

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：34408

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23593113

研究課題名(和文) 歯周状態を反映するバイオマーカーの確立

研究課題名(英文) Establishment of biomarkers that reflect periodontal condition

研究代表者

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：歯周状態と全身的なバイオマーカーの関連について検討したところ、臨床研究からは、健常者の歯周状態が高分子アディポネクチンの総アディポネクチンに対する比と独立して相関することと、歯周病患者に保存的治療を行うことにより、各種の全身的な炎症マーカーや血管機能が改善することの2点が明らかになった。一方メタボリックシンドロームに関連している酵素11β-HSD1の発現を歯周病患者と健常者の歯肉組織を用いて検討したところ、患者では発現が強く、その強さが歯周ポケットの深さと相関していることが判明した。以上、本研究により歯周状態のバイオマーカーが同定され、歯周病と全身疾患の関連についての手がかりも得られた。

研究成果の概要(英文)：In this project, we investigated the relations between periodontal condition and systemic biomarkers. We also looked at the expression of a molecule that is known to play an important role in metabolic syndrome. By clinical studies, we revealed that a low ratio of high molecular weight adiponectin to total adiponectin associates with periodontal status in middle-aged men. We also clarified that non-surgical treatment of periodontitis improved both systemic markers for inflammation and vascular functions. In addition, we found that 11β-HSD1, an enzyme known to be involved in metabolic syndrome, is expressed more strongly in gingiva of periodontitis patients than that of subjects without periodontitis. Thus, we identified biomarkers that reflect periodontal status. Moreover, we got some clues that may connect periodontitis and systemic diseases.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・社会系歯学

キーワード：歯周病 バイオマーカー メタボリックシンドローム

1. 研究開始当初の背景

介護が必要な高齢者が増え続けているわが国における最優先課題の一つは、国民が健康に過ごせる期間、すなわち健康寿命を延ばすことである。後遺症がQOLに大きく影響する脳血管障害や虚血性心疾患などの動脈硬化性疾患の予防に、高血圧症、脂質異常症、糖尿病などの危険因子のコントロールが重要であることはすでに広く啓蒙され、国民の多くも健診などの機会を通じて、これらの因子についての自身のデータを把握している。さらに危険因子の是正による動脈硬化性疾患の予防効果も大規模臨床試験で実証されてきた。

いっぽう、罹患者が成人の半数にも及び、歯科領域の生活習慣病とも位置づけられる歯周病は、多数の歯を喪失する原因となり、口腔のQOLを著しく低下させるばかりでなく、糖尿病や肥満、メタボリックシンドロームなどの全身疾患と関連する。さらに、歯周病は糖尿病の主要な合併症のひとつとしても位置づけられ、動脈硬化症の危険因子となるというデータも蓄積されている。すなわち歯周病対策は口腔の健康保持とともに、全身疾患の予防にも重要であると認識されてきている。

しかし、わが国では口腔の健康への予防医学的アプローチは不十分で、歯周病の罹患者率が高いにも関わらず、自身の歯周状態を把握している国民は少ないのが現状である。また、メタボリックシンドロームなど全体的な生活習慣病と歯周病が関連する機序についてもまだ十分明らかにはされていない。

2. 研究の目的

疫学的な研究から、歯周病と糖尿病や動脈硬化など全体的な病態との間に、互いに密接な関連があることが明らかにされてきたが、自身の歯周状態を把握している国民は多くない。そこで、口腔内の診察で得られる歯周状態の指標と慢性炎症に關与する物質の血中濃度との関連を検討し、歯周病の経過を的確に反映する全体的なバイオマーカーを同定することで、歯周状態への関心を高め、歯周病の予防のみならず経過の把握に役立たせたいと考えている。

また、歯周病と生活習慣病を結びつける因子を解明する目的で、歯周病患者と健常者の歯肉組織を用い、発現されている分子について検討し、両疾患の関連について基礎的なデータを構築したい。

3. 研究の方法

(1) 健常人における検討結果の追加解析

健康診断の受診者のうち40歳から67歳の男性151名、女性58名、計209名を対象者として、口腔内の状態と検査データの相関を調べた以前の研究(2007年~2009年 基礎研究(C) 口腔の健康状態と生活習慣病との関連の解明 - 歯周炎の早期発見・治療への応用 - (課題番号 19592420) について、検討を追加した。すなわちメタボリックシンドロームとの関連が知られている血中総アディポネクチンならびに高分子量アディポネクチンを対象者の血清で測定し、歯周状態との相関を調べた。対象者の歯周状態は、口腔内を上顎と下顎の前歯部と左右臼歯部、合わせて6部位に分け、それぞれの部位で定められた歯の周囲をプロービングによって診査し、Community Periodontal Index (CPI)を判定、口腔内の6部位から得られたCPIの最大値(max CPI)によって評価し、歯周ポケットの深さが2mm未満のポケット(-)群と、3mm以上のポケット(+)群に分け、両群間で比較検討した。

(2) 歯周病治療の全体的効果

大阪歯科大学附属病院歯周治療科外来を受診した歯周病患者のうち、本研究への参加に同意が得られた患者を対象として、レントゲン撮影、口腔内診査、歯周ポケット測定、プロービング時の出血、動揺度などを行った上で、感染病巣に対してスケーリングやルートプレーニングによる、外科処置を伴わない歯周病基本治療を3ヶ月程度かけて行う。治療終了時とさらにその3ヶ月後の経過観察中にも治療前と同様の口腔内診査を行う。すでに歯周治療を終了して定期的に経過観察を受けている患者を対照とし、治療群に対して観察群と呼ぶ。口腔内診査の際に被検者から採血し、血球数算定や一般的生化学項目について検査データを得る。経過観察が終了した時点で、歯周炎の発症や進展に關与すると考えられる adiponectin とその分画、E-selectin, IL-18, VCAM-1, osteopontin などの生理活性物質の血中濃度を、ELISA キットを用いて測定する。これらの結果を総合し、歯周病治療にともなう患者の歯周状態の変化について血液検査データや全体的な計測値との関連を検討し、歯周状態を的確に反映するバイオマーカーを同定する。

(3) 歯周病患者の歯肉における遺伝子発現

11 -hydroxysteroid dehydrogenase 1 (11

-HSD1)は、非活性型のコーチゾールを活性型に変換する酵素で、脂肪細胞や肝臓に発現がみられ、メタボリックシンドロームの進展に関わっていることが示されている。しかし歯周組織における発現はまだ検討されていないため、健常人と歯周病患者から歯肉組織を得て、RT-PCR法にて11 β -HSD1のmRNA発現を比較し、歯周病と生活習慣病の接点を探る。

4. 研究成果

(1) 健常人を対象とした検討で多変量解析を行ったところ、従来から知られていた加齢や喫煙に加えて、高分子量アディポネクチンの総アディポネクチンに対する比が、歯周状態と独立して関連する因子であることが明らかになった(オッズ比 0.062、95%信頼区間 0.004 - 0.891、 $p = 0.041$)。

(2) 歯周病治療群 16 名、対照群 7 名の参加を得て、歯周治療の全身の効果について検討した。口腔内診査では、出血がみられた部位の割合、歯周ポケットの平均の深さ、歯周ポケットで4mm以上の深さがある所の割合を測定した。治療群では治療開始前と治療終了直後、あるいは終了後3ヶ月のいずれを比較しても、3つの指標のすべてで顕著な改善がみられたが、対照群ではいずれについても有意な変化は見られなかった。これにより、今回の研究において、歯周外科処置を伴わない歯周治療により、歯周状態が改善することが確認された。

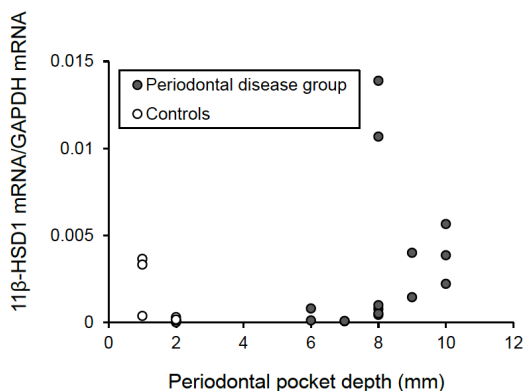
続いて一般的な生化学データを検討したところ、治療群では治療前と比較して治療後に、総コレステロールやLDLコレステロールが有意に上昇していた。しかしながら酸化LDLの指標として用いられているMDA-LDL濃度を測定すると、治療群では治療前と終了後3ヶ月の間で、有意な低下がみられた。いずれも観察群では有意な変化が見られなかった。この結果、LDLに対する酸化LDLの比は治療群で顕著に低下したのに対して、観察群では変化が見られなかった。

さらに、炎症に関連したいくつかの指標についても治療の前後で変化を検討したところ、治療群では白血球数、VCAM-1、E-selectin、IL-18、MMP-9の各項目について、治療前に比較して治療終了3ヶ月後に値の低下がみられた。その一方、赤沈、CRP、Myeloperoxidase、MCP-1、adiponectinなどの指標には有意の変化が見られなかった。観察群ではいずれの指標についても変化は見られなかった。

これらの結果より、歯周病治療により血中酸化LDL濃度が低下することが明らかになった。酸化LDLはさまざまな機序で動脈硬化を促進することが知られており、本研究により歯周病が動脈硬化と関連するという疫学的データの裏付けとなる結果が得られた。

(3) 歯周病患者および健常人から得られた歯肉組織よりRNAを抽出し、RT-PCR法にて骨代謝に関連する生理活性物質であるRANK、RANKL、osteoprotegerinのmRNAとGAPDHのmRNA発現との比について比較したところ、両群間に有意な違いは見られなかった。これに対して11 β -HSD1の発現は、健常人と比較して歯周病患者で有意に増加していることが明らかになった。

さらに、歯周病患者における11 β -HSD1 mRNAの発現が、その患者の歯周ポケットの深さと有意に相関していることも明らかになった(下図 = 論文より引用)。



これらの結果より、歯周病の重症度と歯肉における11 β -HSD1発現の関連が明らかになり、メタボリックシンドロームと歯周病を結びつける分子のひとつとして11 β -HSD1が同定された。

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)

Pressman GS, Qasim A, Verma N, Miyamae M, Arishiro K, Notohara Y, Crudu V, Figueredo VM. Periodontal disease is an independent predictor of intracardiac calcification. Biomed Res Int. 査読有, Volume 2013, Article ID 854340, 6 pages. DOI: 10.1155/2013/854340.

Shiraishi M, Sawai H, Nagano Y, Ueda M,

Umeda M. Involvement of 11 β -HSD1 in metabolic syndrome and periodontal disease. J Osaka Dent Univ, 査読有, 47 巻, 2013, 7-10.

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, 査読有, 16 巻, 2011, 106-111.
DOI:10.3109/1354750X.2010.533286.

〔学会発表〕(計 5 件)

Shiraishi M, Sawai H, Nagano Y, Ueda M, Umeda M. Involvement of 11 β -HSD1 in metabolic syndrome and periodontal disease. The 98th Annual Meeting of American Academy of Periodontology in collaboration with the Japanese Society of Periodontology. 2012.10.1. Los Angeles, USA

白石真教, 澤井宏文, 長野 豊, 能登原靖宏, 居波 薫, 吉田博昭, 益崎裕章, 堂前尚親, 上田雅俊, 梅田 誠. 歯周病におけるメタボリックシンドローム関連酵素 11 β -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)

Nagano Y, Notohara Y, Arishiro K, Shiraishi M, Ueda M, Domae N. Systemic effects of non-surgical treatment of periodontitis. The XVI international symposium on atherosclerosis. 2012.3.28. Sydney, Australia

白石真教, 長野 豊, 能登原靖宏, 有城久美子, 堂前尚親, 上田雅俊. 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 54 回). 2011.9.24. 海峡メッセ下関(山口市)

Shiraishi M, Nagano Y, Notohara Y, Arishiro K, Ueda M, Domae N. 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)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

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

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

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

三宅 達郎 (MIYAKE, Tatsuro)
大阪歯科大学・歯学部・准教授
研究者番号: 40200141
(削除: 平成 25 年 4 月 12 日)