

平成 30 年 6 月 10 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26463135

研究課題名(和文) 感染性心内膜炎に及ぼす歯周病原細菌感染度と炎症性サイトカインとの関係

研究課題名(英文) Relationship of periodontal infection and inflammatory cytokine to the incidence of infective endocarditis

研究代表者

二宮 雅美 (NINOMIYA, Masami)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(歯学系)・助教

研究者番号：10291494

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、心臓弁膜症患者の歯周病原細菌感染度と血清抗体価から感染性心内膜炎(IE)が発症するリスクを統計的に検索することを目的とした。被験者は、徳島赤十字病院心臓血管外科の心弁膜症既往患者を対象とした。その結果、IE発症者はIE未発症者と比較して、骨吸収率が高く、残存歯が少なく、要抜歯数も多く認められた。Porphyromonas gingivalis検出率は、IE未発症者では53.5%、IE発症者は100%であった。一方、血清IgG抗体価の上昇率もIE未発症者は43.7%であったが、IE発症者では100%認められた。これによりIE発症と歯周感染との間に関連がある可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)： Infective endocarditis (IE) is a systemic septic disease in which vegetations that include bacterial clusters are formed on the endocardium and the heart valves. It is thought to be a hematogenous infection caused by oral bacteria. However, there are still many aspects that are not well understood regarding the route of infection, and the clinical evidence is still insufficient. The purpose of this study was to clarify the relationship between the progression of periodontal disease and the risk of IE, epidemiologically. The results of the study showed that patients with a history of IE had significantly more advanced resorption of the alveolar bone, fewer remaining teeth, indicating more advanced periodontal disease. Additionally, a larger percentage of these subjects had Porphyromonas gingivalis infection and serum antibody titers were higher than the reference value. These results suggest a possible association between the occurrence of IE and periodontal infections.

研究分野：歯周病学

キーワード：感染性心内膜炎 心臓弁膜症 歯周病原細菌 血清抗体価 炎症性サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

心臓病は、我が国の死因第2位となっており、そのうち心臓弁膜症患者は、国内で推定約200万人いるといわれている。感染性心内膜炎(infective endocarditis:IE)は、この心臓弁膜症患者において発症する確率が一番高く、心内膜や弁膜に細菌を含む疣贅(vegetation)を形成し、菌血症や塞栓症などの重篤な症状を呈する感染症である。本疾患の平均年齢は、超高齢化にしがい上昇してきており、現在では患者の約50%以上が60歳以上になっている。発症には、口腔内細菌の関与が明らかになっており、一番多く検出されているのは口腔レンサ球菌で、国内での調査では *Streptococci* が 51.9%、*Staphylococcus aureus* が 21.0%であった(Nakatani S. et al; Circ J 77,1558-1564 ; 2013)。一方、歯周病原細菌は、侵襲性歯周炎患者から比較的高い確率で検出される *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a)との関係が報告されているが、報告数は少ない。*Porphyromonas gingivalis* (P.g)においても、P.gが心臓の炎症性サイトカイン(IL-1, IL-6, TNF- α) mRNA 発現レベルの増加を引き起こすという報告や、Isoshimaらの症例報告で、IE発症患者の心臓弁からP.gが検出され、指尖採血による血清抗体価と関連していたとの報告(Isoshima D. et al; Clinical Case Report 5, 1580-1586 ; 2017)がある。さらに、Nagashimaらのマウスを用いた膿瘍形成実験で、心内膜炎起因菌としても知られる口腔レンサ球菌の *Streptococcus constellatu* を *Fusobacterium nucleatum* と混合感染させたときに膿瘍は相乗的に大きくなり、菌数の増加も報告されており、レンサ球菌と歯周病原菌との共存によって心内膜炎が増悪する可能性も考えられている(Nagashima H. et al; Microbiol Immunol 43, 201-216;1999)。A.aやP.gは口腔上皮細胞内や上皮結合組織に侵入することが報告さ

れており、歯周病原細菌の侵入によって引き起こされる結合組織に及ぶ炎症反応を通じて、レンサ球菌などの細菌が血管内への侵入するのが容易になることが考えられる。すなわち、歯周病原細菌は体内で微細な炎症(microinflammation)という生体侵襲を加えることで、口腔レンサ球菌が容易に生体内へ侵入できる進入路を提供している可能性が考えられる。

感染性心内膜炎の発症過程として、まず口腔細菌が血流内に入り込み、菌血症が起きることが必要である。歯周病患者は、健康な歯周組織を有する人よりも、細菌が毛細血管を通じて体内に侵入しやすい口腔環境を有しているが、これまで心臓弁膜症患者を対象に、歯周病原細菌感染度と感染性心内膜炎発症との関連性を調査した報告はない。

2. 研究の目的

本研究では、徳島赤十字病院心臓血管外科と同病院内にある歯科・口腔外科に協力を頂くこととした。心臓弁膜症患者と弁膜症の既往のない患者、および感染性心内膜炎(IE)の発症歴のある心臓弁膜症患者とIE未発症の心臓弁膜症患者のそれぞれにおいて、口腔内診査、X線写真による歯槽骨レベル、歯周病原細菌の検出および指尖採血による血清IgG抗体価測定、歯肉溝浸出液(GCF)中の炎症性サイトカイン測定を行い、心臓弁膜症患者の歯周病原細菌感染度と感染性心内膜炎の発症リスクとの関係を統計学的に検討することとした。

3. 研究の方法

本研究を実施するにあたり、徳島赤十字病院および徳島大学病院臨床研究倫理審査委員会に申請し承認を得た。被験者は、徳島赤十字病院心臓血管外科から同病院内の歯科に紹介された心臓弁膜症患者で、研究同意が得られたものとした。対象群は徳島大学病院

歯周病科に来院した心臓弁膜症歴のない歯周病患者とした。被験者には、以下の内容の診査を行った。

(1) 患者の背景

年齢、性別、全身既往歴、
服用薬剤、喫煙歴、IE 発症歴

(2) 歯科臨床検査

残存歯数、要抜歯数、X線写真による
骨吸収度(Schei の骨吸収)

(3) 唾液中の歯周病原細菌の検出

(BML, Inc., Tokyo, Japan)

(4) 指尖採血による歯周病原細菌の血清 IgG

抗体価測定 (DEMECAL® 血液検査セッ
ト: Leisure, Inc., Tokyo, Japan)

(5) GCF 中の IL-1⁺, IL-6, TNF-⁺ の測定

(multi-analyte profiling bead-based
assay kit ; Millipore Billerica, MA)

心臓弁膜症患者と弁膜症歴のない患者との比較、および IE 発症患者と未発症患者との比較は Mann-whitney U test, chi-square test を用いて有意差の評価を行った。また、IE 発症の関連因子を解析するために、ロジスティック回帰分析を行った。

4 . 研究成果

被験者総数 119 名のうち、心臓弁膜症患者 78 名と心臓弁膜症の既往のない歯周病患者 41 名において歯槽骨吸収や残存歯数、要抜歯数に有意差は認められなかった。また、*P.g* の検出および血清抗体価においては、心臓弁膜症患者のほうが有意に低かった (Table 1)。以上の結果から、心臓弁膜症患者は健常者と歯周病の進行度に差が無いこと、抗生剤投与などの治療介入や予防治療により、かえって細菌数や血清抗体価は低値となっていることが示唆された。

一方、78 名の心臓弁膜症患者のうち、7 名 (男性 5 名、女性 2 名) に感染性心内膜炎 (IE) の発症歴があった。この 7 名と IE 未発症の心臓弁膜症 71 名とで、口腔状況と歯周病原細菌

菌感染度を比較した。その結果、X線写真による歯槽骨レベル (Schei 骨吸収率) は、IE 発症患者の骨吸収率が $64.3 \pm 16.5\%$ であるのに対し、IE 未発症の心臓弁膜症患者は $34.5 \pm 16.4\%$ で、IE 発症患者は有意に骨吸収が進行していた

残存歯数を測定した結果、IE 発症患者は 11.4 ± 4.8 本であるのに対し、IE 未発症患者は 20.7 ± 7.0 本で、IE 発症歴のある患者は有意に残存歯数が少なかった。さらに、要抜歯数を測定した結果、IE 発症患者は 3.9 ± 2.1 本であるのに対し、IE 未発症患者は 1.6 ± 2.4 本で、IE 発症患者は有意に要抜歯数が多かった。

また、唾液中の歯周病原細菌において、*P.g* 陽性率は IE 未発症者が 53.5% であったのに対して、IE 発症者は 100% であった。さらに *P.g* 線毛型 Type 陽性率は、IE 未発症者が 40.8% であったのに対して、IE 発症者の 100% において陽性であった。他の歯周病原細菌に関しては有意差は認められなかった。さらに歯周病原細菌の血清抗体価においても、*P.g* 以外は抗体価の上昇は認められなかった。*P.g* の IgG 血清抗体価の上昇率は IE 未発症者の 43.7%、IE 発症者の 100% において基準値 (基準値 1.68 ; JDR 91(12), 2012) より高値となっていた (Table 2)。GCF 中の炎症性サイトカインは IE 発症者のほうが IL-1⁺, IL-6, TNF-⁺ において有意に上昇していた (Table 3)。ロジスティック回帰分析では、残存歯数、要抜歯数、骨吸収率が IE 発症と関連していた (Table 4)。

以上の結果から、感染性心内膜炎 (IE) を発症した心臓弁膜症患者は、歯槽骨吸収が進行しており残存歯数が少なく要抜歯数が多い傾向が認められた。また、歯周病原細菌 *P.g* (線毛型 Type) の陽性率が高く、GCF 中の IL-1⁺, IL-6, TNF-⁺ が上昇している傾向が得られた。また、*P.g* の感染度は指尖採血による血清抗体価と相関していることから、

指採血による血清抗体価を使って *P.g* 感染度を判定することで、IE 発症リスクを判定する指標になる可能性も示唆された。

Table 1 Clinical or microbial findings in both subjects with and without VHD

parameters	without VHD	with VHD	P-value
Subjects N (M/F)	41 (19/22)	78 (40/38)	..
Mean age (yr±SD)	63.9±9.9	67.2±13.5	0.028*
Rate of smoking (%)	14.6	15.4	0.91
Incidence rate of DM (%)	29.3	19.2	0.25
HbA1c (%)	5.9±0.5	5.8±0.5	0.18
N of remaining teeth	21.2±6.1	19.8±7.3	0.36
Alveolar bone loss (%)	35.3±15.9	37.2±18.4	0.69
N of hopeless teeth	1.2±1.7	1.8±2.4	0.28
Plasma IgG titer
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	-0.14	-0.13	NE
<i>E. corrodens</i>	-0.23	-0.33	NE
<i>P. gingivalis</i>	10.1±12.0	5.7±12.6	0.006*
<i>P. intermedia</i>	-0.19	-0.17	NE
<i>P.g</i> gene in Saliva
<i>P.g</i> gene positive (%)	70.7	57.7	0.038*
<i>P.g</i> Type I/finA positive (%)	19.5	10.3	0.087
<i>P.g</i> Type II/finA positive (%)	73.2	46.2	0.0002*
Incidence of IE (%)	0	9.0	0.048*

* P<0.05, Mann-whitney U test or chi-square test. Results are presented as the mean ± standard deviation (SD).
VHD: valvular heart disease; P: periodontitis; IE: infective endocarditis; DM: diabetes mellitus;
finA: fimbrial gene; *P.g*: *P. gingivalis*; N: number; SD: standard deviation; NE: not examined.

Table 2. Relationship of clinical or microbial findings to the incidence of IE in periodontitis patients with VHD

	without IE	with IE	P-value
Subjects N (M/F)	71 (35/36)	7 (5/2)	..
Mean age (yr±SD)	67.2±13.4	67.7±16.4	0.69
Rate of smoking (%)	12.7	42.9	0.035*
Incidence rate of DM (%)	19.8	14.3	0.73
HbA1c (%)	5.8±0.5	6.0±1.1	0.87
N of remaining teeth	20.7±7.0	11.4±4.8	0.002*
Alveolar bone loss (%)	34.5±16.4	64.3±16.5	0.0007*
N of hopeless teeth	1.6±2.4	3.9±2.1	0.004*
Plasma IgG titer
<i>P. gingivalis</i>	5.8±13.1	4.8±3.3	0.026*
<i>P.g</i> IgG titer>1.68 (%)	43.7	100	0.004*
<i>P.g</i> gene in Saliva
<i>P.g</i> gene positive (%)	53.5	100	0.018*
<i>P.g</i> Type I/finA positive (%)	11.3	0	0.35
<i>P.g</i> Type II/finA positive (%)	40.8	100	0.003*

* P<0.05, Mann-whitney U test or chi-square test. Results are presented as the mean ± standard deviation (SD).
VHD: valvular heart disease; P: periodontitis; IE: infective endocarditis; DM: diabetes mellitus;
finA: fimbrial gene; *P.g*: *P. gingivalis*; N: number; SD: standard deviation; NE: not examined.
The cut-off value of IgG titer against *P.g* for screening periodontitis has been defined as 1.68 according to the previous report.

Table 3. Cytokines in GCF from VHD patients with and without IE history

Cytokines (ng/ml)	without IE	with IE	P-value
IL-1β	5.2 ± 6.5	14.2 ± 8.3	0.028*
IL-6	1.0 ± 0.6	3.8 ± 0.4	0.045*
TNF-α	0.5 ± 0.4	1.3 ± 0.5	0.036*

* P<0.05, Mann-whitney U test. VHD: valvular heart disease; IE: infective endocarditis
Results are presented as the mean ± standard deviation (SD).

Table 4. Odds ratio of clinical findings for occurrence of IE

	Odds ratio	95 % CI	P-value
Sex (male)	2.6	0.5 - 14.1	0.26
Age > 65 yr	1.5	0.3 - 8.5	0.62
Incidence of DM	0.68	0.1 - 6.1	0.73
N of remaining teeth > 10	0.17	0.03 - 0.90	0.022*
Rate of alveolar bone loss > 35 %	7.3	0.84 - 63.9	0.040*
N of hopeless teeth > 2	4.1	0.74 - 22.5	0.087
> 4	15.3	2.6 - 89.6	0.002*

Total of 78 VHD patients were analyzed by conditional logistic regression analysis. * P<0.05, chi-square test. CI: confidence interval.

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0件)

[学会発表](計5件)

橋本 万里、二宮 雅美、北川 哲也、永田 俊彦

感染性心内膜炎の既往のある慢性歯周炎患者に対して歯周治療により QOL 向上を図った症例、日本歯周病学会中国四国3大学・日本臨床歯周病学会中国四国支部合同研修会、平成27年10月12日(月)、徳島県郷土文化会館(徳島県)

Masami Ninomiya, Keiji Oishi, Mari Hashimoto, Kouji Naruishi, Kouji Yamanouchi, Yoshiaki Fukumura, Toshihiko Nagata

A cross-sectional study on the severity of periodontitis in infective endocarditis patients. 11th Asian Pacific Society of Periodontology Meeting, 平成27年10月8日(木)~10月9日(金), Discovery Kartika Plaza Hotel (Bali, Indonesia)

二宮 雅美

QOL 向上のための歯周治療、道東歯学研究会・釧路歯科医師会共催講演、平成27年6月13日(土)、釧路歯科医師会館(北海道)

二宮 雅美、大石 慶二、橋本 万里、成石 浩司、永田 俊彦

感染性心内膜炎発症患者における歯周病の進行度に関する横断的疫学研究、日本歯科保存学会2014年度秋季学術大会(第141回)、平成26年10月30日(木)、山形テルサ(山形県)

橋本 万里、二宮 雅美、永田 俊彦

感染性心内膜炎の既往のある慢性歯周炎患者に対して歯周基本治療を行った症例、第57回春季日本歯周病学会学術大会、平成26年5月24日(土)、長良川国際会議場(岐阜県)

[図書](計2件)

二宮 雅美 他、医歯薬出版、続5疾病の口腔ケア、2016、226(162-165)

二宮 雅美、永田 俊彦 他、永末書店、歯科衛生士講座 歯周病学 第3版、2016、239(26-42)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

二宮 雅美 (NINOMIYA, Masami)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・助教

研究者番号：10291494

(2) 研究分担者

永田 俊彦 (NAGATA, Toshihiko)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・

名誉教授

研究者番号：10127847