

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：32710

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21003

研究課題名（和文）歯周病による心疾患発症に アドレナリン受容体シグナルは寄与するか？

研究課題名（英文）Relationship of beta-adrenergic receptor signaling to the development of cardiac disease caused by periodontal disease.

研究代表者

松尾 一郎 (Matsuo, Ichiro)

鶴見大学・歯学部・学部助手

研究者番号：40962907

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：歯周病罹患患者では心疾患の発症原因である交感神経系の活性化の指標である、心拍変動解析（HRV）の異常を認める割合が高いことが報告されたが、詳細な発症メカニズムは不明である。歯周病による交感神経系の活性化を測定することを目的にマウスを用いてControl群・歯周病菌由来内毒素（PG-LPS）群を作成しHRV解析（LF/HF）を実施した。血清採取後、交感神経系の活性を示す血清アンギオテンシンIIを測定した。何れもControl群に比較してPG-LPS投与群で有意に高値を示した。以上の結果からPG-LPSの慢性投与は、交感神経系の持続的な活性化による心疾患発症に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周病は心疾患の発症に関与することが示唆されているが、その発症メカニズムについては不明な点が多い。特に歯周病が交感神経系の異常亢進による心疾患発症との関連についての知見は少ない。本研究ではマウスに歯周病原細菌由来内毒素（PG-LPS）を投与したところ、投与前と比較して交感神経系の活性化の指標である心拍数・LF/HF ratioは有意に上昇し、交感神経系の活性を示す血清アンギオテンシンIIも上昇した。以上の結果からPG-LPSの慢性投与は交感神経系の持続的な活性化による心疾患発症に関与している可能性が示唆された。これらの研究成果は歯周病予防は心疾患発症予防にも繋がることを示された。

研究成果の概要（英文）：It has been reported that a higher percentage of patients with periodontal disease have abnormal heart rate variability (HRV), an indicator of sympathetic nervous system activation, which is a cause of cardiac disease, but the detailed pathogenic mechanism is unknown. To measure sympathetic nervous system activation caused by periodontal disease, we performed HRV analysis (LF/HF) in control and periodontitis-derived endotoxin (PG-LPS) groups using mice. After serum collection, serum angiotensin II, which indicates sympathetic nervous system activity, was measured. All of them were significantly higher in the PG-LPS-treated group than in the control group. These results suggest that chronic administration of PG-LPS may be involved in the development of cardiac disease due to sustained activation of the sympathetic nervous system.

研究分野：歯周病学

キーワード：歯周病原細菌 内毒素 交感神経系

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

疫学研究から、歯周病は様々な全身性疾患の発症と進行に関与していることが示唆されており、なかでも死亡原因第 2 位の虚血性心疾患との関連については数多くが報告されている。歯周病が心疾患を誘導するメカニズムとして、1) 歯周病菌が歯肉毛細血管から血液中に入り心疾患を誘導する経路と、2) *Porphyromonas gingivalis* 由来のリポポリサッカライド (PG-LPS) の刺激を受けてマクロファージが産生するサイトカインが心疾患を誘導する経路が指摘されているが、分子レベルでの解析は不十分である。最近の研究から歯周病患者は、交感神経系の抹消臓器に存在する、1-アドレナリン受容体 (1-AR) に対する自己抗体陽性率が非常に高く (92.8%)、心疾患発症に関与し、交感神経系の異常亢進状態を示す心拍変動 (Heart rate variability; HRV) にも異常を示すことが報告された。また歯周病罹患患者では、交感神経系活性を示す血清バイオマーカーであるアンジオテンシン 2 (AngII) の血中レベルも高いことが報告されている。これらの疫学的背景から、歯周病は交感神経系の異常亢進状態に関与している可能性が示唆される。併せて研究代表者は、PG-LPS を持続投与する方法で作成した歯周病マウスモデルの解析より、PG-LPS の持続投与は心機能低下、心臓リモデリング (線維化、アポトーシス) 促進、1-AR の下流の分子 (プロテインキナーゼ A とカルモデュリンキナーゼ II) のリン酸化作用があることを報告した。これらの研究成果から、申請者は 1-AR シグナルの慢性持続的な刺激状態が歯周病と心疾患の関連を結びつける重要なファクターであると考えた。

2. 研究の目的

研究背景から研究代表者は「歯周病により誘導される心筋の機能不全に 1-AR シグナルの持続的な活性化が重要である」という仮説をたてた。

3. 研究の方法

雄 12 週令の野生型マウス (C57BL/6) を用いて、コントロール群、PG-LPS (0.8 mg/kg/day) を 7 日間腹腔内投与を行う PG-LPS 投与群、1-AR 非選択的遮断薬 (Pro: プロプラノロール) 投与群 (100mg/kg : 給水ボトルより経口投与、PG-LPS+Pro 併用投与群の 4 群を作成する。

以上 4 つの実験群について下記の項目 () を比較検討する。

もし PG-LPS 群で観察された所見の成立に、1-AR シグナルが関連していれば、PG-LPS+Pro 併用投与群ではそれらの所見はキャンセルされると予測される。

テレメトリー心電図測定 (24 時間心電図) により、PG-LPS が心拍変動 (HRV) に及ぼす影響

ELISA 法を用いて PG-LPS が血清 AngII レベルに及ぼす影響

心臓超音波 (心エコー測定) 測定により、PG-LPS が心機能に及ぼす影響

心筋細胞のアポトーシスならびに線維化に、PG-LPS が及ぼす影響

1-AR シグナルに、PG-LPS が及ぼす影響

4. 研究成果

(1) PG-LPS が心拍変動 (HRV) に及ぼす影響

C57BL/6J マウス (オス 12 週令) にテレメトリー心電図計装置 (ソフトロン社 ATE-01S) をイソフルラン麻酔下にてマウス体内に設置した。2 週間治癒期間を設けたあと、PG-LPS 投与 1 日前にベースライン (コントロール) PG-LPS を 7 日間腹腔内投与後 HRV (心拍数: HR、周波数領域指標 (LF (交感神経成分) / HF (副交感神経成分) 値: LF/HF ratio) を測定した。ベースラインと比較し、PG-LPS 投与 7 日目で HR・LF/HF ratio 有意に高値を示した。

(2) PG-LPS が血清 AngII レベルに及ぼす影響

交感神経系の異常亢進状態を示す血清バイオマーカーである AngII レベルを ELISA 法にて測定した。雄 12 週令の野生型マウス (C57BL/6) を用いて、コントロール群、PG-LPS (0.8 mg/kg/day) 群を設定し、投与終了後血清を採取した。Control 群と比較し PG-LPS 群での血清 AngII レベルは有意に上昇した。

(3) 心機能測定 (心エコー測定) により、PG-LPS が心機能に及ぼす影響

心エコー測定では、左室駆出率 (LVEF)・左室内径短縮率 (FS) PG-LPS 群では有意に低下したが PG-LPS+PPL 群ではそれらの低下は有意に抑制された。

(4)・(5) 心筋細胞の線維化・アポトーシス・ 1-AR シグナルに PG-LPS が及ぼす影響

心筋線維化領域 (Masson-trichrome 染色) ならび、心筋アポトーシス陽性細胞率 (TUNEL 染色) は PG-LPS 群では有意に増加したが PG-LPS+PPL 群ではそれらの増加は有意に抑制された。

1-AR シグナルの下流に存在し、心筋細胞内の筋小胞体での Ca^{2+} 調節に重要なホスホランパン (PLN:Thr-17)・リアノジン受容体 (RYR:Ser-2814) のリン酸化は LPS 投与群で有意に増加したが、その増加は PPL 併用群で抑制された (ウェスタンブロッティング法)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kiyomoto Kenichi, Matsuo Ichiro, Suita Kenji, Ohnuki Yoshiki, Ishikawa Misao, Ito Aiko, Mototani Yasumasa, Tsunoda Michinori, Morii Akinaka, Nariyama Megumi, Hayakawa Yoshio, Amitani Yasuharu, Gomi Kazuhiro, Okumura Satoshi	4. 巻 18
2. 論文標題 Oral angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril protects the heart from Porphyromonas gingivalis LPS-induced cardiac dysfunction in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0292624
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0292624	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tsunoda Michinori, Matsuo Ichiro, Ohnuki Yoshiki, Suita Kenji, Ishikawa Misao, Mitsubayashi Takao, Ito Aiko, Mototani Yasumasa, Kiyomoto Kenichi, Morii Akinaka, Nariyama Megumi, Hayakawa Yoshio, Gomi Kazuhiro, Okumura Satoshi	4. 巻 73
2. 論文標題 Vidarabine, an anti-herpes agent, improves Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 18 31
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12576-023-00873-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松尾一朗
2. 発表標題 Porphyromonas gingivalis由来のLPSによる アドレナリン受容体シグナル活性化の影響
3. 学会等名 第66回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松尾一朗 吹田憲治、早川佳男、伊藤愛子、石川美佐緒、成山明具美、大貫芳樹、五味一博、奥村 敏
2. 発表標題 Porphyromonas gingivalis 由来 LPS の慢性投与下における心疾患発症過程には TLR4-NOX4 シグナルが重要である。
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
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
---------	---------