

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19592399  
 研究課題名 (和文) 歯周炎が脂肪性肝炎の発症と進行に及ぼす負の影響に関する研究  
 研究課題名 (英文) A study on the effect of periodontal diseases on the onset and progression of steatohepatitis.  
 研究代表者  
 中正 恵二 (NAKASHO KEIJI)  
 兵庫医科大学・医学部・准教授  
 研究者番号：00217712

研究成果の概要 (和文)：非アルコール性脂肪性肝炎発症 (NASH) 患者および脂肪肝 (FLD) 患者のそれぞれの歯周病に関わる臨床パラメーターを比較した結果、FLD 患者に比べて NASH 患者において、歯周病の病状の悪化が見られた。また、歯周病細菌に対する血清抗体価においても FLD 患者に比べ NASH 患者の方が高い傾向を示した。以上の結果から、歯周病が脂肪性肝炎の病態に関与することの可能性が示された。

研究成果の概要 (英文)：In the study to assess clinical parameters of periodontal diseases in patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and fatty liver diseases (FLD), we found that the patients with NASH showed the tendency to be more severe in periodontal condition as compared with the patients with FLD. The serum IgG titers against periodontopathic bacteria were also higher in the patients with NASH than the patients with FLD. These results might exhibit the possible effects of periodontal diseases on the pathogenesis of steatohepatitis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯周治療系歯学

キーワード：歯周免疫機能学、脂肪性肝炎

## 1. 研究開始当初の背景

脂肪肝 (fatty liver disease : FLD) は、過剰なアルコール摂取によって、または飲酒歴が無くとも肥満、糖尿病、高脂血症などの生活習慣病によって誘導される疾患である。これら脂肪肝症例の多くは、予後良好な可逆性病

変として捉えられるが、一部の症例においては、肝実質における炎症性変化および線維化を伴う脂肪性肝炎に移行する。アルコール摂取を原因とするものをアルコール性脂肪性肝炎 (ASH)、飲酒歴が無く肥満や糖尿病などによって誘導されたものを非アルコー

ル性脂肪性肝炎 (NASH) として区別する。これら ASH および NASH 発症のメカニズムとして、FLD を基盤とした “Two-hits theory” が広く支持されている。すなわち、ASH においてはアルコール、NASH においては肥満・過食などの FLD を惹起させる様々な環境および生活習慣因子、さらには遺伝的因子を “first hit” として、また FLD の状態から炎症、壊死、線維化を誘導させる因子群を “second hit” として考え、これら二つの “hits” が相互的に作用することによって発症に至ると考えられている。近年、遺伝的肥満マウスを用いた研究において、エンドトキシンがたとえ低濃度であっても急速に NASH の発症を誘導することが明らかとなったことから、この “second hit” に関わる因子として、エンドトキシン、TNF- $\alpha$  などの LPS 誘導性のサイトカインなどが挙げられているが、その詳細は未だ明らかになっていない。

特に、“Two-hit theory” における血中 TNF- $\alpha$  濃度の上昇およびエンドトキシンが何に由来するものかについては、不明な点が多い。この点について、歯周病細菌由来の LPS、さらにはその反応によって産生誘導される TNF- $\alpha$  が、ASH および NASH の病態に関与する可能性が考えられた。

## 2. 研究の目的

本申請課題は、脂肪性肝炎の発症と進行に歯周病がどのように関与しているかについて、を明らかにすることを目的として、FLD、ASH および NASH の患者それぞれから末梢血を採取することによって各種歯周病細菌に対する血清 IgG 濃度および各種肝機能マーカーおよび炎症マーカーの測定も行ない、それら相互間における相関の有無を調べる。

## 3. 研究の方法

### (1) 被験者の選定および診断

① 脂肪性肝炎および脂肪肝についての評価  
兵庫医科大学病院・内科を受診し、同科において臨床的に ASH および NASH が疑われる患者を対象とした。さらに、確定診断を行なうために、同意の得られた患者を対象として肝生検を施行し、病理組織学的に NASH および ASH の診断を行なった。なお、被験対照群を、肝エコーによって脂肪肝所見を認められるが、トランスアミナーゼ (GOT, GPT) 値の上昇を伴わない者 (GOT, GPT < 40) を脂肪性肝炎に移行していない者の集団 (FLD 群) とした。

### ② 歯周炎についての評価

上記被験者を対象として、兵庫医科大学病院・歯科口腔外科において、歯周病について

の臨床診断を行なった。診断は、レントゲン写真診断および各種臨床パラメーターの測定によって行なった。なお、各被験者において、4mm 以上のポケットが存在する場合、それら部位からペーパーポイントを用いてポケット内に叢生する細菌のサンプリングを行なった。さらに血清学的解析を行なうために、被験者の同意を得た上で採血を行ない、それら血清を -80°C で凍結保存した。

### (2) ASH, NASH および FLD 群間における歯周病罹患状態の比較検討

ASH, NASH および FLD 患者の各群において、歯周病罹患状況に差があるか否かを、臨床パラメーターを指標として比較検討を行なう。また、各患者の脂肪性肝炎における各種臨床マーカーおよび病理組織所見と歯周病臨床パラメーターとの相関性の有無についても併せて評価を行なった。

### (3) FLD, ASH および NASH 患者における歯周病細菌に対する応答性の血清学的評価

FLD, ASH および NASH のそれぞれの患者から採取した血清を用いて、Murayama らの方法に従い、*P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, *C. rectus*, *T. denticola* などの歯周病原性細菌抗原に対する血清 IgG 抗体価を測定した。

### (4) ポケット内に叢生する歯周病細菌の同定

被験者の歯周病に関わる主たる細菌種を特定するために、歯周ポケット内の細菌叢を、歯周ポケットから採取したプラークサンプルを用いて、綿城らの方法に従い、16S ribosomal RNA 遺伝子を検出標的とした Polymerase Chain Reaction (PCR) 法によって同定した。

### (5) ASH, NASH および FLD 群間における上記各要素との相関関係についての比較検討

ASH, NASH および FLD 患者の各群において、歯周病細菌各菌種に対する血清 IgG 抗体価、歯周ポケットから検出される細菌叢の偏りと相関性の有無について吟味し、歯周病が ASH および NASH の発症と進行に関わる可能性について総合的な評価を行った。

## 4. 研究成果

(1) 脂肪性肝疾患患者 5 名 (NASH 患者 3 名, FLD 患者 2 名) の歯周病に関わる評価を行った。それぞれの患者の肝機能に関する平均値は AST : 43.4 (NASH:50.3, FLD:33.0), ALT : 83.2 (NASH:105.0, FLD:50.5) であった。また、HbA1c および空腹時血糖の平均値はそれぞれ 5.5, 102.3 であり、NASH 患者と FLD 患者間において差は見られなかった。一方、歯周病に関する臨床所見は、平均ポケット長 : 2.68mm (NASH:3.1, FLD:2.1), 平均骨吸収率 : 18.6% (NASH:22.9%, FLD:12.0%) であ

った。両患者群の臨床パラメーターの値を比較することによって、FLD患者に比べてNASH患者の方が歯周病の病状において進行している傾向が明らかとなった。また、それぞれの患者の歯周ポケット内の細菌をreal-time PCR法によって定量的に調べた結果、FLD患者に比べてNASH患者群において多くのPgが検出された。また、歯周病細菌に対する血清抗体価においてもFLD患者に比べNASH患者の方が高い傾向を示した。以上の結果から、NASHの病態形成に歯周病が負の影響を及ぼすかもしれないという可能性が示された。

(2) NASH患者の肝機能に対する歯周病治療の影響を調べた結果、歯周病治療開始前のAST, ALTの値は概して改善される傾向にあった。内科的治療がその改善に影響していることも否定はできないが、内科的治療が不変の状態にある患者に着目した場合、歯周治療前6ヶ月間の平均トランスアミナーゼ値(AST: 117.5±122.3, ALT: 196±142.1)に比較して、歯周治療終了後3ヶ月間の平均トランスアミナーゼ値(AST: 48.5±20.5, ALT: 65±23.6)は、大きく改善されていた。しかし、様々な因子が関与していることを完全に否定できないため、今後、複数の医療機関が連携した大規模調査を実施することによって、その真偽を確かめる必要があると思われる。

#### 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)

[雑誌論文] (計 10件)

①菊池勝一, 近藤寿郎, 生田真一, 飯田洋也, 相原司, 安井智明, 柳秀憲, 光信正夫, 覚野綾子, 中正恵二, 山中若樹. 肝細胞癌を合併した非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の臨床病理学的検討. 肝臓, 査読有, 50, 2009, 626-633.

② Ohyama H, Kato-Kogoe N, Kuhara A, Nishimura F, Nakasho K, Yamanegi K, Yamada N, Hata M, Yamane J, Terada N. The involvement of IL-23 and the Th17 pathway in periodontitis. J Dent Res, 査読有, 88, 2009, 633-638.

③ Ohyama H, Nakasho K, Yamanegi K, Noiri Y, Kuhara A, Kato-Kogoe N, Yamada N, Hata M,

Nishimura F, Ebisu S, Terada N. An unusual autopsy case of pyogenic liver abscess caused by periodontal bacteria. Jpn J Infect Dis, 査読有, 62, 2009, 381-383.

④ 中正恵二, 山根木康嗣, 大山秀樹, 平野博嗣, 山田直子, 秦 正樹, 寺田信行, 岡田敏弘, 斉藤慎一, 藤元治朗. 胆嚢hepatoid adenocarcinomaの1例. 診断病理, 査読有, 25, 2008, 210-217.

⑤ 中正恵二, 覚野綾子, 大山秀樹, 山根木康嗣, 山田直子, 秦 正樹, 平野博嗣, 寺田信行, 相原 司, 安井智明, 山中若樹. 胆嚢Mucin-producing papillary adenocarcinomaの1例. 診断病理, 査読有, 25, 2008, 104-111.

⑥ Takeuchi-Hatanaka, K., Ohyama, H., Nishimura, F., Kato-Kogoe, N., Soga, Y., Matsushita, S., Nakasho, K., Yamanegi, K., Yamada, N., Terada, N., Takashiba, S. Polymorphisms in the 5' flanking region of *IL12RB2* are associated with susceptibility to periodontal diseases in the Japanese population. J. Clin. Periodontol., 査読有, 35, 2008, 317-323.

⑦ Watanabe, H., Hata, M., Terada, N., Ueda, H., Yamada, N., Yamanegi, K., Ohyama, H., Kakahana, M., Okamura, H., Nakasho, K. Transdifferentiation into biliary ductular cells of hepatocytes transplanted into the spleen. Pathology, 査読有, 40, 2008, 272-276.

⑧ Ohyama, H., Kato-Kogoe, N., Nishimura, F., Takeuchi-Hatanaka, K., Matsushita, S., Yamanegi, K., Yamada, N., Hata, M., Nakasho, K., Terada, N. Differential effect of polymorphisms in the 5' flanking region of *IL12RB2* on NK- and T-cell activity. J. Interferon Cytokine Res., 査読有, 28, 2008, 563-569.

⑨ 中正恵二, 大山秀樹, 山根木康嗣, 山田直子, 秦 正樹, 平野博嗣, 寺田信行, 吉田康彦, 斉藤慎一, 藤元治朗, 転移性肝平滑筋肉腫切除

および動注化学療法後の区域胆管壊死の1剖検例. 診断病理, 査読有, 24, 2007, 77-82.

⑩ Hirano, H., Yoshida, T., Yoshimura, H., Fukuoka, M., Ohkubo, E., Tachibana, S., Saito, H., Nakasho, K., Nishigami, T. Poorly differentiated adenocarcinoma with signet-ring cell carcinoma in a hyperplastic polyp of the stomach: report of a case. Surg. Today, 査読有, 37, 2007, 901-904.

[学会発表] (計 9件)

① 大山秀樹, 野杵由一郎, 小越菜保子, 西村英紀, 恵比須繁之. 歯周病細菌感染に起因したと考えられる化膿性肝膿瘍の1剖検例. 第130回日本歯科保存学会2009年度春季学術大会, 2009年6月12日, 札幌.

② 大山秀樹, 小越菜保子, 西村英紀, 山根木康嗣, 橋谷進, 木崎久美子. 歯周病病態形成におけるIL-23/IL-17産生系の関与. 第52回春季日本歯周病学会学術大会, 2009年5月15日, 岡山.

平野博嗣, 沖村 明, 大内佐智子, 藤澤貴史,  
③ 中正恵二, 山根木康嗣, 大山秀樹, 西岡稔浩, 平野博嗣, 沖村明, 山田直子, 秦正樹, 山根順子, 小越菜保子, 寺田信行. 血球貪食症候群が原因と考えられる高度肝壊死の2剖検例. 第98回日本病理学会総会 2009年5月2日, 京都.

④ 大山秀樹, 歯周病-感染性疾患として全身に及ぼす影響一, 第42回日本病理学会近畿支部学術集会, 2008年9月6日, 西宮.

⑤ 秦 正樹, 渡邊博文, 大山秀樹, 山田直子, 山根木康嗣, 小越菜保子, 山根順子, 中正恵二, 寺田信行, 脾臓に移植された肝細胞の胆管上皮細胞への分化, 第97回日本病理学会総会, 2008年5月16日, 金沢.

⑥ 中正恵二, 平野博嗣, 沖村 明, 柴垣昌史, 大山秀樹, 山根木康嗣, 山田直子, 秦 正樹, 山根順子, 寺田信行, 覚野綾子, 安井智明,

山中若樹, 肝内限局型原発性硬化性胆管炎の2切除例, 第97回日本病理学会総会, 2008年5月15日, 金沢.

⑦ 平野博嗣, 沖村 明, 中正恵二, 寺田信行, 西上隆之, 膝腫瘍の一切除例, 第38回日本病理学会近畿支部学術集会, 2007年9月8日, 西宮.

⑧ 大山秀樹, 歯周炎感受性に関する免疫遺伝学的アプローチ-ハンセン病を疾患モデルとして捉えた研究-, 第18回日本口腔病理学会総会・学術大会, 2007年8月11日, 岐阜.

⑨ 中正恵二, 西上隆之, 木崎智彦, 多発性肝転移を呈した胃腫瘍の1例, 第37回日本病理学会近畿支部学術集会, 2007年6月2日, 大阪.

[図書] (計 1件)

中正恵二, 医歯薬出版, 解明病理学, 2009, 393-408.

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

中正 恵二 (NAKASHO KEIJI)  
兵庫医科大学・医学部・准教授  
研究者番号: 00217712

### (2)研究分担者

大山 秀樹 (OHYAMA HIDEKI)  
兵庫医科大学・医学部・講師  
研究者番号: 90280685

寺田 信行 (TERADA NOBUYUKI)  
兵庫医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 50150339

山田 直子 (YAMADA NAOKO)  
兵庫医科大学・医学部・講師  
研究者番号: 10319858

山根木 康嗣 (YAMANEGI KOJI)  
兵庫医科大学・医学部・助教  
研究者番号: 00434944

中村 秀次 (NAKAMURA HIDEJI)  
兵庫医科大学・医学部・非常勤講師  
研究者番号: 20237423

浦出 雅裕 (URADE MASAHIRO)  
兵庫医科大学・医学部・教授  
研究者番号：70104883

(3) 連携研究者  
該当なし