

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K10210

研究課題名（和文）歯周病菌感染は脳卒中の発症および予後予測因子となりうるか？

研究課題名（英文）Is periodontitis a predictor of stroke incidence and prognosis?

研究代表者

青木 志郎（Aoki, Shiro）

広島大学・病院（医）・講師

研究者番号：10457236

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：歯周病菌感染と脳卒中の発症や予後との関連を明らかにするための研究を行った。急性期脳卒中患者において血清歯周病菌抗体価を測定した結果、P.gingivalisに対する抗体価が高値であるほど心房細動の罹患率が高いことが明らかとなった。また、急性期脳卒中患者の舌苔に存在する歯周病菌量をreal-time PCR法で測定した結果、F.nucleatumの菌量が多いことが脳深部の白質病変および発症3ヶ月後の予後に独立して強く関連することも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、歯周病菌感染が脳卒中の発症や予後に強く関連していることが明らかとなった。特に、F.nucleatum菌の感染が脳梗塞の発症および転帰に強く影響している可能性が示された。本研究により、特異的細菌や口腔環境を標的とした脳卒中発症予防の発展および予後改善に向けた取り組みへの応用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：A study was conducted to clarify the relationship between periodontitis and the incidence and prognosis of stroke. Serum periodontal antibody titers were measured in patients with acute stroke, and it was found that the higher the antibody titer against P. gingivalis, the higher the incidence of atrial fibrillation. In addition, the amounts of periodontal bacteria present on the tongue of acute stroke patients were measured by real-time PCR, and it was found that high F. nucleatum levels were independently and strongly associated with cerebral white matter lesions and prognosis 3 months after stroke onset.

研究分野：脳卒中

キーワード：歯周病菌 脳卒中

1. 研究開始当初の背景

歯周病は日本人成人の 80% が罹患していると考えられている疾患である。抜歯に伴う歯周病菌の菌血症により感染性心内膜炎のリスクが高まることは古くより知られているが、近年ブラッシングのみでもこの菌血症が引き起こされていることが指摘されている。これら歯周病菌は動脈硬化巣でもその存在が指摘されており、歯周病菌の mRNA が PCR 法により検出されると報告されている。この細菌感染による炎症が動脈硬化を増強する因子である可能性が示唆されている。Burger 病などの末梢血管障害においては、その関与は確立したものになりつつある。歯周病と脳卒中との関連に関しては、The First National Health and Nutrition Examination Survey and Its Follow-up Study により、9962 例の追跡調査による歯周病のリスクの解析が行われている。その結果、歯周炎において明らかな脳卒中の発症、特に非出血性脳卒中の発症への影響を認めた。また、米国の ARIC study cohort に参加した約 7000 名を 10 年以上追跡し口腔内環境と脳梗塞発症との関連を解析した検討では、歯周病の重症度が上昇するほど脳梗塞の発症率が上昇しており、定期的に歯科通院している群では、通院していない群と比較して脳梗塞発症率が約半分であるという結果が示された。しかしながら、これらの検討はコホート研究が中心であり、歯周病を治療したことにより脳心血管イベントを予防しえたという明確なエビデンスは出されていない。

申請者らは、歯周病菌抗体価が脳梗塞患者において高値となっており、特に頸動脈硬化病変を有する症例と心房細動を有する症例では、異なる歯周病菌に対する抗体価が高値を示していることを報告した(Cerebrovasc Dis 2012)。この結果より、異なる歯周病菌がそれぞれ頸動脈硬化病変や心房細動の発症に関わっており、これを通じて脳梗塞の発症に関わっている可能性が示唆された。さらに申請者らは脳卒中患者の血清の歯周病菌抗体価を測定し、急性期脳卒中全体および脳梗塞症例において *F. nucleatum* に対する抗体価が高値であるほど発症 3 か月後の機能予後が不良であること(Clin Exp Immunol 2020, PLoS ONE 2020)、急性期脳出血患者において *A. actinomycetemcomitans* に対する抗体価が高値であるほど急性期脳出血患者における血腫拡大のリスクが高いこと(PLoS ONE 2020)、脳卒中既往患者において *C. rectus* に対する抗体価が高値であるほど頭蓋内に微小出血を有する割合が高いこと(PLoS ONE 2020)を明らかにしている。このように歯周病は脳卒中の発症のみならず予後にも関与しており、歯周病菌の種類により異なる病態生理を有している可能性が示唆される一方で、各菌種の菌体の違いあるいは菌叢の違いなど詳細な検討による脳卒中患者への影響についての研究はこれまで十分になされていない。脳卒中において発症後の予後を予測することは、治療や管理の質を高める上で極めて重要な課題である。これまでも脳卒中の予後に関連する因子として、発症時の年齢、発症時の重症度、血腫量などが報告されてきている。しかしながら、これらの因子は全て「発症後」に明らかになる介入不可能な因子であり、予後は予測できても予後を改善させることには全く寄与しない。最も有用な予後予測因子とは、「発症前」に予後を予測するだけでなくそれに対する介入が可能で、その介入により「発症後」の予後を改善させる可能性があるものであると考えられる。現段階ではいまだそのような因子として確立されたものはない。本研究において歯周病菌と脳卒中発症および予後との関連が明らかとなれば、「発症前」に口腔ケアを徹底することにより、発症予防のみならず「発症後」の予後改善にも影響を及ぼす可能性を示すことができ、脳卒中医療に大きなインパクトを与える。

2. 研究の目的

本研究では、口腔内の歯周病菌感染が急性期脳卒中患者の発症および予後を予測し得るものと仮説を立て、臨床検体によりその仮説を検証すること、その関連性における炎症の影響を検討すること、さらに頭部 MRI 画像の詳細な検討により、脳内における器質的な変化との関連を検討することを目的とする。本研究により、脳卒中の発症および予後予測の精度の向上や、歯周病菌の脳内における病態メカニズムの解明に寄与する可能性が期待できる。

3. 研究の方法

1. 急性期脳卒中患者における歯周病菌感染、炎症マーカー、エンドトキシンと発症および転帰の関連についての検討

1) 試料採取・細菌分離

急性期脳卒中患者(発症 7 日以内)の入院時に唾液・プラーク・舌苔および便を採取する。歯周病菌・口腔レンサ球菌は各種寒天培地に播種培養後コロニーを分離し、PCR 法で菌種を同定する。

2) 歯周病菌抗体価解析

入院時の血清より、申請者らが使用している多菌体の歯周病菌血清抗体価を ELISA 法で測定する。また分離培養した歯周病菌と脳卒中重症度や病型との関連を統計解析する。

3) 炎症マーカー、細菌のエンドトキシンの測定および歯周病菌感染との関連についての検討

急性期脳卒中患者の炎症マーカー(高感度 CRP、TNF- α 、IL-6)細菌のエンドトキシン(LPS)を患者血清を用いて ELISA 法により測定する。歯周病菌感染の有無と、これらの炎症マーカーの

値、LPS の値との相関について統計学的に解析する。

4) 急性期脳卒中患者の転帰と歯周病菌感染との関連についての検討

急性期脳卒中患者の予後は発症3ヶ月後のmodified Rankin scaleを用いて評価し、歯周病菌感染が有意に予後に影響する因子であるか否かを統計学的に解析する。また、3)で測定した炎症マーカー値やLPS値と転帰の関連についても解析を行い、脳卒中の症状増悪に歯周病菌感染の炎症反応が関与しているかどうかを検討する。

2. 歯周病菌の細菌叢解析および歯周病菌感染が頭蓋内に及ぼす影響への画像的検討

1) 歯周病菌細菌叢解析

急性期脳卒中の入院時に採取した唾液、プラーク・舌苔・便からDNAを抽出後、16SrRNA遺伝子を指標とした細菌叢解析を行う。細菌叢と脳卒中病型や重症度、予後との関連を詳細に統計解析する。

2) 頭部MRIによる画像的検討

脳卒中急性期(発症7日以内)および慢性期(発症半年後、1年後、2年後)に頭部MRIを施行し、新規虚血病変(拡散強調画像)、新規微小出血病変(T2*強調画像)、新規小血管病変(FLAIR画像)の有無について2名の独立した神経内科専門医が読影する。これらの所見と歯周病菌感染との関連を統計学的に解析し、長期的な頭蓋内への影響および予後に及ぼす影響について画像的な検討を行う。

4. 研究成果

2021年8月から2023年3月までに当院及び翠清会梶川病院に入院し研究の同意を得た急性期脳梗塞患者を登録し、舌苔に含まれる歯周病菌量と背景因子、画像所見、3か月後m-RSとの関連を統計学的に解析した。歯周病菌量はreal-time PCR法を用い、舌苔に含まれる全菌量に対する6種類の歯周病菌量の割合を測定した。349例の急性期脳梗塞患者が登録され、発症前m-RS 4の患者29例を除外した320例を解析対象とした。平均年齢は74.1±12.8歳、男性の割合が60.9%(n=195)、入院時NIHSSの中央値は3[四分位 1-6]だった。測定した歯周病菌の中でFn陽性であることは多変量解析にて、重度の深部白質病変の存在(odds ratio 1.88, p=0.026)、および3か月後の転帰不良(m-RS 4)(odds ratio 2.70, p=0.011)に独立して有意に関連した。口腔内における歯周病菌Fnの菌量が小血管病の発症および脳梗塞の転帰に強く関連している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Nezu Tomohisa, Hosomi Naohisa, Aoki Shiro, Nishi Hiromi, Nakamori Masahiro, Shiga Yuji, Imamura Eiji, Shintani Tomoaki, Kawaguchi Hiroyuki, Maruyama Hirofumi	4. 巻 31
2. 論文標題 Assessment of Serum IgG Titers to Various Periodontal Pathogens Associated with Atrial Fibrillation in Acute Stroke Patients	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases	6. 最初と最後の頁 106301 ~ 106301
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.106301	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 Shiga Yuji, Aoki Shiro, Hosomi Naohisa, Nomura Ryota, Nakamori Masahiro, Nezu Tomohisa, Tachiyama Keisuke, Kamimura Teppei, Kinoshita Naoto, Shimomura Ryo, Hayashi Yuki, Matsushima Hayato, Imamura Eiji, Ueno Hiroki, Wakabayashi Shinichi, Nakano Kazuhiko, Kohriyama Tatsuo, Maruyama Hirofumi	4. 巻 28
2. 論文標題 cmm Positive Streptococcus mutans and diffusion weighted imaging hyperintensities in acute intracerebral hemorrhage	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Neurology	6. 最初と最後の頁 1581 ~ 1589
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ene.14725	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 Eto Futoshi, Nezu Tomohisa, Aoki Shiro, Kuzume Daisuke, Hosomi Naohisa, Maruyama Hirofumi	4. 巻 33
2. 論文標題 Liver fibrosis index is associated with functional outcome among acute ischemic stroke patients	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases	6. 最初と最後の頁 107537 ~ 107537
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2023.107537	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 青木志郎	
2. 発表標題 口腔内の歯周病菌量が脳卒中の発症および転帰に及ぼす影響	
3. 学会等名 第48回日本脳卒中学会学術集会	
4. 発表年 2023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
研究 分担者	祢津 智久 (Nezu Tomohisa) (10457260)	広島大学・病院(医)・講師 (15401)	
研究 分担者	西 裕美 (Nishi Hiromi) (70403558)	広島大学・病院(歯)・助教 (15401)	

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