

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20616

研究課題名(和文)心肥大の新たなリスク因子としての歯周病原細菌感染

研究課題名(英文)Periodontal pathogenic infection of risk factor of myocardial hypertrophy

研究代表者

吉田 明日香(Yoshida, Asuka)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：30749487

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：近年、歯周炎は、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きた。我々は以前、基礎実験から、特定の歯周病原細菌感染が圧負荷心肥大、心臓の間質の線維化、血管周囲組織の線維化を促進し、心機能を低下させ、炎症性マーカーの発現を亢進させることを明らかにした。本研究の目的は、実験的モデルマウスを用い、歯周病原細菌感染が心肥大に与える影響とその機序を検討することとした。結果として、他の特定の歯周病原細菌感染によって心臓肥大を悪化させてしまうことと、特定の細胞表面に存在するタンパク質受容体を介して、心臓の間質の線維化の抑制と、炎症性マーカーの発現の抑制が起こることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Recently, it's reported that periodontitis is possibility of risk factor of cardiovascular diseases. We revealed that pressure overload induced cardiac hypertrophy, intercellular fibrosis and perivascular fibrosis are accelerated by infection of periodontal pathogen. The purpose of this study was to reveal how to affect infection of periodontal pathogen to cardiac hypertrophy. It's revealed that infection of the other periodontal pathogen deteriorate cardiac hypertrophy and through the protein receptor there was on the cell surface, intercellular fibrosis and expression of inflammation marker were suppressed

研究分野：歯周病学分野

キーワード：歯周病

1. 研究開始当初の背景

歯周炎は、中・高齢者において特に罹患率の高い感染性疾患であり、歯肉の炎症、歯周支持組織の破壊や歯の喪失を特徴とする慢性炎症性疾患であると言われている。歯周炎における歯周組織破壊の際、炎症性細胞は Tumor Necrosis Factor (TNF)-alpha、Interleukin (IL)-1 beta、IL-6、IL-8、Prostaglandin E2、Matrix Metalloproteinase (MMPs)などのサイトカインやマトリックス分解酵素を分泌するが、なかでも MMPs は重要な役割を担う。特に、MMP-2、MMP-9、MMP-13 は歯周炎における歯肉細胞外マトリックス破壊に関与しており、歯周炎患者の血液からは高濃度の MMP-9 が検出されるという報告がある。

一方、心肥大は、高血圧や動脈虚血により導かれる圧負荷状態を補償するための適応反応である。この反応過程においては、心筋細胞の肥大化と細胞外マトリックスの病的変化が起こり、MMP-2、MMP-9、Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase (TIMP)-1、TIMP-2、Brain Natriuretic Peptide (BNP)などの発現が亢進するが、特に、MMPs は細胞外マトリックス環境を維持するという点で重要な役割を担っていると言われている。また、心肥大は、高度になると心機能の低下をきたし、死に至る恐ろしい病気であり、厚生労働省が平成 23 年に実施した人口動態事象を把握した人口動態統計によると、心肥大を含む心疾患は平成 23 年 1 年間の死因別死亡総数のうち、死因別死亡数全体の 15.6 パーセントを占めており、悪性新生物に続く第 2 位の死亡要因となったことから、病態解明は急務である。

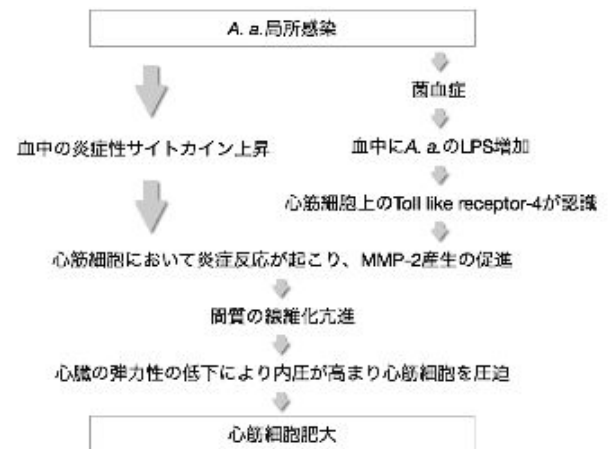
近年、歯周炎は、循環器疾患のリスクとなる可能性があることや、菌血症の原因となることが報告されてきた (Dietrich T et al., Circulation, 2008)。我々は以前、動物モデルを用いた基礎実験から、主要な歯周病原細菌である *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

(*A. actinomycetemcomitans*) が、圧負荷心肥大、間質の線維化、血管周囲組織の線維化を促進した結果、心機能を低下させたことおよび、*A. actinomycetemcomitans* は MMP-2 発現を亢進することにより、心肥大が悪化することを報告した。我々の報告から、*A. actinomycetemcomitans* 感染によって MMP-2 発現が上昇し、心肥大の悪化に影響すると考えられるが、*A. actinomycetemcomitans* がマウスの体内でいかに認識され、MMP-2 発現を上昇させたかという機序の解明が、次なる検討課題となっている。そこで着目したのが、Toll 様受容体 (Toll-like receptor: TLR) である。*A. actinomycetemcomitans* をはじめとする多くの歯周病原細菌は、TLR により認識されることが報告されている (Kikker R et al., Oral

Microbial Immunol, 2007)。TLR は自然免疫反応に関わる主要な受容体であり (Martin M et al., J Immunol, 2003)、細菌が TLR により認識されると、様々な炎症性サイトカインが合成され、炎症反応が進むといわれている。

近年、歯周炎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。我々は以前、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心肥大を悪化させることを明らかにした。しかしながら、さらなるメカニズムや、他の歯周病原細菌感染と心肥大の関連については明らかとなっていない。

実験的モデルマウスにおいて、歯周病原細菌感染が圧負荷心肥大に及ぼす影響に対して考察される機序について、以下に図示した。



2. 研究の目的

本研究の目的は、実験的モデルマウスを用い、歯周病原細菌が心肥大に与える影響とその機序を検討することであった。

3. 研究の方法

7 週令の野生型オスマウス (C57BL/6) と、TLR-2 ノックアウトマウスを購入し、週令を統一して使用した。

細菌感染のためのスペースとして、歯科矯正用ステンレスワイヤーを用いて成型したコイル (長さ 10mm、直径 5mm) を 7 週令のマウスの背部皮下に埋め込み、創部の治癒を待った (Methods Enzymol 1994)。

コイルを埋入後 14 日で、実験的に心肥大モデルを誘導した。本研究では、大動脈縮窄術 (transverse aortic constriction: TAC) を採用した。マウスに全身麻酔をかけた後、開胸し、大動脈弓上に 27 ゲージの針を留置し、血管および針を同時に縫合後、すぐさま針を抜き取ることによって、実験的圧負荷心肥大モデルを作製した。

実験群では歯周病原細菌の PBS 懸濁液

(10⁸CFU/ml, 0.1ml)を、開胸手術後、7、14 および 21 日目に注入し、対照群では同じタイミングで同量の PBS のみを 0.1ml ずつ注入した。

菌感染スペース内に持続的に歯周病原細菌が生存するかを明らかにし、実験スケジュールが適切であったかを立証するために、菌感染スペース内の検体を毎日採取し、歯周病原細菌が生存するかどうかを培養法を用いて計測した。

次に、心肥大とは血圧上昇に伴い生じる病態であるので、血圧上昇を認めるポイントがある可能性が高い。以上の事象を確認するため、心肥大誘導後 7 日で血圧測定を行った。また、心肥大誘導後 28 日で超音波検査を行うことで、心機能の変化を観察した。

また、RT-PCR 法を行い、心臓における種々の mRNA 発現を測定した。

4 . 研究成果

実験的モデルマウスにおいて、我々が以前に明らかにした歯周病原細菌ではない他の特定の歯周病原細菌感染によって、心筋細胞の肥大を助長させてしまうこと、その結果として、心臓肥大を悪化させてしまうことが明らかとなった。

心臓肥大の状態は、他の特定の歯周病原細菌感染によって助長されてしまうが、特定の細胞表面に存在するタンパク質受容体を介することによって、心臓の間質の線維化の抑制と、MMP-2 などの mRNA の発現の抑制が起こっていたことが明らかとなった。

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 3 件)

Kaneko Makoto, Suzuki Jun-ichi, Aoyama Norio, Watanabe Ryo, Yoshida Asuka, Shiheido Yuka, Izumi Yuichi, Isobe Mitsuaki

Toll-like receptor-2 has a critical role in a periodontal pathogen-induced myocardial fibrosis in the pressure-overloaded murine hearts.

査読あり、Hypertension research 2017, Feb;40(2):110-116., doi:10.1038/hr.2016.117. Epub 2016 Sep 1.

Sato H, Suzuki JI, Aoyama N, Watanabe R, Kaneko M, Shiheido Y, Yoshida A, Wakayama K, Kumagai H, Ikeda Y, Akazawa H, Komuro I, Isobe M, Izumi Y.

A periodontal pathogen Porphyromonas gingivalis deteriorates Isoproterenol-induced myocardial remodeling in mice.

査読あり、Hypertension research 2017 Jan;40(1):35-40. doi: 10.1038/hr.2016.114. Epub 2016 Sep 8.

Suzuki JI, Sato H, Kaneko M, Yoshida A, Aoyama N, Akimoto S, Wakayama K, Kumagai H, Ikeda Y, Akazawa H, Izumi Y, Isobe M, Komuro I
Periodontitis and myocardial hypertrophy.

査読あり、Hypertension research 2017 Apr;40(4):324-328. doi: 10.1038/hr.2016.146. Epub 2016 Nov 10.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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

吉田 明日香 (YOSHIDA Asuka)
東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員
研究者番号：30749487

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者 ()