

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25870198

研究課題名(和文)大動脈瘤患者における歯周病罹患状態の解析

研究課題名(英文)Analysis of periodontal disease status in aortic aneurysm patients

研究代表者

青山 典生(AOYAMA, Norio)

東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：30611024

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):歯周病は腹部大動脈瘤などの循環器疾患のリスクとなる可能性が指摘されているものの、歯周病原細菌による大動脈瘤への影響についての詳細は未知の部分が多い。本臨床研究では、大動脈瘤患者における歯周病原細菌の状態を調査することを目的とした。

大動脈瘤患者と、大動脈瘤を有さない被験者において、細菌検査を含む歯周病検査を行った。

結果として、大動脈瘤患者では対照群と比較して歯周ポケットが深く、臨床的に歯周病の進行が認められた。しかしながら、歯周病原細菌の検出率は大動脈瘤患者群と対照群とで群間の有意差を認めなかった。歯周病原細菌に対する抗体価も、大動脈瘤患者群と対照群間に有意差を認めなかった。

研究成果の概要(英文):Periodontitis may be a risk factor for cardiovascular diseases such as abdominal aortic aneurysm. However, the influence of periodontal bacteria on aortic aneurysms is unclear. The aim of this clinical study was to assess periodontal bacterial burden in aortic aneurysm patients.

We studied aneurysm patients and age and sex-matched non-aneurysm cardiovascular patients. We measured clinical periodontal parameters and also examined the presence of periodontal bacteria and the antibodies against periodontal bacteria.

The aneurysm patients had deeper periodontal pocket than non-aneurysm subjects. The detection rate of periodontal bacteria and the antibody level of periodontal bacteria were comparable between the two groups.

研究分野：歯周病学

キーワード：歯周病 歯周病原細菌 大動脈瘤 循環器疾患 Periodontal medicine

### 1. 研究開始当初の背景

歯周病は中・高齢者において特に罹患率の高い感染性疾患であり、歯周組織での慢性炎症を主な特徴とする。歯周病患者では局所の歯周病原細菌感染により全身的な炎症マーカーや、マトリックスメタロプロテナーゼ (MMP) が上昇することが知られている。一方、腹部大動脈瘤は主に高齢者において発症し、破裂により致死的な結果を招く疾患である。その発症機序には様々な要因が示されているが、その主要なメカニズムとして炎症の惹起が考えられている。ヒト腹部大動脈瘤病変において MMP の上昇が認められ、また動物実験からも特定の MMP をノックアウトしたマウスでは実験的な大動脈瘤形成が生じないことから、MMP による線維の破壊が大動脈瘤の促進に不可欠であると考えられている。

欧米諸国では 2000 年以降、歯周病と心血管病の関連が検討され始め、近年歯周病が循環器疾患のリスクとなる可能性があると報告されている。歯周病はしばしば菌血症の原因となり、大動脈の石灰化、血管内皮傷害やプラーク形成の誘因となることが示されている。国内では健康日本 21 に謳われているように歯周病が心血管疾患に至る前段階であることは認知されてきたものの、歯周病と心血管病を関連づけた研究は始まったばかりである。ごく最近の総説において、歯周病と循環器疾患との関連の重要性は認められるものの、その因果関係についてはほとんど未知であると提言されている。また、国内外を見渡しても、大動脈瘤についてはその病変組織に歯周病原細菌が存在することが報告されている程度であり、その関連するメカニズムについての詳細は不明である。

我々はこれまで、主要な歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) に感染させたマウスでは、感染のないマウスと比較して腹部大動脈瘤形成が亢進することを報告した。歯周病が大動脈瘤形成を促進することを示したのは、世界的にも初めての報告である。*P. gingivalis* 感染により血管壁での MMP-2 の発現上昇が認められたことから、MMP-2 の過剰な働きにより血管壁が脆弱となって大動脈瘤形成が促進したと考えられた。さらにクラリスロマイシンを用いて MMP の働きを制御する実験を実施した。なお、クラリスロマイシンは抗菌作用も有するが、細菌の生存については薬液投与群と非投与群で差がないことを確認した。結果として、クラリスロマイシン投与により、*P. gingivalis* 感染後の大動脈瘤形成が抑制できることを示した。大動脈瘤形成抑制には MMP 抑制効果が重要であることも明らかになった。続いて、*P. gingivalis* 感染による大動脈瘤への影響は Toll 様受容体 (TLR) -2 を介すると考え、TLR-2 ノックアウトマウスを用いた実験を行った。結果から、TLR-2 により *P. gingivalis* が認識され、大動脈瘤に影

響するであろうことを明らかにした。

しかしながら、ヒトを対象とした研究によって歯周病の病態や罹患細菌の違いによる大動脈瘤発症・進行との関連ははまだ示されていないため、歯周病と大動脈瘤との関連を疫学的に解析することは必要不可欠の課題である。以上のことから、本研究では大動脈瘤患者における歯周病および歯周病原細菌感染の状態を評価していくこととした。

### 2. 研究の目的

近年、歯周病が循環器疾患のリスクとなる可能性があることが報告されている。我々はこれまで動物モデルを用いた基礎実験から、特定の歯周病原細菌感染が大動脈瘤の形成を促進することを明らかにしてきた。しかしながら、疫学的に歯周病の病態や罹患細菌の違いによる大動脈瘤発症・進行との関連は示されていない。そこで、本研究の目的は、大動脈瘤患者における歯周病および歯周病原細菌感染の状態を評価し、血中の関連マーカーを検索することである。本研究の成果は、これまで関連メカニズムの解明が困難であった歯周病と循環器疾患との因果関係の理解への突破口となりうると考えている。

### 3. 研究の方法

本研究の被験者として、東京医科歯科大学医学部附属病院循環器内科にて大動脈瘤の治療を受ける入院症例のうち男女の成人患者を対象とした。また、対照群として大動脈瘤を有さない被験者も対象とした。そのうち、自由意思により研究参加への同意が得られた者を被験者として、以下の医科学的検査、歯科学的検査を実施した。その後、検査値をもとに解析を行い、大動脈瘤患者に認められる歯科疾患および歯周病原細菌感染を分析した。

#### (1) 医科学的検査

既往歴の聴取：被験者の心疾患・循環器疾患をはじめとした全身既往歴を聴取

一般血液検査：白血球数、赤血球数、血小板数、CRP、HbA1c、ALP、BUN、尿酸等  
画像検査：心エコー、血管エコー、胸腹部 CT、血管造影検査等

末梢血中炎症因子測定：循環器疾患に関連する炎症因子 (サイトカイン・ケモカイン、接着分子、増殖因子、細胞外基質分解酵素) を ELISA 法により測定

#### (2) 歯科学的検査

歯科診察  
日本歯周病学会認定医の資格を有する研究代表者が歯周病の診察を行った。歯周病の指標となるプロービングポケット深さ、クリニカルアタッチメントレベル、プロービング時の出血の有無、歯の動揺度、歯石沈着の有無、CPI-TN 等を計測することにより、詳細に歯周病の状態を検査した。

## アンケート

歯周病の既往に関するアンケート調査を行い、日常の口腔清掃状態などを評価

末梢血中の歯周病原細菌抗体測定

本研究用の採血に同意した者において、歯周病原細菌の血清中抗体価を ELISA 法にて測定

対象菌：*P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*

唾液中および歯周プラーク内の歯周病原細菌遺伝子同定および定量

唾液および歯周プラーク採取に同意した者に対し、歯周病原細菌の遺伝子をリアルタイム PCR 法にて同定・定量した。具体的な対象菌種は、上記の抗体価測定対象菌種と同様の 3 菌種とした。

## 4. 研究成果

まず、腹部大動脈瘤を有する患者 12 名と、年齢と性別を対応させて無作為に選んだ大動脈瘤以外の循環器疾患を有する対照群の被験者 24 名とを比較して解析を行った。大動脈瘤患者群の平均年齢は  $70.6 \pm 3.5$  歳、対照群被験者の平均年齢は  $71.3 \pm 2.0$  歳と両群で有意差はなかった。高血圧を有する者は大動脈瘤患者群で 66.7%、対照群で 75.0%、糖尿病を有する者は大動脈瘤患者群で 25.0%、対照群で 33.3%、脂質異常症を有する者は大動脈瘤患者群で 50.0%、対照群で 33.3% であり、いずれも両群間に有意差は認めなかった。また、内服薬についても、大動脈瘤患者群と対照群それぞれにおいて、遮断薬 25.0% vs. 45.8%、RAS 阻害薬 33.3% vs. 58.3%、スタチン 50.0% vs. 41.7% と、両群間に有意差を認めなかった。

歯周病の検査項目として、残存歯数とポケット深さ、プロービング時の出血の有無、Community Periodontal Index (CPI) を調べた。残存歯数は大動脈瘤患者群において  $16.8 \pm 2.8$  本、対照群では  $19.8 \pm 1.6$  本であり、両群間に有意差は認めなかった。平均ポケット深さは大動脈瘤患者群で  $3.53 \pm 0.38$  mm に対し、対照群では  $2.67 \pm 0.17$  mm であり、両群間で有意差を認めた。プロービング時の出血は大動脈瘤患者群で  $16.5 \pm 4.9\%$ 、対照群で  $15.6 \pm 3.1\%$  であり、両群間に有意差を認めなかった。平均 CPI 値も、大動脈瘤患者群と対照群でそれぞれ  $2.75 \pm 0.25$ 、 $2.50 \pm 0.25$  であり、両群間に有意差は認めなかった。

また、唾液中および歯周ポケット内サンプルにおける細菌検査を行った。唾液中の *P. gingivalis* は、大動脈瘤患者群では 58.3% の患者から検出されたのに対し、対照群からは 63.6% 検出された。同様に唾液中の *A. actinomycetemcomitans* は大動脈瘤患者群の 16.7% から、対照群の 36.4% から検出された。唾液中 *P. intermedia* は、大動脈瘤患者群の 25.0% から、対照群の 27.3% から検出された。しかしながら、いずれの菌種も両群間に有意差は認めなかった。また、歯周ポケッ

ト内の細菌検出率に関しても、*P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* いずれも両群間で有意差を認めなかった。

以上の結果から、大動脈瘤患者では対照群の被験者と比較して歯周ポケットが深いということが明らかになった。それ以外の臨床パラメータについては、両群間で有意差を認めなかったものの、いずれも大動脈瘤患者群で悪化している傾向を認めた。このことから、大動脈瘤患者では歯周病が比較的進行していると推察される。また、細菌検査として PCR 法により歯周病原細菌の検索を行ったが、本研究結果からは細菌検出率についての差を見出すことはできなかった。歯周病原細菌は本研究で解析した 3 菌種だけでなく他にも多数認められていることから、他の菌の検索が必要なかもしれない。

また、腹部大動脈瘤患者 25 名と、年齢と性別をマッチさせた 142 名の不整脈患者の歯周病の病態も比較を行った。*P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* について唾液中および歯周ポケット内の検出率を PCR 法により解析するとともに、ELISA 法による 3 菌種それぞれの血中抗体価を測定した。結果として、大動脈瘤患者では喪失歯数が多く、また歯周ポケットも深いということが明らかになった。平均残存歯数は大動脈瘤患者群で  $14.6 \pm 2.0$  本、不整脈患者群では  $20.9 \pm 0.7$  本であった。平均歯周ポケット深さは大動脈瘤患者群で  $3.01 \pm 0.26$  mm、不整脈患者群では  $2.52 \pm 0.05$  mm であった。唾液中および歯周ポケット内の細菌検出率に関しては、測定した 3 菌種ともに両群間に有意差を認めなかった。また、ELISA 法により測定した血清抗体価についても、*P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* いずれも、群間に有意差を認めなかった。

歯周病が新たな循環器疾患の危険因子になる可能性があるため、その関連を明らかにすることが求められている。本研究の特色としては、領域を越えた研究として循環器疾患の新しい原因解明と危険因子の同定を目指していることが挙げられる。現在まで歯周病と循環器疾患の関連についてさまざまな検討がなされ、歯周病を有する人ではその後循環器疾患を発症する可能性が高いことが明らかにされている。しかしながら、世界的にも歯周病がどのようなメカニズムにより循環器疾患の進行に影響を与えているか、確かな機序についてはほとんどわかっていない。本研究では細菌感染と炎症という歯周病の持つ 2 つの特徴を、細菌検査および抗体価検査により捉えつつ、これまで関連メカニズムの解明が困難であった歯周病と循環器疾患との因果関係の理解を目的に研究を進めてきた。残念なことに細菌検出率および抗体価の値とともに大動脈瘤患者と対照群患者とで有意差を認められなかったが、大動脈瘤患者では同年代の他疾患の患者と比較して歯周ポケット深さの悪化など臨床的な歯周病の

パラメータの悪化を見出すことはできた。

本研究の問題点としては、大動脈瘤患者の対照として循環器疾患を有する被験者を設定していることが挙げられる。本来であれば全身疾患を有さない者を対象者群として設定すべきであるが、一定期間内にある程度の人数の全身的に健康な被験者サンプルを集めることができなかった。今後は全身的に健康な被験者のサンプルを集めることで適切な対照群を設定し、大動脈瘤をはじめとした循環器疾患患者の歯周病学的な特徴を捉え、循環器疾患と歯周病との間に存在する関係性についての知見を収集していくことが必要であると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

Suzuki J, Aoyama N, Aoki M, Tada Y, Wakayama K, Akazawa H, Shigematsu K, Hoshina K, Izumi Y, Komuro I, Miyata T, Hirata Y, Isobe M.

Incidence of periodontitis in Japanese patients with cardiovascular diseases -A comparison between abdominal aortic aneurysm and arrhythmia.

Heart Vessels. 査読あり in press

DOI: 10.1007/s00380-014-0507-6

Suzuki J, Aoyama N, Aoki M, Tada Y, Wakayama K, Akazawa H, Shigematsu K, Hoshina K, Izumi Y, Komuro I, Miyata T, Hirata Y, Isobe M.

High incidence of periodontitis in Japanese patients with abdominal aortic aneurysm.

Int Heart J. 査読あり

2014;55(3):268-270.

DOI: 10.1536/ihj.13-301

Suzuki J, Imai I, Aoki M, Fujita D, Aoyama N, Tada Y, Wakayama K, Akazawa H, Izumi Y, Isobe M, Komuro I, Nagai R, Hirata Y.

Periodontitis in cardiovascular disease patients with or without Marfan syndrome -A possible role of *Prevotella intermedia*.

Plos One. 査読あり 2014;9(4):e95521.

DOI: 10.1371/journal.pone.0095521

〔学会発表〕(計2件)

青山典生、鈴木淳一、小林奈穂、吉田明日香、金子誠、始平堂由佳、佐藤博紀、磯部光章、和泉雄一

冠動脈疾患患者での歯周病罹患状態の解析

第58回春季日本歯周病学会学術大会

2015年5月15-16日

幕張メッセ(千葉県千葉市)

青山典生、鈴木淳一、金子誠、始平堂由佳、磯部光章、和泉雄一

若年の冠動脈疾患患者では *Porphyromonas gingivalis* に対する血清抗体価が高い

第139回日本歯科保存学会学術集会

2013年10月17-18日

秋田県総合生活文化会館(秋田県秋田市)

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

青山 典生 (AOYAMA, Norio)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究

科歯周病学分野・助教

研究者番号: 30611024