

令和 2 年 7 月 6 日現在

機関番号：30110

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06282・19K21371

研究課題名(和文) 歯周病原細菌による腎臓への網羅的エピジェネティクス解析-基礎疾患の予防に向けて-

研究課題名(英文) Comprehensive epigenetic analysis of periodontal pathogenic bacteria in the kidney - To prevent underlying diseases-

研究代表者

原田 文也 (HARADA, Fumiya)

北海道医療大学・歯学部・助教

研究者番号：30824205

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は歯周病と慢性腎不全(CKD)の相互関連を解明するため歯周病原菌由来LPS(PG-LPS)による腎臓組織の遺伝子発現変化について解析を行った。LPSを投与通常マウスおよびSAMPではそれぞれのコントロール群に比べて腎炎を疑わせる所見が有意に高かった。また、LPS投与群では通常マウスに比べ、SAMPでさらなる腎炎を疑わせたが有意差は見られなかった。LPS受容体発現解析から、LPSは糸球体のみならず、尿細管にも作用し、腎臓の炎症を促進していることが示唆された。また炎症に関する遺伝子はLPS群で有意に上昇していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでPG-LPSによる腎臓の遺伝子発現変化を観察した報告は僅かであり、本研究成果はCKDの発症に歯周病原菌が関与していることを示唆するデータとなる。現在CKD罹患患者数は増加の一途をたどっている。本研究成果を基に口腔衛生指導をより強化することでCKD予防に寄与することが示唆された。これまでのCKDに対する治療法に新たな手段を加える研究として、意義ある内容である。

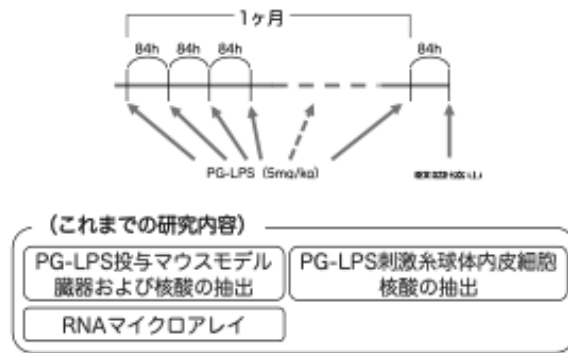
研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed gene expression changes in kidney tissues induced by periodontal pathogen derived LPS (PG-LPS) to elucidate the interrelation between periodontal disease and chronic kidney disease (CKD). Repeated intraperitoneal injection of PG-LPS were performed to normal and senescence-accelerated (SAMP) mice for 3 months, and the suspicion of nephritis was significantly higher in LPS-treated normal and SAMP mice than in the controls. LPS receptor expression analysis indicated that LPS promotes inflammation of the kidney by acting not only on the glomerulus but also on the tubules. Also, expression level of inflammation relating genes were up-regulated significantly.

研究分野：分子生物学

キーワード：歯周病原菌由来LPS 慢性腎不全

1. 研究開始当初の背景

これまでに歯周病原菌と全身疾患の関わりが数多く報告され、CKD 発症・進展への関与も示唆されている。Fisher らは推算糸球体濾過量 (eGFR) を指標とし、歯周病が CKD 発症リスクになる可能性を示唆し (2011 年)、Ioannidou らは eGFR 値が低い患者で歯周病が有意に進行していると報告した (2011 年)。しかし、これらは横断研究を主としており、さらに糖尿病や人工透析などの重度の患者を含んでいることから、病態の真の相互関係はエビデンスに乏しく、より基礎的な研究が必要である。歯周ポケットには歯周病原菌が存在し、その細胞壁外膜にあるリポ多糖 (LPS) が歯周病進行の主要因となっている申請者らはこれまでに歯周病原菌由来 LPS (PG-LPS) を 1 ヶ月間腹腔内投与したマウスを用いて、腎臓での mRNA の網羅的解析を行った。その結果から CKD の病態に関連のあると思われるターゲット遺伝子を明らかにした。



2. 研究の目的

本研究は、歯周病と CKD の相互関連を解明するため、PG-LPS によって発現変化した遺伝子の解析を行う。これまでに PG-LPS の全身投与が腎臓の遺伝子発現に与える変化を観察した報告はない。歯周病と CKD の病態関連機序を明らかにすることは医学的に有意だけでなく、CKD における予防の促進や新しい治療法開発に寄与することになる。

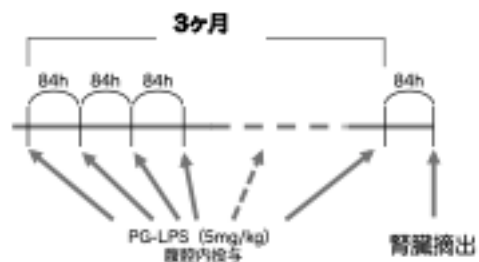


図1

3. 研究の方法

本研究では、歯周病原菌の慢性腎臓病の発症に関わる遺伝子発現の解析および腎臓の組織学的評価を行った。C57BL/6J マウスおよび老化促進モデルマウス (SAMP) に 5 mg/kg の PG-LPS を 84 時間毎に一度腹腔内に反復投与し、3 か月間飼育した (図 1)。その後腎臓を摘出し、RN サンプルを抽出した。

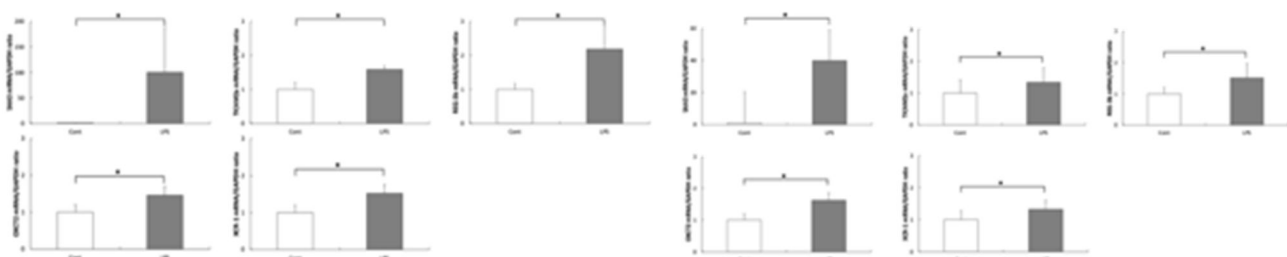
- ① 腎組織の病理組織学的評価：得られたサンプルから組織切片を作成し、HE, PAS, 鍍銀染色を用いて腎炎に関する組織学的な評価を行った。また、その評価項目を点数化し、定量化を試みた。この評価の値が高値であれば、より強く炎症が起きていると解釈できる。
- ② 遺伝子発現の評価：得られた RNA サンプルから cDNA を合成し、これまでの研究結果から同定された炎症に関連する遺伝子 (SAA3, TICAM2, REG-3b, CXCT2, XCR-1) についてそれぞれの発現を解析した。

4. 研究成果

LPS を投与した c57BL/6J および SAMP ではそれぞれのコントロール群に比べて腎炎を疑わせる所見が有意に高かった。また、LPS 投与群では C57BL/6J に比べ、SAMP でさらに腎炎を疑わせる病理組織学的評価が高値であったが、有意差は見られなかった。また、LPS の受容体である TLR-2 および TLR-4 を標的とした免疫組織学的染色を行った。TLR-2 に関しては、c57BL/6J および SAMP の実験群およびコントロール群いずれも陰性であった。TLR-4 に関しては c57BL/6J および SAMP の実験群において尿細管に陽性であった。このことから LPS は糸球体のみならず、尿細管にも作用し腎臓の炎症を促進していることが示唆された。

mRNA expression (c57BL/6J)

mRNA expression (SAMP)



ターゲット遺伝子の発現については、c57BL/6J および SAMP のいずれの場合でも LPS 投与群において各ターゲット遺伝子の発現は有意に上昇していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|