

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 3月31日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791814

研究課題名（和文） 循環器疾患における口腔内細菌の関連と機序の解明

研究課題名（英文） Elucidation of association and the mechanism of oral bacteria in the circulatory disease

研究代表者

平石 幸裕 (HIRAISHI YUKIHIRO)

和歌山県立医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号：40573449

研究成果の概要（和文）：心臓弁疾患、大動脈瘤の手術予定の患者に対し、術前に口腔内からデンタルプラークを採取した。採取した同一患者の手術時に切除された大動脈瘤の血管壁、切除された大動脈弁の一部をサンプリングした。両サンプルから DNA の抽出を行い、リアルタイム PCR にて歯周病菌を検索した。Streptococcus mutans が一番多く検出された。しかし、口腔内細菌と心血管に存在する細菌との関連性を見出すことができなかった。

研究成果の概要（英文）：We obtained dental plaque specimens from the patient who underwent heart valve replacement or removal of aortic aneurysms in Wakayama Medical University. In addition, we collected aortic valve specimens and aortic aneurysmal wall specimens from the same group of patients. Bacterial DNA was extracted from both cardiovascular tissues and dental plaque in those cases. Then, species-specific real-time polymerase chain reaction assays were used to analyze the occurrences of periodontal bacterial species. A streptococcus mutans was the most frequently detected species in the cardiovascular specimens. However our results showed no association between oral bacterial species and bacteria in cardiovascular diseases.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	180,000,000	540,000	2,34,0000
2011年度	120,000,000	360,000	1,56,9990
総計	300,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・病態科学系歯学・歯科放射線学

キーワード：免疫・感染・炎症

細目表以外のキーワード口腔内細菌

## 1. 研究開始当初の背景

感染性心内膜炎は通常、心臓弁膜症など何らかの基礎心疾患が存在する場合に発症し、心疾患のみならず感染症状、塞栓症状など多彩な臨床症状を呈する全身疾患である。その発症原因となる一過性の菌血症の誘因は、口腔内に存在している歯周病菌や根尖病巣からの菌の侵入という考え方が示されている。

また起因菌も口腔内の常在菌である.. Viridans streptococci、Staphylococci、Streptococcus mutans などが主流をしめているとされている。Lockhart らによると、口腔衛生対策を怠ると、口腔内細菌は徐々にかなりの数増加し、著しく悪化する。膿瘍などの慢性感染や急性感染の原因は歯肉の疾患やカリエスであり、これらによって菌血症

が頻繁に起き、心臓や他の病状などのリスクがあれば心内膜炎になるリスクが生じるとされている。

しかし、これらの研究では分析症例数は少なく、口腔細菌が遠隔臓器で疾患を発症するという特色のためにその研究はあまり進展しておらず、循環器疾患病変部において口腔細菌の存在について明確な結論を引き出すには十分であるとは言えないのが現状であった。

## 2. 研究の目的

(1) 周術期の口腔ケア施行時に採取した循環器病変患者の口腔内プラーク検体と、摘出された心臓弁検体、動脈瘤検体を用いて、分子生物学的手法により、歯周病菌などの口腔由来の細菌を検索することで、口腔細菌が原因となる感染性心内膜炎や大動脈瘤の機序を解明する。

(2) 口腔細菌と、心臓弁検体、動脈瘤検体にある細菌の関連を解明することで、循環器の感染症に対する抗菌薬による治療の際に抗菌薬の選択や、感受性の予想の因子となる可能性がある。

(3) 口腔から循環器病変部への感染の可能性が示唆された患者の歯科治療歴や口腔内の状態を解析することで、口腔内の衛生状態の管理の重要性だけでなく、歯科治療のリスクや IE などの疾患の予防した歯科治療の方法が明確になる。

## 3. 研究の方法

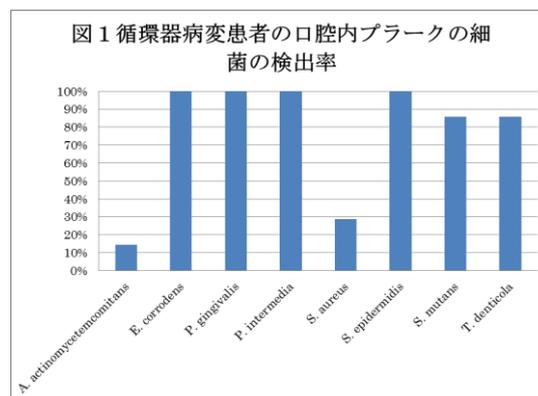
(1) 当病院の心臓血管外科で手術計画となった患者のうち、心臓弁の切除または、大動脈瘤の切除が予定されている患者に対し、口腔内精査および歯垢（デンタルプラーク）の採取を無菌的に行った。予定手術が施行された際に、切除物の一部を本研究のサンプルとして収集した。

(2) 両方のサンプルをスピニングカラムを使用した DNA 抽出キットを用いてトータル DNA を採取した。

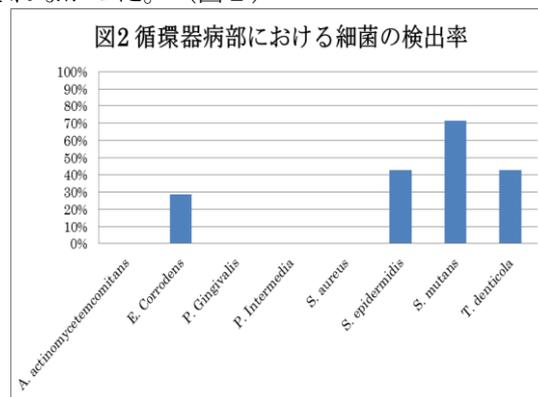
(3) 周病菌などの菌種（*A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythensis*, *C. pneumonia*, *E. corrodens*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *S. epidermidis*, *S. mutans*, *S. aureus*, *T. denticola*,）をターゲットとしたプライマーと細菌のユニバーサルプライマーとして 16sRNA のプライマーを用い、リアルタイム PCR を行った。リアルタイム PCR は CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System、iQ SYBR Green Supermix（Bio-Rad Laboratories, CA）を使用し、Bio-Rad CFX-Manager Version 1.6.541.1028 にて解析した。サイクル数は Kozarov らの報告を参考に 40 サイクルまでで行った。

## 4. 研究成果

口腔内のサンプル（デンタルプラーク）からの細菌の検出率は、*E. corrodens*、*P. gingivalis*、*P. intermedia*、*S. epidermidis* で 100%、*S. mutans*、*T. denticola* では 86%、*S. aureus* で 29%、*A. actinomycetemcomitans* で 14% であった（図 1）



一方、循環器病変部の切除サンプルからは *S. mutans* は 71%、*T. denticola*、*S. epidermidis* が 43% と高確率で検出できたのに対し、*E. Corrodens* は 29%、その他の菌は検出されなかった。（図 2）



また、患者別に口腔細菌で発見される菌種や量と、病変部で検出される菌の間に関連性を導くことはできなかった。

しかし、手術切除部位には、もともとの細菌数が少なく、再現しにくい可能性も考えられた。同一患者の切除物から任意の 6 部分のサンプルを用いた報告も存在し、そのサンプルの仕方が結果を左右する可能性が考えられた。そこで次に、サンプル内の細菌の付着している部位を追求するため、切除した血管や弁のどの部位に細菌が付着しやすいかに着目し、細菌の検出の効率を上げていけるよう研究を進めている段階である。

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 1 件)

① 榎野 秀一、平石幸裕、和田健、他  
7名

循環器疾患における口腔内細菌の関連  
と機序の解明

第 79 回 和歌山医学会総会

平成 23 年 7 月 10 日 (日) 和歌山県、和  
歌山市

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

研究組織

(1) 研究代表者

平石 幸裕 (HIRAISHI YUKIHIRO)

和歌山県立医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号: 40573449

(2) 研究分担者

( )

研究者番号:

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号: