

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：13101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K21059

研究課題名(和文)骨格筋におけるエネルギー代謝調節分子を介した歯周炎抑制機能

研究課題名(英文)Energy metabolism regulator of skeletal muscle in periodontitis suppression function.

研究代表者

高見澤 圭(Takamisawa, Kei)

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号：70907360

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：骨格筋のエネルギー代謝を司るミトコンドリア内膜の分子UCPには炎症や免疫を制御する機能も報告されている。歯周炎は多くの全身疾患との関連性が示唆される慢性炎症である。本研究では身体活動がUCPを介して歯周炎を抑制するとの仮説を検証した。佐渡総合病院外来患者である成人男女で解析した結果、UCP2およびUCP3遺伝子多型は重度歯周炎と関連し、一日平均歩数が少ないことと重度歯周炎の間に関連性が認められた。またUCP2遺伝子多型は女性の死亡率と関連性を示した。歩数と歯数はそれぞれ死亡率に関連していたが、これらの関連性の有無や程度にUCP遺伝型による明らかな違いは認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、身体活動レベル、口腔の健康、およびエネルギー代謝調節分子が死亡リスク低下に寄与する可能性を示唆している。身体活動レベルの改善は、歯周炎などの慢性炎症を抑制する可能性がある。これらの関連性に対するエネルギー代謝調節分子の関与については、今後の大規模研究で明らかにする必要がある。将来、慢性炎症やサルコペニアに対して、エネルギー代謝調節分子を標的とした予防や治療法を開発することにより健康寿命の延伸が期待される。

研究成果の概要(英文)：Uncoupling proteins (UCPs) are ion/anion transporters in mitochondrial inner membrane which play crucial roles in energy metabolism of skeletal muscles, immune responses, and regulation of oxidative stress. UCP2 and UCP3 gene polymorphisms have been linked to periodontitis, obesity, diabetes, and heart diseases. Daily step count and number of teeth have been reported to be associated with mortality, though the roles of UCPs in the mechanism are unknown. The aim of the study was to assess the possible effects of UCP polymorphisms on the associations between teeth number or step count with all-cause mortality. The final number of participants was 875. Age, gender, steps, number of teeth were significantly associated with mortality. Only in the women, UCP2 polymorphisms were associated with mortality independent of other factors. The effects of the polymorphisms on the associations between steps or number of teeth with mortality were not statistically significant.

研究分野：歯周治療学

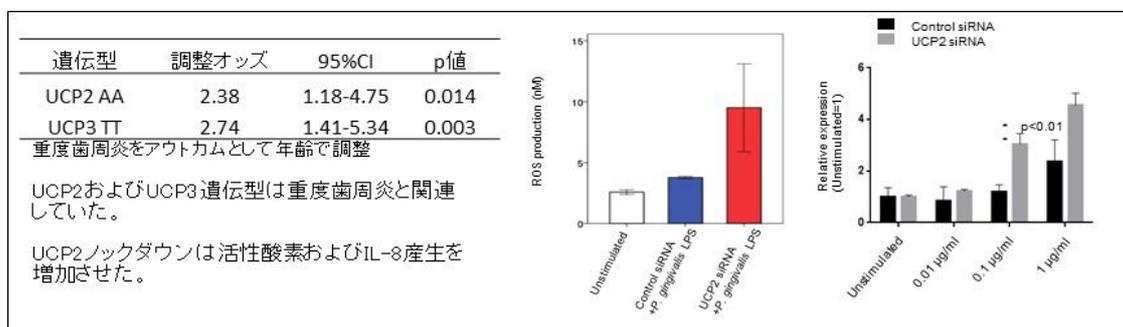
キーワード：エネルギー代謝 ミトコンドリア 脱共役タンパク 身体活動 歯周炎 死亡率

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) ミトコンドリアの電子伝達系と ATP 合成は、プロトン濃度勾配によって共役している。脱共役タンパク (Uncoupling protein; UCP) は、酸化リン酸化の脱共役を行うことによりエネルギーを ATP 合成に利用せずに熱へと変換させる。これまでに UCP1 から 6 が同定されている。UCP1 は褐色脂肪組織、UCP2 は白血球をはじめ全身の組織に広く発現し、UCP3 は主に骨格筋に分布する他、褐色脂肪組織、胸腺、脾臓にも発現している。UCP は糖代謝および脂質代謝を調節する機能を有することが知られており、UCP 遺伝子多型と糖尿病・肥満との関連性が報告されている (Brondani et al, 2014)。一方、免疫・炎症への UCP の関わりも示唆されてきた。UCP2 欠損マウスにおいては活性酸素産生が著しく増強され、トキソプラズマ感染に抵抗性であった (Arsenijevic et al, 2000)。また UCP3 欠損マウスでは胸腺や脾臓の細胞構成が野生型と異なっていた (Kelly et al, 2011)。しかしヒトの炎症性疾患における UCP の関与は報告されていなかった。

(2) 我々はこれまでに閉経後女性を対象に UCP 遺伝子多型と歯周炎・糖尿病・肥満との関係を解析し、その結果、UCP2 rs659366 および UCP3 rs2075577 遺伝子多型は他の因子とは独立に重度歯周炎と有意な関連性を示した (国際学会 EuroPerio8 にて発表、2015 年)。しかしこの閉経後女性群では糖尿病・肥満の有病者数が少なかった。また THP-1 由来マクロファージ様細胞にて UCP2 ノックダウンを行った結果、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) 由来 lipopolysaccharide 刺激時の活性酸素およびインターロイキン 8 の産生が増加した。これらより UCP2 が活性酸素産生抑制およびサイトカイン産生抑制を介して歯周炎の進行に与える可能性が示唆された (国際学会 EuroPerio9 にて発表、2018 年)。



(3) 次に新潟県佐渡市佐渡総合病院の外来患者である成人男女を対象としたコホートプロジェクト (略称 PROST、2008 年より開始) の一環として、歯周炎、糖尿病、肥満と UCP1、UCP2、UCP3 遺伝子多型の関連性を解析した。その結果、やはり重度歯周炎と UCP2 rs659366 および UCP3 rs2075577 遺伝子多型の間に有意な関連性が認められた (n=215、UCP2 AA についてオッズ比 2.67、p=0.03、UCP3 TT についてオッズ比 2.61、p=0.30、いずれも年齢、性別、糖尿病、BMI、喫煙にて調整) (国際学会 EuroPerio10 にて発表、2022 年)。UCP1 と重度歯周炎には有意な関連性が認められなかった。

(4) 歯周炎は多くの全身疾患との関連性が報告されている慢性炎症性疾患である (Beck et al., 2019)。ヒトの骨格筋細胞は筋収縮に伴いマイオカインを放出することにより免疫および糖・脂質代謝に影響を及ぼす (Pedersen et al., 2012)。一方、UCP の発現レベルは運動により増強されることが知られている (Noland et al., 2003)。加齢性疾患による全身の炎症がサルコペニアに影響すること、また逆に、身体活動レベルの改善により全身の炎症が抑制されることが示唆されている (Nishikawa et al., 2021)。

2. 研究の目的

上記の背景より、本研究では、身体活動が UCP を介して歯周炎を抑制する、との仮説を立て UCP2 および UCP3 遺伝子多型との関連解析にて検証した。また、身体活動または歯数と死亡率の関連性に UCP2 遺伝子多型が影響を及ぼす、との仮説を立て、検証した。

3. 研究の方法

ヘルシンキ条約に従い、新潟大学倫理委員会より承認を得て (承認番号 G2020-0034, G2021-0019)、書面による同意を得た上記 PROST 参加者を対象として実施した。各々の研究についてオプトアウトを行った。遺伝型同定は同意を得て採取した静脈血より抽出し保管した DNA を用いた。

医科データおよびアンケートは佐渡総合病院外来カルテより抽出した。身長および体重より BMI (Body mass index) を算出した。また参加者全員に生活習慣、受診状況、服薬状況、および既往歴等に関するアンケートを実施した。過去または現在の喫煙者を喫煙者と定義した。歯周病検

査を含む歯科検査は佐渡総合病院常勤歯科医師 1 名が実施した。歯数カウントのみ同意した参加者の場合は同歯科医師による訓練を受けた CRC 2 名がデンタルミラーを用いた口腔内視診にて実施した。すべての統計解析は SPSS バージョン 28.0.0.0 にて行い、 $p < 0.05$ を有意とした。

(1) 歩数と UCP2 および UCP3 遺伝子多型と重度歯周炎の関連解析

代表的な身体活動指標として、歩数計で計測した一日平均歩数を用いた。遺伝子多型として UCP2 rs659366 を Japonica Array® (東北大学) にて、UCP3 rs2075577 を TaqMan 法® にて同定した (フィルジェン社、愛知県名古屋市)。2 歯以上に深さ 6mm 以上のポケット (Bleeding on probing 陽性) を有する人を重度歯周炎と定義した。関連性を多項ロジスティック回帰分析にて解析した。

(2) 歩数と歯数および UCP2 遺伝子多型と総死亡率の関連解析

UCP2 遺伝子多型として rs659366 および rs660339 を Japonica Array® (東北大学) にて同定した。総死亡率との関連性については、まず Kaplan-Meier 法にて関連性を示した因子を選択し、次いでそれらを用いたコックス比例ハザード回帰分析にて多変量解析を実施した。

4. 研究成果

(1) 歩数、UCP2 および UCP3 遺伝子多型と重度歯周炎の関連解析

| 変量 | 調整オッズ比 | 95%CI | p 値 |
|-------------|--------|----------------|-------|
| 歩数 低 | 5.265 | 1.025 - 27.048 | 0.047 |
| UCP2 遺伝型 AA | 3.541 | 0.854 - 14.686 | 0.082 |

表 1. 歩数および UCP2 rs659366 遺伝子多型と重度歯周炎の関連性 (n=107). 重度歯周炎をアウトカムとした多項ロジスティック回帰分析。歩数は中央値で二分した一日平均歩数低値群、UCP2 遺伝型は GG+GA 群を参照カテゴリとした AA 群の結果を表す。年齢、BMI、糖尿病の有無で調整している。性別および喫煙は関連性が低かったため変量から除外した。

| 変量 | 調整オッズ比 | 95%CI | p 値 |
|-------------|--------|----------------|-------|
| 歩数 低 | 5.193 | 1.009 - 26.742 | 0.049 |
| UCP3 遺伝型 TT | 3.741 | 0.905 - 15.462 | 0.068 |

表 2. 歩数および UCP3 rs2075577 遺伝子多型と重度歯周炎の関連性 (n=107). 重度歯周炎をアウトカムとした多項ロジスティック回帰分析。歩数は中央値で二分した一日平均歩数低値群、UCP3 遺伝型は CC+CT 群を参照カテゴリとした TT 群の結果を表す。年齢、BMI、糖尿病の有無で調整している。性別および喫煙は関連性が低かったため変量から除外した。

(2) 歩数、歯数および UCP2 遺伝子多型と総死亡率の関連解析

| | rs660339 | | rs659366 | | 遺伝型を除外 | |
|-------------|-----------|--------|-----------|--------|--------|--------|
| | B | P | B | P | B | P |
| 歯数 | | | | | | |
| 20≤ | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| 10-19 | 1.194 | 0.428 | 1.204 | 0.406 | 1.220 | 0.371 |
| 0-9 | 1.513 | 0.032 | 1.501 | 0.036 | 1.506 | 0.034 |
| 歩数 (低値: 他) | 1.522 | 0.016 | 1.503 | 0.020 | 1.481 | 0.024 |
| 性別 (男性: 女性) | 2.458 | <0.001 | 2.443 | <0.001 | 2.396 | <0.001 |
| 年齢 | 1.077 | <0.001 | 1.077 | <0.001 | 1.078 | <0.001 |
| 高血圧 | 1.304 | 0.115 | 1.307 | 0.111 | 1.302 | 0.116 |
| 喫煙 | 1.345 | 0.164 | 1.350 | 0.159 | 1.362 | 0.146 |
| 遺伝型 | AG: AA+GG | | CT: TT+CC | | | |
| | 1.279 | 0.123 | 1.227 | 0.196 | | |

表 3. 全例におけるコックス比例ハザード回帰分析 (n=875). 平均年齢は 68.8±9.9 歳。死亡数 161 例。

| | | rs660339 | | rs659366 | | 遺伝型を除外 | |
|--------------|-------|-----------|------------------|-----------|------------------|--------|------------------|
| | | B | P | B | P | B | P |
| 歯数 | 20≤ | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| | 10-19 | 1.224 | 0.449 | 1.230 | 0.437 | 1.229 | 0.438 |
| | 0-9 | 1.625 | 0.032 | 1.625 | 0.031 | 1.625 | 0.031 |
| 歩数 (低値:他) | | 1.412 | 0.101 | 1.403 | 0.106 | 1.403 | 0.106 |
| 年齢 | | 1.067 | <0.001 | 1.067 | <0.001 | 1.067 | <0.001 |
| 喫煙 | | 1.482 | 0.092 | 1.488 | 0.089 | 1.487 | 0.089 |
| 遺伝型 | | AG: AA+GG | | CT: TT+CC | | | |
| | | 1.066 | 0.739 | 1.011 | 0.953 | | |

表4. 男性におけるコックス比例ハザード回帰分析 (n=440). 平均年齢は 68.8±10.1 歳。死亡数 111 例。

| | | rs660339 | | rs659366 | | 遺伝型を除外 | |
|--------------|-------|-----------|------------------|-----------|------------------|--------|------------------|
| | | B | P | B | P | B | P |
| 歯数 | 20≤ | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| | 10-19 | 1.087 | 0.839 | 1.076 | 0.858 | 1.148 | 0.738 |
| | 0-9 | 1.295 | 0.478 | 1.248 | 0.542 | 1.189 | 0.639 |
| 歩数 (低値:他) | | 1.855 | 0.048 | 1.835 | 0.053 | 1.777 | 0.065 |
| 年齢 | | 1.106 | <0.001 | 1.109 | <0.001 | 1.105 | <0.001 |
| 遺伝型 | | AG: AA+GG | | CT: TT+CC | | | |
| | | 1.939 | 0.028 | 2.041 | 0.018 | | |

表5. 女性におけるコックス比例ハザード回帰分析 (n=435). 平均年齢は 68.8±9.7 歳。死亡数 50 例。女性においては喫煙者数が少ないため因子から除外している。

(3) 結果のまとめと考察

総合病院外来患者である成人男女を対象として解析した結果、一日平均歩数が少ないことと重度歯周炎を有することとの間に有意な関連性が認められた。またコックス比例ハザード回帰分析の結果、UCP2 遺伝子多型は女性においてのみ、総死亡率と有意な関連性を示した。また、歩数および歯数は、全例解析において、それぞれ総死亡率に有意に関連していたが、これらの関連性の有無や程度に UCP2 遺伝型による明らかな違いは認められなかった。

本研究においては、歩数と歯周検査の両方のデータを有する対象者数が限られていたため、以前に同じコホートで認められた UCP2 および UCP3 遺伝子多型と重度歯周炎の関連性が今回は有意ではなかった。今後、さらに例数を追加して、歩数低値と重度歯周炎の関連性にも再現性があるか否か確認する必要がある。

コックス比例ハザード分析の結果、女性においてのみ、UCP2 遺伝子多型と死亡率に関連性が認められ、一方で女性では歯数が死亡率に関連性を示さなかった。男女で異なる結果となった原因は不明だが、男性では女性に比較して明らかに死亡率が高かったこと、および喫煙率の差が影響した可能性が考えられる。また、本研究で女性において死亡率と関連性を示した遺伝型はヘテロ接合体であった。背景の項に記したとおり、UCP2 の機能として、活性酸素産生に対し抑制的な作用があり、そのことが場合によっては感染に対する抵抗性を弱めると考えられている。その一方で、炎症反応の暴走による組織や細胞へのダメージを防ぐ役割も示唆されている。いずれにしても今回の結果を齎した生物学的メカニズムについては今後 *in vitro* および *in vivo* 実験で解明する必要がある。

(4) 結論

総合病院外来患者において歩数と重度歯周炎、歩数および歯数と死亡率との間に関連性が認められた。これらの関連性に対して UCP 遺伝子多型は有意な影響を示さなかった。

<引用文献>

Brondani LA, de Souza BM, Assmann TS, Bouças AP, Bauer AC, Canani LH, Crispim D. Association of the **UCP** polymorphisms with susceptibility to obesity: case-control study and meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2014 Aug;41(8):5053-67. doi: 10.1007/s11033-014-3371-7.

Arsenijevic D, Onuma H, Pecqueur C, Raimbault S, Manning BS, Miroux B, Couplan E, Alves-Guerra MC, Goubern M, Surwit R, Bouillaud F, Richard D, Collins S, Ricquier D Disruption of the uncoupling protein-2 gene in mice reveals a role in immunity and reactive oxygen species production. *Nat Genet*. 2000 Dec;26(4):435-9. doi: 10.1038/82565.

Kelly OM, Porter RK. Absence of mitochondrial uncoupling protein 3: effect on thymus and spleen in the fed and fasted mice. *Biochim Biophys Acta*. 2011 Sep;1807(9):1064-74. doi: 10.1016/j.bbabi.2011.06.002. Epub 2011 Jun 13. PMID: 21689632

Beck JD, Papapanou PN, Philips KH, Offenbacher S. Periodontal Medicine: 100 Years of Progress. *J Dent Res*. 2019 Sep;98(10):1053-1062. doi: 10.1177/0022034519846113.

Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol*. 2012 Apr 3;8(8):457-65. doi: 10.1038/nrendo.2012.49.

Noland RC, Hickner RC, Jimenez-Linan M, Vidal-Puig A, Zheng D, Dohm GL, Cortright RN. Acute endurance exercise increases skeletal muscle uncoupling protein-3 gene expression in untrained but not trained humans. *Metabolism*. 2003 Feb;52(2):152-8. doi:10.1053/meta.2003.50021.

Nishikawa H, Asai A, Fukunishi S, Nishiguchi S, Higuchi K. Metabolic Syndrome and Sarcopenia. *Nutrients*. 2021 Oct 7;13(10):3519. doi: 10.3390/nu13103519.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 山宮かの子, 高見澤圭, 奥田一博 |
| 2. 発表標題 骨移植術およびGTR法を用いて再生療法を行った広汎型重度慢性歯周炎患者の11年経過症例 |
| 3. 学会等名 第65回春季日本歯周病学会学術大会 |
| 4. 発表年 2022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 |
|---------|---------|
|---------|---------|