

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：34408

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22592323

研究課題名（和文） 歯周病の動脈硬化性病変形成における役割の解明

研究課題名（英文） The role of periodontal disease in formation of atherosclerotic lesion

研究代表者

堂前 尚親 (DOMAE NAOCHIKA)

大阪歯科大学・歯学部・名誉教授

研究者番号：60115889

研究成果の概要（和文）：生活習慣病における動脈硬化性病変と歯周病との双方向的発症関係を臨床的および病因的に解明すべく検討した。歯周病と心臓内石灰化の関係については、歯周炎の程度が上昇するほど心臓内の石灰化が強く見られた。また、歯周病と  $11\beta$ -HSD1 の関係については、歯周病患者の歯肉組織においては健常者の歯肉組織に比して  $11\beta$ -HSD1 の発現が有意に亢進しており、また、歯周ポケットの深さと  $11\beta$ -HSD1 遺伝子発現との間には有意な正の相関関係が認められた。これらの結果から、動脈硬化性病変と歯周病との間には双方向的発症関係があり、その病因として  $11\beta$ -HSD1 発現亢進が関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We clinically and etiologically investigated the bidirectional causality between atherosclerotic lesion in lifestyle-related disease and periodontal disease. Intracardiac calcification severity was positively correlated with the degrees of periodontal disease. Moreover, a statistically significant increase of  $11\beta$ -HSD1 mRNA expression was detected in the periodontal disease group compared with the controls. Furthermore, the depth of periodontal pockets significantly correlated with the increased expression of  $11\beta$ -HSD1 mRNA. These results suggest that the increased expression of  $11\beta$ -HSD1 may play a role in the bidirectional causality between atherosclerotic lesion and periodontal disease.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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・動脈硬化症・虚血性心疾患・ $11\beta$ -HSD1

## 1. 研究開始当初の背景

近年、歯周病患者に炎症性サイトカインの上昇が報告されることから、歯周病は全身性慢性炎症性疾患の一つとして捉えられ始めている。一方、軽微な慢性炎症は生活習慣病の発症における共通の危険因子である可能性が示

唆されており、ほとんどの成人が罹患している生活習慣病の一つである歯周病は、慢性炎症の観点から他の生活習慣病発症に関連がある可能性が十分に考えられる。これら疾患の双方向性発症関係に関する多くの報告がなされているが未だ不明な点が多い。そこで、歯

周病と虚血性心疾患の病因である動脈硬化性病変の形成に焦点をあて、これら疾患の双方向性発症関係を臨床的および病因的に解明すべく検討した。

また、内臓脂肪型肥満を根本病因とするメタボリックシンドロームは種々の生活習慣病の発症を惹起し、臨床医学の重要な課題となっている。細胞内グルココルチコイド活性化酵素である I 型  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase ( $11\beta$ -HSD1) は、肥満の脂肪細胞内で過剰に発現していることが近年報告され、さらに、脂肪組織以外の組織の慢性炎症性疾患での  $11\beta$ -HSD1 の関与も報告されてきているが、歯周病と動脈硬化性病変の形成における  $11\beta$ -HSD1 の関与に関する報告はこれまでのところ皆無である。そこで  $11\beta$ -HSD1 が、慢性炎症である歯周病の発症および動脈硬化性病変の形成に関与しているか否かを検討し、その役割と  $11\beta$ -HSD1 阻害薬による歯周病治療の可能性をも探究する。

## 2. 研究の目的

生活習慣病の発症における共通の病因として軽微な慢性炎症の存在の可能性が示唆され、この観点から歯周病と他の生活習慣病発症との関連が十分に考えられる。そこで、歯周病の発症および進展の機序ならびに、歯周病と虚血性心疾患などのメタボリックシンドロームの病因となる動脈硬化の形成および糖尿病や骨粗鬆症などの全身性疾患発症との双方向性発症関係を病因的に解明する。さらに、炎症を惹起する可能性が最近報告された  $11\beta$ -HSD1 の歯周病と動脈硬化性病変の形成における関与と役割を研究する。また  $11\beta$ -HSD1 阻害薬による歯周病治療の可能性をも探求することを本研究の目的とする。

## 3. 研究の方法

①健康診断受診者と歯周病加療中の患者を対象に、研究の同意が得られた 40 歳以上の大阪歯科大学教職員健康診断受診者 400 名余りと歯周病患者の口腔検査を行い、残歯数と CPI 最大値を用いて歯周病の臨床評価を行うとともに、種々の全体的臨床検査(高感度 CRP、TG、LDL-C/HDL-C 比、血清アディポネクチン濃度、HbA1c、IRI、尿酸値、 $\gamma$ -GTP、ADMA、E-selectin、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、心エコー、頸動脈エコー、脈波検査など)を行い、歯周病と動脈硬化性疾患の双方向性発症リスクに関与する因子を統計的に検討した。

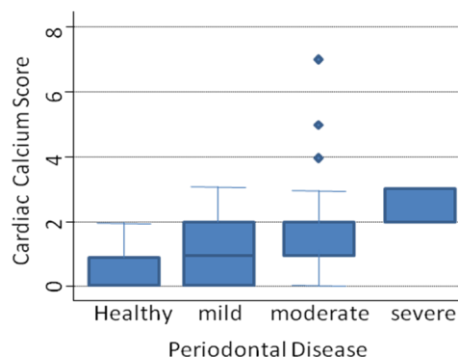
②健康人および歯周病患者から歯周組織を採取し、RANK、RANKL、OPG および  $11\beta$ -HSD1 の発現について比較検討した。RANK、RANKL、OPG および  $11\beta$ -HSD1 の発現の検討には、リアルタイム RT-PCR 法による mRNA 発現量の定量的測定を行い、歯周病の状態と RANK、RANKL、

OPG および  $11\beta$ -HSD1 の発現量との間に相関関係があるかどうか検討した。

## 4. 研究成果

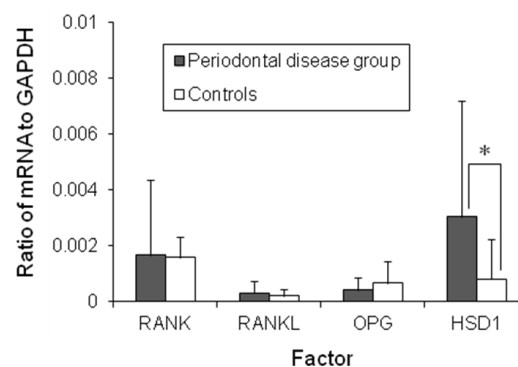
①歯周炎の程度が上昇するほど心臓内の石灰化が強く見られた。これは年齢・性・人種・冠動脈疾患のリスクファクターで補正しても同様の傾向が見られた。歯周炎の程度と心臓内石灰化の正の相関関係が人種を超えて存在することが明らかとなった。

(Subjects Less than or Equal to 65 Years of Age)

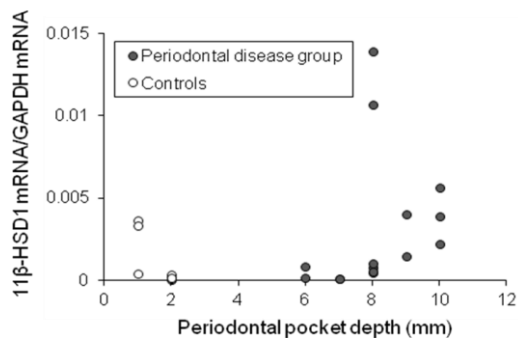


また、中高年男性において血清中の総アディポネクチンに対する高分子量アディポネクチンの比は、歯周病患者では統計的に有意に低値であることが認められた。

②歯周病患者の歯肉組織においては健康者の歯肉組織に比して、RANK、RANKL、OPG の発現には有意差はなかったが、 $11\beta$ -HSD1 の発現は有意に亢進していることが認められた (Wilcoxon-Mann-Whitney の U 検定にて、 $p < 0.05$ )。



また、歯周ポケットの深さと  $11\beta$ -HSD1 遺伝子発現の間には有意な正の相関関係が認められた (Spearman の相関係数 0.518、 $p < 0.01$ )。



③これらの結果から、動脈硬化性病変と歯周病との間には双方向的発症関係があり、その病因として11β-HSD1発現亢進が関与する可能性が示唆された。

#### 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 14 件)

(1)Shiraishi M, Sawai H, Nagano Y, Ueda M, Ueda M. Involvement of 11β-HSD1 in metabolic syndrome and periodontal disease. J Osaka Dent Univ 2013 ; 47 : 7-10. 査読有

(2)Katao Y, Sawai H, Shishido M, Omae A, Liao W, Inami K, Matsumoto N. Augmentation of RANKL-induced osteoclast differentiation by Z-VAD-fmk, a pan-caspase inhibitor. J Osaka Dent Univ 2013 ; 47 : 41-46. 査読有

(3)Shishido M, Sawai H, Inami K, Katao Y, Matsumoto N. Facilitation of experimental tooth movement by NOC-18, a long-acting nitric oxide donor. Orthodontic Waves 2013 ; 72: 43-48. 査読有  
DOI: 10.1016/j.odw.2012.12.001

(4)Sawai H. Differential effects of caspase inhibitors on TNF-induced necroptosis. Biochem Biophys Res Commun 2013 ; 432: 451-455. 査読有  
DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.01.126

(5)Kato Y, Goda S, Ikeo T, Hayashi H. Effects on JNK on the production of MMP-3 by interleukin-1β-stimulated human dental pulp fibroblast like cells. 日本歯科保存学雑誌 2013 ; 56 : 48-54. 査読有

(6)Onishi A, Miyamae M, Kaneda K, Kotani J, Figueredo VM. Direct evidence for

inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening by sevoflurane preconditioning in cardiomyocytes: Comparison with cyclosporine A. Eur J Pharmacol 2012 ; 657 : 40-46. 査読有  
DOI:10.1016/j.ejphar.2011.11.040.

(7)Kawasaki T, Goda S, Matsumoto N. Effect of Akt on the differentiation into osteoclasts caused by RANKL stimulation. J Oral Tissue Engin 2012 ; 10 : 67-76. 査読有

(8)由良 博, 小幡 登, 三宅達郎, 金平裕久美, 馬場俊輔, 神原正樹. 大学病院インプラント科に受診した患者の喪失歯数に関連する要因. 日本口腔インプラント学会誌 2012 ; 25 : 723-731. 査読有

(9)Ujii Y, Goda S, Matsumoto N. Effect of p38 MAP kinase on the production of MMP-1 in human gingival fibroblast-like cells. Orthodontic Waves 2012 ; 71 : 26-30. 査読有  
DOI: 10.1016/j.odw.2011.11.002

(10)Domae E, Ogawa Y, Takeuchi O, Ujii Y, Kato Y, Kawasaki T, Hayashi H, Komasa R, Domae N, Goda S, Ikeo T. The effect of lysenin on the differentiation into osteoclast cells. J Oral Tissue Engin 2011 ; 9 : 3-9. 査読有

(11)Sawai H, Domae N. Discrimination between primary necrosis and apoptosis by necrostatin-1 in Annexin V-positive/propidium iodide-negative cells. Biochem Biophys Res Commun 2011 ; 411 : 569-573. 査読有  
DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.06.186.

(12)Katao Y, Sawai H, Inami K, Domae N, Matsumoto N. Direct effects of estrogen on differentiation and apoptosis of osteoclasts. Orthodontic Waves 2011 ; 70 : 8-14. 査読有  
DOI:10.1016/j.odw.2010.07.002

(13)Nagano Y, Arishiro K, Uene M, Miyake T, Kambara M, Notohara Y, Shiraishi M, Ueda M, Domae N. A low ratio of high molecular weight adiponectin to total adiponectin associates with periodontal status in middle-aged men. Biomarkers 2011 ; 16 : 106-111. 査読有  
DOI: 10.3109/1354750X.2010.533286

(14) Inami K, Sawai H, Katao Y, Shishido M, Ujii Y, Shimoizuma M, Nobata K, Domae N, Mastumoto N. Effect of long acting nitric oxide donors on the differentiation of osteoclasts derived from mouse bone marrow macrophages. J Osaka Dent Univ 2010 ; 44 : 133-138. 査読有

[学会発表] (計 33 件)

(1) 宍戸美香. 実験的歯の移動における一酸化窒素(NO)の影響. 第 22 回日本歯科医学会総会 2012. 11. 9. 大阪国際会議場(大阪市)

(2) 居波 薫. Mouse Bone Macrophage の破骨細胞様細胞分化における長時間作用型 NO 供与体の影響. 第 22 回日本歯科医学会総会 2012. 11. 9. 大阪国際会議場(大阪市)

(3) 片尾祐子. 破骨細胞分化および成熟破骨細胞のアポトーシスに及ぼすエストロゲンの直接的影響. 第 22 回日本歯科医学会総会 2012. 11. 9. 大阪国際会議場 (大阪市)

(4) 稲村吉高. セボフルランポストコンディショニングの虚血心筋保護効果にはオートファジーの誘導が必要である. 第 40 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会 2012. 10. 6. アクロス福岡 (福岡市)

(5) 越沼 静. 心筋虚血再灌流障害における necroptosis の関与. 第 40 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会 2012. 10. 6. アクロス福岡(福岡市)

(6) Shiraishi M. Involvement of 11 $\beta$ -HSD1 in metabolic syndrome and periodontal disease. The 98<sup>th</sup> Annual Meeting of American Academy of Periodontology in collaboration with the Japanese Society of Periodontology 2012. 10. 1. Los Angeles (USA)

(7) 宍戸美香. 長時間作用型 NO 供与体 NOC-18 による実験的歯の移動の促進. 第 71 回日本矯正歯科学会大会 2012. 9. 27. 盛岡市民文化ホール(盛岡市)

(8) 白石真教. 歯周病におけるメタボリックシンドローム関連酵素 11 $\beta$ -HSD1 の関与. 日本歯周病学会 2012 秋季学術大会 (第 55 回) 2012. 9. 23. つくば国際会議場 (つくば市)

(9) 塩見真由美. 心筋虚血前のオートファジーの誘導は長時間虚血により消失したセボフルランプレコンディショニング効果を回

復させる. 日本麻酔科学会第 59 回学術集会 2012. 6. 8. 神戸ポートピアホテル (神戸市)

(8) 稲村吉高. セボフルランポストコンディショニングの虚血心筋保護効果にはオートファジーの誘導が必要である. 日本麻酔科学会第 59 回学術集会 2012. 6. 8. ポートピアホテル (神戸市)

(9) Inami K. Induction of osteoclast differentiation by NOC-18, a long-acting nitric oxide donor. 2012 Sino-Japan Dental Conference 2012. 4. 27. Chengdu (China)

(10) Shishido M. Effects of nitric oxide (NO) on experimental tooth movement. 2012 Sino-Japan Dental Conference 2012. 4. 27. Chengdu (China)

(11) Nagano Y. Systemic effects of non-surgical treatment of periodontitis. The XVI international symposium on atherosclerosis 2012. 3. 28. Sydney (Australia)

(12) 大西杏奈. セボフルランプレコンディショニングは cyclosporine A と同程度にミトコンドリア膜遷移透過性ポア開口を抑制し心筋保護をもたらす. 第 531 回大阪歯科学会例会 2011. 12. 10. 大阪歯科大学 (枚方市)

(13) 白石真教. 歯周病患者における血清 MDA-LDL 濃度の上昇と歯周治療による改善. 日本歯周病学会 2011 秋季学術大会 (第 53 回) 2011. 9. 24. 海峡メッセ下関 (山口市)

(14) Shiraishi M. Serum MDA-LDL level is elevated in periodontitis patients and is reduced by standard periodontal treatment. 第 43 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 2011. 7. 15. ロイトン札幌 (札幌市)

(15) Kaneda K. Cardioprotection by regular ethanol consumption is mediated through the bradykinin B2 receptor through increased nitric oxide production. American Heart Association Scientific Sessions 2010 2010. 11. 17. Chicago (USA)

(16) Okusa C. Combined pharmaceutical cardiac preconditioning with dipyridamole and sevoflurane or a NO donor. American Society of Anesthesiologist Annual Meeting 2010 2010. 10. 18. San Diego (USA)

(17) Arishiro K. Remote preconditioning by carotid artery occlusion limits

myocardial infarct size: role of MAPK. American Society of Anesthesiologist Annual Meeting 2010 2010.10.17. San Diego (USA)

(18)片尾祐子. 破骨細胞分化および成熟破骨細胞のアポトーシスに及ぼすエストロゲンの直接的影響. 第 525 回大阪歯科学会例会 2010.10.16. 大阪歯科大学 (枚方市)

(19)金田一弘. 慢性中等度エタノール摂取は nitric oxide 産生を増加させた心筋プレコンディショニング様作用を発現する. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会 2010.10.9. 横須賀芸術劇場 (横浜市)

(20)大西杏奈. セボフルランによるエタノールプレコンディショニング増強効果は PI3 kinase-AKT-glycogen synthase kinase 3  $\beta$  pathway を解する. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会 2010.10.9. 横須賀芸術劇場 (横浜市)

(21)大草知佳. ジピリダモール, セボフルラン, NO 供与薬による心筋プレコンディショニングの比較および相互作用. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会 2010.10.9. 横須賀芸術劇場 (横浜市)

(22)百田義弘. ウサギ in vivo 心筋虚血再灌流モデルを用いたリドカインの薬理的なポストコンディショニング効果. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会 2010.10.9. 横須賀芸術劇場 (横浜市)

(23)百田義弘. マウス一過性脳虚血再灌流モデルを用いた神経細胞死発現時間の検討. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会 2010.10.9. 横須賀芸術劇場 (横浜市)

(24)杉岡伸悟. モルモット口腔内侵害刺激における脳波変化と三叉神経脊髄路核における pERK の発現. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会 2010.10.8. 横須賀芸術劇場 (横浜市)

(25)片尾祐子. 破骨細胞分化および成熟骨芽細胞のアポトーシスに及ぼすエストロゲンの直接的影響. 第 69 回日本矯正歯科学会大会 2010.9.29. パシフィコ横浜 (横浜市)

(26)宍戸美香. 実験的歯の移動における一酸化窒素(NO)の影響. 第 69 回日本矯正歯科学会大会 2010.9.29. パシフィコ横浜 (横浜市)

(27)Arishiro K. Remote preconditioning by bilateral carotid artery occlusion limits

myocardial infarct size in in vivo rabbit hearts : involvement of extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2). European Society of Cardiology (EOS) Congress 2010 2010.8.29. Stockholm (Sweden)

(28)Katao Y. The effects of estrogen on differentiation and apoptosis of osteoclasts. 88th General Session & Exhibition of the IADR 2010.6.14-17. Barcelona (Spain)

(29)合田征司. 細胞遊走に及ぼすエムドゲインの影響. 第 10 回日本抗加齢医学会総会 2010.6.12. 国立京都国際会議場 (京都市)

(30)稲村吉高. セボフルランによるポストコンディショニングは虚血再灌流後の Akt, ERK の活性化を介してカスパーゼ 3, 9 を減弱させる. 日本麻酔科学会第 57 回学術集会 2010.6.4. 福岡国際会議場 (福岡市)

(31)大西杏奈. セボフルランは慢性中等度エタノール摂取による心筋プレコンディショニング効果を glycogen synthase kinase 3  $\beta$  のリン酸化を介して増強する. 日本麻酔科学会第 57 回学術集会 2010.6.4. 福岡国際会議場 (福岡市)

(32)大草知佳. ジピリダモール, nitric oxide 供与薬による心筋プレコンディショニングの比較および相互作用. 日本麻酔科学会第 57 回学術集会 2010.6.4. 福岡国際会議場 (福岡市)

(33)金田一弘. 慢性中等度エタノール摂取による心筋プレコンディショニング様作用への bradykinin 受容体の関与の検討. 日本麻酔科学会第 57 回学術集会 2010.6.4. 福岡国際会議場 (福岡市)

〔図書〕 (計 1 件)

(1)長野 豊 他. 新臨床栄養学 (増補版) 医学書院 2011 : 343-350.

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

堂前 尚親 (DOMAE NAOMICHIKA)  
大阪歯科大学・歯学部・名誉教授  
研究者番号 : 60115889

### (2)研究分担者

上田 雅俊 (UEDA MASATOSHI)  
大阪歯科大学・歯学部・名誉教授  
研究者番号 : 00067117

神原 正樹 (KAMBARA MASAKI)  
大阪歯科大学・歯学部・教授  
研究者番号：90103085

長野 豊 (NAGANO YUTAKA)  
大阪歯科大学・歯学部・講師 (非常勤)  
研究者番号：80228048

宮前 雅見 (MIYAMAE MASAMI)  
大阪歯科大学・歯学部・講師  
研究者番号：20298821

三宅 達郎 (MIYAKE TATSURO)  
大阪歯科大学・歯学部・准教授  
研究者番号：40200141

澤井 宏文 (SAWAI HIROFUMI)  
大阪歯科大学・歯学部・講師  
研究者番号：40298823

合田 征司 (GODA SEIJI)  
大阪歯科大学・歯学部・講師  
研究者番号：70351476

有城 久美子 (ARISHIRO KUMIKO)  
大阪歯科大学・歯学部・講師 (非常勤)  
研究者番号：20460769

能登原 靖宏 (NOTOHARA YASUHIRO)  
大阪歯科大学・歯学部・講師 (非常勤)  
研究者番号：10548324

金田 一弘 (KANEDA KAZUHIRO)  
大阪歯科大学・歯学部・講師 (非常勤)  
研究者番号：90533886