

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 1 日現在

機関番号：22701  
 研究種目：挑戦的萌芽研究  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23659402  
 研究課題名（和文）炎症性腸疾患発症における口腔内細菌の役割解明を目指した挑戦的萌芽研究  
 研究課題名（英文）Challenging research for elucidating the role of oral bacteria in the pathogenesis of IBD  
 研究代表者  
 中島 淳（NAKAJIMA ATSUSHI）  
 横浜市立大学・附属病院・教授  
 研究者番号：30326037

研究成果の概要（和文）：Inflammatory Bowel Disease (IBD) の発症については様々な原因が指摘されているが、その詳細は不明な点が多い。一方、う蝕（虫歯）の原因菌である *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) は歯科治療時に感染性心内膜炎や菌血症などの全身疾患を引き起こすことが知られている。我々は近年、*S. mutans* の中で特殊な菌株が菌血症などの全身疾患を起こしやすいことを見出した。本研究ではこの高病原性 *S. mutans* が、う蝕を引き起こすだけでなく、血中に侵入することにより IBD を誘発・悪化させる可能性について、動物実験ならびにヒトサンプルを用いた分析などにより IBD 発症・悪化における口腔細菌の関与を明らかにし、高病原性 *S. mutans* の感染が IBD 発症のリスクファクターとなりうるかどうかを検討した。

研究成果の概要（英文）：The pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease (IBD) is still unknown. Caries bacteria, *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) is known to cause the systemic disease such as endocarditis or sepsis. We have recently found that special types of *S. mutans* had tendency cause the systemic disease. In this research, we elucidate the role of *S. mutans* in the pathogenesis of the IBD using animal model and patients samples, and evaluate the risk for the developing the IBD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：臨床医学

科研費の分科・細目：消化器内科学・下部消化管

キーワード：炎症性腸疾患、齲蝕菌

## 1. 研究開始当初の背景

IBD 発症については腸内細菌叢がその原因の一つである可能性も指摘されている。その一方で、口腔細菌の IBD 発症における関連性については、これまで殆ど研究がなされていなかった。その理由は口腔粘膜から消化管粘膜までの距離が著しく遠いため、腸管粘膜近くの細菌が重要視されたためである。消化管粘

膜には様々なバリア機構や濃密な免疫機構が発達しており、そう簡単に腸内細菌が粘膜を通過して循環血中まで到達することは少ない。それに対して口腔粘膜のバリア機構はそれほどタイトではなく、抜歯や歯科治療などによって容易に口腔細菌が循環血中に侵入することが報告されている。さらに近年では、循環血中に侵入した口腔細菌が様々な全

身疾患（虚血性心疾患、糖尿病、骨粗鬆症、慢性腎炎、低体重児出産などとの関連が報告）の発症・悪化に關与していることも指摘されている。近年 IBD の疫学調査から疾患発症時近傍での虫歯治療歴や歯科通院歴が有意に高いことも報告されている。これらのことから循環血中に侵入した口腔細菌が腸管粘膜の免疫系に影響を与え、その結果腸炎の発症・悪化に影響を与える可能性は十分に考えられる。さらに研究分担者である大阪大学歯学部の和田らのグループは、う蝕病原菌の *S. mutans* の中で特殊な菌株が菌血症などの全身疾患を起こしやすいことを見出した。

## 2. 研究の目的

本研究期間内に、(1) 多数の唾液サンプルを用いて、IBD 患者の高病原性 *S. mutans* 感染率が一般健常人より高頻度であるかどうか、(2) 患者から単離された高病原性株、並びに標準株をマウスに投与した場合、炎症の悪化・慢性化が認められるかどうか、(3) 高病原性 *S. mutans* 感染に加え、どのような危険因子が IBD 発症のオッズ比を高めているのか、を明らかにする。

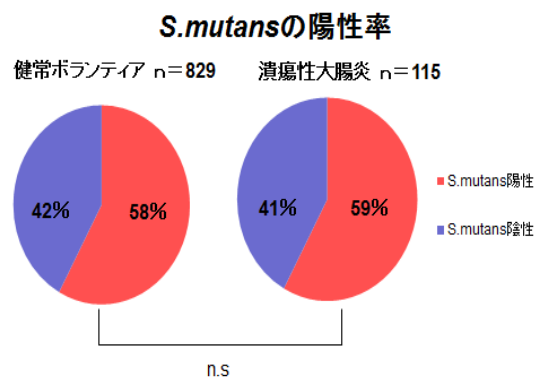
## 3. 研究の方法

本研究は唾液サンプルを用いて IBD 患者の高病原性口腔内細菌感染率が一般の健常人より高頻度であるかどうか、患者から検出される高病原性菌の種類とタイプ、すなわち高病原性であるかどうか、高病原性菌をマウスに投与した場合、炎症を誘発するかどうか、高病原性菌以外のどのようなファクターが加わったときに発症のオッズ比が高まるか、までを検討する計画である。平成 23 年度は IBD 患者および正常健常人から唾液サンプルを採取し、その解析を主として行う。これにより患者と健常人との間に感染率に明らかな差があるかどうかを検討する。また、平成 2

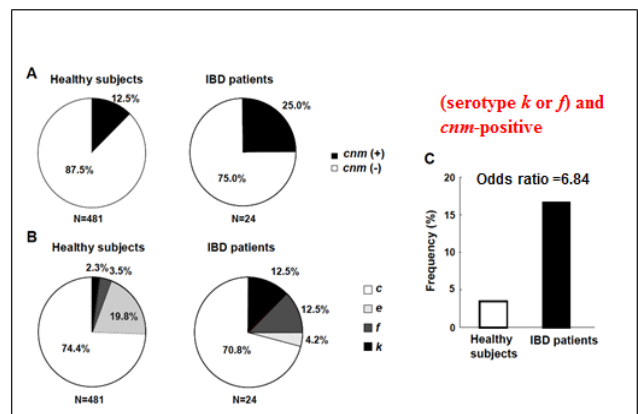
4 年度以降は IBD 患者から単離した高病原性菌を用いて動物実験を予定である。最終的にはデータの解析を行ったのち、本研究を総合評価して研究の総括とする。

## 4. 研究成果

(1) 潰瘍性大腸炎患者の唾液からの口腔内細菌 *S. mutans* の検出率の検討を行ったが、*S. mutans* 菌そのものの保菌率の差はなかった。



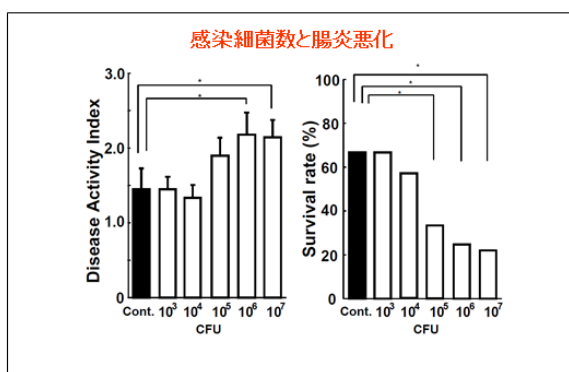
(2) しかしながら健常人と比較したところ、IBD 患者では serotype k, f の菌が有意に高



かった。すなわち、健常人ではこれらの血清型は合わせても 5-6% であるが、IBD 患者では両者の合計が 25% にも達した。以上より潰瘍性大腸炎患者においてはある特定の口腔内細菌、ここでは *S. mutans* の血清型 k, f が有意に多いことが示された。この血清型は我が国では 1970 年ごろより保菌が

増加してきた菌であり、それと相前後して炎症性腸疾患患者が増加してきていることは興味深い。また、これらの血清型の *S. mutans* は、白血球などによる貪食を受けにくく、血液中に長時間存在することが動物実験等から明らかになっている。

またマウスにこの菌を摂取して炎症性腸疾患を DSS にて誘発した際に本血清型の *S. mutans* を投与した場合に有意に病状の悪化を認めた。



前述のごとく、これら特殊な血清型の *S. mutans* は白血球などによる貪食を受けにくく血液中に長時間存在することから、何らかの標的臓器に取り込まれることが考えられる。実際にマウスに投与された菌は肝臓に生着していることがわかり、肝臓局所でインターフェロン $\gamma$ を産生しており、それにより腸炎の悪化が認められるのではと考えられた。この肝臓への取り込みにはコラーゲンに特異的に結合する「コラーゲン結合タンパク」の存在が重要であることも明らかになった。

さらに実際の IBD 患者の口腔内サンプルより特殊な血清型の *S. mutans* の単離・培養にも成功した。これらの菌をマウスに投与したところ、驚くべきことに著名な腸炎の悪化が認められ、IBD 症状をマウスで再現することができた。

以上より、本血清型は実際の潰瘍性大腸炎の患者で病態の発症、増悪に非常に重要な役割

を果たしていると思われる。今後は本菌の保菌患者は口腔内処置により病態の増悪の予防ができるかなど、実際の臨床面で応用を検討することにより、おおくの IBD 患者治療にむけた試みを進めていきたい。

## 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 7 件)

1: Hirata K, Katayama K, Nakajima A, Takada K, Kamisaki Y, Wada K. Role of leukotriene B<sub>4</sub> receptor signaling in human preadipocyte differentiation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Dec 14;429(3-4):197-203.

doi:10.1016/j.bbrc.2012.10.110.

(査読あり)

2: Imajo K, Fujita K, Yoneda M, Nozaki Y, Ogawa Y, Shinohara Y, Kato S, Mawatari H, Shibata W, Kitani H, Ikejima K, Kirikoshi H, Nakajima N, Saito S, Maeyama S, Watanabe S, Wada K, Nakajima A. Hyperresponsivity to low-dose endotoxin during progression to nonalcoholic steatohepatitis is regulated by leptin-mediated signaling. *Cell Metab.* 2012 Jul 3;16(1):44-54. doi:10.1016/j.cmet.2012.05.012. (査読あり)

3: Kojima A, Nakano K, Wada K, Takahashi H, Katayama K, Yoneda M, Higurashi T, Nomura R, Hokamura K, Muranaka Y, Matsuhashi N, Umemura K, Kamisaki Y, Nakajima A, Ooshima T. Infection of specific strains of *Streptococcus mutans*, oral bacteria, confers a risk of ulcerative colitis. *Sci Rep.* 2012;2:332. doi:10.1038/srep00332. (査読あり)

4: Yoneda M, Naka S, Nakano K, Wada K, Endo H, Mawatari H, Imajo K, Nomura R, Hokamura K, Ono M, Murata S, Tohnai I, Sumida Y, Shima T, Kuboniwa M, Umemura K, Kamisaki Y, Amano A, Okanoue T, Ooshima T, Nakajima A. Involvement of a periodontal pathogen, *Porphyromonas gingivalis* on the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol.* 2012 Feb 16;12:16. doi:10.1186/1471-230X-12-16.

(査読あり)

5: Nakano K, Hokamura K, Taniguchi N, Wada K, Kudo C, Nomura R, Kojima A, Naka S, Muranaka Y, Thura M, Nakajima A, Masuda K, Nakagawa I, Speziale P, Shimada N, Amano A, Kamisaki Y, Tanaka T, Umemura K, Ooshima T. The collagen-binding protein of Streptococcus mutans is involved in haemorrhagic stroke. Nat Commun. 2011 Sep 27;2:485. doi: 10.1038/ncomms1491. (査読あり)

6: Nakano K, Wada K, Nomura R, Nemoto H, Inaba H, Kojima A, Naka S, Hokamura K, Mukai T, Nakajima A, Umemura K, Kamisaki Y, Yoshioka H, Taniguchi K, Amano A, Ooshima T. Characterization of aortic aneurysms in cardiovascular disease patients harboring Porphyromonas gingivalis. Oral Dis. 2011 May;17(4):370-8. doi: 10.1111/j.1601-0825.2010.01759.x. (査読あり)

7. 和田孝一郎, 上崎善規, 中島淳: 非アルコール性脂肪肝炎発症のリスクファクターとしての口腔細菌 (総説)。臨床薬理 42: 67-68 (2011). (査読なし)

[学会発表] (計4件)

1. Wada K, Nakajima A, Kamisaki Y. Oral bacteria-induced serious systemic diseases: "Stroke" and "Cardiovascular disease" up-to-date. Invited educational lecture at URAD Research Center, Shanghai University of T.C.M. May 13<sup>th</sup>, 2012, Shanghai. China.

2. Wada K, Yoneda M, Kamisaki Y, Nakajima A. Periodontal pathogen, Porphyromonas gingivalis is a potential risk factor for nonalcoholic fatty liver disease. The 85<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society. March 14-16, 2012, (京都国際会議場) Kyoto.

3. Hokamura K, Wada K, Nakano K, Min T, Ooshima T, Umemura K. The collagen-binding protein of Streptococcus mutans is involved in hemorrhage. The 85<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society. March 14-16, 2012, (京都国際会議場) Kyoto.

4. Kojima A, Wada K, Nakano K, Ooshima T,

Umemura K, Nakajima A, Kamisaki Y. Serotype k Streptococcus mutans strains with collagen-binding properties aggravates inflammatory bowel diseases. The 85<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society. March 14-16, 2012, (京都国際会議場) Kyoto.

[その他]

(1) ホームページ等

<http://www-user.yokohama-cu.ac.jp/~nai3syou/>

(2) メディア発表等

1. 虫歯菌感染で大腸炎リスク4倍 阪大など説明: 日本経済新聞 2012年3月26日、ほか、新聞多数

2. 和田孝一郎、日暮琢磨。ミュータンス菌: 脳出血と潰瘍性大腸炎にも関与。日経メディカル 2012年5月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 淳 (NAKAJIMA ATSUSHI)  
横浜市立大学・附属病院・教授  
研究者番号: 30326037

(2) 研究分担者

和田孝一郎 (WADA KOICHIRO)  
大阪大学・歯学研究科・准教授  
研究者番号: 90263467

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: