することが示唆された。今後、タデ藍水抽出エキスを成分としたジェルや含嗽剤などの口腔ケア用品の開発が期待できる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究の遂行にご協力を賜りました株式会社林原生物化学研究所および本学大学院医歯薬学総合研究科歯周病態学分野の先生方に深く御礼申し上げます。

本研究は、株式会社林原生物化学研究所からの研究助成金の一部により行われた。なお、利益相反はない。

また、本論文の要旨は、第 127 回日本歯科保存学会秋季学術大会(2007 年 11 月 9 日、岡山)において発表した。

文 献

- 1) Hashimoto T, Aga H, Chaen H, Fukuda S, Kurimoto M : Isolation and identification of anti-*Helicobacter pylori* compounds from *Polygonum tinctorium* Lour. *Natural Med*, 53 : 27-31, 1999.
- 2) Kataoka M, Hirata K, Kunitaka T, Ushio S, Iwaki K, Ohashi K, Ikeda M, Kurimoto M : Antibacterial action of tryptanthrin and kaempferol isolated from Indigo plant (*Polygonum tinctorium* Lour.), against *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils. *J Gastroenterol*, 36 : 5-9, 2001.
- 3) Tatefuji T, Aga M, Kunitaka T, Ikeda M, Kurimoto M : Antiviral effect of *Polygonum tinctorium* Lour. extracts on virus-infected cells. *Natural Med*, 53 : 297-301, 1999.
- 4) Ishihara T, Okura T, Kohno K, Tanimoto T, Ikegami H, Kurimoto M : *Polygonum tinctorium* extract suppresses nitric oxide production by activated macrophages through inhibiting inducible nitric oxide synthase expression. *J Ethnopharmacol*, 72 : 141-150, 2000.

- 5) Koya-Miyata S, Kimoto T, Micallef MJ, Hino K, Taniguchi M, Ushio S, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M : Prevention of azoxymethane-induced intestinal tumors by a crude ethyl acetate-extract and tryptanthrin extracted from *Polygonum tinctorium* Lour. *Anticancer Res*, 21 : 3295-3300, 2001.
- 6) Kim HM, Hong DR, Lee EH: Inhibition of mast cell-dependent anaphylactic reactions by the pigment of *Polygonum tinctorium* (Chung-Dae) in rats. *Gen Pharmacol*, 31 : 361-365, 1998.
- 7) Kunitaka T, Tatefuji T, Aga H, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M: Indirubin inhibits inflammatory reactions in delayed-type hypersensitivity. *Eur J Pharmacol*, 410 : 93-100, 2000.
- 8) Ishihara T, Kohno K, Ushio S, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M : Tryptanthrin inhibits nitric oxide and prostaglandin E₂ synthesis by murine macrophages. *Eur J Pharmacol*, 407 : 197-204, 2000.
- 9) Iwaki K, Kurimoto M : Cancer preventive effects of the indigo plant, *Polygonum tinctorium*. *Recent Res Devel Cancer*, 4 : 429-437, 2002.
- 10) Iwaki K, Koya-Miyata S, Kohno K, Ushio S, Fukuda S: Antimicrobial activity of *Polygonum tinctorium* Lour : extract against oral pathogenic bacteria. *Natural Med*, 60 : 121-125, 2006.
- 11) 砂川正隆, 福岡博史, 小山悠子, 福岡明, 岩城完三 : タデ藍の歯周治療への応用. *日本歯科東洋医学会誌*, 25 : 7-12, 2006.
- 12) Løe H, Silness J : Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta Odont Scand*, 21 : 533-551, 1963.
- 13) Golub LM, Kleinberg I : Gingival crevicular fluid: a new diagnostic aid in managing the periodontal patient. *Oral Sci Rev*, 8 : 49-61, 1976.
- 14) Boyce BF, Li P, Yao Z, Zhang Q, Badell IR, Schwarz EM, O'Keefe RJ, Xing L : TNF- α and pathologic bone resorption. *Keio J Med*, 54: 127-131, 2005.
- 15) Rasmussen L, Hånström L, Lerner UH : Characterization of bone resorbing activity in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis. *J Clin Periodontol*, 27 : 41-52, 2000.
- 16) Vernal R, Dutzan N, Chaparro A, Puente J, Antonieta Valenzuela M, Gamonal J : Levels of interleukin-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of cellular cultures of gingival tissue from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 32 : 383-389, 2005.
- 17) Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, McKenzie BS, Blumenschein WM, Mattson JD, Basham B, Smith K, Chen T, Morel F, Lecron JC, Kastelein RA, Cua DJ, McClanahan TK, Bowman EP, de Waal Malefyt R : Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat Immunol*, 8 : 950-957, 2007.
- 18) Cimasoni G: Crevicular fluid updated. *Monogr Oral Sci*, 12 : 1-152, 1983.
- 19) Nakashima K, Giannopoulou C, Andersen E, Roehrich N, Brochut P, Dubrez B, Cimasoni G : A longitudinal study of various crevicular fluid components as markers of periodontal disease activity. *J Clin Periodontol*, 23 : 832-838, 1996.
- 20) Estreicher A, Broggiato A, Duroux P, Andersen E, Cimasoni G : Low molecular-weight proteins in human gingival crevicular fluid. *Arch Oral Biol*, 41 : 733-738, 1996.
- 21) Kojima T, Andersen E, Sanchez JC, Wilkins MR, Hochstrasser DF, Pralong WF, Cimasoni G: Human gingival crevicular fluid contains MRP8 (S100A8) and MRP14 (S100A9), two calcium-binding proteins of the S100 family. *J Dent Res*, 79 : 740-747, 2000.
- 22) Giannopoulou C, Andersen E, Demeurisse C, Cimasoni G : Neutrophil elastase and its inhibitors in human gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *J Dent Res*, 71 : 359-363, 1992.
- 23) Figueredo CM, Gustafsson A : Activity and inhibition of elastase in GCF. *J Clin Periodontol*, 25 : 531-535, 1998.
- 24) Nishimura F, Kono T, Fujimoto C, Iwamoto Y, Murayama Y : Negative effects of chronic inflammatory periodontal disease on diabetes mellitus. *J Int Acad Periodontol*, 2 : 49-55, 2000.
- 25) Genco RJ, Grossi SG, Ho A, Nishimura F, Murayama Y : A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. *J Periodontol*, 76 : 2075-2084, 2005.
- 26) Saito T, Shimazaki Y : Metabolic disorders related to obesity and periodontal disease. *Periodontol* 2000, 43 : 254-266, 2007.
- 27) Khader YS, Albashaireh ZS, Alomari MA : Periodontal diseases and the risk of coronary heart and cerebrovascular diseases : a meta-analysis. *J Periodontol*, 75 : 1046-1053, 2004.
- 28) Yamazaki K, Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Amanuma R, Kudoh C, Takashiba S, Kokeguchi S, Nishimura F, Kodama M, Aizawa Y, Oda H : Relationship of periodontal infection to serum antibody levels to periodontopathic bacteria and inflammatory markers in periodontitis patients with coronary heart disease. *Clin Exp Immunol*, 149 : 445-452, 2007.
- 29) Khader YS, Albashaireh ZS, Alomari MA : Periodontal diseases and the risk of coronary heart

- and cerebrovascular diseases: a meta-analysis. J Periodontol, 75 : 1046-1053, 2004.
- 30) Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G, McKaig R, Beck J : Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. J Periodontol, 67 : 1103-1113, 1996.
- 31) Inagaki K, Kurosu Y, Sakano M, Sugiishi T, Yamamoto G, Noguchi T, Yano H, Izawa H, Hachiya Y : Osteoporosis and periodontal disease in postmenopausal women : association and mechanisms. Clin Calcium, 16 : 269-277, 2006.
- 32) Mercado FB, Marshall RI, Bartold PM : Inter-relationships between rheumatoid arthritis and periodontal disease. J Clin Periodontol, 30 : 761-772, 2003.
- 33) Umeda M, Kobayashi H, Takeuchi Y, Hayashi J, Morotome-Hayashi Y, Yano K, Aoki A, Ohkusa T, Ishikawa I : High prevalence of Helicobacter pylori detected by PCR in the oral cavities of periodontitis patients. J Periodontol, 74 : 129-134, 2003.
- 34) Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, Yamazaki K : Relationship between periodontal infections and systemic disease. Clin Microbiol Infect, 13 : 3-10, 2007.
- 35) Kohda H, Niwa A, Nakamoto Y, Takeda O : Flavonoid glucosides from *Polygonum tinctorium*. Chem Pharm Bull, 38 : 523-524, 1990.
- 36) Inoue S, Takayama S, Ushio S, Iwaki K, Ohashi K, Masaki N, Fukuda S, Ikeda M, Kurimoto M : Improvement of high fat diet-induced hyperlipidemia by *Polygonum tinctorium* Lour. Natural Med, 54 : 261-264, 2000.
-