

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：33902

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25862062

研究課題名(和文) 歯周病由来血清アミロイドA(SAA)を介した動脈硬化発症機序の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the arteriosclerosis pathogenesis through periodontal disease derived from serum amyloid A (SAA).

研究代表者

武藤 昭紀(MUTO, AKINORI)

愛知学院大学・歯学部・助教

研究者番号：50549433

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は、歯周病を惹起させたマウスにて炎症マーカーである血清アミロイドA(SAA)が上昇することに着目し、SAAの動脈硬化症への影響を解析した。

血管内皮細胞に対してSAA添加により動脈硬化促進に重要なVCAM-1、ICAM-1、MCP-1の発現が有意に上昇した。さらにSAA受容体のひとつであるTLR2中和抗体を添加することによりそれらの発現が有意に減少した。そこでTLR2中和抗体を、動脈硬化易形成マウス(ApoE欠損マウス)に対して投与した。その結果、投与群は脂質沈着部位の減少傾向を示した。以上より、歯周病などの慢性炎症で産生されるSAAはTLR2を介して動脈硬化を促進する可能性が示された。

研究成果の概要(英文)： We noticed that elevated serum amyloid A (SAA) is an acute inflammation markers in mice was induced periodontal disease were analyzed the effect on arteriosclerosis of SAA.

Expression of arteriosclerosis induced factor VCAM-1, ICAM-1, MCP-1 was significantly increased by SAA in human vascular endothelial cells. And their expression was significantly reduced by the TLR2 neutralizing antibody which is one of SAA receptors. So the TLR2 neutralizing antibody, was injected to easy formation mouse (ApoE deficient mice). The results that TLR2 injected group was decrease of lipid deposition site more than control group. In this experiment, SAA would bind to TLR2 on the endothelial cells and increase the adhesion molecules expressions. We suggest that this is one of the pathways that SAA could accelerate the atherosclerosis.

研究分野：歯周病学

キーワード：歯周病 動脈硬化

## 1. 研究開始当初の背景

### 動脈硬化症は心臓血管疾患

(cardiovascular disease: CVD)の重大な危険因子であり、マクロファージを主体とした炎症、免疫応答により動脈硬化病変が形成され、血管内腔の狭窄や閉塞をきたす疾患である。

一方、歯周病は歯肉のみならず、他のさまざまな疾患の原因になりうるものが、近年の研究で明らかになっている。特に、1990年代に始まった歯周病とCVDとの関連に関する疫学研究結果の蓄積は、1999年以後に6編のシステマティックレビューとして報告されている。これらの結果は、6報告ともに歯周病とCVDの関係を支持している。また歯周病は、バイオフィルム感染症として認識されている。生体側は、細菌感染に対して免疫担当細胞(マクロファージ、リンパ球)が産生するサイトカイン(主にIL-1、IL-6、TNF-)や他の炎症性メディエーターにより、免疫防御機構を働かせる。しかし、細菌刺激が慢性的、かつ持続的に存在し続けると、炎症、免疫応答の遷延化が起こり、歯周組織に多量に存在する細菌や過剰に産生されたサイトカインが血中に流入し全身を循環することになる。実際に、歯周病の患者で心冠状動脈のバイパス手術を受けた人の血管壁から歯周病原細菌が検出されることが報告されている。このように歯周病が動脈硬化の形成に関わる報告はあるが、どのようなメカニズムで発症に関与するのか未だ不明な点が多い。

## 2. 研究の目的

そこで申請者らは、病原細菌が動脈硬化部位に直接作用するだけでなく、それによって産生される炎症性サイトカインの刺激によって動脈硬化発症が起きると考え、その詳細なメカニズムを解明、マーカー分子を見つけることを目的とし研究を開始した。申請者はこれまでに、ApoEノックアウトマウスの口腔内に歯周病罹患時に上昇する炎症性サイトカインであるIL-6を投与し、歯周病菌が産生する炎症性サイトカイン刺激を与え、擬似的な歯周病を惹起させる研究を行った。その結果、歯周病が惹起されたApoEノックアウトマウスの肝臓組織のmRNA、および末梢血タンパクにおいて急性炎症マーカーである血清アミロイドA(以下SAA)が上昇し、動脈硬化部位が増大することを見出した。歯周病における局所の

炎症性サイトカインの刺激によって、肝臓より産生される急性炎症マーカーのSAAがアテロームを形成する経路に注目した。そこで本研究課題では、血管内皮細胞において接着因子・遊走因子の発現を調整するSAA受容体を解析し、そのSAA受容体シグナルの抑制による効果を歯周病誘導性動脈硬化症モデルマウスに対する抑制効果を解析することにより、SAAを介した歯周病と動脈硬化発症のメカニズムの詳細を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

ヒト大動脈血管内皮細胞(HAEC)を用い、(1)SAAヒトリコンビナントタンパクを添加することにより血管内皮細胞に起こる、SAA受容体の遺伝子発現をリアルタイムPCR法にて解析を行う。(2)SAAによる発現増強の見られる受容体に対する中和抗体を用いてSAA誘導性接着因子および遊走因子の発現に対する抑制効果を解析する。(3)ApoE<sup>-/-</sup>マウス歯肉部にIL-6の投与による歯周病誘導性動脈硬化亢進モデルを用い、中和抗体をマウス尾静脈注射による動脈硬化発症の初期所見である脂肪沈着および病変部における接着因子・遊走因子の発現に対する抑制効果を比較、検討する。以上より、SAAを介した歯周病による動脈硬化症の発症および増大のメカニズムの詳細を明らかにする。

## 4. 研究成果

現在、SAA受容体としてTLR2、TLR4、CST3、ABCA1、ABCA7、CD36、SCARB1、FPR2、AGERなどが報告されているが、どの受容体シグナルがアテローム形成に対して促進的に働くのか、抑制的に働くのかは様々な報告があり、未だその詳細は解明されていない。そこで今回、HAECsに対してSAA添加をすることにより発現上昇をきたす受容体を調べたところ、TLR2の発現が有意に上昇し、その発現上昇はTLR2中和抗体により有意に抑制された。さらに、SAAの添加により動脈硬化促進に重要なVCAM-1、ICAM-1、MCP-1などのマクロファージ接着因子および遊走因子の発現が有意に上昇した。さらにTLR2中和抗体を添加することにより、それらの発現が有意に減少した。そこで、TLR2中和抗体を歯周病誘導性動脈硬化亢進モデルに対して尾静脈より投与をおこ

なった。またコントロール群として、PBSを尾静脈より投与を行った。その結果、TLR2中和抗体投与群は、コントロール群と比較して、脂質沈着部位の減少傾向を示した。以上より、歯周病などの慢性炎症で産生されるSAAはTLR2を介して動脈硬化を促進する可能性が示された。

#### 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4件)

1. 歯周炎患者への2種類の音波歯ブラシのプラーク除去効果 武藤昭紀, 岡本成美, 小林加奈, 海瀬由季, 柳沢みさき, 西窪結香, Murtaza Saleem, 三木 学, 窪川恵太, 海瀬聖仁, 吉成伸夫 日本歯周病学会会誌 56: 182-192 2014 (査読有)
2. 高齢歯周病患者の口唇筋力強化による口腔環境改善効果の検討 武藤昭紀, 窪川恵太, 海瀬聖仁, 三木 学, 田口 明, 増田裕次, 角 保徳, 吉成伸夫 日本歯科保存学雑誌 57: 180-187 2014 (査読有)
3. Association between Oral Health and the Risk of Lacunar Infarction in Japanese Adults. Taguchi A, Miki M, Muto A, Kubokawa K, Higashi Y, Yoshinari N. *Gerontology* 59: 499-506 2013 (査読有)
4. A Primary Intraosseous Odontogenic Carcinoma Arising from a Dentigerous Cyst. Uchida K, Ochiai T, Shinohara A, Miki M, Muto A, Yoshinari N, *J Hard Tissue Biology* 22: 375-382 2013 (査読有)
5. 治療抵抗性歯周炎患者のアジスロマイシン投与における臨床的, 細菌学的評価

佐藤哲夫, 藤波義明, 平岡行博, 荒 敏昭, 窪川恵太, 海瀬聖仁, 武藤昭紀, 三木学, 岩井由紀子, 王 宝禮, 吉成伸夫 日本歯科保存学雑誌 56: 239-251 2013 (査読付)

[学会発表](計3件)

1. 高齢歯周病患者へ口唇筋力強化による口腔環境改善効果の検討 三木 学, 窪川恵太, 武藤昭紀, 海瀬聖仁, 増田裕次, 角 保徳, 吉成伸夫 第25回日本老年歯科医学会学術大会(大阪)2014.6.13.
2. The effect of SAA on atherosclerogenesis in ApoE deficient mice. Muto A, Takahashi K, Kaise K, Kubokawa K, Miki M, Taguchi A, Yoshinari N 10th Asian Pacific Society of Periodontology Meeting (Nara) 2013.9.9.
3. 松本歯科大学病院における後期高齢患者の実態調査 武藤昭紀, 小笠原 正, 窪川恵太, 三木 学, 海瀬聖仁, 角 保徳, 吉成伸夫 第24回日本老年歯科医学会学術大会(大阪)2013.6.22

[図書](計2件)

1. ザ・ペリオドントロジー 第2版 和泉雄一, 木下淳博, 沼部幸博, 山本松男 編 武藤昭紀, 吉成伸夫 第10章 5. 歯周外科処置後における持続性出血の対策, 6. 急性および慢性疼痛 266-269 2014.3. 永末書店
2. 臨床歯周病学 第2版 吉江弘正, 伊藤公一, 村上伸也, 申 基喆編 武藤昭紀,

吉成伸夫 第2編ベーシック編 -基礎  
知識-第19章 2013.1 医歯薬出版株式  
会社

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

武藤 昭紀 (MUTO AKINORI)  
愛知学院大学・歯学部・助教  
研究者番号 : 50549433