

新潟大学研究推進機構超域学術院 研究プロジェクト 年次報告書 (2010 年度)

(1) 研究プロジェクト名

歯周疾患が全身に与える影響に関する分子基盤解明

(2) 研究プロジェクト構成員・職・氏名

医歯学系 教授・山崎和久

超域研究機構 准教授・多部田康一

医歯学総合病院 講師・中島貴子

医歯学系 助教・伊藤晴江

医歯学系 特任助教・本田朋之

医歯学系 特任助教・奥井隆文

医歯学総合病院 医員・奥井桂子

医歯学総合病院 医員・土門久哲

大学院 医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻 4 年・高橋直紀

大学院 医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻 4 年・前川知樹

大学院 医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻 3 年・青木由香莉

大学院 医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻 3 年・宮下博考

大学院 医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻 2 年・宮内 小百合

大学院 医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻 1 年・宮沢 春菜

(3) 研究成果の概要

① 2010 年度に設定した計画 (何をどこまで行うか)

歯周炎 (慢性感染症) と動脈硬化性疾患との関連における分子基盤を解明することを目的として、本プロジェクトにおいては以下の計画を 2010 年度において設定した。

基礎研究：

2009 年度までに作成した実験的歯周炎動物モデルの解析を継続して、Apolipoprotein E ミュータントマウスにおける *in vivo*, *in vitro* における免疫細胞・遺伝子レベルの基礎的解析から口腔感染と動脈硬化性疾患の関連メカニズムについて明らかにする。

- i) マウス実験的歯周炎モデルを用い、これまでの *P. gingivalis* W83 株を用いた短期感染実験系（30 日）に加え、長期感染（100 日）を行い、病変の成立を確認する。
P. gingivalis の各種変異株を用い動脈硬化症と関連する病原因子を明らかにする。
- ii) 血管、肝臓などの組織における DNA マイクロアレイ実験から得られたデータをもとに、それら遺伝子の機能を明らかにするため、siRNA により発現抑制をした条件下で内皮細胞・肝細胞の病原因子への反応性について検討する。

臨床研究：

歯周炎と冠動脈疾患の関連について現在不足している介入研究・大規模コホート調査についてデータの収集・解析を継続。その関連性の検証とともに歯周炎と冠動脈疾患に共通したバイオマーカーについて検討することで将来的なリスク診断マーカーとしての有用性を念頭においた解析を行う。

- iii) 症例対照研究において歯周炎罹患患者の血中 hs-CRP、IL-6 レベルの上昇と歯周治療によるこれら炎症マーカーの低下についての解析において、より精度を上げるために症例の追加を随時行う。
- iv) 大規模コホート調査として、動脈硬化性疾患発症リスクについての疫学調査（十日町・中里コホート調査）で採取された血清サンプルについて歯周病原細菌に対する血清抗体レベルと動脈硬化性疾患発症リスクについて関連を検討する。

② 記①の計画の進展状況

- i) 長期感染のマウス歯周炎モデルの解析結果より、感染の継続によって血清脂質プロファイルが動脈硬化病変進行性に変動するという新たな知見を得た。これにより当初 *P. gingivalis* の各種変異株を用いた検討を行う予定であったが、計画を変更して血清脂質変動への影響に着目して *in vitro* において炎症によるコレステロール排出機構への影響について解析を行った。
- ii) 肝臓および大動脈における遺伝子発現マイクロアレイ解析の結果より動脈硬化症関連遺伝子の抽出を行った。特に歯周病原細菌の血管内皮細胞に対する作用について動脈硬化症関連遺伝子 Egr-1(early growth response-1)分子の役割について論文発表をおこなった。
- iii) 症例の追加とともに、結果について論文報告を行った。
- iv) コホート調査において採取された血清中の歯周病原細菌に対する抗体レベルの測定をおこなった。結果の解析、歯周病原細菌に対する血清抗体価の上昇と動脈硬化性疾患イベントの発症に有意な関連を認め、その内容について論文報告の準備を行った。

（共同研究者 新潟大学大学院医歯学総合研究科 地域予防医学講座
田邊 直仁 准教授）

③ 上記①の計画の自己評価

2010 年度計画について順調に成果が得られた。②-i)については結果を踏まえ、より詳細な解析を継続する。

④ 研究成果を踏まえた今後の研究計画

基礎研究：

- ・歯周炎モデルマウスにおける血清中タンパク質について、プロテインアレイを用いた解析を行うことにより、新たな疾患関連マーカーについて検討を行う。
- ・動脈硬化症関連遺伝子群の機能について継続して詳細な解析を行う。
- ・口腔感染による動脈硬化症への影響について、宿主が感作されるメカニズムについて、疾患関連候補分子の遺伝子改変マウスにおいて実験的歯周炎発症による動脈硬化症発症について解析を行う。
- ・SCID マウスにヒト歯周炎組織より分離した歯周病原細菌特異的ヒト T 細胞を移入し、歯周炎の病態及び動脈硬化症発症に及ぼす影響を実験的歯周炎モデルで解析する。

臨床研究：

臨床研究の症例追加

- ・解析の精度を上げるため、症例の追加を随時行う。

⑤ 研究発表実績

同プロジェクトによる研究成果の全部又は一部を学会誌等に発表したものについては、次に記載した区分の順に所要事項を記入すること。(別紙を添付しても可。)

ア 学会誌等 (発表者名, テーマ名, 学会誌名, 巻, 年月日)

- 1) Liang S, Hosur KB, Domon H, Hajishengallis G: Periodontal inflammation and bone loss in aged mice. *J Periodontal Res.* 2010;**45**: 574-578.
- 2) Wang M, Krauss JL, Domon H, Hosur KB, Liang S, Magotti P, Triantafilou M, Triantafilou K, Lambris JD, Hajishengallis G: Microbial hijacking of complement-toll-like receptor crosstalk. *Sci Signal.* 2010;**3**.
- 3) Nakajima T, Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Ito H, Takahashi N, Maekawa T, Tabeta K, Yamazaki K. Periodontitis associated up-regulation of systemic inflammatory mediator level may increase the risk of coronary heart disease. *J. Periodont Res.* 2010;**45**(1): 116-122.
- 4) Maekawa T, Takahashi N, Honda T, Yonezawa D, Miyashita H, Okui T, Tabeta K, Yamazaki K: *Porphyromonas gingivalis* Antigens and Interleukin-6 Stimulate the Production of Monocyte Chemoattractant Protein-1 via the Upregulation of Early Growth Response-1 Transcription in Human Coronary Artery Endothelial Cells. *J Vasc Res.* 2010;**47**(4):346-354.
- 5) Takahashi N, Honda T, Domon H, Nakajima T, Tabeta T, Yamazaki K: IL-1 receptor-associated kinase-M in gingival epithelial cells attenuates the inflammatory response elicited by *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontal Res.*

2010;45(4):512-519.

6) Aoki Y, Tabeta K, Murakami Y, Yoshimura F, Yamazaki K: Analysis of immunostimulatory activity of *Porphyromonas gingivalis* fimbriae conferred by Toll-like receptor 2. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2010; 398: 86-91.

イ 口頭発表（発表者名，テーマ名，学会等名，年月日）

1) 多部田康一：マウス *Porphyromonas gingivalis* 口腔感染モデルにおける動脈硬化性変化の解析. 第2回口腔環境制御研究カテゴリー集会、2010. 2. 10.

2) 青木由香莉、多部田康一、山崎和久：*Porphyromonas gingivalis* 由来 FimA 線毛のサイトカイン産生誘導能における Lipoprotein の関与. 平成 22 年度新潟歯学会総会、2010. 4. 17.

3) 宮下博考、米澤大輔、本田朋之、奥井隆文、奥井桂子、前川知樹、高橋直紀、伊藤晴江、中島貴子、多部田康一、山崎和久：歯周炎患者における *Porphyromonas gingivalis* に対する抗体価と高感度 CRP の関連性. 平成 22 年度新潟歯学会総会、2010. 4. 17.

4) 山崎和久：冠動脈疾患のリスク因子としての歯周疾患を考察する. シンポジウム「歯周医学最前線—これまでにながわかったか—」第 19 回日本有病者歯科医療学会総会/学術大会、2010. 4. 24.

5) 中島貴子：歯周炎の発症・進展における T 細胞免疫の関わり. シンポジウム「歯周組織への感染とそれに対する免疫応答の特異性とは」. 第 35 回春季日本歯周病学会学術大会、盛岡市、2010. 5. 14.

6) 青木由香莉、多部田康一、村上幸孝、吉村文信、山崎和久：*Porphyromonas gingivalis* 由来 FimA 線毛のサイトカイン産生誘導能における Lipoprotein の関与. 第 53 回春季日本歯周病学会学術大会、2010. 5. 14.

7) 高橋直紀、前川知樹、奥井隆文、本田朋之、多部田康一、中島貴子、山崎和久：ヒト歯肉上皮細胞のケモカイン産生における interleukin (IL) -17 の関与 —IL-17 受容体の発現とその機能解析— 第 53 回春季日本歯周病学会学術大会、2010. 5. 15.

8) 多部田康一、前川知樹、高橋直紀、青木由香莉、宮下博考、宮内小百合、奥井隆文、中島貴子、山崎和久：動脈硬化自然発症モデルマウスにおける *Porphyromonas gingivalis* 長期感染後の血清脂質プロファイルの変化. 第 132 回日本歯科保存学会 2010 年度春季学術大会、2010. 6. 4.

9) 前川知樹、奥井桂子、奥井隆文、中島貴子、多部田康一、山崎和久：歯周病原細菌は血

管内皮細胞において IL-6/sIL-6R を介し、CRP 産生を誘導する。第 132 回日本歯科保存学会 2010 年度春季学術大会、2010. 6. 4.

10) 多部田康一：Apolipoprotein E 欠損マウスにおける *Porphyromonas gingivalis* 長期感染後の血清脂質プロファイルの変化。第 31 回日本炎症・再生医学会、2010. 8. 5.

11) Aoki Y, Tabeta K, Murakami Y, Yoshimura F, Yamazaki K: Analysis of TLR2-stimulating activity of *Porphyromonas ginigivalis* FimA fimbriae. 88th General session of the IADR, Barcelona, July 17, 2010.

12) 多部田康一、前川知樹、高橋直紀、青木由香莉、宮下博考、宮内小百合、奥井隆文、中島貴子、山崎和久：*Porphyromonas gingivalis* 長期感染マウスモデルにおける炎症、脂質代謝関連遺伝子の発現変動。第 53 回秋季日本歯周病学会学術大会、2010. 9. 19.

13) 山崎和久：歯周疾患の動脈硬化症リスクに及ぼす影響。シンポジウム「新たな視点から口腔疾患を誘因とする難治性疾患を考える」第 52 回歯科基礎医学会学術大会、2010. 9. 21.

14) Yamazaki K.: Periodontal Disease and Systemic Health. Symposium on Oral Care and Oral Health. 58th Annual meeting of Japanese Association for Dental Research, November 20, 2010.

ウ 出版物（著者名，書名，出版社名，年月日）

1) 山崎和久、本田朋之：歯周病が心血管系疾患に及ぼす影響『医学のあゆみ』、Vol. 232、No. 3、P. 175-180、医歯薬出版、2010. 1. 16.

2) Tabeta K, Yamazaki K.: Oral Biology: :Molecular Techniques and Applications Analysis of Immune Responses to Purified Recombinant Antigens of Periodontal Pathogens. (Seymour GJ, Cullinan MP, Heng NCK 編) P345-357, Springer, Oxford, UK, 2010.

3) Yamazaki K, Ito H.: Oral Biology: :Molecular Techniques and Applications Single-Strand Conformation Polymorphism Analysis for the Diagnosis of T-Cell Clonality in Periodontal Disease. (Seymour GJ, Cullinan MP, Heng NCK 編) P359-372, Springer, Oxford, UK, 2010.

⑥競争的資金の応募・採択状況

プロジェクト認定期間中における競争的資金への応募・採択状況を構成員毎に記載する。ただし、学内者のみとし、プロジェクト推進経費等の学内公募の研究費は除くものとする。

(記載事項：代表者名，研究費の名称，研究期間，総額，採否の別)

- 1) 山崎和久(主担当研究者):最先端医歯学の融合による口腔-全身問題の解決を目指す若手研究者養成プログラム. 日本学術振興会 頭脳循環を活性化する若手研究者海外派遣プログラム, S2203, 2010-2012年, 採択
- 2) 多部田康一(研究代表者):歯周炎と動脈硬化性疾患の生物学的関連を解明する-インターフェースとなるエイジング-. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究(C), 課題番号 20592426, 2008-2010. 4,550千円, 継続
- 3) 多部田康一(研究代表者) 加藤記念研究助成 2010年 2,000千円 不採択
- 4) 中島貴子(研究代表者):レギュラトリー細胞が歯周組織破壊に及ぼす影響-敵か味方か-. 日本学術振興会科学研究費補助金, 基盤研究(B), 課題番号 21390555, 2009-2011年. 17,810千円, 継続
- 5) 伊藤晴江:歯周炎の病態形成における制御性T細胞の関与-遺伝子と機能の発現制御機構に迫る-. 文部科学省科学研究費補助金, 若手研究(B), 課題番号 21792113, 2009-2010. 4,290千円, 継続
- 6) 本田朋之:歯周病原細菌による免疫回避戦略の解明. 文部科学省科学研究費補助金, 若手研究(B), 課題番号 21792112, 2010. 2009-2010年. 総額, 継続
- 7) 奥井隆文:新規T細胞サブセットTh17を基盤とした歯周炎病態メカニズムの再構築. 文部科学省科学研究費補助金, 若手研究(B), 課題番号 21792116, 2010. 2009-2010年. 4,290千円, 継続
- 8) 梶田桂子:歯周組織再生を制御するマイクロRNA発現の網羅的解析. 文部科学省科学研究費補助金, 若手研究(B), 課題番号 21792117, 2010. 2009-2010年. 4,160千円, 継続

⑦研究成果による知的財産権の出願・取得状況

研究で得られた成果で知的財産権(特許権, 実用新案権等)を出願している場合(取得を含む。)はその内容を記載すること。記載する事項が無い場合は, 「該当なし」と記載すること。

該当なし

⑧新聞等のメディアに掲載された事項

プロジェクトに関するもので, 学外向けのメディアに取り上げられた場合は, その内容を記載すること。

該当なし

《提出要領》

- (1) A4版(縦)に横書きとし、文字サイズは10.5ポイントを標準とする。
- (2) 総頁数は全体を通して5頁程度とする。
- (3) 提出された報告書は、超域学術院HP及び印刷物等で公開する。
- (4) 論文投稿中、学会発表前又は知的財産権に係る出願手続き中など、公表することに問題がある箇所がある場合には、事前に申し出ること。
- (5) 提出方法は、メール添付にて研究企画推進課あて提出するものとする。
容量その他の関係でメール送信できない場合は、CD等の媒体で提出すること。
- (6) 提出期限は、平成23年9月30日(金)とする。