

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月13日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06663

研究課題名(和文) 歯周病と心血管疾患の関連性とそのメカニズムを解明するための研究

研究課題名(英文) Research to elucidate the relationship between periodontal disease and cardiovascular disease and its mechanism

研究代表者

佐藤 博紀 (SATO, Hiroki)

東京医科歯科大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：10804586

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではマウスを用いた動物実験で、実験的歯周病による骨吸収に、抗炎症剤であるIkk阻害薬によって抑制できるかどうかを調査した。その結果、抗炎症剤を投与した群は投与していない群と比較して、有意に骨吸収が少なかった。また、対象歯周囲の破骨細胞(骨を吸収する細胞)数も有意に少なかった。これによって、抗炎症剤Ikk阻害薬によって歯周病の骨吸収が抑制される可能性を報告した。これらの結果を日本歯周病学会60周年記念京都大会(2017年12月16日)にポスター発表を行った。平成30年度は上記研究内容を論文として発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周病は慢性炎症性疾患として知られている。一般には40歳を超えたあたりから口腔内に所見が見られ、骨吸収が進むようになる。また、一部は若くして歯槽骨吸収が起こり、20歳代で歯が揺れ出すこともある。これは遺伝的な要素が関連していると考えられている。

Ikk阻害薬は副作用がとてもなく、すでに臨床応用されている比較的安全な薬剤である。これを一定の年齢や、遺伝的に歯周炎リスクが高い人に低容量投与を行うことで、歯周病による骨吸収の抑制ができるのではないかと考えられる。

これまで予防は口腔衛生指導が中心であったが、新たな予防の糸口となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We used animal(mouse) model that mimics the periodontitis to investigate whether anti-inflammatory medicine(IKK inhibitor) influences bone resorption around a tooth resulted from periodontitis. As a result, we found that Ikk inhibitor could suppress the bone resorption significantly. Additionally we found less osteoclast(bone absorbing cells) in test group.

研究分野：歯周病

キーワード：歯周病 循環器疾患

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

本研究は動物モデルを用いた基礎実験から、特定の歯周病原細菌感染が心血管疾患の病理変化を増悪するメカニズムを解明することを目的とした。平成29年度は計画に基づき、野生型マウスでの実験的歯周炎モデルを用いて、IKK阻害剤が歯槽骨吸収に与える影響を評価した。研究の結果、腹腔内投与ではあるが全身投与した薬剤が、歯周組織炎症の結果として起こる歯槽骨吸収を抑制する事を改名した。また、そのメカニズムとして、IKK投与群の歯周組織にはTRAP陽性細胞数が有意に少ないこと、RANKLの発現がmRNAレベルで有意に抑制されていることが明らかになった。同年度にはこれを日本歯周病学会60周年記念京都大会(2017年12月16日)にポスター発表を行った。平成30年度は上記研究内容を論文として発表した。研究計画では上記の研究を基に、遺伝子改変マウスでの実験を予定していた。しかしながら、遺伝子操作および繁殖、また他施設からの譲渡が諸事情により遂行できず、動物実験での研究報告は以上となった。30年度は上記に加え、臨床研究で得られたサンプルの解析を進め、歯周病と末梢動脈疾患との関連性を報告している。これは第104回アメリカ歯周病学でポスター発表を行った。また、この研究成果を論文発表した。一連の研究は、現在皮膚科等で臨床応用されている抗炎症薬によって歯周病の進行が抑制される可能性を示唆している。これは特定の歯周病リスクが高い患者に対し新たな予防・治療の糸口となるかもしれない。また、歯周病が循環器疾患でも、微小血管の疾患に得意的に影響を与える可能性が示唆された。

2. 研究の目的

本研究は動物モデルを用いた基礎実験から、特定の歯周病原細菌感染が心血管疾患の病理変化を増悪するメカニズムを解明することを目的とした

3. 研究の方法

(1) 実験的歯周炎モデル及び動脈硬化モデル(アポ E 欠損マウス(Apoe^{-/-}))を用いて、歯周病と動脈硬化との相互的な影響と、その機序を解明することであった。今回の研究機関では野生型マウスでの実験的歯周炎モデルを用いて、IKK阻害剤が歯槽骨吸収に与える影響を評価した。

(2) 我々の研究グループが行った循環器疾患患者を対象とした臨床研究のサンプルを解析した。

4. 研究成果

要旨 IMD-0354は、炎症を抑制する新規のI κ Bキナーゼ (IKK) 阻害剤である。本研究では、絹糸結紮歯周病モデルの骨吸収に対するIMD-0354の効果を調べることとした。

8週齢のC57BL / 6Jマウスの右上第2臼歯周囲に絹糸での結紮を行った。実験群マウスには結紮前にIMD-0354を、対照群マウスには、0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) を1日1回腹腔内投与し8日目にサンプル採取した。本モデルのマウスに対する試薬の最適濃度を決定するために、IMD-0354の1, 5, 10mg / kgの3種類の濃度の効果を調べた。マイクロCTを用いて実験群の最適濃度として10mg / kgを決定した後、実験 (IMD) 群と対照 (CMC) 群の2群で絹糸結紮歯周病モデル作製を行った。さらなる解析のために、マイクロCT解析、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色、リアルタイムPCR法を行い、結紮8日後の状態を評

価した。IMD群の骨吸収長さおよび体積パラメーターでは、CMC群と比較して有意差が得られた。

Receptor activator of nuclear factor κ B ligand (*Rankl*) の歯肉組織のmRNA発現量およびTartrate-resistant acid phosphatase (TRAP)陽性多核細胞の相対数は、CMC群と比較してIMD群で有意に低下していた。

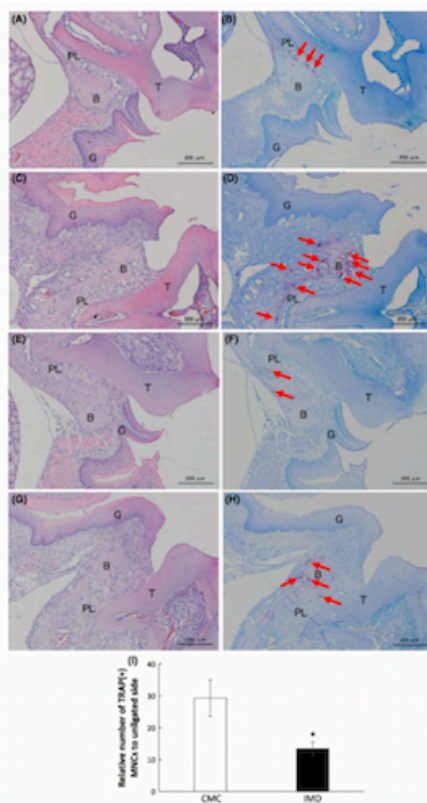
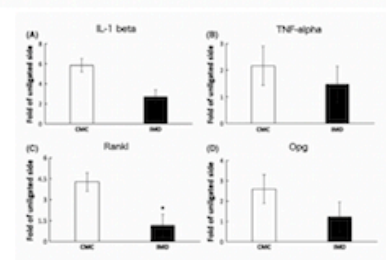
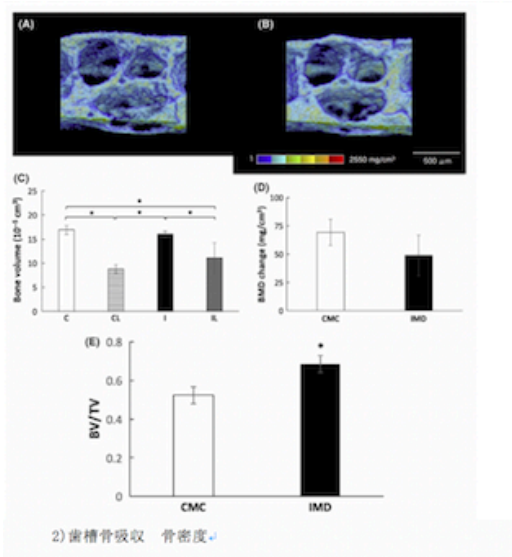
IMD-0354は絹糸結紮モデルの歯周病による骨吸収を抑制し、IKKの阻害が歯周病の予防または抑制の有効なアプローチになる可能性が示唆された。

(1)IMD-0354の腹腔内投与による各群のマウスの8日間の体重変化には有意な差を認めず全身的な影響はみられなかった。IMD-0354の最適濃度の決定としてRBVFを各群で算出したが、IMD-0354 (10mg / kg) を投与した群では、他の群と比較して骨吸収の有意な抑制が認められた。したがって、IMD-0354の最適濃度を10mg / kgと決定した。

(2)濃度決定後、IMD群とCMC群で実験を進め、歯槽骨吸収の評価では、CMC群の頬面溝および遠心咬頭部位におけるCEJ-ABCは、IMD群よりも有意に大きく、またIMD群のBV / TV ではCMC群と比べ有意に大きいことが示された。結紮によるBMDの変化量では、IMD群では、CMC群と比較して有意な差ではなかったもののBMD変化を抑制する傾向があった。

(3)歯肉組織の相対的mRNA発現量において、IMD群の*Rankl*はCMC群に比べ有意に低く、*IL-1 β* 、*TNF- α* 、*Opg*では、両群で有意差を示さなかったが、CMC群と比較して、IMD群における抑制傾向を示した。

(4)歯周組織における破骨細胞の組織学的評価として、IMD群のTRAP陽性多核細胞の相対数は、CMC群に比べ、有意に抑制されていた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 1件）

- 1) Kure K, Sato H et al. A novel IκB kinase inhibitor attenuates ligature-induced periodontal disease in mice. J Periodontal Res. 2019 Apr;54(2):164-173
- 2) Kure K, Sato H et al Accelerated inflammation in peripheral artery disease patients with periodontitis. J Periodontal Implant Sci. 2018 Dec 27;48(6):337-346.

〔学会発表〕（計 1件）

- 1) 呉 圭哲、佐藤博紀、青山典生、鈴木淳一、和泉雄一 絹糸結紮マウス歯周病モデルにおけるIKK阻害剤の効果 本歯周病学会60周年記念京都大会 2017年12月16日
- 2) Keitetsu Kure, Norio Aoyama, Hiroki Sato and Yuichi Izumi. Accelerated inflammation in peripheral artery disease patients with periodontitis. 第104回アメリカ歯周病学会

〔図書〕（計 0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況（計 0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。