

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：30110

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26463141

研究課題名(和文) 歯周病原細菌とApoHの分子相同性がもたらす心臓血管系疾患の診断と治療

研究課題名(英文) Diagnosis and treatments of cardiovascular diseases associated with molecular mimicry between periodontopathic bacteria and ApoH

研究代表者

長澤 敏行 (Nagasawa, Toshiyuki)

北海道医療大学・歯学部・教授

研究者番号：90262203

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：多くの疫学研究により歯周炎が心臓血管疾患のリスクを増大させることが報告されているが、その直接的な機序は未だ明らかにされていない。申請者らは血栓を防止するタンパク質であるアポリポ蛋白H(ApoH, beta2glycoprotein I)と歯周病原細菌の間に分子相同性(molecular mimicry)が存在することに着目し、歯周病原細菌の感染によってApoHの機能を阻害する自己抗体が産生されて心臓血管系疾患のリスクなることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Epidemiological studies reported that periodontitis might increase the risk for cardiovascular diseases, but direct mechanisms are remains to be elucidated. We have focused on the molecular mimicry between periodontopathic bacteria and Apolipoprotein H (ApoH, beta 2 glycoprotein I), which inhibit the pathological thrombosis. Our study suggested that periodontal infection might augment the risk for cardiovascular diseases through the induction of auto-antibody that inhibit the function of ApoH.

研究分野：歯周病学

キーワード：molecular mimicry apolipoprotein H periodontitis auto-antibody Porphyromonas gingivalis

## 1. 研究開始当初の背景

歯周炎患者では心臓血管系疾患が重度である事が報告されている。申請者らも不安定狭心症に歯周病原細菌の感染が関与する事を報告した (Int Heart J. 2007 48: 663-75)。しかしアメリカ心臓病協会は、「歯周治療によって短期的に臨床検査値は改善するものの、歯周炎と心臓血管系疾患の因果関係は不明であり、心臓血管系疾患が予防できるというエビデンスは無い」と考察していた (Circulation 2012:125)。この論文では歯周炎が心臓血管系疾患に関与する十分なエビデンスがあると記載されている一方で、歯周炎が心臓血管系疾患を引き起こす直接的な機序は未だ明らかではないことが問題視されている。この例からも分かるように国内・国外の研究動向として、歯周炎が心臓血管系疾患を引き起こす直接的な機序の解明が待たれていた。

アポリポ蛋白 H (Apolipoprotein H, ApoH, 別名 beta2-glycoprotein I) は血漿中に約 0.2mg/ml の濃度で存在する蛋白で、血小板の活性を抑制して血栓ができるのを防ぐ事が知られている。さらに ApoH はマクロファージによる LDL の取り込みや、血管内皮細胞の機能に関与している。従って ApoH の機能異常は血栓をはじめアテローム形成や動脈硬化など、多くの心臓血管系疾患を引き起こすことが考えられる。

応募者は ApoH と歯周病原細菌に分子相同性 (molecular mimicry) が認められることに着目し、歯周病原細菌に対して産生された抗体の中には、ApoH に結合して ApoH の機能を阻害し得るものが認められることを報告した (Oral Microbiol Immunol 2008: 401-5)。

さらに歯周病原細菌の感染によって

ApoH と交差反応する抗体の上昇が認められ、バージャー病や、早産、低体重児出産のリスクを高めることを見出した。これらの研究成果を踏まえ、ApoH に対する歯周病原細菌の molecular mimicry は歯周病が心臓血管系疾患を引き起こす直接的な機序の一つではないかという着想に至った。

## 2. 研究の目的

喫煙、肥満、糖尿病などは歯周炎と心臓血管系疾患の両方のリスクファクターとして知られている。喫煙、肥満、糖尿病は全身に炎症を引き起こすため、CRP や血管内皮機能などの臨床検査値を悪化させる。これまで歯周炎は全身に炎症を起こす事によって心臓血管系疾患のリスクとなると考えられてきた。しかし既存の臨床検査では検査値の悪化が歯周炎によるものか、喫煙、肥満、糖尿病によるものなのかを評価する事はできない。

これまでのような一般的な臨床検査ではなく、歯周炎に特有で測定可能な検査が存在すれば、歯周炎による全身への直接的な影響を明らかにできる可能性がある。応募者は細菌の持つペプチドと、ApoH 上にあるペプチド配列をもとに歯周病原細菌に感染した際に作られる自己抗体の測定系を開発し、バージャー病や早産との関係を明らかにしてきた。

本研究では歯周炎に特有で測定可能なマーカーとして、ApoH に反応する自己抗体に着目した。これまで開発した測定系を検査システムへと発展させていくと同時に、病的な抗体が産生される分子メカニズムについても検討し、歯周炎による心臓血管疾患の診断・治療の基盤を構築することを目的として検討を行った。

### 3. 研究の方法

心臓血管系疾患における歯周病原細菌感染と、molecular mimicryによるApoHに対する自己抗体（ApoHおよびApoHと同一性のある細菌由来のペプチドに対する抗体）の関係について、研究期間内に以下の2点について検討した。

- 1) 全身性エリテマトーデス（SLE）患者では血栓が形成されやすく心臓血管系疾患のリスクが高いことが知られている。SLE患者を疾患群とし、歯周組織も含めて全身的に健康な健常者を対照群とした。歯周病原細菌の感染状態、hsCRPや血管内皮機能など内科検査、ApoHに対する血漿抗体を測定し、群間の比較を行った。この比較によって歯周病原細菌の感染によってApoHに対する血漿抗体がどの程度上昇し、その上昇が全身の炎症にどの程度影響を与えているか検討した。
- 2) 歯周病原細菌に感染した人すべてが心臓血管系疾患に罹患する事はないことから、ApoHに対する自己抗体が高い人では、自己抗体産生を防ぐ免疫系のチェック機構に問題がある可能性が考えられる。そこで自己反応性のVDJ遺伝子を発現するB細胞を取り除く機構(Negative selection)が働いているか検討するためにApoHに反応するB細胞のVDJ遺伝子を検討した。

### 4. 研究成果

- 1) 健常者と比較してSLE患者では有意にApoHに対する自己抗体価が高かった。特に活動期のSLE患者で*P.gingivalis*あるいは*P.gingivalis*と*T.denticola*が検出された患者では抗ApoH抗体価が高かった。また抗ApoH抗体はCRP

および赤血球沈降速度と有意な正の相関が認められた。これらのことからSLEの活動期においては、歯周病原細菌の感染によって抗ApoH抗体が上昇し、全身の炎症反応を悪化させることが示唆された。本研究結果より、SLE患者において心臓血管系疾患のリスクが高い一因として歯周病原細菌の感染が考えられた。

- 2) 歯周炎におけるB細胞のレパトアを検討する目的で、口腔（歯周組織・唾液）ならびに末梢血におけるVDJ領域の使用頻度をRT-PCR法によって検討したところ、VDJ遺伝子の使用頻度に顕著な特徴は認められなかった。今後更なる検討が必要であると思われる。

### 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 4 件)

1. Nakatsuka Y, Nagasawa T, Yumoto Y, Nakazawa F, Furuichi Y. Inhibitory effects of sword bean extract on alveolar bone resorption induced in rats by *Porphyromonas gingivalis* infection. *J Periodontal Res.* 2014 49(6) 801-9
2. Shimizu S, Momozawa Y, Takahashi A, Nagasawa T, Ashikawa K, Terada Y, Izumi Y, Kobayashi H, Tsuji M, Kubo M, Furuichi Y A Genome-wide Association Study of Periodontitis in a Japanese Population. *J Dent Res.* 2015 94(4) 555-561
3. Wang CY, Chyuan IT, Wang YL, Kuo MY, Chang CW, Wu KJ, Hsu PN, Nagasawa T, Wara-Aswapati N, Chen YW  $\beta$ 2-Glycoprotein I-Dependent Anti-Cardiolipin Antibodies Associated With Periodontitis in Patients With

Systemic Lupus Erythematosus. J  
Periodontol 2015 30:995-1004

4. 長澤敏行, 白井 要, 河野 舞, 加藤 幸紀, 森 真理, 古市保志: リン脂質に対する免疫応答を介した歯周炎と心臓血管疾患の関係 日歯周誌 58(3):98-106, 2016

〔学会発表〕(計 8 件)

1. 南原弘美, 長澤敏行, 小林宏明, 和泉雄一  
*P.gingivalis* LPS 刺激による細胞内クロストークを介する Wnt5a 遺伝子発現 第 57 回春季日本歯周病学会学術大会 長良川国際会議場、岐阜都ホテル 2014 年 5 月 22-24 日
2. 寺田 裕, 長澤敏行, 小西ゆみ子, 森 真理, 舞田健夫, 川上智史, 井出 肇, 辻 昌宏, 古市保志 高脂血症患者における高感度 CRP に対する歯周病の影響 第 57 回春季日本歯周病学会学術大会 長良川国際会議場、岐阜都ホテル 2014 年 5 月 22-24 日
3. 長澤敏行, 寺田 裕, 渡邊裕之, 小西ゆみ子, 森 真理, 舞田健夫, 川上智史, 井出 肇, 辻 昌宏, 古市保志 糖尿病薬, 降圧剤および脂質改善薬服用下の患者における高感度 CRP 値の上昇と重度歯周炎の関係 第 57 回秋季日本歯周病学会学術大会 神戸国際会議場、神戸国際展示場 2014 年 10 月 18-19 日
4. 渡邊裕之, 長澤敏行, 清水伸太郎, 寺田裕, 加藤幸紀, 小西ゆみ子, 森 真理, 舞田健夫, 川上智史, 井出 肇, 辻 昌宏, 古市保志 糖尿病を有する高脂血症患者における尿酸と *P.gingivalis* の関係 平成 28 年度第 59 回春季日本歯周病学会学術大会 かがしま県民交流センター 2016 年 5 月 19-20 日
5. 清水伸太郎, 長澤敏行, 渡邊裕之, 寺田裕, 小西ゆみ子, 森 真理, 舞田健夫, 川上智史, 井出 肇, 辻 昌宏, 古市保志

歯周組織の状態と高脂血症及び糖尿病との関連 平成 28 年度第 59 回春季日本歯周病学会学術大会 かがしま県民交流センター 2016 年 5 月 19-20 日

6. 長澤敏行: 歯科から見た糖尿病の合併症対策 第 8 回日本口腔検査学会 市民公開講座 平成 28 年 10 月 4 日 神奈川歯科大学 大講堂

7. Shimizu S, Nagasawa T, Kato S, Furuichi Y Association of Aae genotype of *A.actinomycescomitans* with periodontitis American Academy of Periodontology 100<sup>th</sup> Anniversary meeting, San Francisco, Sept 19-22, 2014

8. Watanabe H, Nagasawa T, Shimizu S, Terada Y, Kato S, Konishi Y, Mori M, Maida T, Kawakami T, Ide H, Tsuji M, Furuichi Y, Association of salivary *P.gingivalis* with serum antioxidants in hyperlipidemia patients American Academy of Periodontology 102<sup>nd</sup> Annual Meeting, San Diego, Sept 9-13, 2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

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

長澤敏行 (Nagasawa, Toshiyuki)  
北海道医療大学歯学部 教授  
研究者番号：90262203

(2) 研究分担者

辻 昌宏 (TSUJI, Masahiro)  
北海道医療大学 予防医療科学センター 教授  
研究者番号：70364271

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

( )