

令和 4 年 5 月 20 日現在

機関番号：32710

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2021

課題番号：19K24109

研究課題名(和文) 口腔疾患は心筋・骨格筋フレイルに関与するか?

研究課題名(英文) Does oral disease contribute to cardiac and skeletal muscle frailty?

研究代表者

伊藤 愛子 (ITO, AIKO)

鶴見大学・歯学部・助教

研究者番号：70846401

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)：咬合不調和は交感神経活動を増加させ、心機能の恒常性を阻害することが報告されている。また、レニンアンジオテンシン系(RAS)阻害剤であるカプトプリル(Cpt)は、心臓リモデリングに対する抑制効果をもつ有用な心不全治療薬である。本研究では、歯科用レジン Maus の下顎切歯に装着した Maus モデル(Bite-opening; B0)を用いて「Cptは咬合不調和により誘発される心筋のアポトーシスを予防する」という仮説をたて、その検証を試みた。その結果、B0による心筋のアポトーシスはRASの活性化を介して誘発される可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

咬合不調和は交感神経活動を増加させ、心機能の恒常性を阻害することが報告されている。また、レニンアンジオテンシン系(RAS)阻害剤であるカプトプリル(Cpt)は、心臓リモデリングに対する抑制効果をもつ有用な心不全治療薬である。本研究では、咬合異常が全身に与える影響を調べた。咬合異常による心筋の細胞死はRASの活性化を介して誘発される可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Occlusal disharmony has been suggested to increase sympathetic nerve activity and increase the onset of cardiac dysfunction. On the other hand, renin-angiotensin system (RAS) inhibitor captopril (Cpt) is most effective for preventing cardiac remodeling in patients with heart failure. This research thus hypothesized that Cpt might prevent cardiac dysfunction induced by occlusal disharmony using a bite-opening (B0) mouse model which was developed by cementing a suitable appliance onto the mandibular incisor. In Masson trichrome staining, the rate of fibrosis was significantly increased in the B0 group, and its effect was suppressed in the B0 + Cpt group. The rate of apoptosis in TUNEL staining was also significantly increased in the B0 group, and its effect was suppressed in the B0 + Cpt group. These results suggest that B0-mediated stress might induce cardiac apoptosis through the activation of RAS.

研究分野：生理学

キーワード：筋 フレイル 疾患モデル

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会で、増加傾向にある歯科疾患(歯周病と不正咬合)と、死因第2位の心不全、ならびに高齢者のQOL維持に重要な骨格筋の機能不全(サルコペニア)との関連を調べる本研究の意義はきわめて高い。研究代表者は、骨格筋ならびに心筋に発現するβ1-AR、β2-ARのサブタイプ特異的な役割について、β1-AR特異的の刺激薬であるドブタミン(DOB)ならびにβ2-AR特異的の刺激薬クレンブテロール(CB)の慢性投与マウスモデルを作製した。その結果β1-ARシグナルの持続的な活性化は、心筋ならびに骨格筋の線維化ならびに筋細胞のアポトーシスによる機能低下を誘導した。一方β2-ARシグナルの持続的な活性化は、筋肥大を誘導するが、組織学的異常は誘導されなかった(Ito A et al. PLoS One 2019)。本研究成果はβ1-ARの慢性刺激状態は心筋ならびに骨格筋の機能障害を誘導し、全身性フレイルを発症することを示唆している。咬合異常による非生理的な咀嚼刺激は、精神的ストレスと感知され(Sci Rep 2018)、交感神経活性の慢性刺激状態や心拍変動の異常を誘導することが報告されている(Int Arch Med 2013; Methods Inf Med 2011)。一方歯周病患者では、β1-ARに対する自己抗体陽性率が高値(88.5%)で、突然死や心筋梗塞後の予後判定に有用な心拍変動(HRV)が異常を示すことが報告されている(J Oral Pathol Med 2012)。しかし、詳細なメカニズムについては不明である。オーラル・フレイルは、心肺機能低下、運動障害、栄養障害、要介護状態に至る全身性フレイルの前段階に位置する新しい概念であるが、オーラル・フレイルと全身性フレイルの因果関係を証明する大規模コホート研究や基礎研究は不十分である。

### 2. 研究の目的

咬合異常によるストレスならびに歯周病患者に高率に検出されるβ1-AR自己抗体は、交感神経の慢性刺激状態を誘発することが報告されている。本研究では「不正咬合ならびに歯周病は、β1-AR経路を介して心筋と骨格筋のリモデリングに影響を与える」という仮説をたて、マウスでの咬合異常モデルならびに歯周病モデルを用いて本仮説を検証する。不正咬合ならびに歯周病と心不全やサルコペニアについての詳しい報告は少ない。咬合不調和は交感神経活動を増加させ、心機能の恒常性を阻害することが報告されている。また、レニンアンジオテンシン系(RAS)阻害剤であるカプトプリル(Cpt)は、心臓リモデリングに対する抑制効果をもつ有用な心不全治療薬である。本研究では、歯科用レジンのマウスの下顎切歯に装着したマウスモデル(Bite-opening; BO)を用いて「Cptは咬合不調和により誘発される心筋のアポトーシスを予防する」という仮説をたて、その検証を試みた。米国心臓病協会(AHA)は、歯周病と心疾患の関連を示唆する傾向はあるが、歯周病が心疾患の発症を上昇させる原因と断定できる確証はないと報告している(Circulation 2012)。米国歯科研究学会(AADR)も以上の事実をみとめ、今後は大規模長期介入試験と動物を用いた基礎研究の必要性を強く提唱している(Trends Endocrinol Metab 2015)。近年増加傾向にある歯科疾患(歯周病と不正咬合)と、死因第2位の心疾患ならびに高齢者のQOL維持に重要な骨格筋の肥大、ならびに委縮の関連について分子レベルで調べる本研究の重要性はきわめて高い。

### 3. 研究の方法

雄性マウス(C57/BL6)、対照群、BO群、Cpt(0.1g/Lを含む飲料水)、Cpt+BOの4群に分け、BO処置2週後、心筋を摘出し、体重、筋重量、心エコーにより心機能を調べた。組織学的解析として、線維化領域の計測のため、Masson trichrome染色、アポトーシスの割合の計測のため、TUNEL染色を行った。メカニズムの解明のためにウェスタンブロッティングを行った。

### 4. 研究成果

【結果】心肥大の程度(心筋重量(mg)/脛骨長(mm))は、有意差が観察されなかった。心エコーを用いて心機能を評価したところ、対照群と比較してBO群で有意に減少したが、(P<0.01) Cptの併用によりBOによる心機能低下は有意に抑制された。Masson trichrome染色において、線維化の割合は、BO群で有意に増加(Control vs. BO 1.12±0.55 vs. 3.56±0.64%, P<0.01, n=4)し、BO+Cpt群では、その効果が抑制された。TUNEL染色におけるアポトーシスの割合もBO群で有意に増加(Control vs. BO 0.01±0.11 vs. 5.31±1.04%, P<0.01 n=6)し、BO+Cpt群ではその効果が抑制された。ウェスタンブロッティングより、線維化に關与する -smooth

muscle actin は B0 群で有意に増加し、 B0+ Cpt 群では、その効果が抑制された。アポトーシスを促進する Bax も B0 群で有意に増加し、 B0+ Cpt 群では、その効果が抑制された。

【結論】以上の結果より、B0 による心筋のアポトーシスは RAS の活性化を介して誘発される可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Yuka Yagisawa , Kenji Suita , Yoshiki Ohnuki , Misao Ishikawa , Yasumasa Mototani , Aiko Ito , Ichiro Matsuo , Yoshio Hayakawa , Megumi Nariyama , Daisuke Umeki , Yasutake Saeki , Yasuharu Amitani , Yoshiki Nakamura , Hiroshi Tomonari , Satoshi Okumura	4. 巻 15
2. 論文標題 Effects of occlusal disharmony on cardiac fibrosis, myocyte apoptosis and myocyte oxidative DNA damage in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS One .	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0236547	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 八木澤由佳、吹田憲治、大貫芳樹、伊藤愛子、梅木大輔、友成 博、奥村 敏	4. 巻 41
2. 論文標題 実験的咬合異常がマウスの心機能に及ぼす影響について	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 循環制御	6. 最初と最後の頁 38-45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kenji Suita , Yuka Yagisawa , Yoshiki Ohnuki , Daisuke Umeki , Megumi Nariyama , Aiko Ito , Yoshio Hayakawa , Ichiro Matsuo , Yasumasa Mototani , Yasutake Saeki , Satoshi Okumura	4. 巻 10
2. 論文標題 Effects of occlusal disharmony on susceptibility to atrial fibrillation in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep .	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-70791-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yoshio Hayakawa, Kenji Suita , Yoshiki Ohnuki , Yasumasa Mototani , Misao Ishikawa , Aiko Ito , Megumi Nariyama , Akinaka Morii , Kenichi Kiyomoto , Michinori Tsunoda , Ichiro Matsuo, Hiroshi Kawahara , Satoshi Okumura	4. 巻 72
2. 論文標題 Vidarabine, an anti-herpes agent, prevents occlusal-disharmony-induced cardiac dysfunction in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Physiol Sci .	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12576-022-00826-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ichiro Matsuo , Yoshiki Ohnuki , Kenji Suita , Misao Ishikawa , Yasumasa Mototani , Aiko Ito , Yoshio Hayakawa , Megumi Nariyama , Akinaka Morii , Kenichi Kiyomoto , Michinori Tsunoda , Kazuhiro Gomi , Satoshi Okumura	4. 巻 63
2. 論文標題 Effects of chronic Porphyomonas gingivalis lipopolysaccharide infusion on cardiac dysfunction in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advanced J Oral Biosci.	6. 最初と最後の頁 394-400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2021.10.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 伊藤愛子、大貫芳樹、吹田憲治、石川美佐緒、松尾一朗、早川佳男、成山明具美、友成 博、奥村 敏
2. 発表標題 咬合異常によるストレスは、レニン-アンジオテンシン系を介して心筋のアポトーシスを引き起こす
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成山明具美、大貫芳樹、吹田憲治、伊藤愛子、石川美佐緒、松尾一朗、早川佳男、朝田芳信、奥村 敏
2. 発表標題 Mitf遺伝子変異は酸化ストレスにより咬筋組織リモデリングを誘導する
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 清本賢一、吹田憲治、大貫芳樹、松尾一朗、角田通則、森井彰伸、伊藤愛子、石川美佐緒、奥村 敏、五味一博
2. 発表標題 レニン-アンジオテンシン系が歯周病由来LPSによる心筋線維化に及ぼす影響
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森井彰伸、吹田憲治、松尾一朗、伊藤愛子、清本賢一、角田通則、成山明具美、大貫芳樹、五味一博、奥村 敏
2. 発表標題 酸化ストレス阻害薬（アロプリノール）のPorphyomonas gingivalis由来LPS（PG-LPS）による心機能障害に対する抑制効果
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 早川佳男、大貫芳樹、吹田憲治、石川美佐緒、伊藤愛子、松尾一朗、清本賢一、角田通則、河原 博、奥村 敏
2. 発表標題 咬合異常により惹起された慢性交感神経刺激状態による心機能障害に対する抗ヘルペス薬（ピダラビン）の予防効果
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松尾一朗、吹田憲治、早川佳男、伊藤愛子、石川美佐緒、清本賢一、角田通則、大貫芳樹、五味一博、奥村 敏
2. 発表標題 Porphyomonas gingivalis 由来LPSの慢性投与下における心疾患発症メカニズムの解明
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ito A, Umeki D, Ishikawa M, Yagisawa Y, Okumura S, Tomonari H
2. 発表標題 Role of renin-angiotensin system for the development of cardiac dysfunction induced by occlusal disharmony
3. 学会等名 The 9th International Orthodontic Congress ( 国際学会 )
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤愛子、大貫芳樹、梅木大輔、吹田憲治、石川美佐緒、八木澤由佳、松尾一朗、早川佳男、友成 博、奥村 敏
2. 発表標題 咬合異常によるストレスはレニンアンジオテンシン系を介し心機能に影響を及ぼす
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2020年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------