

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 29 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23593056

研究課題名(和文) 口腔-消化管の粘膜免疫システムを介した口腔感染と動脈硬化性疾患の関連機序

研究課題名(英文) Mechanisms Linking Periodontitis to Atherosclerotic Diseases

研究代表者

多部田 康一 (KOICHI, TABETA)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：20401763

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は歯周病の原因菌であるPorphyromonas gingivalisを感染させた動脈硬化症マウスモデルを用い、歯周病を想定する口腔感染に起因する消化管における宿主応答が全身の炎症応答と動脈硬化病変の進展に關与するメカニズムを明らかにすることを目的とした。口腔から摂取したPorphyromonas gingivalisは腸管において炎症応答を誘導した。新たな知見として核酸抗原(DNA抗原、RNA抗原)を認識することのできないUnc93b欠損マウスにおいてはIgAの産生低下が認められた。この結果から消化管を介した免疫応答とIgAの産生において核酸抗原が重要な役割をもつ知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to clarify the mechanisms by which oral infection in periodontitis affects systemic disease, especially focusing atherosclerosis. Oral infection induce gut inflammation in low level and enhance atherogenesis. Using unc93b1 mutant, non-responder to nuclear antigens such as DNA and RNA antigens failed to produce IgA against P. gingivalis. Therefore, this study have shown the significance of nuclear antigens in gut immune response to oral infected bacteria.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯周治療系歯学

キーワード：歯周病 核酸抗原 動脈硬化症

1. 研究開始当初の背景

歯周炎と動脈硬化性疾患(心筋梗塞・脳梗塞)は厚生労働省の推進する「健康日本 21」においてもその各論に生活習慣病として取りあげられているように、国民一人ひとりの健康実現において対策が必要とされる重要な疾患である。これまで動脈硬化性疾患と歯周炎の関連は多数報告されてきたが、生物学的背景に深く踏み込んで解析した研究は極めて少ない。その因果関係の解明は未だ不十分あり、国民がその正しい情報による利益を享受することができない状況にある。実際、直接的に医療の現場でこれらの情報を還元するためには歯周炎の全身への影響度をモニターするような指標の確立が必要であると考えられる。これまで歯周炎の病態を捉える試みとして、歯肉溝滲出液中や血清中のサイトカイン及び歯周病原細菌に対する抗体価などのバイオロジカルな指標が検索されてきた。これらの炎症に関連した指標は従来のプロービング深さなどの歯周治療指標に比べて、より歯周炎と全身疾患の関連を反映しやすいことも報告されている(Loos B. G., J Periodontol 2005)。現況、全身的な健康増進を目的とした歯周炎治療の明確な位置付けのためには生物学的疾患関連メカニズムを明らかにすることで、それに基づいた新たな歯周炎(口腔感染)と動脈硬化性疾患(全身応答)に関連する指標の開発が重要かつ必須であると考えられる。

2. 研究の目的

歯周炎の罹患を歯周病原細菌感染による口腔-消化管の粘膜免疫システムの平衡状態の変化と捉える。つまり、歯周炎に罹患した口腔より消化管へ供給される細菌抗原により誘導される腸管粘膜免疫応答を介した炎症、またはマイクロインフラメーションレベルの変化とその動脈硬化症へ影響するメカニズムの存在について解明を試みることを目的とした。

3. 研究の方法

(1)口腔から摂取した *P. gingivalis* が腸管に

おいて炎症応答またはマイクロインフラメーションを誘導するか？

(2)パイエル板において作用する PAMP 抗原とレセプターの関係

(3)血清中たんぱく質の発現変化と大動脈遺伝子発現の網羅的解析(疾患関連マーカー候補の検索)

4. 研究成果

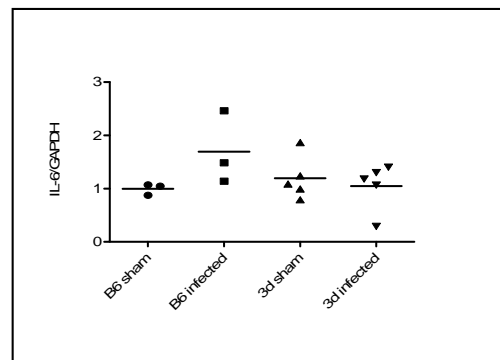
(1)口腔から摂取した *P. gingivalis* が腸管において炎症応答またはマイクロインフラメーションを誘導するか？

P. gingivalis 口腔感染により血中 IL-6 が上昇することが確認された。腸管由来の抗原は門脈経路を介して肝臓に到達することより肝臓の炎症応答を検討したところ肝臓にて IL-6 の産生が亢進していることより、肝臓が IL-6 の供給源となることが示唆された。

また核酸抗原不応答性マウス 3d においては肝臓の炎症が抑制される傾向が観察された。

(図1)

図1肝臓における IL-6 の遺伝子発現



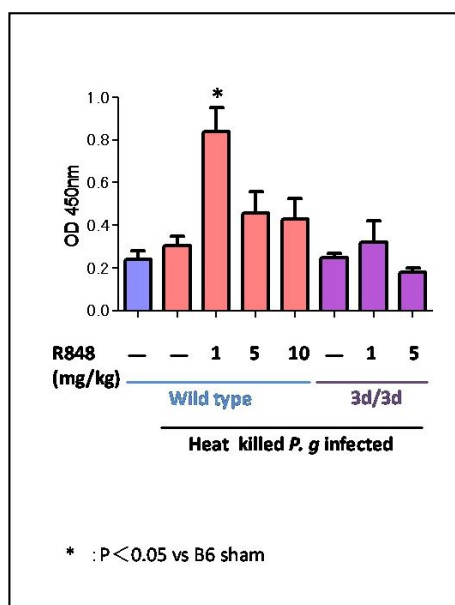
B6: C57BL/6 3d: Unc91b1 ミュータント

(2)パイエル板において作用する PAMP 抗原とレセプターの関係 2次リンパ組織としてのパイエル板を介する獲得免疫誘導の過程において、細菌由来の PAMP 抗原を認識する自然免疫応答による初期炎症誘導とアジュバンド作用が重要な役割を果たす。この観点から、口腔から摂取・消化された *P. gingivalis* の

PAMP 抗原分子による腸管粘膜の主要な(効率的)自然免疫応答経路を明らかにすることとした。R848 イミダゾキノリン誘導体は TLR7 を介して核酸抗原応答を誘導する。

R848 投与により C57BL/6 マウスにおいては IgA の産生が亢進するが、3d マウスにおいては IgA 産生が有意に抑制されており、歯周病原菌感染においてはあまり注目されていなかった核酸抗原が重要な役割を果たすことが明らかになった。(図2)

図2血清中 IgA 産生



(3)血清中たんぱく質の発現変化と大動脈遺伝子発現の網羅的解析(疾患関連マーカー候補の検索)

P. gingivalis 口腔感染モデルにおいて動脈硬化病変の進展とともに変化する血清中たんぱく質の変化をとらえるために血清をサンプルとしたサイトカインアレイによる解析を行った。結果として感染時に ICAM-1、MMP-3 の産生が亢進しておりこれらの分子が口腔感染と動脈硬化症の進展を結びつける可能性が示唆された。(図3)

図3サイトカインアレイにより変動の確認された遺

伝子群

感染により発現低下	感染により発現上昇
<ul style="list-style-type: none"> L-Selectin: 血清中sL-selectinは虚血性心疾患罹患患者で低値 (Haught WH et al., Am Heart J, 1996) 	<ul style="list-style-type: none"> ICAM-1: 血清中sICAM-1は冠動脈疾患罹患患者で高値 (Haught WH et al., Am Heart J, 1996) MMP-3: 血漿中MMP-3は冠動脈疾患の独立した予後因子 (Wu TC et al., Eur J Clin Invest, 2005)

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 9 件)

1: Tabeta K, Hoebe K, Janssen EM, Xia Y, Beutler B. Respond to "No antigen-presentation defect in Unc93b1(3d/3d) mice". Nat Immunol. 2013 Nov;14(11):1102-3. 査読あり

2: Domon H, Tabeta K, Nakajima T, Yamazaki K. Age-related alterations in gene expression of gingival fibroblasts stimulated with *Porphyromonas gingivalis*. J Periodontal Res. 2013 Oct 18. Doi:10.1111/jre12134. 査読あり

3: Huang H, Zhao P, Arimatsu K, Tabeta K, Yamazaki K, Krieg L, Fu E, Zhang T, Du X. A deep intronic mutation in the ankyrin-1 gene causes diminished protein expression resulting in hemolytic anemia in mice. G3 (Bethesda). 2013 Oct3; 3 (10):1687-95. 査読あり

4: Aoki-Nonaka Y, Nakajima T, Miyauchi S, Miyazawa H, Yamada H, Domon H, Tabeta K, Yamazaki K. Natural killer T cells mediate alveolar bone resorption and a systemic inflammatory response in response to oral infection of mice with *Porphyromonas gingivalis*. J Periodontal Res. 2014 Feb; 49 (1):69-76. 査読あり

5: Shimada Y, Tabeta K, Sugita N, Yoshie H. Profiling biomarkers in gingival crevicular fluid using multiplex bead immunoassay. Arch Oral Biol. 2013Jun; 58 (6):724-30. 査読あり

6: Arnold CN, Barnes MJ, Berger M, Blasius AL, Brandl K, Croker B, Crozat K, Du X, Eidenschenk C, Georgel P, Hoebe K, Huang H, Jiang Z, Krebs P, La Vine D, Li X, Lyon S, Moresco EM, Murray AR, Popkin DL,

Rutschmann S, Siggs OM, Smart NG, Sun L, Tabeta K, Webster V, Tomisato W, Won S, Xia Y, Xiao N, Beutler B. ENU-induced phenovariance in mice: inferences from 587 mutations. BMC Res Notes. 2012 Oct 24; 5: 577. 査読あり

7: Miyazawa H, Tabeta K, Miyuchi S, Aoki-Nonaka Y, Domon H, Honda T, Nakajima T, Yamazaki K. Effect of Porphyromonas gingivalis infection on post-transcriptional regulation of the low-density lipoprotein receptor in mice. Lipids Health Dis. 2012 Sep 19; 11: 121. 査読あり

8: Miyashita H, Honda T, Maekawa T, Takahashi N, Aoki Y, Nakajima T, Tabeta K, Yamazaki K. Relationship between serum antibody titres to Porphyromonas gingivalis and hs-CRP levels as inflammatory markers of periodontitis. Arch Oral Biol. 2012 Jun; 57(6):820-9. 査読あり

9: Miyuchi S, Maekawa T, Aoki Y, Miyazawa H, Tabeta K, Nakajima T, Yamazaki K. Oral infection with *Porphyromonas gingivalis* and systemic cytokine profile in C57BL/6.KOR-ApoE sh1 mice. J Periodontal Res. 2012 Jun; 47(3):402-8. 査読あり

[学会発表] (計 0 件)

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

多部田 康一 (TABETA Koichi)
新潟大学・医歯学系・助教
研究者番号: 20401763

(2) 研究分担者

山崎 和 (YAMAZAKI Kazuhisa)
新潟大学・医歯学系・教授
研究者番号: 182478