

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：15401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20924

研究課題名（和文）口腔内細菌と心房線維化の関連、病態の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the relationship between oral bacteria and atrial fibrosis

研究代表者

宮内 俊介（Miyuchi, Shunsuke）

広島大学・保健管理センター・助教

研究者番号：30910799

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：歯周炎は動脈硬化等の全身疾患に関与するが、歯周炎と心房細動の関連は明らかにされていなかった。本研究で我々は心房細動の発症および、持続化の基質となる心房組織の線維化に着目し、以下の点を明らかにした。1) 歯周炎における活動性炎症の定量化指標である歯周炎症面積（Periodontal inflamed surface area: PISA）と心房組織の線維化割合は正に相関する 2) 持続性心房細動症例では発作性心房細動症例と比してPISAが高値である。これらの内容は査読付き国際英文誌に掲載された（JACC Clin Electrophysiol. 2023;9(1):43-53）。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心房細動は脳梗塞、心不全の原因となり、発症、重症化予防が重要である。加齢や遺伝的素因も心房細動に関与するが、肥満、運動不足、睡眠呼吸障害、糖尿病、高血圧、脂質異常、喫煙、飲酒、カフェイン摂取は心房細動の修正可能な危険因子とされ、多職種による包括的な心房細動リスク管理が推奨されている。本研究成果は歯周炎が心房細動の新規の修正可能な危険因子であることを明らかにするための基礎的エビデンスとなる。既知の危険因子と比較して治療が容易な歯周炎を危険因子と明らかにすることは重要であり、心房細動診療における医科歯科連携の重要性が示唆される。

研究成果の概要（英文）：Periodontitis is associated with some systemic diseases such as atherosclerosis, but the relationship between periodontitis and atrial fibrillation (AF) has not been clarified. In this study, we focused on atrial fibrosis which is the substrate of the onset and perpetuation of AF, and clarified the following points: 1) Periodontal inflamed surface area (PISA), a quantification index of active inflammation in periodontitis, was positively correlated with the atrial fibrosis degree 2) PISA is higher in patients with persistent AF than in those with paroxysmal AF. These findings were published in a peer-reviewed international journal (JACC Clin Electrophysiol. 2023;9(1):43-53). In addition, DNAs of major periodontal bacteria (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*) were detected in the atrial tissue.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心房細動 歯周炎 心房線維化 危険因子 口腔細菌

### 1. 研究開始当初の背景

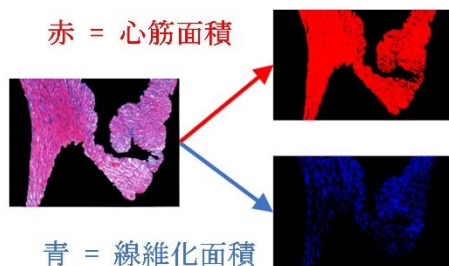
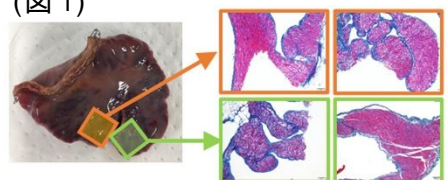
心房細動の有病率は加齢とともに増加し、80歳では約10人に1人が罹患しているとされる。カテーテルアブレーション治療の進歩により発作性心房細動に対しては良好な治療成績を得られているが、永続性心房細動の根治率は未だに低い水準である。心房細動が永続化すると心不全や心原性脳塞栓症発症リスクが増大し、患者の健康寿命を著しく毀損する。左心房組織の線維化は心房細動の永続化、心原性脳塞栓症発症に大きく関与する (Shen MJ et al. JACC Basic Transl 2019)。心房組織への炎症細胞浸潤は心房筋線維化に関与し、左心房の構造的・電気的リモデリングを誘導するとされる (Nattel et al. Electrophysiol 2017)。一方、歯周炎は全身性の慢性炎症を惹起し、動脈硬化症、糖尿病や早産などの全身疾患の病態を悪化させる。近年は口腔内細菌感染と全身疾患の関連も注目され、中でも主要な口腔内細菌である *Porphyromonas gingivalis* と全身疾患の関連については多くのエビデンスが集積している (Mysak J et al. J Immunol Res 2014)。近年の大規模コホート研究で歯周炎と心房細動の関連が示唆されているが (Chang Y et al. Eur J Prev Cardiol 2019) これまでに歯周炎は心房細動の修正可能な危険因子とされていない。我々は先行研究で、*Porphyromonas gingivalis* の血漿抗体価 (歯周炎の活動性を反映する) がカテーテルアブレーション治療後の心房細動慢性期再発の予測因子となり、発作性心房細動症例に比して持続性心房細動症例でより強い関連を示すことを報告している (Miyachi S et al. J Cardiovasc Electrophysiol 2021)。広島大学病院では2019年より胸腔鏡補助下左心耳切除術が実施可能となり、手術により切除した左心耳を試料とした研究が可能になると見込まれた。今回は歯周炎および、口腔内細菌と心房線維化と関連を明かにするための、ヒトの左心耳組織を用いた研究を計画した。

### 2. 研究の目的

歯周炎および、口腔内細菌と心房線維化の関連を明らかにし、歯周炎が心房細動の修正可能な危険因子であることを示す基礎的エビデンスを創出する。

### 3. 研究の方法

広島大学病院で心臓手術中に心房組織 (左心耳) を切除される予定の患者を前向きに登録し、術前に口腔内診察を実施して臨床的な歯周炎の重症度を評価した (残存歯数、歯周炎症面積など) (図1)



切除した左心耳組織を用いて、組織学的解析、PCR法を用いた歯周病原細菌の検出、線維化関連分子発現の検討を実施した。切除した左心耳の遠位端側から任意の切片を切除し、アザンマロリー染色により線維化領域割合を定量化した (図1)。主要な口腔内細菌として *Porphyromonas gingivalis*、*Prevotella intermedia*、*Fusobacterium nucleatum*、*Actinobacillus actinomycetemcomitans*、*Treponema denticola* について、左心耳組織単位重量あたりに含まれるDNAを検出し、検量線を用いて定量化した。*Porphyromonas gingivalis* については特異的抗体を用いた免疫組織化学染色を実施し、組織中の局在を可視化した。線維化、炎症に関連する分子についてqPCR法で定量化した。対象患者の臨床情報を電子カルテから収集し、上記実験結果と比較検討した。本研究は広島大学疫学倫理審査委員会の承認を得て、ヘルシンキ宣言および関連する法令を遵守して実施した (承認番号 E-1931)。

### 4. 研究成果

#### (1) 歯周炎の重症度と臨床因子の関連

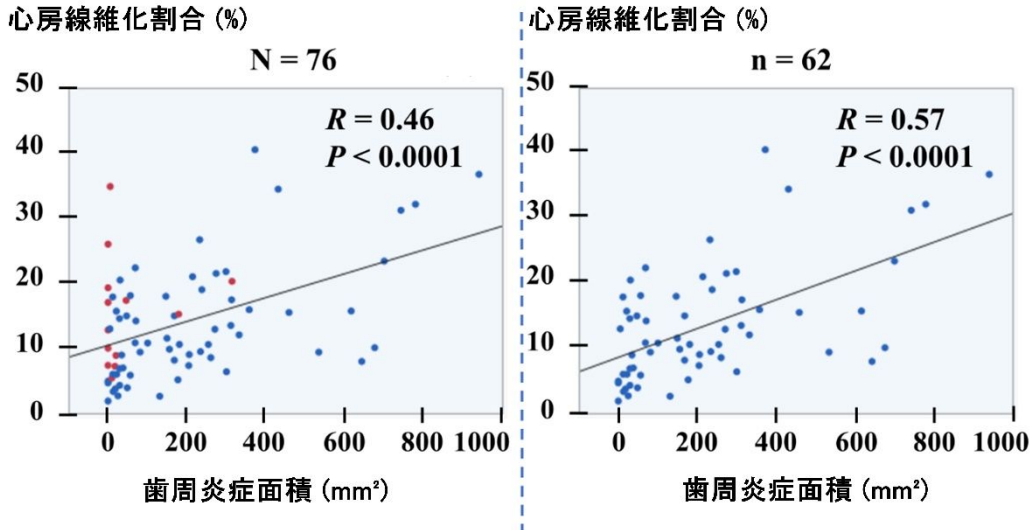
今回の研究では歯周炎の重症度を定量化可能な指標として歯周炎症面積に着目した。歯周炎症面積は口腔内の全ての歯周ポケットにプロービングを実施し、出血のある歯周ポケット上皮の面積の和 (mm<sup>2</sup>) を算出したもので、歯周炎の活動性を反映するとされる。臨床因子との比較において、歯周炎症面積が全身性の炎症指標となる好中球リンパ球比および、HbA1c値と正に関連することが明らかになった。また、心房細動患者の脳梗塞発症予測スコアである、CHADS2スコア (うっ血性心不全、高血圧症、年齢75歳以上、糖尿病、脳梗塞・一過性脳虚血発作既往) も死守炎症面積と正に関連した。発作性心房細動に比較して、持続性心房細動患者では歯周炎症面積が高値であった。

## (2) 歯周炎の重症度と心房組織線維化の関連

歯周炎症面積は心房線維化割合と正に相関した。残存歯数が少ないと歯周ポケットも消失し、歯周炎症面積が低く算出されるため残存歯数が10本以上の症例のみで解析すると、歯周炎症面積と心房線維化がより強く相関した(図2)。年齢やCHADS2スコアなどを因子に含む多変量解析でも歯周炎症面積は心房線維化に関連した。また歯周炎症面積の高い症例では、組織中のインターロイキン-6発現の上昇を認めた。

(図2)

(残存歯数10本以上の症例で解析)



## (3) 心房組織中の口腔内細菌の検出

PCR法により心房組織中から主要な口腔内最細菌である、*Porphyromonas gingivalis*、*Prevotella intermedia*、*Fusobacterium nucleatum*、*Actinobacillus*、*actinomycetemcomitans*、*Treponema denticola*のDNAが検出された。中でも、*Porphyromonas gingivalis*は他の菌と比較して単位組織量当たり多くの菌数が検出された。

本研究は世界で初めて歯周炎と心房線維化の関連を明らかにした。活動性歯周炎では歯周組織から歯周病原細菌と同時に炎症性メディエーターが全身性に放出され、動脈硬化、糖尿病、リウマチ等の全身性疾患に関与することが知られている。慢性炎症は心房心筋症の進展過程において心房の構造的、電気的リモデリングを惹起する。重症の歯周炎ではインターロイキン6等の炎症性サイトカインや、NLRP3インフラマゾームが全身性に亢進することが知られており、今回歯周炎症面積が高い症例では心房組織中においてもインターロイキン6発現亢進がみられたことから、歯周炎により持続的に惹起される炎症が心房線維化を増悪する機序が考察される。現在、肥満、運動不足、睡眠呼吸障害、糖尿病、高血圧、脂質異常、喫煙、飲酒、カフェイン摂取は心房細動の修正可能な危険因子とされ、家庭医、睡眠専門医、運動療法士、臨床心理士、内分泌専門医、栄養士、薬剤師が参加する包括的な心房細動リスクマネジメントが推奨される。本研究成果は歯周炎が心房線維化、心房細動の修正可能な危険因子であることを明らかにするための基礎的エビデンスとなる。歯周炎は既知の危険因子と比較して、比較的介入が容易であり、心房細動の包括的リスクマネジメントに歯科医師、歯科衛生士の参画有効となる可能性がある。本研究成果を基に、今後さらに歯周炎、口腔内細菌と心房線維化、心房細動を繋ぐ因果関係の検討を継続していく。

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 0件）

1. 著者名 Miyuchi Shunsuke, Nishi Hiromi, Ouhara Kazuhisa, Tokuyama Takehito, Okubo Yousaku, Okamura Sho, Miyamoto Shogo, Oguri Naoto, Uotani Yukimi, Takasaki Taiichi, Katayama Keijiro, Furusho Hisako, Miyauchi Mutsumi, Takahashi Shinya, Hiyama Toru, Nakano Yukiko	4. 巻 9
2. 論文標題 Relationship Between Periodontitis and Atrial Fibrosis in Atrial Fibrillation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 JACC: Clinical Electrophysiology	6. 最初と最後の頁 43 ~ 53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jacep.2022.08.018	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Miyuchi Shunsuke
2. 発表標題 Relationship Between Periodontitis And Atrial Fibrosis In Atrial Fibrillation: Histological Evaluation Of Left Atrial Appendages
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮内俊介
2. 発表標題 Relationship Between Periodontitis And Atrial Fibrosis In Atrial Fibrillation: Histological Evaluation Of Left Atrial Appendages
3. 学会等名 第87回日本循環器病学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮内俊介
2. 発表標題 Is Periodontitis a Modifiable Risk Factor for Atrial Fibrillation?
3. 学会等名 第69回日本不整脈心電学会学術大会
4. 発表年 2023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
---------	---------