

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16992

研究課題名（和文）妊娠成立に及ぼす歯周組織の感染と炎症の影響：機序解明に向けた基礎的検討

研究課題名（英文）Influence of Infection and Inflammation of Periodontal Tissues on the Establishment of Pregnancy: A Basic Study to Elucidate the Mechanism

研究代表者

佐光 秀文（Sako, Hidefumi）

岡山大学・大学病院・医員

研究者番号：10866495

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：近年の晩婚化に伴い、不妊治療を希望する患者数が増加している。最近、歯周感染・炎症が妊娠の成立に悪影響を与える可能性が報告され、不妊の新たなリスクファクターとしての歯周病の可能性が提唱されはじめている。本研究では、絹糸結紮歯周炎マウスモデルを用いて歯周感染・炎症が妊娠成立に及ぼす影響を検討した。その研究成果として、歯周炎マウス群では、1) 新生児出産数及び出生児体重が有意に減少し、2) 妊娠前子宮組織の肥大化および性ホルモン受容体の発現変動が生じることを確認した。以上の結果から、歯周感染・炎症が子宮組織に悪影響を及ぼすことによって子宮組織の変化を惹起し、不妊環境を誘発する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、歯周感染・炎症が子宮組織の変化を惹起し、不妊環境を誘発する可能性を示唆した。今後は、歯周感染・炎症が子宮に及ぼす影響の分子メカニズムをさらに検討していくことが重要であると考えられる。そして、原因不明不妊に悩むカップルの一助になることが期待される。

研究成果の概要（英文）：With the recent trend of late marriages, the number of patients seeking fertility treatment is increasing. Recently, it has been reported that periodontal infection/inflammation may have a negative effect on the viability of pregnancy, and the possibility of periodontal disease as a new risk factor for infertility has been proposed. In this study, I investigated the effects of periodontal infection/inflammation on pregnancy establishment using a mouse ligature-induced periodontitis model. The results of this study showed that, 1) the number of newborn births and birth weight were significantly decreased in the periodontitis mouse group, and 2) pre-eclamptic uterine tissue hypertrophy and changes in sex hormone receptor expression were observed. These results suggest that periodontal infection/inflammation may induce changes in the uterine tissue by adversely affecting the uterine tissue, thereby creating an infertile environment.

研究分野：歯科保存学分野

キーワード：歯周炎 不妊

## 1. 研究開始当初の背景

少子超高齢社会を迎えた我が国において、年々人口は減少しており、出生数の増加は国力の維持のためにも至上命題となっている。しかし、社会情勢を反映した晩婚化・晩産化に伴い、加齢に伴う不妊に悩むカップルが急速に増加している。不妊とは、妊娠を望む健康な男女が避妊をしないで性交をしているにもかかわらず、一定期間（約1年）妊娠しないものと定義されている（日本産科婦人科学会）。近年、不妊のカップルは約5.5組に1組と報告されており、社会情勢等の影響によって妊娠を考える年齢がますます上昇していることもあり、この割合はさらに上昇する傾向にある。不妊の原因は、男性側、女性側あるいはその両方にある場合がある。一方、従来の検査では何も原因が見つからない場合もあり、余計に不安を感じるカップルも存在する。不妊検査をしても明らかな原因が見つからない「原因不明不妊」は不妊症の約3割を占めると報告される。そのため、不妊治療を受けるカップルは、身体的苦痛、精神的な落ち込み、経済的な負担などの悩みを多く抱えており、特に原因不明不妊に対する新たなアプローチが社会から強く求められている。一方で、不妊治療に対する健康保険の適応が議論され始めたこともあり、国民の不妊治療に対する意識はさらに高まりをみせている。

近年、歯周病原細菌の感染や惹起された局所炎症が血行性に全身へ波及することによって、糖尿病等の多種多様な全身疾患に影響を及ぼすことが明らかになった。妊娠の成立に及ぼす影響としては、Pgに対する唾液中IgG抗体価が高い女性においては、抗体価が低い女性に比べ妊娠の成立するまでに長い期間を要する（Paju S, et al, J Oral Microbiol, 2017）ことや、歯周病を罹患している女性の妊娠を希望してから実際に妊娠が成立するまでの平均期間（7.1ヶ月）は、歯周病を罹患していない女性の平均期間（5.1ヶ月）に比較して有意に延長する（Hart R, et al, Hum Reprod, 2012）ことが報告されている。さらに、重度の歯周病を発症している男性においては、生殖機能（精子の運動性等）が低下する（Prager N, et al, J Clin Periodontol, 2017）との報告もある。このように口腔疾患である歯周病に罹患することによって男女問わず妊娠の成立に何らかの悪影響があることが示唆される疫学的所見が報告されているものの、そのメカニズムを検証した基礎研究報告は報告者が調べる限りない。そのため、歯周疾患が妊娠に及ぼす影響を基礎研究レベルで検討することは、原因不明不妊に対する新たなアプローチ法を提案することにつながる可能性があり、原因不明不妊に苦しむカップルにとって大きな意義を与えることができると考えた。

## 2. 研究の目的

本研究では、絹糸結紮歯周炎マウスモデルを用いて、①顎骨吸収を伴う重度歯周炎症を発症した雌マウスと正常雄マウスを交配させた際の、妊娠率、妊娠期間、出生胎児数、出生時体重等に及ぼす影響を検討する。さらに、②絹糸結紮マウスにPgを感染させることによって、妊娠率等に影響が波及するかどうか検証する。そして、母体マウスや出生胎児から摘出した臓器等（子宮、血液、歯周組織など）を用いて、歯周感染および歯周炎症が及ぼす影響を免疫学的視点から検証することによって、不妊病態に口腔疾患である歯周疾患が悪影響

を及ぼす可能性を検討する。そして、新たな不妊治療のエビデンス構築に寄与することを目的に本研究を実施した。

### 3. 研究の方法

本研究では、絹糸結紮歯周炎マウスモデルを用いて、①惹起された歯周感染および炎症が妊娠率に関与するかどうか、さらに、②歯周病原細菌の感染が妊娠の成立に影響するかどうか、分子生物学的・免疫学的手法を用いて検討した。すなわち、

- ① 歯周病を誘発した群、または無処置群の雌マウス（10週齢）を健常雄マウスと交配させた。交配活動期間は1週間とし、その後の妊娠率を検証した。交配活動から出生するまでに要する日数を各群で測定し、出生胎児数および出生時体重を測定した。
- ② 出生後の雌親マウスから顎骨、血液、子宮等の各種臓器を摘出した。歯周組織の状態は硬組織（顎骨）および軟組織（歯肉組織）に分けて解析を行った。顎骨はマイクロCTを用いて解析した後、組織標本を作成して各種染色（Hematoxylin-Eosin [HE], Tartrate-Resistant Acid Phosphatase [TRAP], 免疫染色 [IHC])を行い、組織学的に評価した。また、摘出した組織（歯周組織や子宮）から細胞を分離した後、各種免疫細胞特異的表面マーカーで染色後、Flow Cytometry (FACS)にて免疫細胞の動態を解析した。

### 4. 研究成果

本研究における研究成果は下記に挙げられる。

歯周炎マウス群において、

- ① 新生児出産数及び出産時体重が有意に減少し、不妊母体数は増加する傾向を確認した。
- ② 妊娠前子宮組織が有意に肥大化することを確認した。
- ③ 妊娠前子宮組織の性ホルモン受容体発現が変動することを確認した。

一連の研究成果は、歯周感染・炎症が子宮組織の変化を惹起し、不妊を誘発する可能性が示唆された。今後は、歯周感染・炎症が子宮に及ぼす影響の分子メカニズムの検討をさらに行っていくことが重要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sako Hidefumi, Omori Kazuhiro, Nakayama Masaaki, Mandai Hiroki, Ideguchi Hidetaka, Yoshimura-Nakagawa Saki, Sakaida Kyosuke, Nagata-Kamei Chiaki, Kobayashi Hiroya, Ishii Satoki, Ono Mitsuaki, Ibaragi Soichiro, Yamamoto Tadashi, Suga Seiji, Takashiba Shogo	4. 巻 9
2. 論文標題 The Fungal Metabolite (+)-Terrein Abrogates Inflammatory Bone Resorption via the Suppression of TNF- $\alpha$ Production in a Ligature-Induced Periodontitis Mouse Model	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Fungi	6. 最初と最後の頁 314 ~ 314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jof9030314	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 永田千晶, 大森一弘, 井手口英隆, 佐光秀文, 坂井田京佑, 久保田萌可, 大原利章, 萬代大樹, 平井公人, 池田淳史, 山本直史, 高柴正悟
2. 発表標題 歯周組織の感染・炎症が惹起する子宮組織の肥厚と妊娠への影響.
3. 学会等名 日本歯科保存学会2022年度秋季学術大会(157回)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永田千晶, 大森一弘, 井手口英隆, 佐光秀文, 坂井田京佑, 大原利章, 徳善真砂子, 平井公人, 山本直史, 高柴正悟
2. 発表標題 マウス絹糸結紮歯周炎モデルを用いた歯周感染が妊娠成績や子宮組織に及ぼす影響の検討.
3. 学会等名 第64回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 亀井千晶, 大森一弘, 佐光秀文, 坂井田京佑, 徳善真砂子, 平井公人, 小林寛也, 山本直史, 滝川雅之, 三宅貴仁, 高柴正悟
2. 発表標題 不妊治療中患者に対する血清IgG抗体価検査を用いた歯周病原細菌の感染度調査
3. 学会等名 第64回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永田 千晶, 大森 一弘, 井手口 英隆, 佐光 秀文, 坂井田 京佑, 徳善 真砂子, 平井 公人, 山本 直史, 高柴 正悟
2. 発表標題 歯周感染が子宮組織に及ぼす影響のマウス絹糸結紮歯周病モデルにおける免疫学的検討
3. 学会等名 第64回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永田 千晶, 大森 一弘, 佐光 秀文, 坂井田 京佑, 井手口 英隆, 池田 淳史, 徳善 真砂子, 平井 公人, 畑中 加珠, 山本 直史, 滝川 雅之, 三宅 貴仁, 高柴 正悟
2. 発表標題 不妊治療中患者における歯周病原細菌の感染度調査 - 血清IgG抗体価検査を応用したパイロット研究 -
3. 学会等名 第28回日本未病学会学術総会
4. 発表年 2021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

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