

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：32620

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670316

研究課題名(和文)肝機能異常に対する歯周病の影響を解明するための探索的疫学調査

研究課題名(英文)An epidemiological study to examine the effect of periodontal diseases on liver function

研究代表者

谷川 武(Tanigawa, Takeshi)

順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：80227214

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：歯周病による炎症性サイトカイン産生増加が、肝機能障害に悪影響を及ぼすことが考えられる。そこで我々は、歯周病と肝機能との因果関係についてその一端を明らかにするため探索的疫学研究を実施した。30-79歳の一般地域住民を対象とした横断研究の結果、近年簡易的な歯周病検査マーカーとして用いられている歯肉溝滲出液中のラクトフェリン濃度が高いほど、統計学的に有意に血清ALT、AST、ALP濃度が高かった($p<0.05$)。また、歯周病治療を介入した無作為化比較試験の結果、飲酒習慣のない男性では介入により血清ALTと γ -GTPの有意な改善が認められた。歯周病-肝機能障害には可逆的な関係があると推察された。

研究成果の概要(英文)：According to previous findings, we presumed that periodontal disease may cause liver dysfunction through the increase of proinflammatory cytokine. Therefore, we conducted an epidemiological study to find a causal-relationship between periodontal disease and liver function. Our cross-sectional study of general men and women aged 30-79 years showed that lactoferrin levels in gingival crevice fluid was positively associated with serum levels of ALT, AST and ALP ($p<0.05$). We also conducted a clinical trial to examine a treatment effect of periodontal disease on liver function and found that the treatment have significantly improved serum levels of ALT and gamma-GTP among men (but not women) without drinking habit. Thus, our findings suggested a possible causal-relationship between periodontal disease and liver function.

研究分野：疫学・予防医学

キーワード：歯周病 肝機能 観察型疫学研究 介入研究

1. 研究開始当初の背景

(1) 日本人における肝疾患予防の重要性

2008年の人口動態統計による日本人の死因の中で、肝疾患は16,229名、さらに悪性新生物の中では慢性肝炎および肝硬変を基盤として高頻度に発生する肝臓の悪性新生物によるものは、33,660名(男性22,329名、女性11,331名)とされている。肝疾患と肝の悪性新生物を加える49,889名となり、悪性新生物(342,849名)、心疾患(181,882名)、脳血管障害(126,944名)、肺炎(115,240名)に次ぐ死亡数となる。日本肝臓学会の会員による2008年の肝硬変成因別調査によると、非B・非C・非アルコールで肥満度が高く(Body Mass Index : BMI=27.6)、高血圧有病率は50.2%、糖尿病有病率が66.6%と、原因不明の肝硬変においてその頻度は増加している。肥満度が高い欧米での肝硬変の成因別での調査では、同様な非ウイルス非アルコール性の肝硬変が約半数を占め、食生活の欧米化が進み肥満度が高い沖縄県では原因不明の肝硬変の割合も10%以上で、日本の他の地域よりも高率である。また、わが国の人間ドック調査でも肝機能異常はもっとも頻度が高い異常項目で、さらに増加傾向にある。わが国においてはNAFLD (non- alcoholic fatty liver disease) からの年率発癌率は0~0.5%、NASH (non-alcoholic steatohepatitis)からの年率発癌率は0~2.8%と報告されているが、成人人口のNAFLD有病率は高く、増加傾向にあることから、肥満や生活習慣病に関連する肝細胞がんの増加が懸念にされる。また、肝機能異常は糖尿病発症リスクを高め、冠動脈疾患とのリスクであることも報告されている。以上のことから肝機能異常を改善することは、肝硬変・肝細胞がん・糖尿病・冠動脈疾患の予防に有効でないかと考えられる。

(2) 歯周病と肝疾患との関連性

歯周病は、慢性炎症を引き起こし、多くの炎症性サイトカイン産生する。肝臓は消化管からの外来抗原に曝露される臓器で、さらに全身の多くのサイトカインを処理している。また、肥満は歯周病とNAFLDの共通したリスクファクターであることから、歯周病による炎症性サイトカイン産生増加が肥満に伴う肝機能障害へ相加的に悪影響を及ぼすのではないかと考えられる。

2. 研究の目的

そこで、本研究は観察型疫学研究(横断研究)と介入研究の2手法を用いて、歯周病と肝機能との因果関係についてその一端を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 観察型疫学研究(横断研究)

① 対象・デザイン

本研究は、申請者らが主体となって2009年から、愛媛県東温市地域住民を対象として

詳細健診を実施してきた疫学研究である、「東温スタディ」において実施した。東温スタディでは、2011年から歯周病検査を実施している。そこで、本研究では、2011~2012年に30~79歳の一般住民男女924名を対象とし、横断研究のデザインで解析を行った。

なお本研究は、愛媛大学大学院医学系研究科ならびに順天堂大学医学部の倫理委員会の承認を得て実施した。

② 歯周病検査

1) ポケットの深さ(Probing pocket depth : PPD)計測

コンタクトプローブ(CO12:日本歯研工業株式会社製)を使用して、事前にWHOが提唱する地域歯周疾患指数(Community Periodontal Index : CPI)の標準化プログラムに準じてキャリブレーションを行った2名の測定者(歯科医師と歯科衛生士)により1歯につき6点を計測した。コンタクトプローブは、プロービング圧が20gになった時にコンタクトポイントが接触するように設計されたため、数値のバラつきが少なく正確な測定が可能となる特性を持っている。

2) プロービング時の出血(Bleeding on probing : BOP)

歯周検査時の出血を1歯4か所(近心、頬側、遠心、舌側)測定し、出血点の合計数から出血箇所の割合を計算し、口腔内の炎症を評価した。

$BOP = (\text{出血点合計数} / \text{残存歯数} \times 4) \times 100(\%)$

3) 唾液検査

対象者には、事前に当日の朝は歯磨きを行わないこと、前日の21:00以降は絶食とすることを周知した。健診会場において専用の無糖ガムを5分間咀嚼させ、採取した唾液すべてを専用容器に入れた。採取した唾液は直ちに冷蔵保存し、同日中に検査室へ搬送し検査した。乳酸脱水素酵素値は標準化対応法により、遊離ヘモグロビン値は免疫測定法により測定した。

4) 歯肉溝バイオマーカー検査

歯肉溝バイオマーカー検査のブラシ状の採取器具で歯周部分にあて検体(歯肉溝滲出液)を採取し、保存液の入ったプラスチックチューブ中に入れて搬送、保存した。測定項目はラクトフェリン(歯周炎症が亢進時に増加)、ならびに $\alpha 1$ アンチトリプシン(血液成分の滲出あるいは出血の指標)を測定した。ただし本検査は2012年から実施している。

③ 肝機能ならびにその他検査項目

本研究では、受診者は10時間以上の絶食後、空腹時に採血を実施し肝機能指標であるALT、AST、 γ -GTP、ALPさらに総コレステロール、LDL、HDL-コレステロール、中性脂肪、血清高感度C反応性たんぱく(CRP)、

ならびに 75g 経口ブドウ糖負荷試験 (OGTT) を行い、空腹時、負荷後 1 時間、2 時間の血糖値ならびにインスリン値を測定、さらにインスリン抵抗性の指標である HOMA 指数 (Homeostatic model assessment 指数)、インスリン感受性の指標である Matsuda Index を算出した。

身長、体重を実測し、Body mass index (BMI) を算出した。また、安静時血圧を測定した。さらに、医師が健診の場において服薬状況の確認を確認した。

④ 生活習慣

生活習慣問診票において、喫煙習慣、飲酒習慣を、疫学調査用の身体活動量調査質問紙 Japan Arteriosclerosis Longitudinal Study Physical Activity Questionnaire (JALSPAQ) を用いて、身体活動量 (Metabolic equivalents : Mets・時/日) を算出した。

⑤ 解析

本研究では、肝機能指標である ALT、AST、 γ -GTP、ALP について、残存歯数、BOP、唾液中乳酸脱水素酵素、ヘモグロビン濃度、歯肉溝滲出液中のラクトフェリン、 $\alpha 1$ アンチトリプシンを三分位にして、性・年齢・肥満度・現在の喫煙、飲酒習慣の有無、身体活動量を調整因子とした共分散分析、回帰分析を用いて分析した。

有意水準は $p < 0.05$ とし、検定は両側検定で行った。統計解析には、SAS 9.4 (SAS Institute Inc.) を用いた。

(2) 介入研究

① 対象・デザイン

本研究の対象者は、東温スタディに 2011~2012 年に参加した 924 名のうち、糖尿病境界型 (空腹時血糖値 110~125mg/dl ないし 75g OGTT 2 時間値 140~199 mg/dl) と判定された 185 名のなかで、要治療と診断された者と、その時点で既に内服治療を受けている者を除き、この研究への参加を希望した 74 名 (平均年齢 66.5 \pm 7.64 歳) を対象とした。しかしながら、研究途中で脱落した者が 3 名おり、実際の解析対象は 71 名である。

研究デザインは、対象者を 1~6 ヶ月に歯周治療と歯科保健指導を実施する「前期介入群」(n=38) と、7~12 ヶ月に歯周治療と歯科保健指導を実施する「後期介入群」(n=36) に無作為割り付けしたクロスオーバー無作為化比較試験である (愛媛大学医学部倫理委員会承認番号 : 疫 23-6, UMIN000014585)。

「前期介入群」、「後期介入群」両群に対して 1~6 ヶ月に医師による運動指導と管理栄養士による栄養指導を行うと同時に「前期介入群」に対して 1 名の歯科医師による歯周治療と歯科保健指導を行い、7~12 ヶ月に「後期介入群」に対して同じ歯科医師による歯周治療と歯科保健指導を行った。

ベースライン時、6 ヶ月後、12 ヶ月後、両

群に対して歯周病検査、血液検査、その他の検査を実施した。

② 評価指標

歯周病評価については、以下の指標を評価した。評価方法は、(1) 観察型疫学研究 (横断研究) と同じである。

- 1) ポケットの深さ (Probing pocket depth : PPD) 計測
- 2) プロービング時の出血 (Bleeding on probing : BOP)
- 3) 唾液検査

③ 肝機能ならびにその他検査項目

本研究では、(1) 観察型疫学研究 (横断研究) と同様に、受診者は 10 時間以上の絶食後、空腹時に採血を実施し肝機能指標である ALT、AST、 γ -GTP、ALP を評価した。その他の検査項目も (1) 観察型疫学研究 (横断研究) と同じである。

④ 生活習慣

(1) 観察型疫学研究 (横断研究) と同様に、生活習慣問診票において、喫煙習慣、飲酒習慣を、疫学調査用の身体活動量調査質問紙 Japan Arteriosclerosis Longitudinal Study Physical Activity Questionnaire (JALSPAQ) を用いて、身体活動量 (Metabolic equivalents : Mets・時/日) を算出した。

⑤ 介入方法

「前期介入群」に対しては 1~6 ヶ月、「後期介入群」に対しては 7~12 ヶ月に 1 名の歯科医師による歯石除去と歯根面研磨 (スケーリング・ルートプレーニング : SRP) と歯周病予防効果のある含嗽剤 (グルコン酸クロルヘキシジン配合) による含嗽指導を行った。また保存不可能な歯は抜歯した。それに加えて歯科医師と歯科衛生士による歯科保健指導を行った。また口腔内を清潔に保つため、歯科衛生士による PMTC (Professional Mechanical Tooth Cleaning) を月 1 回行った。

⑥ 解析方法

歯周病治療の効果をみるため、各被験者の介入前後の肝機能指標検査値それぞれの変化量を算出し、前期介入・後期介入群、介入時期、歯周病治療介入の有無の変数を投入した、一般線形モデルにより、歯周病治療介入効果について解析を行った。さらに本解析を性別、飲酒習慣別での層別化して実施した。

4. 研究成果

(1) 観察型疫学研究 (横断研究)

残存歯数、BOP、唾液中乳酸脱水素酵素、ヘモグロビン濃度、歯肉溝滲出液中のラクトフェリン、 $\alpha 1$ アンチトリプシンと血清 ALT、AST、 γ -GTP、ALP との関連を分析した結果、歯肉溝滲出液中のラクトフェリン濃度が高いほど統計学的に有意に血清 ALT、AST、ALP

濃度が高かった ($p<0.05$)。α1 アンチトリプシン濃度も高いほど血清 ALP 濃度が高かった ($p<0.05$) (表 1)。

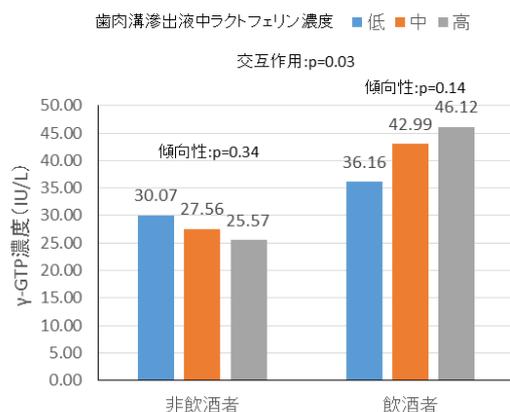
表1. 歯肉溝滲出液中ラクトフェリン濃度別肝機能指標の多変量調整平均値

	歯肉溝滲出液中ラクトフェリン濃度			傾向性
	低	中	高	
AST, IU/L	22.38	22.75	24.82	0.01
ALT, IU/L	21.59	22.18	24.34	0.04
γ-GTP, IU/L	34.28	37.27	37.69	0.47
ALP, IU/L	206.53	225.04	229.43	0.01

性、年齢、喫煙習慣(有無)、飲酒習慣(有無)、身体活動量(METs・時/日)、BMIで調整

他の歯周病指標との関連はみられなかった。さらに、現在の飲酒習慣で層別した結果、非飲酒者では歯肉溝滲出液中のラクトフェリン、α1 アンチトリプシンともに濃度高いほど血清 AST 濃度が高く、一方で飲酒者ではラクトフェリン濃度が高いほど有意に血清 ALT、AST、ALP 濃度が高かった。特にγ-GTP ではその傾向が明らかであった(飲酒習慣との交互作用 $p=0.03$) (図 1)。

図1. 飲酒習慣別歯肉溝滲出液中ラクトフェリン濃度とγ-GTP濃度との関連



(2) 介入研究

介入(歯周病治療)により歯周ポケットの最大値ならびに BOP は有意に改善した ($p<0.01$)。しかしながら、集団全体としては介入による肝機能指標の改善傾向はみられたものの統計学的に有意な変化ではなかった(図 2)。

性別、飲酒習慣別での層別解析を行った結果、飲酒習慣ありの者や女性では改善傾向はみられなかったが、男性の非飲酒者では、介入により ALT と γ-GTP の有意な改善が認められた(図 3-4)。

以上の結果から、歯周病指標と肝疾患指標は、飲酒習慣等の留意が必要だが関連する可能性が示された。

図2. 歯周病治療による血清ALT濃度への介入効果(全体)

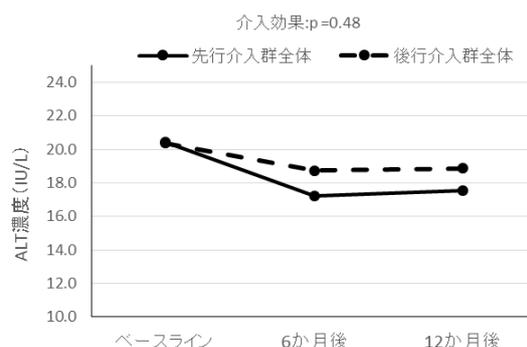


図3. 飲酒習慣別歯周病治療による血清ALT濃度への介入効果(男性)

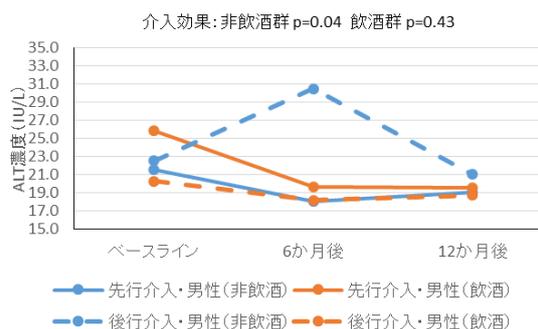
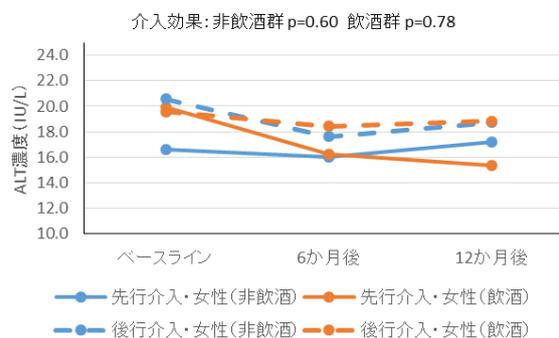


図4. 飲酒習慣別歯周病治療による血清ALT濃度への介入効果(女性)



5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 1 件)

- ① 三好規子, 他 (13 人中 1 人目). 全身炎症反応と口腔内炎症反応との関連. 第 73 回日本公衆衛生学会総会. 2014 年 11 月 5 日. 栃木県宇都宮市.

6. 研究組織

(1)研究代表者

谷川 武 (TANIGAWA, Takeshi)
順天堂大学大学院医学研究科・教授
研究者番号：80227214

(2)研究分担者

斉藤 功 (SAITO, Isao)
愛媛大学大学院医学系研究科・教授
研究者番号：90253781

丸山 広達 (MARUYAMA, Koutatsu)
順天堂大学大学院医学研究科・助教
研究者番号：20627096

古川 慎哉 (FURUKAWA, Shinya)
愛媛大学大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：60444733

江口 依里 (EGUCHI, Eri)
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：60635118