

平成 22 年 5 月 28 日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19592420  
 研究課題名（和文） 口腔の健康状態と生活習慣病との関連の解明  
 - 歯周炎の早期発見・治療への応用 -  
 研究課題名（英文） Elucidation of the relevance between oral health and common systemic diseases -an approach for early detection and treatment of periodontitis-  
 研究代表者  
 長野 豊 (NAGANO YUTAKA)  
 大阪歯科大学・歯学部・講師  
 研究者番号：80228048

## 研究成果の概要（和文）：

この研究では中年の健常者で歯周状態と全身的な指標の関連を検討し、歯周に何らかの所見がある者には、生活習慣病関連の指標に異常値が多く見られる傾向があることを明らかにした。また多数の歯の喪失につながる歯槽骨の吸収について、慢性炎症の病巣に多く見られる単球がマクロファージへと分化する際に、骨吸収を制御する分子であるosteoprotegerinの発現が誘導されることをin vitroの実験で明らかにした。これらは歯周病の早期発見と治療に有用な結果であり、今後の応用に結びつけたいと考えている。

## 研究成果の概要（英文）：

In this project, we investigated the relevance of periodontal condition and markers for common systemic diseases. The results revealed that, in middle-aged subjects, the abnormalities of systemic data were seen more frequently in subjects with periodontal problems. We also looked at the mechanisms of bone resorption under chronic inflammatory condition, and demonstrated that osteoprotegerin, a molecule that regulates bone resorption, was clearly induced when monocytes differentiate into macrophages. The results are considered to be useful for early detection of periodontitis and prevention of alveolar bone loss.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

## 研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・社会系歯学

キーワード：社会歯学・内科・歯学・メタボリックシンドローム・歯周炎

## 1. 研究開始当初の背景

世界有数の長寿国となったわが国では、介護を要する高齢者が増え続けている。今

後長期間にわたって続いて行くことが確実な高齢社会を築き多量のものとするためには、単なる寿命の延長ではなく、心身ともに健

康な状態での寿命，すなわち健康寿命をいかに延ばすかが重要であることは言うまでもない．このため，脳血管疾患や虚血性心疾患をはじめとして，後遺症が **quality of life (QOL)** に大きく影響する動脈硬化性疾患の予防が重視されており，生活習慣病治療ガイドラインの設定をはじめとするさまざまな対策が進められている．

口腔領域の生活習慣病とも位置づけられる歯周病は，多数の歯の喪失を引き起こすことから，やはり **QOL** を著しく低下させる原因となる疾患であり，早急な対策が待ち望まれている．生命科学の進歩によってさまざまな疾患の発生メカニズムの詳細が明らかにされ，局所疾患と全身性疾患との関連についても理解が深まってきたが，これに伴って歯周病と動脈硬化症やメタボリックシンドローム，骨粗鬆症などとの関連についても，おもに諸外国からの報告が相次いでいる．しかし，わが国では歯学部と医学部，ないし歯科医師と医師の連携が必ずしも十分とは言えないこともあって，歯周病を含めた口腔の健康とメタボリックシンドロームや生活習慣病との関連について，明確なデータがない．また，社会人に対する歯科検診が十分には行きわたっておらず，歯周病の発見が遅れがちになっていることも否定できない．

そこで全身疾患と歯周病の関連を明らかにすることによって歯周病の予防に結びつけ，口腔の，引いては全身の **QOL** を向上させたいと考え，この研究を行った．

## 2. 研究の目的

近年，骨粗鬆症や生活習慣病，動脈硬化性疾患と歯周病との関連について，海外から多くの報告が見られる．しかし，わが国における検討はいまだ不十分である．そこでこの研究では，口腔の健康状態と生活習慣病との関連について検討し，わが国における疫学的データを得たいと考えている．そのためにまず，生活習慣病の諸因子と歯周状態との関連について，断面調査を行って解明する．さらに通常の健康診断で得られる検査データなどから歯周病のリスクが高い者を抽出する方法を確立して，歯周病の早期発見に役立てたい．

いっぽう，歯の喪失の原因である歯槽骨の吸収メカニズムに関しても，歯周病が慢性炎症である点に注目し，病変に多く見られる単

球が骨吸収にどう影響を及ぼすかを明らかにしたい．

得られた結果を歯周病の早期発見と骨吸収への対策，そして高齢社会における **QOL** の改善に結びつけることが，この研究の最終的な目標である．

## 3. 研究の方法

(1) 大学教職員健康診断の受診者のうち，同意が得られた40歳から67歳の男性151名，女性58名，計209名を対象者とした．口腔内を上顎と下顎の前歯部と左右臼歯部，合わせて6部位に分け，それぞれの部位で定められた歯の周囲をプロービングによって診査し，以下の判定基準に従って **Community Periodontal Index (CPI)** を判定，口腔内の6部位から得られた **CPI** の最大値(max CPI)によって対象者の歯周状態を評価した．

(表1) **CPI** の判定基準

0 : 正常
1 : 出血あり
2 : 歯石あり
3 : 深さ4-5mmの歯周ポケットあり
4 : 深さ6mm以上の歯周ポケットあり

対象者の身体測定値(身長，体重，血圧)と検査データ(**GOT**，**GPT**， $\gamma$ **GTP**，総コレステロール(**TC**)，**LDL**コレステロール(**LDL-C**)，**HDL**コレステロール(**HDL-C**)，トリグリセライド(**TG**)，尿酸(**UA**)，血糖(**BS**)，**HbA1c**，**CRP**，**IRI**)は健診の際の測定値を利用して検討した．

以上の研究内容については，あらかじめ大阪歯科大学医の倫理委員会の承諾(第070504号)を得た上で行った．

(2) 歯周病が歯槽骨の骨吸収をきたすメカニズムを解明するために，歯周病をはじめとする慢性炎症性病変に多くみられる単球系細胞の骨吸収への関与について検討した．

10%**FCS**含有 **RPMI1640** で培養したヒト単球系白血病細胞株 **THP-1** 細胞に，**phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)**による刺激を加えて付着性のマクロファージに分化させ **total RNA** を抽出，**RT-PCR** 法により **osteoprotegerin (OPG)**，**receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ -B (RANK)**，および **RANK ligand (RANKL)** の **mRNA** を増幅し， $\beta$ -actin の発現を対照として

アガロースゲルのバンドの濃さにより mRNA の発現量を比較検討した。OPG mRNA については real time PCR 法にても定量評価した。

#### 4. 研究成果

(1) 対象者の性別、年齢別の max CPI の分布を表 1 に示す。

(表 2)対象者の歯周状態

max CPI		0	1	2	3	4	計
男性	40-49 歳	18	6	17	11	1	53
	50 歳以上	9	9	30	35	15	98
女性	40-49 歳	20	1	5	2	0	28
	50 歳以上	10	3	8	9	0	30

max CPI が 0、すなわち歯周状態が正常な群 (n=57) と、0 以外の有所見者群 (n=152) を比較すると、有所見者は男性に多く、年齢、血圧、体重、UA、 $\gamma$  GTP、TG、LDL-C/HDL-C 比が有所見者群で有意に高かった。対象を 40 代の男女 (n=81) に限定して同様に比較すると、両群間の年齢に有意差はなかったが、やはり有所見者は男性に多く、体重、血圧、 $\gamma$  GTP、TG、UA が有所見者群で高値だった。対象を女性 (n=58) に限定して両群を比較すると、年齢のほか  $\gamma$  GTP、TC が有所見者群で高かった。

いっぽう、max CPI が 2 まで、すなわち炎症が歯肉にとどまり歯周組織へ波及がないと考えられる群と、max CPI が 3 か 4 で歯周に炎症があると考えられる群を比較したところ、表 2 のような結果が得られた。

(表 3) max CPI 2 以下と 3 以上の群間比較

	年齢	歯周状態と関連する因子
男性	40-49 歳	TG
	> 50 歳	拡張期血圧
女性	40-49 歳	なし
	> 50 歳	GOT, $\gamma$ GTP

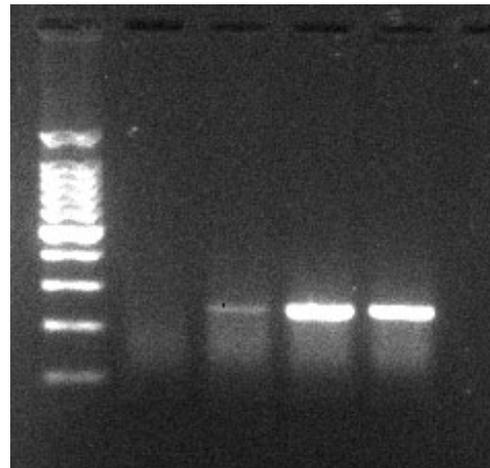
いっぽう BMI や高感度 CRP、糖尿病関連の因子などには両群間で有意差が見られなかった。

以上より、健常者において、歯周状態の変化を全身的な指標からとらえることができる可能性が示唆された。

(2) 培養 THP-1 細胞に PMA を加えて刺激す

ると、刺激前にはみられなかった OPG の mRNA が誘導され、その発現は 200nM の PMA 刺激を 2 日間行った時に最大であった。この OPG mRNA の誘導は、real time PCR でも同様に確認された。いっぽう RANK および RANKL はいずれも PMA 刺激前から THP-1 細胞で発現がみられ、PMA 刺激によっても mRNA の発現に有意な変化はみられなかった。

(図 1) PMA 刺激による OPG の誘導 -mRNA 発現を RT-PCR により比較-



左から 2 列目より右へ、PMA 刺激前、刺激 1 日後、同 2 日後、同 3 日後の THP-1 細胞における OPG mRNA の発現を示す。最左列はマーカー。

この結果より、単球がマクロファージへと分化する際に、分泌タンパクである OPG の発現が誘導されることが明らかになった。OPG は破骨細胞の成熟を妨げる方向に作用することから、歯周病病変の局所における歯槽骨吸収を抑制する可能性があると考えられる。進行した歯周病病変では骨吸収がみられるが、その原因としては、マクロファージ以外の細胞における RANK、RANKL ならびに OPG の発現の変化が in vivo での骨吸収に影響していることや、病変の進行にともなってマクロファージにおけるこれらの分子の発現が変化している可能性などが原因として考えられる。

(3) 以上の結果から、全身的な健康の指標、特に生活習慣病の指標に異常値が見られる者に、歯周状態の問題が多いことが示唆された。わが国では全身的な健康保持を目的として、生活習慣病などに対する対策が進められ

ているが、歯周病への対策は必ずしも十分とは言えない。歯周状態を把握に簡便かつ有用なマーカーの同定をさらに進め、歯周状態の精査を要する対象者を全身的な健診の結果から絞り込めるようにして、歯周病の効率的な早期発見に結びつけたい。

いっぽう、単球のマクロファージ化が骨吸収に対して抑制的に作用する可能性を明らかにできたが、これをもとに今後、炎症病変局所での OPG 発現をさらに高める方法を開発するなどの工夫を加えて、歯周病による骨吸収の抑制に応用したいと考えている。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

①NOTOHARA Y, NAGANO Y, DOMAE N, UEDA M. Induction of osteoprotegerin mRNA during differentiation of monocytes into macrophages. J Osaka Dent Univ 2009;43:37-42. 査読有

②GODA S, INOUE H, KANESHITA Y, NAGANO Y, IKEO T, IIDA J, DOMAE N. Emdogain stimulates matrix degradation by osteoblasts. J Dent Res 2008 ; 87(8) : 782-787. 査読有

[学会発表] (計 5 件)

①能登原 靖宏他. 白血球細胞での osteoprotegerin 発現の誘導と歯周病病変における意義. 日本歯周病学会 2009 春季学術大会 (第 52 回). 2009 年 5 月 15 日. 岡山コンベンションセンター (岡山県).

②能登原 靖宏他. 単球系細胞のマクロファージ化に伴う osteoprotegerin mRNA の誘導. 第 516 回大阪歯科学会. 2008 年 12 月 13 日. 大阪歯科大学 (大阪府).

③長野 豊他. 動脈硬化の危険因子と歯周状態との関連. 第 40 回日本動脈硬化学会総会. 2008 年 7 月 10 日. つくば国際会議場 (茨城県).

④NOTOHARA Y 他. Osteoprotegerin is induced during differentiation of monocytes. The American Academy of Periodontology 94th Annual Meeting. 2008

年 9 月 7 日. Seattle, USA.

⑤能登原 靖宏他. THP-1細胞のマクロファージ化に伴う osteoprotegerin mRNA の誘導. 日本歯周病学会2008春季学術大会 (第52回). 2008年4月25日. 大宮ソニックシティ (埼玉県).

[図書] (計 3 件)

①長野 豊. 動脈硬化. 臨床分子細胞生物学メディカルレビュー社 2009 ; 267-276.

②長野 豊. プロブコール. 酸化ストレスと心血管病. 東京: 日本医学出版, 2007: 237-242.

③長野 豊. 高脂血症・動脈硬化. 新臨床栄養学. 東京: 医学書院, 2007 : 334-341.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

なし

○取得状況 (計 0 件)

なし

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

長野 豊 (NAGANO YUTAKA)  
大阪歯科大学・歯学部・講師  
研究者番号 : 80228048

##### (2)研究分担者

堂前 尚親 (DOMAE NAOCHIKA)  
大阪歯科大学・歯学部・教授  
研究者番号 : 60115889  
神原 正樹 (KAMBARA MASAKI)  
大阪歯科大学・歯学部・教授  
研究者番号 : 90103085  
三宅 達郎 (MIYAKE TATUROU)  
大阪歯科大学・歯学部・准教授  
研究者番号 : 40200141

##### (3)連携研究者

なし