

研究者：玉原 亨（所属：東北大学歯学研究科予防歯科学分野）

研究題目：歯周病菌による動脈瘤形成機序の解明および新たな予防法の開発

目的：

歯周病が大動脈瘤の発生および病態の進行に深く関わっていることが強く示唆されている。歯周病菌による直接的な大動脈瘤壁への感染とそれに引き続く炎症がその本質であると考えられているが、これまでの報告は大動脈瘤壁に歯周病菌が存在していることをPCR法や免疫染色法にて確認しているのみであった。

この方法では血行性に動脈瘤に流れ着いた歯周病菌の残骸を検出している可能性が否定できない。そこで我々は心臓血管外科との共同研究により、大動脈瘤手術時に摘出した標本から大動脈瘤

壁に歯周病菌が存在することの確認に加え、嫌気培養を施行しその歯周病菌が「生きた」状態で存在することを証明する。さらに歯周病菌が直接的に動脈瘤形成の発症と病態の進行に深く関わっていることを遺伝子レベルで証明する。心疾患や糖尿病といった生活習慣病と歯周病について、これまで統計学的に関連があることが多く示されているが、そのメカニズムについては決定的な証拠は少ない状況にある。本研究により生活習慣病と歯周病の関わり的一端が実験的に証明され、同領域の研究がこれまでとは比べ物にならないほど加速することが予想される。

対象および方法：

大動脈瘤だけではなくその他の大動脈疾患において切除された動脈壁もサンプルとし、切除部の健常な部分をコントロールとして、その場所で生きている細菌を分離培養法を用いて探索した。この方法を用いることによって、わずか数コピーの細菌の検出が可能となる。

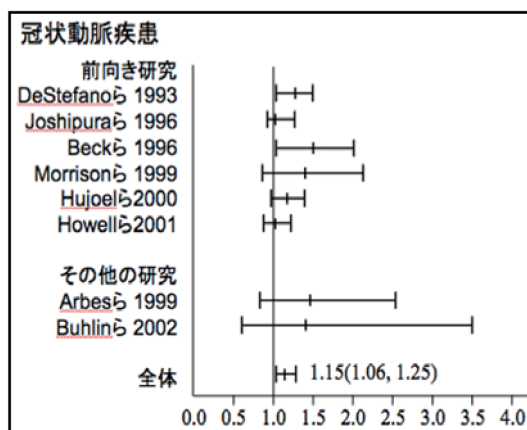


図1 歯周炎に対する冠状動脈疾患のオッズ比

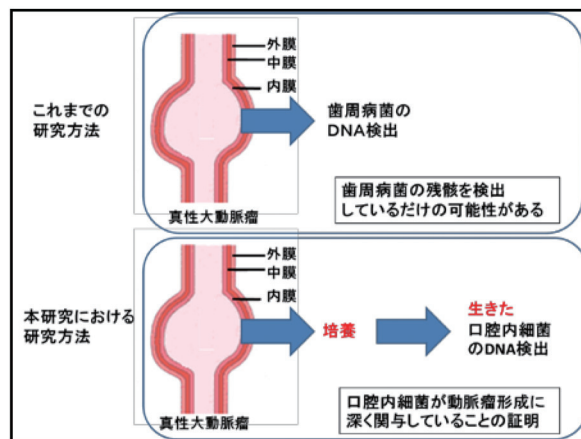


図2 動脈瘤の培養による細菌検出

結果および考察：

これまで 20 症例のサンプルが得られ、13 症例で細菌の分離培養に成功した。現れたコロニーから細菌の DNA を抽出し、16S rRNA の領域を増幅して DNA シークエンスにて菌名を同定した(右表)。その結果、大動脈瘤およびその他大動脈疾患から歯周病菌は検出されず、体表や口腔の常在菌である *staphylococcus* 属や *Propionibacterium acnes* の検出率が高かった。そこで、術中および研究中の細菌のコンタミネーションを疑い、*Propionibacterium acnes* について各サンプルの DNA 配列を調べたところ、各サンプル間

疾患	菌名(テスト)	菌名(コントロール)
1st 胸部大動脈瘤	<i>Staphylococcus hemolyticus</i>	
2nd 胸部大動脈瘤	<i>Propionibacterium acnes</i>	
3rd 大動脈瘤乖離	<i>Propionibacterium acnes</i>	
4th 大動脈炎症様群	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
5th 弓部大動脈瘤	<i>Staphylococcus sp.</i> <i>Propionibacterium acnes</i>	
6th 弓部大動脈瘤	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
7th 弓部大動脈瘤	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
8th 大動脈弁輪拡張症	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
9th 胸腹部大動脈瘤	<i>Propionibacterium acnes</i>	
10th 先天性の大動脈炎	<i>Propionibacterium acnes</i>	
11th 胸腹部大動脈瘤(無歯顎)	<i>Propionibacterium acnes</i> <small>内歯のみ</small> <i>Propionibacterium acnes</i> <small>内歯と外歯</small>	
12th 大動脈弁狭窄症	<i>Propionibacterium acnes</i>	
13th 胸腹部大動脈瘤	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Propionibacterium acnes</i> <small>磨いたガラスに塗ったところ</small>

図 3 培養法によって動脈瘤壁から検出された細菌

において配列が異なる部分が認められたことから、異なるクローンの細菌株であることが示された。さらに、それら細菌株の違いは、術前の患者の歯垢中の *Propionibacterium acnes* の細菌株の違いと一致している症例が多かった。よって術中および研究中の細菌のコンタミネーションは可能性が低いと考えられた。

今回の一連の実験により動脈瘤壁もしくは周囲には生きた細菌が存在していることが示された。これまでの報告では、*Propionibacterium acnes* は末梢血管炎を引き起こす Pager disease の原因菌であることが報告されていることを鑑みると、根尖病巣内や歯垢に存在する *Propionibacterium acnes* が歯周炎の進行により血管に侵入したことも、動脈瘤の発症および進行に関与していることを示唆している。一方、歯周病菌については、動脈瘤壁内の DNA を PCR 法にて検出できていることから、サンプルの次亜塩素酸洗浄など培養法に工夫を加えることで生きた状態で検出可能であると考えられる。以上のことから、動脈瘤壁内には複数の口腔内細菌が生きた状態で存在することが示唆された。さらに、それらの菌がどのように動脈瘤の発症・進展に関与しているのか、マイクロアレイを用いて遺伝子学的にも明らかにする必要があると考えられる。

成果発表：(予定を含めて口頭発表、学術雑誌など)

本研究において得られた成果については、まずは口腔衛生学会にて発表し他大学の研究者と意見交換を行う。意見交換にて得られた知見から、実験方法および実験データの示し方を修正する。

その後は分子生物学会にて実験結果を発表し、分子生物学的知見についての意見交換を行うことでマイクロアレイなどの実験データの示し方の精錬を行う。また、心臓外科学会にて発表を行い、心臓外科医と意見交換を行う。意見交換にて得られた知見から、実験データの示し方を修正する。

最終的には論文発表の形で社会に還元することができると考えている。