

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：33902

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18519

研究課題名（和文）歯周病と非アルコール性脂肪肝炎における新規バイオマーカーの検討

研究課題名（英文）Novel biomarkers between periodontal disease and nonalcoholic steatohepatitis.

研究代表者

大野 祐 (Ohno, Tasuku)

愛知学院大学・歯学部・助教

研究者番号：80824151

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：歯周病は、歯周病原細菌による慢性炎症性疾患であり、歯周組織の破壊および病的な歯槽骨吸収が引き起こされることが特徴である。歯周病は様々な全身疾患との関わりが報告されており、ペリオドンタルメディスンという学問分野として注目されている。非アルコール性脂肪肝炎(NASH)は肥満や糖尿病を背景に脂肪肝を発症し、近年では、歯周病とNASHとの関連性について報告されているが、未だ全貌は明確にされていない。

本研究においてはNASHモデルマウスに実験的歯周炎を惹起させ、NASH病態に及ぼす影響を検討したところ、実験的歯周炎によりNASH病態の増悪を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性炎症を基盤としているNASHにおいても発症メカニズムの2nd Hitの役割として、ANGPTLファミリーの1つであるANGPTL2が作用し炎症を増悪させているのではないかと考え、さらに歯周炎局所で産生されたANGPTL2が、血流を介してNASHを進行させる可能性があるのではないかと考え、NASHモデルマウスを用いた本研究の着想に至った。ANGPTL2が、歯周病とNASHの病態の双方に相関する因子として同定されれば、歯周病と全身疾患の関連メカニズムを解明するうえで有意義であると考えられ、学術的にも価値があるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Periodontal disease is a chronic inflammatory disease caused by periodontopathogenic bacteria and characterized by periodontal tissue destruction and pathological alveolar bone resorption. Periodontal disease has been reported to be associated with various systemic diseases.

Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) is a fatty liver disease that develops against a background of obesity and diabetes. Recently, an association between periodontal disease and NASH has been reported, but the mechanism is still unclear.

In this study, experimental periodontitis was induced in a mouse model of NASH and its effect on NASH pathology was investigated.

研究分野：歯周病学

キーワード：NASHモデルマウス 実験的歯周炎 ペリオドンタルメディスン ANGPTL2

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

歯周病は、歯周病原細菌による慢性炎症性疾患であり、歯周組織の破壊および病的な歯槽骨吸収が引き起こされることが特徴である。歯周病原細菌の内毒素や歯周局所で産生される炎症メディエーターにより糖尿病、心臓血管疾患や関節リウマチなどの全身疾患のリスクが上昇することが報告されており、歯周病と全身疾患との関わりはペリオドンタルメディシンとして注目されている。

NASH は肥満や糖尿病を背景に脂肪肝を発症し、炎症や肝線維化を経過することで肝硬変に至る疾患であると考えられており、現在国内において 300~400 万人ほどの患者が存在していると推定されている。近年では、歯周病と非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) との関連性について報告 (Tomofuji et al. *Acta Odontol Scand.* 2009) されているが、未だ全貌は明確にされていない。

近年、血管新生調節因子として知られているアンジオポエチンと構造的に類似性を示す分泌型タンパク質である Angiopoietin-like proteins (ANGPTLs) が注目されている。その 1 つである ANGPTL2 は、脂肪組織にて多く産生され、炎症反応の増悪と密接に関連していると報告されている (Kubota et al. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005)。また、ANGPTL2 は微量ながら恒常的に肝臓で産生されていることが報告されている (Tabata et al. *Cell Metab.* 2009) が、NASH 病態での肝臓における ANGPTL2 の局在については未だ報告はない。

申請者のグループは、これまでに ANGPTL2 に着目し、歯周病患者の歯肉溝滲出液 (GCF) 中の ANGPTL2 タンパク質濃度が、健常者の GCF 中の ANGPTL2 濃度と比較して有意に増加していること、歯肉上皮細胞において、ANGPTL2 が歯周局所における炎症を遷延化させる可能性を報告 (Ohno et al. *PLoS One.* 2017) した。この研究結果より、ANGPTL2 が歯周病の炎症度を示すマーカーとしての活用できるのではないかと推察している。

2. 研究の目的

研究目的として、「歯周病と NASH との関連性を示す新規バイオマーカーを探索する」を設定し、これまで申請者が検討してきた ANGPTL2 に着目し、歯周組織局所の炎症ならびに歯周炎で産生された ANGPTL2 が NASH の進行に影響を与えるのではないかとこの観点より、NASH モデルマウスを用いた検討を行うことにした。

3. 研究の方法

(1) 実験的歯周炎モデルマウスの作成

12 週齢の NASH モデルマウス (C57BL/6J-NASH) を用い、上顎第二大臼歯に 5-0 絹糸を留置することにより炎症を惹起させ、実験的歯周炎モデルとする。2 週間絹糸を留置させ、歯周炎状態を維持する。なお 擬似処置を行った NASH モデルマウスを対照群とした。

(2) 実験的歯周炎モデルマウスの歯槽骨吸収の検討

実験的歯周炎惹起後、2 週間後に体重測定、 μ -CT を用いた歯槽骨吸収の解析を行う。

(3) 歯周組織、肝臓組織サンプルの解析

実験的歯周炎の解析後に屠殺し、サンプル回収 (上顎骨、肝臓組織) を行う。その後 qPCR にて遺伝子解析、パラフィン包埋による肝臓の組織切片を作成し、病理組織学的評価を行う。

4. 研究成果

(1) μ -CTを用いた実験的歯周炎モデルマウスの歯槽骨吸収解析

実験的歯周炎を惹起させたところ、第2大臼歯周囲の歯槽骨の顕著な吸収を認めた。

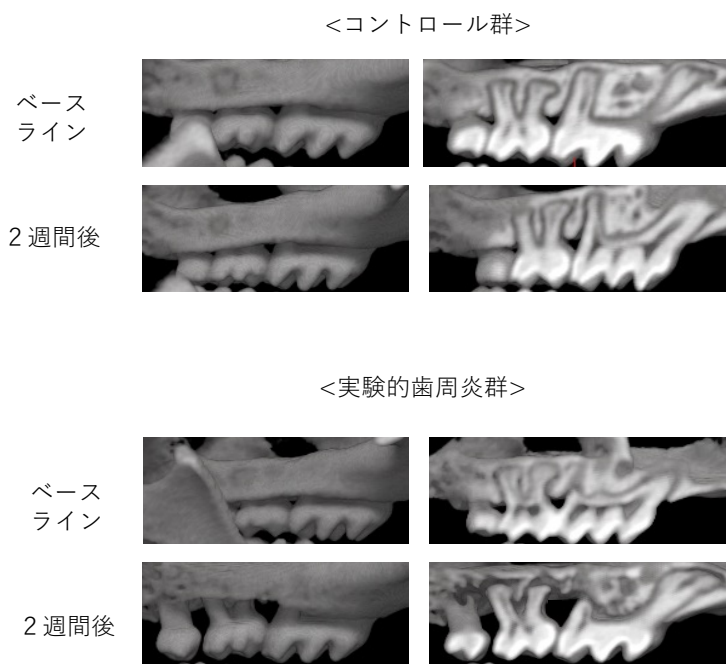


図1 μ -CTを用いた歯槽骨吸収の検討

(2) 肝臓組織の病理組織学的評価と体重変化

実験的歯周炎群の肝臓において、コントロール群と比較して、肝臓の脂肪化の進行および炎症性細胞の浸潤が顕著であった。また体重変化や肝臓自体の重量に関しては、有意な差を認めなかった。

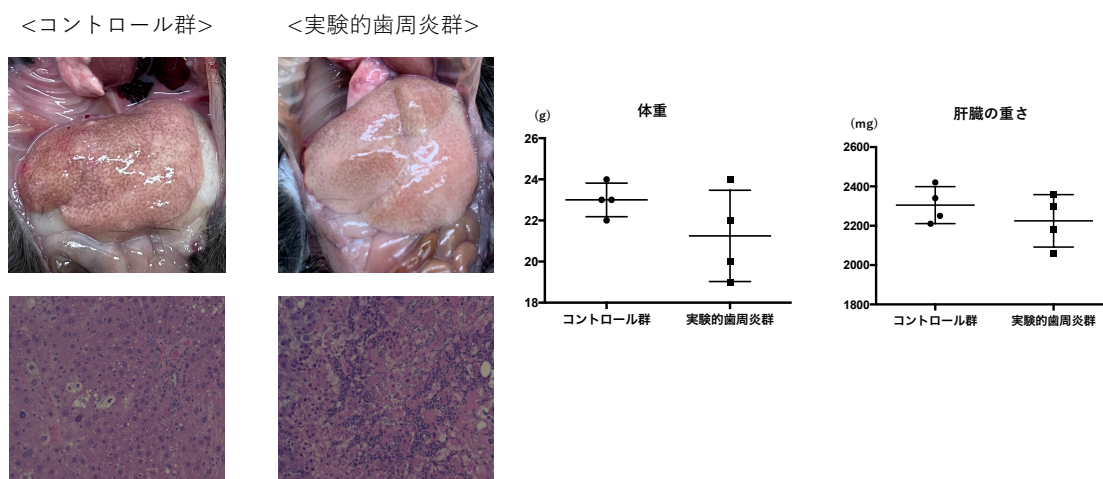


図2 肝臓の組織切片および体重変化

(3) 肝臓組織の遺伝子発現量の変化

実験的歯周炎群とコントロール群の肝臓組織をホモジナイズ後、qPCR 法にて遺伝子発現を確認したところ、IL-6、TNF- α 、ANGPTL2 において有意な遺伝子発現の増強を認めた。

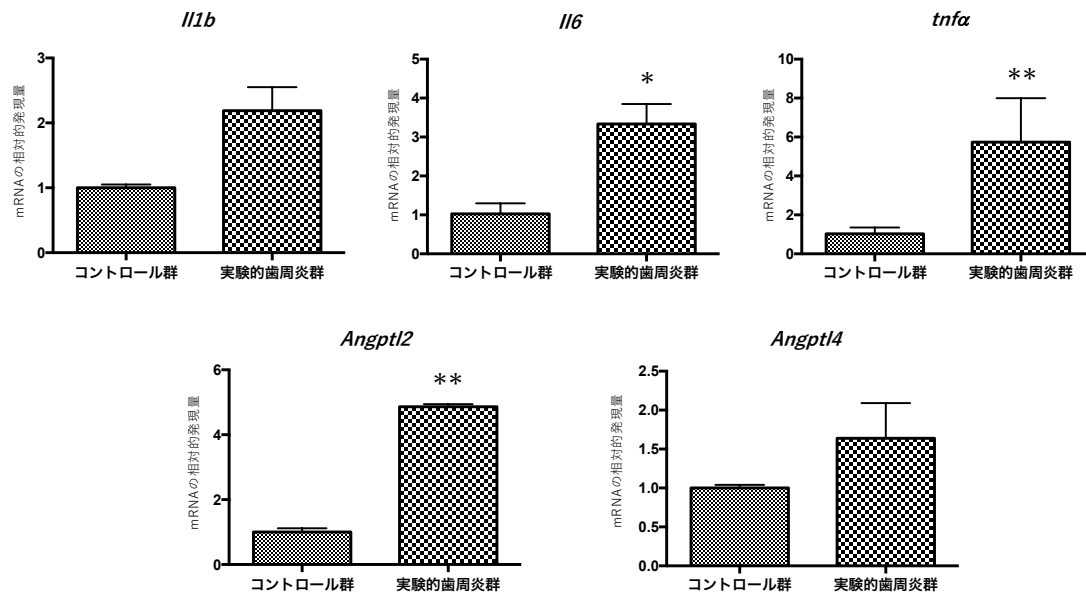


図3 肝臓組織における遺伝子発現の検討

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takayanagi Yuhei, Kikuchi Takeshi, Hasegawa Yoshiaki, Naiki Yoshikazu, Goto Hisashi, Okada Kousuke, Okabe Ichiro, Kamiya Yosuke, Suzuki Yuki, Sawada Noritaka, Okabe Teppei, Suzuki Yuki, Kondo Shun, Ohno Tasuku, Hayashi Jun-ichiro, Mitani Akio	4. 巻 9
2. 論文標題 Porphyromonas gingivalis Mfa1 Induces Chemokine and Cell Adhesion Molecules in Mouse Gingival Fibroblasts via Toll-Like Receptors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 4004 ~ 4004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm9124004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Higuchi Naoya, Hayashi Jun-ichiro, Fujita Masanori, Iwamura Yuki, Sasaki Yasuyuki, Goto Ryoma, Ohno Tasuku, Nishida Eisaku, Yamamoto Genta, Kikuchi Takeshi, Mitani Akio, Fukuda Mitsuo	4. 巻 22
2. 論文標題 Photodynamic Inactivation of an Endodontic Bacteria Using Diode Laser and Indocyanine Green-Loaded Nanosphere	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8384 ~ 8384
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22168384	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hata Masaki, Omi Maiko, Kobayashi Yasuko, Nakamura Nobuhisa, Miyabe Megumi, Ito Mizuho, Makino Eriko, Kanada Saki, Saiki Tomokazu, Ohno Tasuku, Imanishi Yuka, Himeno Tatsuhito, Kamiya Hideki, Nakamura Jiro, Ozawa Shogo, Miyazawa Ken, Kurita Kenichi, Goto Shigemi, Takebe Jun, Matsubara Tatsuaki, Naruse Keiko	4. 巻 11
2. 論文標題 Transplantation of human dental pulp stem cells ameliorates diabetic polyneuropathy in streptozotocin-induced diabetic nude mice: the role of angiogenic and neurotrophic factors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Stem Cell Research & Therapy	6. 最初と最後の頁 236-236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13287-020-01758-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hata Masaki, Omi Maiko, Kobayashi Yasuko, Nakamura Nobuhisa, Miyabe Megumi, Ito Mizuho, Ohno Tasuku, Imanishi Yuka, Himeno Tatsuhito, Kamiya Hideki, Nakamura Jiro, Miyachi Hitoshi, Ozawa Shogo, Miyazawa Ken, Mitani Akio, Nagao Toru, Goto Shigemi, Takebe Jun, Matsubara Tatsuaki, Naruse Keiko	4. 巻 10
2. 論文標題 Sustainable Effects of Human Dental Pulp Stem Cell Transplantation on Diabetic Polyneuropathy in Streptozotocine-Induced Type 1 Diabetes Model Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2473 ~ 2473
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10092473	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kondo Shun, Kojima Kento, Nakamura Nobuhisa, Miyabe Megumi, Kikuchi Takeshi, Ohno Tasuku, Sawada Noritaka, Minato Tomomi, Saiki Tomokazu, Ito Mizuho, Sasajima Sachiko, Matsubara Tatsuaki, Mitani Akio, Naruse Keiko	4. 巻 58
2. 論文標題 Increased expression of angiopoietin like protein 4 regulates matrix metalloproteinase 13 expression in <i>Porphyromonas gingivalis</i> lipopolysaccharides stimulated gingival fibroblasts and ligature induced experimental periodontitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Periodontal Research	6. 最初と最後の頁 43 ~ 52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jre.13067	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

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

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
---------	---------