

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K10287

研究課題名（和文）全身主要血管壁内における歯周病原性菌の存在分布—脳血管障害による死亡例をもとに

研究課題名（英文）Distribution of periodontopathogenic bacteria in major systemic blood vessel walls - based on a case of death due to cerebrovascular accident

研究代表者

竹内 明子（Takeuchi, Akiko）

北海道大学・医学研究院・特任助教

研究者番号：00867179

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）：口腔内の歯周病原菌と全身主要血管への影響について検証した。法医学解剖体の口腔内から細菌採取を行いPCR検査にて歯周病原菌を同定した。このうち77.3%の症例で複数の歯周病原菌が検出された。歯周病原菌が検出された症例の50%でPorphyromonas gingivalis (P.g)が認められた。口腔内におけるP.gの有無と死後全身CTにて抽出した主要大血管の石灰化領域との比較から、口腔内にP.gが存在する場合、全身大血管における石灰化領域が多く、血管の動脈硬化がみられる可能性が高いと考えられた。これらの血管壁内からのP.g検出は困難であり、血管壁内における存在分布の検証には至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性炎症としての歯周病は、口腔内に存在する歯周病原菌による細菌感染により起こり、糖尿病や心・冠動脈疾患などのさまざまな全身疾患のリスク因子と考えられている。歯周病原菌の一種であるPorphyromonas gingivalis (P.g)は、血管内皮に付着することから、アテローム性動脈硬化との関連が考えられている。今回、口腔内におけるP.gの存在と全身主要血管における石灰化領域の比較から、歯周病原菌(P.g)と血管の動脈硬化の程度に正の相関があることが示唆された。ただし、血管壁におけるP.g存在分布の比較として有意な結果は得られず、今後さらなる検討が必要と考えられた。

研究成果の概要（英文）：We examined periodontal bacteria in the oral cavity and their effects on major systemic blood vessels. Bacteria were collected from the oral cavity of forensic autopsies, and periodontal bacteria were identified by PCR testing. In 77.3% of the cases, multiple periodontal pathogens were detected. Porphyromonas gingivalis (P.g) was found in 50% of the cases in which periodontopathogenic bacteria were detected. Comparison of the presence of P.g in the oral cavity with the calcified areas of major large blood vessels extracted by postmortem whole-body CT showed that the presence of P.g in the oral cavity was associated with more calcified areas in the large blood vessels throughout the body, suggesting a high likelihood of vascular atherosclerosis. Detection of P.g within the walls of these vessels was difficult, and the distribution of its presence within the vessel walls could not be verified.

研究分野：社会歯科学

キーワード：歯周病原菌 死後画像 PCR P. gingivalis

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

歯周病は、歯の周りにおける組織が細菌感染することから起こる慢性炎症性疾患である。年齢が高くなるにつれて、歯周病の罹患率や進行度が高い傾向があり、日本国内では、成人の70~80%が歯周病に罹患しているともいわれている。

歯と歯肉の間にある歯肉溝は、歯周病の進行とともに深くになり、歯周ポケットを生じる。歯周ポケットは、「細菌の貯蔵庫」ともいわれ、歯周病原菌の温床である。進行した歯周病では、これらの細菌の影響により、歯周ポケットの歯肉内面に広い潰瘍を生じおり、ここから慢性的な菌血症が起こり、全身に影響を与えらることも考えられている。また、歯周病原菌は容易に血管内に侵入して全身へ回ると考えられ、慢性炎症としての歯周病は、糖尿病、心・冠動脈疾患や関節リウマチなどの全身疾患のリスク因子となる可能性も示唆されている。脳血管障害や心・冠動脈疾患は突然死の原因ともなり得る疾患であり、超高齢社会であるわが国では、これらの血管障害による死亡者や要介護者数は今後も増加することが予想される。

これまで、心・冠動脈血管や頸動脈などの血管障害で、術中に摘出された血栓などから歯周病原菌のゲノムDNAが検出されたとの報告がある(T. Pessi, et al. Circulation. 2013 Mar 19; 127(11):1219-28, e1-6)。さらに、歯周病原菌の一つである *Porphyromonas gingivalis* は、その線毛構造により血管内皮に付着し、アテローム性プラークを形成することで動脈硬化を促進すると考えられており、動物実験では、動脈硬化易形成性マウスの Apo E ノックアウトマウスに対し、歯周病原菌の *Porphyromonas gingivalis* を反復接種させたところ、マウスの全身臓器から *Porphyromonas gingivalis* のゲノムDNAが検出されたとの報告もある(I. M. Velsko, et al. PLOS ONE 2014; 9: e97811)。しかしながら、人体(同一個体)において異なる部位の血管及び臓器に対する歯周病原菌の影響やその関連について検討された報告はない。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、口腔内の歯周病原菌の存在が全身主要血管へ与える影響について検証することである。今回我々は、法医学解剖事例にて口腔内歯周病原菌を検出・同定し、*Porphyromonas gingivalis* の存在と全身大血管の石灰化及び動脈硬化の程度の関連性について検討した。

### 3. 研究の方法

法医学解剖体において、死後全身CT画像取得と口腔内歯周病細菌採取を行った。

#### (1) 口腔内歯周病原菌の採取

口腔内の残存歯の歯肉溝にペーパーポイントを挿入し、歯肉溝内の浸出液とともに細菌を採取した。PCR検査(PCR-Invader法)を行い、歯周病原菌(歯周病関連菌)6種類、*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* の検出・同定を行った。

#### (2) 死後全身CT画像の取得・画像分析

法医学解剖体にて、解剖前に死後全身CT画像を取得した。死後CTではThin sliceによる撮像を行った。その後、画像解析ソフト上で、頭頸部から躯幹部の大血管における石灰化部位を抽出し、CT画像上で視認可能な石灰化部位(長径または直径2-5mmの領域を1箇所とした)の計測を行った。

#### (3) 解剖検体(血管壁)を用いた歯周病原菌採取

法医学解剖体にて、頭部~腹部の血管壁を採取し、血管壁内における歯周病原菌に対しPCR検査にて細菌の検出・同定を試みた。

#### (4) 統計解析

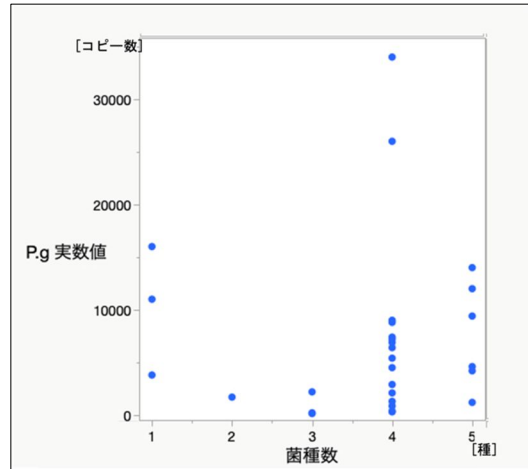
口腔内から採取された歯周病原菌と全身の主要血管における石灰化部位に関して、統計解析を行い、これらの相関について検討した。

対象症例のうち、無歯顎のもの、顔面・口腔領域の損傷が激しいもの、死後経過時間が極端に長いもの、溺死症例を除外した。

### 4. 研究成果

### (1) 歯周病原菌の検出

口腔内(歯周ポケット)からの細菌採取を行った88例のうち68例(77.3%)において、歯周ポケットに歯周病原菌5種(*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*: 重複を含む)が存在しており、このうち34例(前述の4種の歯周病原菌検出例のうち50%)で*Porphyromonas gingivalis*が検出された。これは、口腔内細菌採取を行った症例全体の38.6%であった。令和4年度の厚生労働省による歯科疾患実態調査結果の概要によると、対象患者のうち、歯周ポケットを有するものが約60%前後(年代によるが概ね60%前後である)であり、それぞれの検査対象者の口腔状態を鑑みると、これらは大きく乖離しない結果であると思われた。



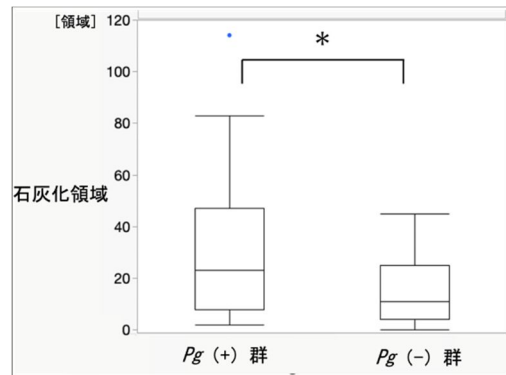
図は口腔内から採取された歯周病原菌数と*Porphyromonas gingivalis*の検出数(コピー数)の相関を示したものである。1口腔内から複数の歯周病原菌が重複して検出された症例が多い結果となった(今回の検査結果からは*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*は検出されなかった)。

また、今回PCR検査で*Porphyromonas gingivalis*が検出された症例のうち、最も死後経過時間が長いものは死後30日の症例であった。*Porphyromonas gingivalis*は嫌気性菌であり、死後経過時間が比較的長い場合でも歯周ポケットに存在していたと考えられ、細菌の生体に対する侵襲性の高さにも寄与している可能性があると思われた。

一方、解剖体から採取した血管壁内からの歯周病原菌の同定は困難であり、血管壁内における存在分布の検証には至らなかった。

### (2) 口腔内歯周病原菌(*Porphyromonas gingivalis*)と死後全身CT画像との比較

口腔内歯周病原菌の検出において、試料採取時に年齢が判明し、同一菌種から口腔内細菌を採取した症例のうち*Porphyromonas gingivalis*が口腔内から検出された群(男性22例, 女性7例で年齢31-92歳(平均:61.4歳))と*Porphyromonas gingivalis*が口腔内から検出されなかった群(男性14例, 女性15例で年齢36-88歳(平均:61.4歳))では、死後全身CT画像を用いた評価において、頸部~躯幹部の大血管における石灰化領域(石灰化部位の個数)は有意に高い値となった。これにより*Porphyromonas gingivalis*が口腔内に存在する場合、血管の動脈硬化がみられる可能性が高く、正の相関があると考えられた。



動脈壁の石灰化に対する評価方法として、石灰化スコア解析ソフトを用いた Agatston score が知られており、冠動脈 CT を用いた評価が臨床医療や臨床研究等で用いられている。Agatston score は CT 画像の各スライスで一定の CT 値を示す 2 ピクセル以上の面積を有するものを石灰化として、該当領域の最高 CT 値によって重みづけを行っているものである。今回、死後全身 CT において大血管石灰化に Agatston score を用いることを検討したが、評価部位が広範であったため、より簡便な評価方法を用いた。今後自動解析ソフトを用いたより客観的な評価手法として応用できる可能性があると思われた。

本研究において、口腔内における歯周病原菌の存在と全身主要血管の石灰化の関連から、歯周病原菌の存在と動脈硬化の程度に相関がある可能性が考えられた。一方、先行の臨床症例における手術検体や動物実験でみられた結果とは異なり、解剖検体の血管壁からの細菌検出には至らず、今後さらなる検討が必要であると考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hyodoh Hideki, Takeuchi Akiko, Matoba Kotaro, Murakami Manabu, Matoba Tomoko, Saito Atsuko, Jin Shigeki	4. 巻 56
2. 論文標題 Objective skull fracture evaluation by using the postmortem 3D-CT skull fracture score in fatal falls	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Legal Medicine	6. 最初と最後の頁 102048 ~ 102048
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.legalmed.2022.102048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matoba Kotaro, Murakami Manabu, Fujita Emi, Jin Shigeki, Ogasawara Ryosuke, Matoba Tomoko, Takeuchi Akiko, Haga Sanae, Ozaki Michitaka, Hyodoh Hideki	4. 巻 57
2. 論文標題 The usefulness of measuring n-butyric acid concentration as a new indicator of blood decomposition in forensic autopsy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Legal Medicine	6. 最初と最後の頁 102071 ~ 102071
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.legalmed.2022.102071	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Jin Zhiping, Fan Hailong, Osanai Toshiya, Nonoyama Takayuki, Kurokawa Takayuki, Hyodoh Hideki, Matoba Kotaro, Takeuchi Akiko, Gong Jian Ping, Fujimura Miki	4. 巻 119
2. 論文標題 Gluing blood into gel by electrostatic interaction using a water-soluble polymer as an embolic agent	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2206685119
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2206685119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimbashi Shogo, Hayata Rina, Matoba Kotaro, Saito Atsuko, Matoba Tomoko, Takeuchi Akiko, Jin Shigeki, Hyodoh Hideki	4. 巻 60
2. 論文標題 Objective evaluation of chest findings in infants by postmortem computed tomography	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Legal Medicine	6. 最初と最後の頁 102178 ~ 102178
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.legalmed.2022.102178	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takeuchi Akiko, Hyodoh Hideki, Matoba Kotaro, Murakami Manabu, Kudo Kohsuke, Minowa Kazuyuki	4. 巻 38
2. 論文標題 Evaluation of oral air space volume in obstructive sleep apnea syndrome using clinical and postmortem CT imaging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oral Radiology	6. 最初と最後の頁 29 ~ 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11282-021-00520-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Matoba K, Jin S, Hyodoh H
2. 発表標題 A case of postmortem CT scan useful in identifying the cause of colonic perforation.
3. 学会等名 11th Congress of International Society of Forensic Radiology and Imaging (ISFRI) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 兵頭秀樹, 竹内明子, 的場光太郎, 村上学, 的場智子, 齋藤厚子, 神繁樹
2. 発表標題 Volume rendering による頭蓋冠骨折の客観的評価法
3. 学会等名 106 次日本法医学会学術全国集 会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hideki Hyodoh, Akiko Takeuchi, Kotaro Matoba, Manabu Murakami, Tomoko Matoba, Atsuko Saito, Nahoko Okuya, Shigeki Jin.
2. 発表標題 Objective fracture evaluation by postmortem3D-CTFractureScore.
3. 学会等名 第80回日本医学放射線学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹内明子
2. 発表標題 法医解剖事例における口腔内の歯周病原菌 (P.g) の存在と動脈硬化の程度に関する検討
3. 学会等名 日本法歯科医学会第18回学術大会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	的場 光太郎 (Matoba Kotaro)  (00466450)	北海道大学・医学研究院・教授  (10101)	
研究分担者	箕輪 和行 (Minowa Kazuyuki)  (30209845)	北海道大学・歯学研究院・教授  (10101)	
研究分担者	兵頭 秀樹 (Hyodoh Hideki)  (30306154)	福井大学・学術研究院医学系部門・教授  (13401)	
研究分担者	亀田 浩之 (Kameda Hiroyuki)  (70829887)	北海道大学・歯学研究院・助教  (10101)	
研究分担者	長谷部 晃 (Akira Hasebe)  (90281815)	北海道大学・歯学研究院・教授  (10101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------