

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 15 日現在

機関番号：32701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23658256

研究課題名(和文)人獣共通感染症としての犬歯周病に関する研究

研究課題名(英文)Study on canine periodontal disease as zoonosis

研究代表者

浅井 史敏 (Asai, Fumitoshi)

麻布大学・獣医学部・教授

研究者番号：00511677

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：我々は犬歯周病の人獣共通感染症としての可能性ならびに全身疾患との関連性を明らかにすることを本研究の目的とした。家庭内で飼育されている犬から口腔スワブサンプルを採取し、PCR法により10種の人歯周病菌および1種の犬歯周病菌の存在の有無を解析した。P. gulaeは解析した100頭以上の犬のほとんどで検出された。P. gulaeについて線毛遺伝子(fimA)の配列を解析したところ、3タイプに分かれ、これらをA、B、C型と命名した。C型の毒性はA型およびB型よりも強力であった。P. gulaeのC型とある種の循環器疾患との相関が見出された。

研究成果の概要(英文)：The objective of the present study was to determine whether dog periodontal diseases are zoonotic and clarified the relationship between periodontal and systemic diseases. Oral swab samples were collected from dogs kept as family pets. Polymerase chain reaction was used to detect the presence of periodontopathic bacterial strains; 10 from humans and 1 from dogs. P. gulae was detected in nearly all of the 100 or more dogs that were analyzed. By analyzing a fimbrial gene (fimA) sequence, we identified 3 types of P. gulae: type-A, type-B, and type-C. Type-C was the most virulent. A correlation between P. gulae type-C and cardiovascular disease was found by investigating the association between periodontal and systemic diseases.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・応用獣医学

キーワード：人獣共通感染症 歯周病 犬 全身疾患

1. 研究開始当初の背景

歯周病は、歯周組織に原発し歯周組織を破壊する疾患の総称である。伴侶動物における歯周病は単に人と同様に罹患率が高い口腔感染症というだけでなく、歯周組織の破壊が進行した場合には寿命の短縮を免れないきわめて深刻な疾患である(Radice et al., J Vet Dent, 2006)。これまでの人医療領域の研究により *Porphyromonas gingivalis* をはじめとする数種の歯周病原性細菌が同定されているが、その感染経路は未だ不明のままである。伴侶動物と人では共通の口腔内細菌が存在すること(Hudspeth et al., J Clin Microbiol, 1999)、伴侶動物とその飼い主は生活環境を共有すること、また、相互の接触が濃密であることなどから、歯周病が人獣共通感染症である可能性が考えられる。一方、人では歯周病が糖尿病や動脈硬化症などの全身疾患の危険因子であるとされているが(Rose et al., Periodontal Medicine, 2000)、伴侶動物における全身疾患との関連について研究した報告は非常に少ない。

2. 研究の目的

我々は本研究において、歯周病罹患率の高い犬における歯周病の人獣共通感染症としての可能性ならびに全身疾患との関連性を解析するために、下記の項目について検討した。

- (1) 犬の口腔内サンプルで検出される犬歯周病原性細菌とその検出頻度ならびに健康状態との関連性についての検討
- (2) 犬歯周病原性細菌のサブタイプ分類と病原性の検討
- (3) 犬とその飼い主における人歯周病原性細菌の感染頻度の相関関係
- (4) 犬において歯周病と関連する全身疾患の検討

3. 研究の方法

- (1) 家庭内で飼育されている犬 26 頭から口腔スワブサンプルを採取し、PCR 法により 10 種の人歯周病菌 (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Capnocytophaga ochracea*, *Capnocytophaga sputigena*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, and *Eikenella corrodens*) および 1 種の犬歯周病菌 (*Porphyromonas gulae*) の存在の有無を解析した。
- (2) 犬の歯周病原性細菌である *Porphyromonas gulae* はグラム陰性桿菌で線毛を有する。41-kDa の線毛蛋白(FimA)は *fimA* 遺伝子によってコードされている。本研究では犬口腔から検出された 17 株の *P. gulae* の *fimA* 遺伝子を

解析した。

- (3) 口腔プラークサンプルを岡山市内の 64 家庭の飼い犬 64 頭および 81 人の飼主から採取した。細菌 DNA を抽出し、前述の 11 種の細菌種を PCR 法にて検出した。
- (4) 健常あるいは全身疾患の犬から口腔サンプルを採取し、前述の 11 種の細菌ならびに *P. gulae* の A, B, C 型を検出し、歯周病原性細菌と全身疾患との関連性を解析した。

4. 研究成果

- (1) *P. gulae*, *T. forsythia* および *C. rectus* はほとんどの犬で検出されたことから、これらの菌はイヌ口腔内の常在菌と考えられる。22 頭の犬から 35 株の *Porphyromonas* 属が検出され、そのうちの 70% は *P. gulae* であったのに対し、*P. gingivalis* の検出頻度は極めて低かった。これらの成績より、犬の歯周病原性細菌は *P. gulae* であることが示唆された。また、176 頭の犬から採取した口腔プラークサンプルを用いて 11 種の歯周病原性細菌の検出頻度ならびに歯周状態と犬の年齢との関係を調べた。犬は年齢により若齢(2歳未満)、壮齢(2~7歳)、老齢(8歳以上)に分類した。壮齢および老齢の犬では歯肉炎および歯周炎の頻度が高く、口腔サンプルから検出された細菌種の数も若齢犬に比べ有意に多かった。これらのことから、犬の年齢は口腔内に分布する細菌種数ならびに歯周状態にとって重要な因子であることが示唆された。
- (2) 17 株の *P. gulae* について *fimA* 遺伝子の配列を解析したところ、大きく 2 つのタイプに分類されることが明らかとなった。近縁の *P. gingivalis* はヒト歯周病の原因菌と考えられている。*P. gulae* の 2 つの型(A型、B型)はそれぞれ、*P. gingivalis* の 2 型および 3 型に類似した。*P. gulae* が検出された 115 サンプル中の A 型のみ、B 型のみ、および A, B ともに検出される頻度は 42.6%, 22.6%, および 26.1% であった。マウス膿瘍モデルでは A 型よりも B 型の毒性が強かった。検出頻度の高い A 型をさらに詳細に解析したところ、新しい型を見出し、これを C 型と命名した。C 型は *P. gingivalis* の IV 型と類似した。培養細胞およびマウス膿瘍モデルにおける解析では、C 型の毒性は A 型および B 型よりも強力であった。また、*P. gulae* の C 型は歯周状態が正常な犬よりも悪い犬で検出頻度が高いことが明らかとなった。これらの成績より *P. gulae* の C 型は歯周病を発症するリスクの高いこと

を示す有用な指標になりうることが示唆された。

- (3) 飼犬では *P. gulae* (71.2%), *T. forsythia* (77.3%)および *C. rectus* (66.7%)が高頻度に検出されたが、飼主ではその頻度は、16.0%, 30.9%および 21.0%と低かった。*P. gulae* は 13 人から検出されたが、その人たちの飼い犬からは全例が検出された。さらに、*E. corrodens* と *T. denticola* が検出された犬の飼い主からもこれらの菌種が高率に検出された。これらの成績より、数種類の歯周病原性細菌は人と犬で伝搬する可能性が示唆された。
- (4) *P. gulae* の C 型とある種の循環器疾患との相関が見出された。現在、投稿ならびに特許申請を準備中である。

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 5 件)

Kato Y, Shirai M, Murakami M, Mizusawa T, Hagimoto A, Wada K, Nomura R, Nakano K, Ooshima T, Asai F. Molecular Detection of the Human Periodontal Pathogens in Oral Swab Specimens from Dogs in Japan. J Vet Dent, (査読有) 28; 84-89, 2011. PMID:21916371

Nomura R, Shirai M, Kato Y, Murakami M, Nakano K, Hirai N, Mizusawa T, Naka S, Yamasaki Y, Matsumoto-Nakano M, Ooshima T, Asai F. Diversity of fimbrillin among *Porphyromonas gulae* clinical isolates from Japanese dogs. J Vet Med Sci, (査読有) 74; 885-891, 2012. PMID:22382732

Yamasaki Y, Nomura R, Nakano K, Naka S, Matsumoto-Nakano M, Asai F, Ooshima T. Distribution of periodontopathic species in dogs and their owners. Arch Oral Biol, (査読有) 57; 1183-1188, 2012. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.02.015. Epub 2012 Mar 13.

Yamasaki Y, Nomura R, Nakano K, Inaba H, Kuboniwa M, Hirai N, Shirai M, Kato Y, Murakami M, Naka S, Iwai S, Matsumoto-Nakano M, Ooshima T, Amano A, Asai F. Distribution and molecular characterization of *Porphyromonas gulae* carrying a new *fimA* genotype. Vet Microbiol, (査読有) 161; 196-205, 2012. doi: 10.1016/j.vetmic.2012.07.026. Epub

2012 Jul 23.

Hirai N, Shirai M, Kato Y, Murakami M, Nomura R, Yamasaki Y, Takahashi S, Kondo C, Matsumoto-Nakano M, Nakano K, Asai F. Correlation of Age with distribution of periodontitis-related bacteria in Japanese dogs. J Vet Med Sci, (査読有) 74; 999-1001, 2013. PMID:23485527

〔学会発表〕(計 6 件)

赤木義明, 高橋理子, 岡谷-アレシャンドレ, 村上 賢, 白井明志, 野村良太, 仲野和彦, 大島隆, 浅井史敏, 加藤行男. イヌの口腔における *Campyrobacter rectus* の分布状況. 第 152 回 日本獣医学会学術集会(大阪:大阪府立大学) 2011/9/19

山崎由衛, 野村良太, 仲野和彦, 仲周平, 仲野道代, 大島隆, 浅井史敏. イヌにおける歯周病原性細菌分布に関する文政生物学的検討. 第 153 回 日本獣医学会学術集会(埼玉:大宮ソニックシティ) 2012/3/27

山崎由衛, 野村良太, 仲野和彦, 白井明志, 加藤行男, 村上 賢, 仲野道代, 浅井史敏. イヌの歯周状態と歯肉縁下プラークにおける *Porphyromonas gulae* FimA 型分布との関連. 第 14 回 日本臨床獣医学フォーラム(東京:ホテルニューオータニ) 2012/9/29-30

平井範彦, 關恵介, 倉谷礎, 白井明志, 野村良太, 仲野和彦, 山崎由衛, 仲野道代, 浅井史敏. イヌにおける歯周病原性細菌の保有状況一般家庭飼育犬と実験用ビーグル犬でのヒト歯周病原性細菌と *Porphyromonas gulae* の保有状況の比較. 第 14 回 日本臨床獣医学フォーラム(東京:ホテルニューオータニ) 2012/9/29-30

山崎由衛, 野村良太, 仲野和彦, 平井範彦, 倉谷礎, 白井明志, 加藤行男, 村上 賢, 仲野道代, 浅井史敏. 犬の歯周状態と歯肉縁下プラークに存在する歯周病原性細菌種との関連. 第 33 回 動物臨床医学会年(大阪:大阪国際会議場) 2012/11/17-18

山崎由衛, 仲野和彦, 野村良太, 仲周平, 浅井史敏, 仲野道代. 犬とその飼い主における歯周病原性細菌の分布と伝播に関する分子生物学的検討. 第 34 回 岡山歯学会学術集会(岡山:岡山大学) 2013/10/27

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 1 件)

名称：*Porphyromonas gulae* の線毛遺伝子型
発明者：浅井史敏、加藤行男、白井明志、村上賢、仲野和彦、野村良太
権利者：同上
種類：特許
番号：FA1484-12130
出願年月日：2012年12月13日
国内外の別：外国

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1) 研究代表者

浅井史敏（ASAI Fumitoshi）
麻布大学・獣医学部獣医学科・教授
研究者番号：00511677

(2) 研究分担者

加藤行男（KATO Yukio）
麻布大学・獣医学部獣医学科・准教授
研究者番号：00224551

(3) 研究分担者

仲野和彦（NAKANO Kazuhiko）
大阪大学・歯学研究科・准教授
研究者番号：00379083

(3) 研究分担者

仲野道代（NAKANO Michiyo）
岡山大学・医歯（薬）学総合研究科・教授
研究者番号：30359848