

機関番号：17401

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590829

研究課題名 (和文) 歯周病菌を介した虚血性心疾患の新しい発症メカニズムの解明と原因歯周病菌の同定

研究課題名 (英文) Clarification of new mechanism of ischemic heart disease through periodontitis and identification of cause periodontitis bacterium

研究代表者

副島 弘文 (SOEJIMA HIROFUMI)

熊本大学・保健センター・准教授

研究者番号：80332881

研究成果の概要 (和文)：本研究において歯周病重症度と全身の炎症反応の指標である高感度 c-reactive protein との関連性を証明した。また、冠動脈プラーク内容物の一部はバルーンに付着しているとされているため冠動脈形成術を施行された患者さんから同意を得、使用済みバルーンを回収し、このバルーン付着物から polymerase chain reaction により歯周病菌の検出を試みた。その結果、Prevotella intermedia と Porphyromonas gingivalis の mRNA が検出された。

研究成果の概要 (英文)：The relativity of the periodontitis severity and high sensitivity c-reactive protein that was the index of the inflammatory reaction of the whole body was proven. A part of coronary plaque contents adheres to the balloon after the coronary intervention. The detection of the periodontitis bacterium was tried from this balloon adhesion thing by polymerase chain reaction, then, mRNA of Prevotella intermedia and Porphyromonas gingivalis was detected.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・臨床心血管病態学

キーワード：歯周病スコア・歯周病菌・冠動脈・プラーク・mRNA・冠動脈形成術・高感度 c-reactive protein・急性冠症候群

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 動脈硬化が慢性の血管の炎症性疾患であるという概念が提唱されるに至り、末梢血にて炎症反応が亢進している人ではその後の心血管事故の発生が多いことは多くの論文に取り上げられている。

(2) Helicobacter pylori, Chlamydia pneumoniae, Cytomegalovirus などの細

菌感染が動脈の炎症に深く関与し、虚血性心疾患の発症に関係している可能性が示されている。

(3) 歯周病の進行した患者において心血管疾患の発症が多いこと、心筋梗塞の既往のある患者と既往のない患者との患者対照研究では歯周病重症度に有意な差があったことが報告されている。

(4) 急性冠症候群患者の冠動脈病変部位にはマクロファージが多く集積し、そのマクロファージが組織因子を発現しており、急性冠症候群での血栓形成に深く関与していることが明らかにされた。

(5) T細胞も冠動脈プラーク局所で急性冠症候群発症に重要な働きをしていることが報告されており、末梢血T細胞でもそれを反映したサイトカイン産生能が惹起されていることが報告されている。

(6) 急性心筋梗塞発症の引き金となる冠動脈プラークの破綻のメカニズムに前述のように白血球の活性化が関与しているが、歯周病が白血球の活性化に関与している可能性が報告された。

(7) 歯周病は誰でもが罹患する疾患でありそのコントロールが心筋梗塞発症抑制につながる可能性があると考えられた。

## 2. 研究の目的

(1) 冠動脈病変の形成および急性冠症候群の発症に炎症が関与していることが明らかとなってきたが、その炎症の原因として歯周病が関与しているかどうかを検討する。

(2) 冠動脈プラーク破綻への歯周病菌の関与の有無を検討する。

## 3. 研究の方法

(1) 循環器内科入院患者さんの多くは心臓カテーテル検査および心電図、心臓超音波と入院時一般採血を受けるため心臓および心臓以外の所見が把握可能である。循環器内科入院患者さんの入院時採血所見および心電図、心臓超音波、冠動脈造影所見の把握は本研究参加の同意を得てから行う。高脂血症や糖尿病の有無など冠危険因子の評価、冠動脈の形状や虚血性心疾患の有無、心機能の異常の有無など、こうして得られる情報から虚血性心疾患の重症度を判定する。

(2) 循環器内科に入院中の虚血性心疾患患者さんにおいて本研究に協力の得られた患者さんに歯科・口腔外科へ受診していただき歯周病の有無および程度を PPRD (periodontal pentagon risk diagram by Renvert S, et al, J Clin Periodontol, 2003)の code 分類によりスコア化して評価する。診察していただく項目としては、残存歯数、全歯の歯周ポケットの深さがどのくらいか (4 mm 未満、4 mm 以上、6 mm 以上)、歯 4 面の歯垢の残存程度、プロービングによる歯周組織からの易出血性の有無、動揺歯の有無、歯肉の状況、パモントグラフィーを用いて歯槽骨の骨吸収の程度

が歯根長の 1/2 以上に達するかどうか等である。また、虚血性心疾患以外の入院患者さんにおいても同様の評価を行い歯周病の有病率や重症度に差があるかどうかを検討する。さらに歯周病の有病率、重症度と虚血性心疾患の病態との関連性を検討する。

(3) 冠動脈プラークの破綻に白血球の活性化が関与することがわかってきている。歯周病菌の感染と Toll-like receptor (TLR) との関連が報告されており、冠動脈プラーク病変のサンプルおよび末梢血白血球の TLR の発現を検討する。

(4) 歯周病菌のうち *Porphyromonas gingivalis*、*Prevotella intermedia*、*Actinomyces actinomycetemmitans* について ELISA 法を用いて抗体価の測定を行う。循環器病棟に入院中の患者さんから末梢血採血を行い、これらの菌体がついたプレートに患者血清を入れて、血清中のその菌に対する IgG, IgM, IgA 抗体を結合させる。最後に、IgG, IgM, IgA 抗体それぞれに対する抗体を用いて患者の各歯周病菌に対する抗体価を測定する。こうして得られた歯周病菌に対する抗体価との歯周病の有無および歯周病の重症度と関連を検討する。

## 4. 研究成果

(1) 循環器病棟入院中の患者に同意を得て歯科・口腔外科受診してもらった。脱落歯数、ポケットの深さ 6mm 以上の歯数、プロービングによる歯周組織からの易出血性のある歯数、パモントグラフィーを用いて歯槽骨の骨吸収の程度が歯根長の 1/2 以上に達する歯数、喫煙数からなる歯周病スコアを評価した。その結果、歯周病の重症度が冠動脈疾患の重症度に関連していた。

(2) 多変量解析の結果、歯周病スコアが冠動脈狭窄に関連しており新たな冠危険因子となることを示した。

(3) 急性冠症候群の患者では安定狭心症患者に比し *Prevotella intermedia* に対する抗体価が有意に高値であり、急性冠症候群の病態と *Prevotella intermedia* には関連性があると考えられた。

(4) 歯周病菌の感染と Toll-like receptor (TLR) との関連が報告されており、冠動脈プラーク病変のサンプルおよび末梢血白血球の TLR の発現を検討した。その結果、急性冠症候群患者の末梢血白血球では TLR2 および TLR4 の発現が亢進しており、冠動脈プラーク病変では TLR4 の発現が亢進していた。

(5) 冠動脈形成術に際し、粥種が破綻し冠動脈プラーク内容物の一部はバルーンに付着しているとされている。このバルーン付着物に歯周病菌の遺伝子の断片がないか解凍後バルーンの付着物を洗浄して回収し、

polymerase chain reaction により検出を試みた。その結果、Prevotella intermedia と Porphyromonas gingivalis の mRNA が検出された。

(6) 炎症反応の強い人は冠動脈イベントの発症が多いことがわかっている。炎症反応の原因として歯周病が挙げられているが、本研究において高感度 c-reactive protein と歯周病との関連性を検討した。その結果、歯科医に検診してもらったデータから算出した歯周病スコアとその患者の高感度 CRP は有意な相関関係があることがわかり、歯周病が炎症反応の原因の一つであると考えられた。

以上のような結果を得て歯周病と虚血性心疾患あるいは動脈硬化の形成・進展に強い関連性があると思われる。今後は動脈硬化巢の歯周病菌検出および歯周病菌の動脈硬化巢での役割についての検討が必要と思われる。これまで動脈から歯周病菌を検出したという報告はほとんどなく検出には工夫が必要と思われる。

#### 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 11 件)

- ① Okada S, 8 名, Soejima H, 2 名. Differential Effect of Low-Dose Aspirin for Primary Prevention of Atherosclerotic Events in Diabetic Management: A subanalysis of the JPAD Trial. Diabetes Care 査読有り 2011 in Press
- ② Saito Y, 7 名, Soejima H, 3 名. Low-dose aspirin therapy in patients with type 2 diabetes and reduced glomerular filtration rate: subanalysis from the JPAD trial. 査読有り Diabetes Care 34:280-285, 2011
- ③ Soejima H, Morimoto T, Saito Y, Ogawa H. Aspirin for the primary prevention of cardiovascular events in patients with peripheral artery disease or diabetes mellitus. Analyses from the JPAD, POPADAD and AAA trials. 査読有り Thrombosis and Haemostasis 104:1085-1088, 2010
- ④ Nagayoshi Y, 3 名, Soejima H, 7 名. Differences in oxidative stress markers based on the aetiology of heart failure: comparison of oxidative stress in patients with and without coronary artery disease. 査読有り Free Radical Research 43:1159-1166, 2009
- ⑤ Fukunaga T, Soejima H, 9 名. High ratio of myeloid dendritic cells to plasmacytoid

dendritic cells in blood of patients with acute coronary syndrome. 査読有り Circulation Journal 73:1914-1919, 2009

⑥ Fukushima R, Soejima H, 6 名. Expression levels of Toll-like receptor genes in coronary atherosclerotic lesions of patients with acute coronary syndrome or stable angina pectoris. Circulation Journal 査読有り 73:1479-1484, 2009

⑦ Kawano H, Soejima H, 11 名. Prevalence of changes in undiagnosed glucose intolerance according to age and gender in Japanese middle-aged working people. Circulation Journal 査読有り 73:1062-1066, 2009

⑧ Oe Y, Soejima H, 9 名. Significant association between score of periodontal disease and coronary artery disease. Heart and Vessels 査読有り 24:103-107, 2009

⑨ Soejima H, 10 名. Periodontal status and Prevotella intermedia antibody in acute coronary syndrome. International Journal of Cardiology 査読有り 137:304-306, 2009

⑩ Kawano H Nagayoshi Y, Soejima H, 4 名. Dehydroepiandrosterone levels vary according as heart failure condition in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. International Journal of Cardiology 査読有り 125:277-279, 2008

⑪ Kawano H Nagayoshi Y, Soejima H, 6 名. B-type natriuretic peptide after hormone therapy in postmenopausal women with chest pain and normal coronary angiogram. Menopause 査読有り 15:352-356, 2008

[学会発表] (計 7 件)

① Hirofumi Soejima, Impact of blood pressure control in type 2 diabetes patients in relation to aspirin therapy : insight from the JPAD trial, American Heart Association Scientific Sessions 2010, November 15, 2010 McCormic Place, Chicago, Illinois, USA

② Hirofumi Soejima, Aspirin reduces the incidence of stroke events in poorly blood controlled patients with type 2 diabetes, 74<sup>th</sup> Annual Scientific Session of the Japanese Circulation Society, March 7, 2010, Kyoto International Conference Center, Kyoto

③ Hirofumi Soejima, Aspirin reduces the incidence of stroke events in poorly blood controlled patients with type 2 diabetes, American Heart Association Scientific Sessions 2009, November 17, 2009 Orange County Convention Center, Orlando, Florida, USA

④ Yoko Oe, Serum IgG levels against Prevothella Intermadia are independently associated with acute coronary syndrome, 73<sup>th</sup> Annual Scientific Session of the Japanese Circulation Society, March 22, 2009, Osaka International Convention Center, Osaka

⑤ Hirofumi Soejima, Heart failure severity is indicated by circulating T cell osteopontin expression levels, 73<sup>th</sup> Annual Scientific Session of the Japanese Circulation Society, March 21, 2009, Osaka International Convention Center, Osaka

⑥ Ryuichiro Fukushima, Heightened expression of Toll-like receptor-4 gene expression in coronary atherosclerotic lesions in patients with acute coronary syndrome, 73<sup>th</sup> Annual Scientific Session of the Japanese Circulation Society, March 20, 2009, Osaka International Convention Center, Osaka

⑦ Hirofumi Soejima, Heart failure severity is indicated by circulating T cell osteopontin expression levels, American Heart Association Scientific Sessions 2008, November 9, 2008 Earnest N. Morial Convention Center, New Orleans, Louisiana, USA

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

副島 弘文 (SOEJIMA HIROFUMI)  
熊本大学・保健センター・准教授  
研究者番号：80332881