

機関番号：12602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21792111

研究課題名（和文） 早期低体重児出産における歯周病由来 anti-cardiolipin 抗体の役割

研究課題名（英文） The function of anti-cardiolipin antibody by periodontal pathogen for pre-term low birth weight

研究代表者

片桐 さやか (KATAGIRI SAYAKA)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：60510352

研究成果の概要（和文）：*A. actinomycetemcomitans* の leucotoxin C 中の配列に対する抗体が、抗リン脂質抗体症候群と関連している β 2GPI 上の TLRVYK ペプチドと交差反応を引き起こす可能性があることを示した。また、東京医科歯科大学医学部附属病院に通院中の妊婦において、実際に低体重児出産であった妊婦は、正期産の妊婦に比べて歯周ポケットの平均値および歯周ポケット 4mm 以上の歯を有する割合が有意に高いことが明らかになった。歯周病と低体重児出産には関連があることが示された。

研究成果の概要（英文）: Beta 2 glycoprotein I is important in the suppression of coagulation which can inhibit Antiphospholipid syndrome (APS). We showed the possibility of cross reaction between the antibodies of leucotoxin C in *A. actinomycetemcomitans* and TLRVYK peptide on beta 2 GPI. We also showed that patients with low birth weight had significant deep periodontal pockets than normal pregnant women. These result suggested that there are some relations between periodontal diseases and low birth weight.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：歯周病、妊娠、早期低体重児出産、自己抗体、anti-cardiolipin 抗体、交差反応

1. 研究開始当初の背景

歯周炎は、様々な全身疾患のリスクファクターであり、早期低体重児出産にも影響を及ぼしていることが明らかになっている。歯周炎が早期低体重児出産に影響する生物学的なメカニズムは、歯周病原細菌の慢性的な感染によって、IL-6、TNF- α などのサイトカインや PGE₂などの炎症性メディエーターが産生され、早期に頸管熟化や子宮収縮が惹起されるためと考えられてきたが、未だ不明な点も多い。

近年、早期低体重児出産を引き起こす疾患としては、抗リン脂質抗体症候群が注目されている。抗リン脂質抗体症候群では血液凝固の抑制に重要な β -2 glycoprotein- I (β 2GPI) に対する自己抗体である、 β 2GPI 依存性抗 cardiolipin 抗体が上昇することが知られている。この β 2GPI に対する自己抗体は、動脈および静脈の血栓症や習慣性流産を引き起こすことが知られている。

これまでの研究で、歯周炎患者では、健常者と比較して β 2GPI 依存性抗 cardiolipin 抗体が上昇していることが報告されている。また β 2GPI 上の TLRVYK ペプチドを認識するモノクローナル抗体をマウスに注射することにより、血栓や早産が引き起こされることが報告されている。この TLRVYK ペプチドと相同性を有する *Hemophilus influenzae* や *Neisseria gonorrhoeae* の感染によって、 β 2GPI と交差反応をする抗体が産生され、その抗体が血栓や流産を引き起こすことが、マウスを用いた研究で明らかになった。そこで私たちは、TLRVYK ペプチドと相同性が高いペプチドを歯周病原細菌が有しているか否かを Swiss plot database にて検索した。

その結果、*P. gingivalis.*, *T. denticola.*, *A. actinomycetencomitans.* が、 β 2GPI 上の

TLRVYK ペプチドと相同性が高いペプチド配列を有することが明らかになった。また、これらの細菌に感染している歯周炎患者では、TLRVYK ペプチドに対する抗体価が上昇していることを報告した。これらの結果に基づき、私たちは、歯周病原細菌に対する抗体が、 β 2GPI 上の TLRVYK ペプチドと交差反応を引き起こし、抗リン脂質抗体症候群に類似した早期低体重児出産を引き起こしている可能性を考えた。

2. 研究の目的

迫早産および流産の危険性が高い妊産婦において、(1) 口腔内の歯周病原細菌の感染によって、抗リン脂質抗体症候群のように抗 cardiolipin 抗体価や β 2GPI に対する抗体の上昇が認められるか否か、(2) 出産の結果に歯周病原細菌の抗体が影響しているか否か、を明らかにすることである。

3. 研究の方法

1. 妊婦における、歯周病原細菌とその抗体による、抗リン脂質抗体症候群様の早期低体重児出産の関連性について検討する

(1) 被験者

被験者として、東京医科歯科大学医学部附属病院周産期センターを受診中の、早産および流産の危険性が高い妊婦 50 名とする。選択基準は①全身疾患を有さない。②少なくとも 15 歯異常の歯が残存している。③実験開始 3 ヶ月以内に全身、および局所における抗菌剤の投与が行われていないこととする。

(2) 検査

・ 歯科臨床検査

歯周検査として、プロービングポケット深さ (PPD)、アタッチメントレベル (AL)、プロービング時の歯肉からの出血 (BOP)、オー

レリーのプラークコントロールレコード (O-PCR)、動揺度を測定する。

・歯周病原細菌検査

被験者の最深の PPD を示す歯周ポケット 4 部位より、ペーパーポイント法により、細菌のサンプリングを行う。また、唾液も採取する。PCR 法により、各細菌数 (*P. gingivalis.*, *T. denticola.*, *A. actinomycetencomitans.*) の有無を検出する。

・血清抗体価の測定

被験者より、末梢静脈血を採取し、血清分離後、血清中の β 2GPI に対する抗体価および *P. gingivalis.*, *T. denticola.*, *A. actinomycetencomitans* 中の TLRVYK ペプチドと相同性の高いペプチドに対する抗体価を ELISA 法にて測定する。

2. 抗 TLRVYK 抗体の歯周病原細菌由来ペプチドとの交差反応性を検討する

(1) ウサギ抗 TLRVYK 抗体の歯周病原細菌由来ペプチドとの交差反応性を検討する。

・ウサギ抗-TLRVYK 抗体の作成ウサギに抗 TLRVYK ペプチドを接種し、リガンドカップリングカラムで抗 TLRVYK 抗体を精製する。

・抗 TLRVYK 抗体の歯周病原細菌のペプチドに対する交差反応性を検討する。

(2) 歯周病原細菌に対する抗体の β 2GPI に対する交差反応性を調査する。

・歯周病原細菌に対する抗体の作成

ウサギに抗 TLRIYT ペプチド (*P. gingivalis.*)、抗 SIRVYK ペプチド (*A. actinomycetencomitans.*)、抗 TLALYK ペプチド (*T. denticola.*) を接種し、各ペプチドに対する特異的な抗体をリガンドカップリングカラムで精製する。

・歯周病原細菌に対する抗体の β 2GPI に対する交差反応性を検討する。

3. 出産の結果と、抗 cardiolipin 抗体、および歯周病原細菌に相関関係があるかど

うかを統計分析する。

4. 歯周病原細菌の罹患と抗 cardiolipin 抗体の上昇に相関関係があるかどうかを統計分析する。

4. 研究成果

私たちは *A. actinomycetencomitans* の leucotoxin C 中の配列に対する抗体が、TLRVYK ペプチドと交差反応を引き起こす可能性があることを示した。また、東京医科歯科大学医学部附属病院に通院中の妊婦において、実際に低体重児出産であった妊婦は、正期産の妊婦に比べて歯周ポケットの平均値および歯周ポケット 4mm 以上の歯を有する割合が有意に高いことが明らかになった。歯周病と低体重児出産には関連があることが示された。

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 3 件)

①Nagasawa T, Mitsuhiro Noda, Katagiri S, Takaichi M, Takahashi Y, Wara-Aswapati N, Kobayashi H, Ohara S, Kawaguchi Y, Tagami T, Furuichi Y, Izumi Y.

Relationship between Periodontitis and Diabetes - Importance of a Clinical Study to Prove the Vicious Cycle.

Internal Medicine 49(10): 881-5, 2010.

②Katagiri S, Nitta H, Nagasawa T, Izumi Y, Kanazawa M, Matsuo A, Chiba H, Miyazaki S, Miyauchi T, Nakamura N, Kanamura N, Ando Y, Hanada N, Inoue S.

High prevalence of periodontitis in non-elderly obese Japanese adults.

Obesity Research and Clinical Practice 4:

e301-306, 2010.

③Katagiri S, Nitta H, Nagasawa T, Izumi Y, Kanazawa M, Matsuo A, Chiba H, Miyazaki S, Miyauchi T, Nakamura N, Oseko F, Kanamura N, Ando Y, Hanada N, Inoue S.

Reduced masticatory function in non-elderly obese Japanese adults.

Obesity Research and Clinical Practice (in press) 2011.

[学会発表] (計6件)

①大塚紘未, 須永昌代, 吉田有里, 小原由紀, 小林宏明, 片桐さやか, 趙永哲, 和泉雄一, 木下淳博, 田上順次.

歯科診療室 - 講義室間の学内LAN同時中継によるライブ講義システムの開発と評価.

第4回医療系大学eラーニング全国交流会

②Bharti P, Katagiri S, Nitta H, Nagasawa T, Kobayashi H, Izumi Y.

Periodontal treatment increases serum adiponectin level in type2 diabetes patients.

The 96th annual meeting of American Academy of Periodontology in collaboration with the Japanese Society of Periodontology

③高橋香, 藤田理恵子, 片桐さやか, 藤田桂一.

犬猫の破切歯における回顧的研究 - 犬205症例、猫18症例について -

第31回動物臨床医学会年次大会

④佐藤郁文, 青木章, 水谷幸嗣, 須田智也, 片桐さやか, 秋月達也, 小田茂, 角保徳, 和泉雄一.

波長走査型光干渉断層画像装置 (SS-OCT) の歯周組織診断への応用.

口腔病学会 第75回口腔病学会学術大会

⑤高橋香, 藤田理恵子, 三浦紫陽子, 戸野

倉雅美, 田熊大祐, 馬場亮, 松木菌麻里子, 難波直, 笹原沙衣子, 鵜田真弓, 市橋弘章, 伊藤寛恵, 佐藤雅美, 高島正義, 文原千尋, 藤野浩子, 小暮啓介, 押田智枝, 片桐さやか, 藤田桂一.

犬の破切歯における回顧的研究 -205症例について-

日本獣医内科学アカデミー/日本獣医臨床病理学会/日本獣医皮膚科学会

⑥片桐さやか.

糖尿病と歯周病の関わり.

北海道医療大学 あいの里病院 特別講演

[図書] (計10件)

①片桐さやか, 新田浩, 金澤真雄, 井上修二.

歯周治療と糖尿病.

健康寿命を延ばす歯科保健医療 89-96, 2010.

②片桐さやか, 和泉雄一.

妊婦さんのための歯周病対策.

富山県歯科医師会雑誌, 2010.

③新田浩, 片桐さやか.

糖尿病と歯周病について.

東京都歯科医師会雑誌 58; 3-11, 2010.

④金澤真雄, 長澤敏行, 片桐さやか, 新田浩, 井上修二.

糖尿病治療による歯周病への効果.

月刊糖尿病 第2巻第13号: 96-101, 2010.

⑤片桐さやか, 新田浩.

歯周治療による糖尿病への効果.

月刊糖尿病 第2巻第13号: 102-107, 2010.

⑥片桐さやか, 長澤敏行.

Periodontal Medicine.

Progress in Medicine 特集 医科と歯科のクロストーク 第30巻第11号: 23-26, 2010.

⑦井上修二, 金澤真雄, 片桐さやか, 新田浩,
長澤敏行.

生活習慣病.

Progress in Medicine 特集 医科と歯科
のクロストーク 第30巻第11号: 27-31,
2010.

⑧片桐さやか, 和泉雄一.

FORUM 「合併症Ⅱ－歯周病」第1回 歯周
病の原因と治療.

プラクティス 第28巻第1号: 14-17, 2011.

⑨片桐さやか, 和泉雄一.

FORUM 「合併症Ⅱ－歯周病」第2回 糖尿
病と歯周病の相互作用.

プラクティス第28巻第2号: 117-119,
2011.

⑩和泉雄一, 片桐さやか.

糖尿病医療連携診療支援ツール.

北多摩北部医療圏医療機能連携協議会 東
京都多摩小平保健所 3月, 2011

6. 研究組織

(1) 研究代表者

片桐さやか (KATAGIRI SAYAKA)

研究者番号: 60510352