

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26463128

研究課題名(和文) 早産の予防戦略 歯周病原細菌および歯周病由来自己抗体の妊婦子宮への影響

研究課題名(英文) Prevention of preterm birth -effect of perodontal bacteria on placenta and umbilical cord-

研究代表者

片桐 さやか (Katagiri, Sayaka)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：60510352

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)：47名の切迫早産妊婦、48名の正常妊娠妊婦を被験者とした。早産であった妊婦からは、口腔内から*P. gingivalis*が高頻度で検出された。また、出産後の胎盤を解析し、歯周病原細菌が胎盤から検出されるかどうかを検討した。その結果、切迫早産であった妊婦の胎盤からは、正常妊娠の妊婦の胎盤と比較して*F. nucleatum*が有意に多く検出された。

SIc:ICR雌マウスの妊娠1日目から*P. gingivalis*を静脈注射にて毎日投与した菌血症モデル群および妊娠15日目に1回のみ投与した群では、妊娠1日目から毎日生理食塩水を静脈注射した対照群と比較して有意に低い仔の出生体重となった。

研究成果の概要(英文)：We examined periodontal bacteria in saliva, plaque and placenta among 47 threaten preterm labor (TPL) and healthy pregnant subjects. Almost all periodontopathic bacteria were found in saliva, plaque, and placenta samples. *P. gingivalis* in saliva and *F. nucleatum* in placenta tissue were significantly higher in the TPL group than in the healthy pregnant group. Bacteremia was induced in pregnant Jcl:ICR mice (8-weeks-old) by intravenous injection of Pg. ED or control (CO) mice were injected Pg or saline Every-Day during pregnancy. Birth weight was lower for pups in the ED groups compared to those in the CO group.

研究分野：歯周病学分野

キーワード：歯周病 低体重出産

### 1. 研究開始当初の背景

胎児は、子宮内の羊水中で成長するため、羊水・羊膜への細菌感染は早産や胎児発育不全の原因のひとつとなる。しかし、尿路感染症・細菌性膣炎などが認められない妊婦においても、一定の割合で子宮内部への細菌感染が認められている。近年、歯周炎が早産・低体重児出産に影響を及ぼすことが報告されている<sup>1</sup>。そのメカニズムは、歯周病原細菌による持続的な慢性炎症によって、PGE2などの炎症性物質が産生されること、また、歯周病原細菌がヒトの母体羊水から検出された、という報告に支持されるように、口腔内の歯周病原細菌が直接血液中に侵入する菌血症によるものである<sup>2</sup>。歯肉で炎症が発生すると、その部位は微小潰瘍となり、細菌が体内に侵入する入り口となることで口腔内から離れた臓器に到達し、2次感染を引き起こすと考えられている。一方、早産・低体重で生まれた子は、将来的に冠動脈疾患や耐糖能異常のリスクが高いことが報告されており、以上のことから、母親の歯周病原細菌の感染が胎児の出生異常および発育異常に影響する可能性が考えられる。

私たちは東京医科歯科大学大学周産女性診療科を受診中の患者さんに対して口腔内の状態と出産結果に関する研究を行った。早産であった妊婦からは、歯周病原細菌のひとつである *Porphyromonas gingivalis* が有意に高頻度で検出されたこと、歯周病原細菌に対する抗体のひとつが、習慣性流産・血栓症を引き起こす抗リン脂質抗体症候群に類似した症状を引き起こす可能性を報告した<sup>3</sup>。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、(1) 口腔内の細菌が出産後の胎盤から検出されるかどうか、また、出産の結果と関連するかどうか(2) 母体の歯周病原細菌の感染により、どのように出産異常を引き起こすか、マウスモデルを用いて明らかにすることである。

### 3. 研究の方法

(1) 東京医科歯科大学医学部附属病院 周産・女性診療科受診中の妊婦を被験者とした臨床研究

出産前に母親の歯周組織検査、口腔内から歯周病原細菌の検出を行う。分娩時には胎盤を採取し、歯周病原細菌の検出を行う。母親の口腔内、胎盤の歯周病原細菌の感染と出産結果を検討する。

(2) マウス (Slc:ICR) を用いた歯周病の母体および仔に与える影響の検討

妊娠プラグの確認された日を妊娠0日とし、培養した特定の濃度の *P. gingivalis* もしくは生理食塩水を毎日静脈注射し、早産・低体重出産が起きるかどうかを観察する。

妊娠17日目に、臍帯、胎盤および血漿を採取する。臍帯および胎盤に、*P. gingivalis* の感染が認められるかどうか、TaqMan probe

を用いたPCR法にて検討する。感染の有無に関しては、ELISA法による抗 *P. gingivalis* 抗体の検出によって評価する。胎盤および臍帯に遺伝子発現の変化が認められるかどうか、microarray法およびquantitative PCR法を用いて検討する。また、血漿中の炎症性サイトカインの上昇が認められるかどうか、Flow Cytometryを用いたCytokine Beads Arrayにて検討する

### 4. 研究成果

(1) 47名の切迫早産妊婦、48名の正常妊娠妊婦、計95名の妊婦を被験者とした臨床研究を行った。早産であった妊婦からは、口腔内から *P. gingivalis* が高頻度で検出された。また、出産後の胎盤を解析し、歯周病原細菌が胎盤から検出されるかどうかを検討した。その結果、切迫早産であった妊婦の胎盤からは、正常妊娠の妊婦の胎盤と比較して *Fusobacterium nucleatum* が有意に多く検出された。*F. nucleatum* は口腔内の清掃状態を反映すると考えられており、口腔内の状態が胎盤に反映されている可能性が示された。

(2) Slc:ICR 雌マウスの妊娠1日目から *P. gingivalis* (ATCC33277) を特定の濃度で (unpublished) 静脈注射にて毎日投与した菌血症モデル群 (ED群)、妊娠1日目に1回のみ投与した群 (GD1群)、妊娠15日目に1回のみ投与した群 (GD15群) および妊娠1日目から毎日生理食塩水を静脈注射した対照群 (C0群) を作製し、出産の時期・出生児の体重について評価を行った。ED群およびGD15群では、C0群と比較して有意に低い仔の出生体重となり、低体重出産を引き起こされたものの、GD1群ではC0群と比較して出生時体重の変化は認められなかった。

また、胎盤・臍帯いずれの組織からも *P. gingivalis* は検出されなかったが、GD1群およびED群では血漿中の抗 *P. gingivalis* 血漿IgG抗体価の上昇が認められ、感染は成立していると考えられる。また妊娠17日目のED群の胎盤では *Ilg6* および *Tnf*、臍帯では *Hif1* mRNA の有意な上昇が認められた。また、臍帯でのマイクロアレイでは、炎症に関わる遺伝子発現の上昇が認められた。

以上の結果より、妊娠中、特に妊娠後期の *P. gingivalis* 感染は胎盤や臍帯に炎症を誘発し、低体重出産を引き起こす可能性が示唆された。

### <引用文献>

1. Vergnes JN. Et al. Preterm low birth weight and maternal periodontal status: a meta analysis. Am J ObstetGynecol 196; e1-7, 2007.
2. Page RC. Pathobiology of periodontal diseases. Ann Periodontol 3; 108-120, 1998.
3. Ye C. et al. The anti-phospholipid antibody-dependent and independent

effects of periodontopathic bacteria on threatened preterm labor and preterm birth. Arch Genecol Obstet 288 (1); 65-72, 2013.

#### 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. Nitta H, Katagiri S, Nagasawa T, Izumi Y, Ishikawa I, Izumiyama H, Uchimura I, Kanazawa M, Chiba H, Matsuo A, Utsunomiya K, Tanabe H, Takei I, Asanami S, Kajio H, Ono T, Hayashi Y, Ueki K, Tsuji M, Kurachi Y, Yamanouchi T, Ichinokawa Y, Inokuchi T, Fukui A, Miyazaki S, Miyauchi T, Kawahara R, Ogiuchi H, Yoshioka N, Negishi J, Mori M, Mogi K, Saito Y, Tanzawa H, Nishikawa T, Takada N, Nanjo K, Morita N, Nakamura N, Kanamura N, Makino H, Nishimura F, Kobayashi K, Higuchi Y, Sakata T, Yanagisawa S, Tei C, Ando Y, Hanada N, \*Inoue S.

The number of microvascular complications is associated with an increased risk for severity of periodontitis in type 2 diabetes patients: Results of a multicenter hospital-based cross-sectional study.

*J Diabetes Investig* (in press) 査読有り

2. Maekawa S, \*Katagiri S, Takeuchi Y, Komazaki R, Ohtsu A, Udagawa S, Izumi Y. Bone metabolic microarray analysis of ligature-induced periodontitis in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Periodontal Res* 52(2):233-245, 2017. 査読有り

3. Katagiri S, Park K, Maeda Y, Rao TN, Khamaisi M, Li Q, Yokomizo H, Mima A, Lancerotto L, Wagers A, Orgill DP, \*King GL.

Overexpressing IRS1 in Endothelial Cells Enhances Angioblast Differentiation and Wound Healing in Diabetes and Insulin Resistance.

*Diabetes* 65(9):2760-71, 2016. 査読有り

4. Park K, Mima A, Li Q, Rask-Madsen C, He P, Mizutani K, Katagiri S, Maeda Y, Wu IH, Khamaisi M, Preil SR, Maddaloni E, Sørensen D, Rasmussen LM, Huang PL, \*King GL.

Insulin decreases atherosclerosis by inducing endothelin receptor B expression.

*JCI Insight* 1(6), pii:e86574, 2016. 査読有り

5. Khamaisi M, Katagiri S, Keenan H, Park K, Maeda Y, Li Q, Qi W, Thomou T, Eschuk D, Tellechea A, Veves A, Huang C, Orgill DP, Wagers A, \*King GL.

PKC inhibition normalizes the wound-healing capacity of diabetic human fibroblasts.

*J Clin Invest* 126(3):837-853, 2016. 査読有り

6. \*和泉雄一, 片桐さやか.

早産・低体重児出産のリスク因子としての歯周病

東京都歯科医師会雑誌 63 (3): 85-92. 2015 査読なし

7. Asahi K, Imazeki N, Takahashi T, Takeuchi M, Kimura N, Sasaki E, Uchino H, Murasugi K, Hayakawa A, Katagiri S, Ishizuka N, Suzuki Y, Sekiya K, Takahashi M, Sato E, Kawakubo K, Uehara Y, Ikemoto S, \*Inoue S.

High prevalence of general and abdominal obesity and relationship of obesity with diabetes mellitus in patients with psychiatric disorders

*Journal of Diabetes and Obesity* 1(2); 1-6, 2014. 査読有り

8. Mizutani K, Park K, Mima A, Katagiri S, \*G.L. King.

Obesity-associated Gingival Vascular Inflammation and Insulin Resistance

*J Dent Res* 93(6): 596-601; 2014. 査読有り

9. 十川裕子, 竹内康雄, 片桐さやか, 木村文香, 難波佳子, 小田 茂, 足立淑子, 和泉雄一

尋常性天疱瘡に歯周病を併発した患者に歯周基本治療を行い良好な結果を得られた一症例

日本歯周病学会誌. 56 (4): 451-456. 2014年12月. 査読なし

[学会発表](計13件)

1. 高橋宏和, 片桐さやか, 江口有一郎.

歯周病原細菌がNAFLD/NASHへ及ぼす影響.

第41回日本肝臓学会東部会 2016.12.09.京王プラザホテル(東京都・新宿区)

2. Maekawa S, Katagiri S, Takeuchi Y, Komazaki R, Ohtsu A, Udagawa S, Izumi Y. Bone metabolic microarray analysis of ligature-induced periodontitis in streptozotocin-induced diabetic mice.

The 102nd Annual Meeting of American academy of Periodontology 2016.9.10-13. (San Diego, CA, USA)

3. Maekawa S, Ikeda Y, Katagiri S, Suda T, Matsuura T, Ikeda E, Nakasato A, Sekiuchi T, Izumi Y. Appropriate recall interval for periodontal patients during supportive periodontal therapy.

The 11th Asian Pacific Society of Periodontology meeting. 2015. 10. 8-9. (Bali, Indonesia)

4. 駒崎利奈, 片桐さやか, 高橋宏和, 前川祥吾, 大津杏理, 宇田川小百合, 佐々木直

樹, 竹内康雄, 江口有一郎, 安西慶三, 和泉雄一.  
歯周病原細菌 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* が肝臓の脂質代謝・糖代謝へ及ぼす影響.  
第3回肝臓と糖尿病・代謝研究会 2016.7.16. 石川県立音楽堂邦楽ホール・交流ホール(石川県・金沢市)  
5. 片桐さやか, 志柿(片桐)飛鳥, 竹内康雄.  
咬合性外傷を伴う重度慢性歯周炎に対する口腔機能回復治療.  
第59回日本歯周病学会春季学術大会. 2016.5.20-21. かがしま県民交流センター宝山ホール鹿児島.(鹿児島県・鹿児島市)  
6. 片桐さやか.  
医科歯科連携した臨床検査の必要性を考える-歯周病と糖尿病および心血管病変- 糖尿病と歯周病との関わり～疫学及び介入研究～.  
第8回日本口腔検査学会総会・学術大会. 2015.10.3-4. 神奈川歯科大学大講堂(神奈川県・横須賀市)  
7. 前川祥吾, 片桐さやか, 駒崎利奈, 宇田川小百合, 大津杏里, 竹内康雄, 和泉雄一.  
糖尿病モデルマウスにおける結紮誘導歯周炎の解析.  
第58回日本歯周病学会秋季学術大会. 2015.9.11-13. アクトシティ浜松(静岡県・浜松市)  
8. 中里昭仁, 池田裕一, 竹内康雄, 片桐さやか, 須田智也, 前川祥吾, 松浦孝典, 関内孝侑, 池田恵莉, 和泉雄一.  
歯周病患者における適切な SPT 間隔.  
第58回日本歯周病学会秋季学術大会. 2015.9.11-13. アクトシティ浜松(静岡県・浜松市)  
9. 竹内康雄, 片桐さやか, 小林宏明, 駒崎利奈, 須田智也, 若松美江, 高松秀行, 早雲彩絵, 高野琢也, 楠侑香子, 吉田明日香, 杵淵恵那, 大津杏理, 関内孝侑, 片山沙織, 中里昭仁, 三瀬太記, 和泉雄一.  
侵襲性歯周炎における治療効果予知マーカーとしての細菌検査の有用性.  
第142回日本歯科保存学会春季学術大会. 2015.6.8-9. 西日本総合展示場、北九州国際会議場(福岡県・北九州市)  
10. 片桐さやか.  
労働者の生活習慣病・全身の健康と歯科疾患糖尿病と歯周病  
第24回公益社団法人日本産業衛生学会 2014.9.24-27.(石川県・金沢市)  
11. Katagiri S, Maeda Y, Park K, Li Q, Khamaisi M, Lancerotto L, D.P.Orgill, G.L.King.  
Demonstration of insulin's critical role in angioblasts formation and re-vascularization in wound healing with and without diabetes.  
74th Scientific Sessions, American

Diabetes Association. 2014. 6. 13-17. (San Francisco, CA, USA)  
12. Khamaisi M, Wu I, Katagiri S, Hastings S, H.A.Keenan, D.P. Orgill, G.L.King.  
Persistent Activation of PKC d and Inhibition of Insulin Actions in Fibroblasts from Type 1 Diabetes with CVD Impaired Wound Healing.  
74th Scientific Sessions, American Diabetes Association. 2014. 6. 13-17. (San Francisco, CA, USA)  
13. 御給美沙, 葉暢暢, 片桐さやか, 小林宏明, 竹内康雄, 南原弘美, 須田智也, 池田裕一, 須藤毅頭, 長澤敏行, 和泉雄一.  
切迫早産と低体重児出産における歯周病原細菌とその抗体価に関する研究.  
日本歯科保存学会 2014 年度春季学術大会(第140回)滋賀県立美術劇場びわ湖ホール 2014. 6. 19-20. (滋賀県・大津市)

〔図書〕(計4件)

1. 前川祥吾, 片桐さやか, 和泉雄一.  
総論-女性のライフステージと口腔管理の意義  
母子にやさしい歯科医院 “女性のライフステージ” と口腔管理 10-16, 2017.
2. 前川祥吾, 片桐さやか, 和泉雄一.  
障害者・有病者の歯周治療  
Periodontics for Special needs Patients 10-19, 2017.
3. 前川祥吾, 片桐さやか, 和泉雄一.  
歯周病・歯ぐき下がり・口臭  
女性医療の全て 228-229, 2016.
4. 片桐さやか, 前川祥吾.  
「歯周治療成功が見えてくる垂直性骨欠損への対応」26-33, 2016.  
〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

片桐さやか(KATAGIRI Sayaka)  
東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・助教

研究者番号: 60510352

(2)研究分担者

小林宏明(KOBAYASHI Hiroaki)  
東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号: 50396967

東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・教授

研究者番号：70313252

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

前川祥吾 (MAEKAWA Shogo)

駒崎利奈 (KOMAZAKI Rina)

宇田川小百合 (UDAGAWA Sayuri)

佐々木直樹 (SASAKI Naoki)

渡辺数基 (WATANABE Kazuki)

竹内康雄 (TAKEUCHI Yasuo)

芝多佳彦 (SHIBA Takahiko)

大津杏理 (OHTSH Anri)