

201128267A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

**早期発症型侵襲性歯周炎(遺伝性急性進行型  
歯槽膿漏症候群)の診断基準確立の  
更なる推進に関する研究**

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

**研究代表者 村上 伸也**

平成 24 (2012) 年 5 月

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

早期発症型侵襲性歯周炎(遺伝性急性進行型  
歯槽膿漏症候群)の診断基準確立の  
更なる推進に関する研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 村上 伸也

平成 24 (2012) 年 5 月

## 目次

I. 総括研究報告	
早期発症型侵襲性歯周炎（遺伝性急性進行型歯槽膿漏症候群）の診断基準確立の更なる推進に関する研究-----	2
村上 伸也（大阪大学・大学院歯学研究科 教授）	
II. 分担研究報告	
遺伝子プロファイリング解析に基づいた早期発症型侵襲性歯周炎患者の診断技術の開発-----	9
梅澤 明弘（国立成育医療研究センター 部長）	
マルファン症候群と早期発症型侵襲性歯周炎の相関性の調査-----	11
森崎 裕子（国立循環器病研究センター 室長）	
歯周炎と冠動脈心疾患に関する研究-----	16
山崎 和久（新潟大学・大学院医歯学総合研究科 教授）	
in vivo モデルマウスを用いた早期発症型侵襲性歯周炎病態解析-----	18
齋藤 正寛（東京理科大学・基礎工学部 准教授）	
III. 研究成果に関する刊行物一覧-----	22
IV. 研究成果の刊行物・別刷-----	28
V. 参考資料	
歯周病の診断と治療の指針 2007-----	261
歯周病の検査・診断・治療計画の指針 2008-----	307

## [I] 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
総括研究報告書

早期発症型侵襲性歯周炎（遺伝性急性進行型歯槽膿漏症候群）の診断基準確立  
の更なる推進に関する研究

研究代表者 村上伸也  
大阪大学大学院歯学研究科  
口腔分子免疫制御学講座 教授

研究要旨

早期発症型侵襲性歯周炎（いわゆる遺伝性急性進行型歯槽膿漏症候群）とは、通常中高年齢層で発症する歯周病が若年層で発症し、進行が早いために早期に歯を喪失してしまう難治性疾患である。興味深いことに、大動脈瘤、肺気胸等を主症状にするマルファン症候群の患者が、この早期発症型侵襲性歯周炎のハイリスク集団である事が示唆されており、マルファン症候群患者における「口が支えるQOL」を著しく脅かしている。そこで、マルファン症候群における弾性線維成分の劣化が早期発症型侵襲性歯周炎の原因になり得ると考え、平成22年度において「早期発症型侵襲性歯周炎の診断基準の確立」に関するフィージビリティスタディーを行った。国立循環器病研究センター病院に歯周病外来を開設し、通院中のマルファン症候群患者の歯周組織検査を行った結果、高口蓋を伴う歯列不正や歯周組織の炎症などの口腔内所見が得られた。そこで、本研究では、同フィージビリティスタディーを発展させ、更に多くの症例を解析したところ、マルファン症候群類縁疾患であるロイス・ディーツ症候群患者において侵襲性歯周炎を呈する患者が見出された。ロイス・ディーツ症候群は、TGF- $\beta$ 受容体変異により、マルファン症候群と類似した結合織異常を呈する疾患であり、同症候群と侵襲性歯周炎との関連性が示唆された。

研究分担者

北村 正博  
大阪大学・大学院歯学研究科  
口腔分子免疫制御学講座 准教授  
山田 聡  
大阪大学・歯学部附属病院  
口腔治療・歯周科 講師

A. 研究目的

我々は、平成22年度において、難治性疾患の一つである早期発症型侵襲性歯周炎の診断基準および技術の確立を目的として、国立循環器病研究センターに通院しているマルファン症候群およびその類縁患者を対象と

した歯周組織検査を行うことにより、同症候群と早期発症型侵襲性歯周炎との関連性を解析するというフィジビリティスタディーを実施し、その実効性を明らかとした。そこで、本研究では、マルファン症候群およびその類縁患者を対象とした歯周病罹患実態調査を継続し、更なる症例数を解析することで、早期発症型侵襲性歯周炎の診断基準およびその技術の確立を行うことを目的とした。

中高年齢層から発症する歯周病は、「口」の生活習慣病と考えられており、我が国における患者数は5,000万人を超えている。そのなかで、全歯周病患者の0.1%にあたる約5万人が早期発症型侵襲性歯周炎を発症していると想定される。早期発症型侵襲性歯周炎の進行は非常に早く、30歳代で多くの歯を失ってしまうこともあるため、若くして「口が支える QOL」が著しく低下してしまうケースに頻繁に遭遇する。特に、マルファン症候群で早期発症型侵襲性歯周炎を発症した患者においては、心内膜炎等の予防のため、心臓血管手術前に歯周炎に罹患している歯は早期に抜歯されている。したがって、同患者に対する早期発症型侵襲性歯周炎の予防と診断基準ならびに技術の確立が切望されている。

早期発症型侵襲性歯周炎は、通常の慢性歯周炎と異なり、その発症と進行に遺伝的要因が関与する比率が高い歯周炎と考えられている。そこで本研究では歯周組織の強度を調整する結合組織の機能低下が遺伝的に引き起

こされるマルファン症候群に着目し、国立循環器病研究センター病院に通院しているマルファン症候群およびその類縁疾患患者を対象に、早期発症型侵襲性歯周炎の診断基準・技術の開発を行うことを特徴としている。このようなマルファン症候群を対象とした早期発症型侵襲性歯周炎の診断基準・技術の確立を目指した研究計画は世界的に前例が無く、極めて独創的なアイデアであると自負している。これらの研究成果を応用することにより、将来的には早期発症型侵襲性歯周病の原因究明がはかられ、その成果は「口が支える QOL」の維持・増進に大いに寄与することが期待される。

## B. 研究方法

### マルファン症候群および類縁患者における早期発症型侵襲性歯周炎に関する実態調査

国立循環器病研究センターとの共同研究により、同病院専門外来に歯周病外来を開設し、通院中のマルファン症候群および類縁患者を対象に、歯周病の罹患実態を調査した。歯周組織検査（口腔内写真撮影、歯周ポケット深さ測定、歯の動揺度の検査、プラークスコアの評価、パノラマレントゲン検査）を行い、歯周病の罹患実態について調査した。

（倫理面への配慮）

研究の開始に先立って、大阪大学大学院歯学研究科倫理委員会および国立循環器病研究センター倫理委員会へ審査申請を行い、両委員会の承認を

得た。研究の実施に際しては、担当医師は、患者本人に口頭および説明書により、試験の内容と意義、予想される有害事象、さらには同意がいつでも撤回でき、それによっていかなる不利益を受けないことを十分に説明した上で参加の同意を得ている。同意取得と同意の撤回は文書書式を用いており、患者本人の署名を持って同意を確認している。個人情報の守秘には最大の努力が払っており、試験の結果として得られたデータは機密扱いとし、研究結果を公表するときは、必ず個々の被験者を特定できないようにしている。

個人情報は国立循環器病研究センターにおいて匿名化し、匿名化後の検査データは国立循環器病研究センターおよび大阪大学大学院歯学研究科口腔分子免疫制御学講座において厳重に管理している。

### C. 研究結果

国立循環器病研究センター病院歯周病外来において、平成 22 年度に実施したフィージビリティスタディーに加えて、平成 24 年 3 月 31 日現在で、合計 97 名のマルファン症候群および類縁疾患患者の歯周組織検査を実施した。被験者の疾患別分類および歯周組織検査データを表 1 に示す。症候群として、マルファン症候群、ロイス・ディーツ症候群、ビールス症候群、原因遺伝子の確定に至っていない不明なもの、以上の 4 疾患に分類分けをしている。被験者の平均年齢は 37.1 歳、現在歯数：27.3 本、平均ポケット深

さ：2.74 mm であった。高口蓋は 62.4%、前歯部叢生を特徴とする歯列不正は、54.7%に認められた。このことから、遺伝的要因に加えて歯列不正による局所的なプラーク停滞因子が起因する歯周炎の可能性が示唆された。

表 1 被験者の疾患別分類

症候群	人数	平均年齢	平均残存歯数	平均PD(ミリ)
マルファン	75	39.0	27.0	2.62
ロイス・ディーツ	8	38.5	28.6	2.59
ビールス	2	30.5	26.0	3.10
不明	12	40.4	27.5	2.66
合計	97	37.1	27.3	2.74

以下にマルファン症候群代表症例の口腔内写真およびパノラマレントゲンを示す (図 1)。

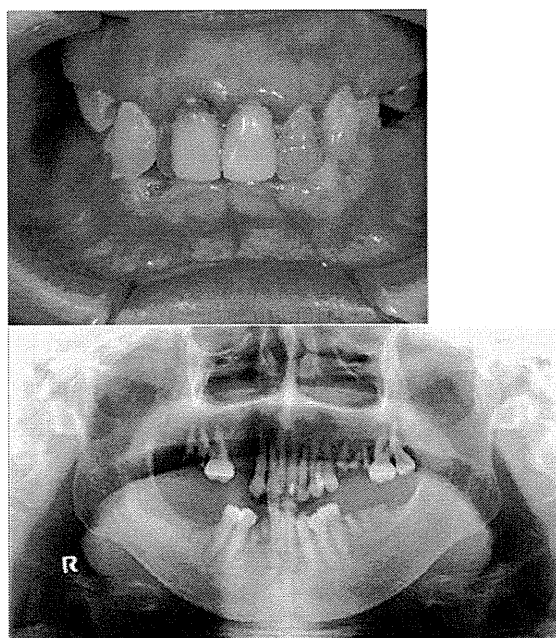


図 1 マルファン症候群患者の口腔内所見：辺縁歯肉の発赤と腫脹、歯槽骨の吸収、歯冠部を喪失した多数の残根が認められる。

さらに、マルファン症候群類縁疾患であるロイス・ディーツ症候群患者において侵襲性歯周炎を示す歯周組織

検査結果が得られた。その口腔内写真とパノラマレントゲンを示す（図2）。

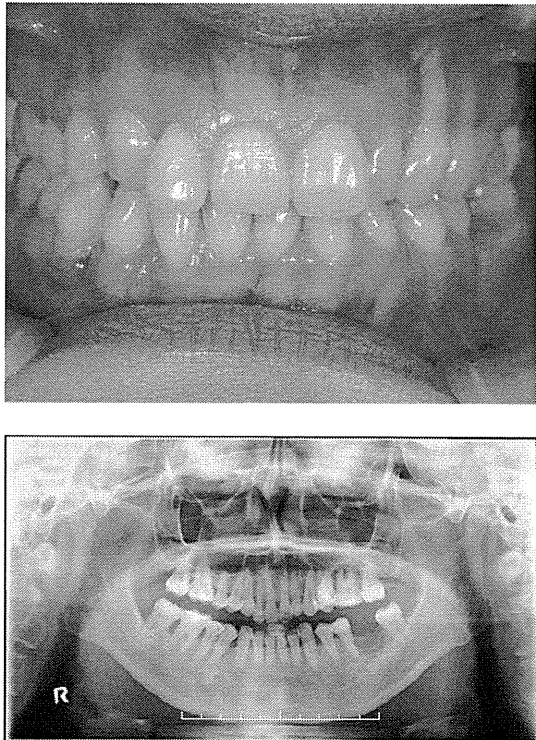


図2 ロイス・ディーツ症候群患者の口腔内所見：辺縁歯周組織に炎症は認められないものの、大臼歯部歯槽骨に垂直性骨吸収像を認め、侵襲性歯周炎の臨床所見を呈している。

同患者の口腔衛生状態は良好で、辺縁歯周組織には著明な炎症所見は認められなかった。しかしながら、レントゲン所見から、大臼歯部隣接面において歯槽骨の垂直性骨吸収像が観察され、典型的な侵襲性歯周炎の臨床所見が明らかとなった。ロイス・ディーツ症候群は、その原因が TGF- $\beta$ レセプター（TGFBR1 あるいは TGFBR2）遺伝子の変異であることが最近同定された新しい遺伝性結合組織疾患である。マルファン症候群と非常に似通った臨床症状を呈することから、マルファ

ン症候群類縁疾患の一つと分類されている一方、同症候群と比較して、若年期で大動脈瘤や動脈解離を発症する傾向があり、予後不良と考えられている。ロイス・ディーツ症候群は、結合組織における TGF- $\beta$ シグナルの異常により、様々な臨床症状が引き起こされていると考えられているが、その詳細には未だ不明な点が多く、これまでに歯周疾患発症の報告は、成されていない。そこで、培養歯根膜細胞における TGF- $\beta$ シグナルの機能を解析したところ、歯根膜細胞の硬組織形成細胞への分化過程において、TGF- $\beta$ シグナル阻害剤を添加することで、細胞分化が促進されることを見出した。この結果から、TGF- $\beta$ シグナルは、歯根膜細胞の分化能を抑制している可能性が示された。

#### D. 考察

マルファン症候群のなかでも、類縁疾患であるロイス・ディーツ症候群と侵襲性歯周炎との関連性が示唆された。同症候群における歯周組織では、過剰な TGF- $\beta$ シグナルにより歯根膜組織の細胞分化・再生機能が抑制されている可能性が示唆された。

#### E. 結論

マルファン症候群をモデルとして、未だその発症原因が不明な早期発症型侵襲性歯周炎の診断基準および技術を開発するという研究の実効性が示され、継続的な研究推進の必要性が示された。



## F. 健康危険情報

特記事項なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Murakami S. Periodontal regeneration by FGF-2: Present status and future outlook. PM Bartold, L-J Jin, Multi-Disciplinary Management of Periodontal Disease, 2012 Asian Pacific Society of Periodontology, Hong Kong, 2012, 1-9.

Murakami S., Yamada S., Nozaki T., and Kitamura M. Fibroblast Growth Factor-2 Stimulates Periodontal Tissue Regeneration. *Clinical Advances in Periodontics* 1(2): 95-99, 2011.

Yanagita M, Kojima Y, Mori K, Yamada S and Murakami S. Osteoinductive and anti-inflammatory effect of royal jelly on periodontal ligament cells. *Biomedical Research* 32(4): 285-291, 2011.

Kashiwagi Y, Yanagita M, Kojima Y, Shimabukuro Y, Murakami S. Nicotine up-regulates IL-8 expression in human gingival epithelial cells following stimulation with IL-1 $\beta$  or *P. gingivalis* lipopolysaccharide via nicotinic acetyl-

choline receptor signalling. *Archives of Oral Biology* 57(5): 483-490, 2011.

Yanagita M, Kobayashi R, Kojima Y, Mori K, Murakami S. Nicotine modulates the immunological function of dendritic cells through peroxisome proliferator-activated receptor upregulation. *Cellular Immunology* 274(1-2): 26-33, 2012.

Iwayama T, Yanagita M, Mori K, Sawada K, Ozasa M, Kubota M, Miki K, Kojima Y, Takedachi M, Kitamura M., Shimabukuro Y., Hashikawa T, Murakami S. Adiponectin regulates functions of gingival fibroblasts and periodontal ligament cells. *J Periodont Res* 47, in press, 2012.

Yanagita M, Hirano H, Kobashi M, Nozaki T, Yamada S., Kitamura M and Murakami S. Periodontal disease in a patient with Prader-Willi syndrome: a case report. *Journal of Medical Case Reports* 5: 329-333, 2011.

Takedachi M, Oohara H, Smith BJ, Iyama M, Kobashi M, Maeda K, Long CL, Humphrey MB, Stoecker BJ, Toyosawa S, Thompson LF and Murakami S. CD73-generated adenosine promotes osteoblast differentiation. *J Cell Physiol* 227:

2622-2631, 2012.

## 2. 学会発表

村上伸也 (特別講演)、歯周組織再生療法の未来を探る、日本矯正歯科協会学術大会、2011年6月26日、東京

Shinya Murakami (シンポジウム)、Periodontal tissue engineering by FGF-2, 2<sup>nd</sup> World Wide University Network Symposium, 2011年7月25日、Leeds, UK

Shinya Murakami (招待講演)、FGF-2 stimulates periodontal regeneration, Research Day of Otago University, 2011年8月11日、Dunedin, New Zealand

Shinya Murakami (招待講演)、Periodontal regeneration by FGF-2: present status and future outlook, 9<sup>th</sup> General session of Asian Pacific Society of Periodontology (APSP), 2011年9月10日、Hong Kong

村上伸也 (特別講演)、歯周治療における細胞治療の標準化にむけて、第54回日本歯周病学会秋季学術大会、2011年9月24日、下関、山口

村上伸也 (シンポジウム)、脂肪組織由来幹細胞を応用した歯周組織再生療法の可能性と将来展望、第53回歯科基礎医学会学術大会、2011年10月2日、岐阜

村上伸也 (シンポジウム)、歯周組織再生療法の現状と未来、第70回日本矯正歯科学会大会2011年10月18日、名古屋

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

「象牙質・歯髄複合体再生治療剤 (Therapeutic agent for dentine-pulp complex regeneration)」村上伸也 12/083,734 (米国) 2010年11月19日

### 2. 実用新案登録 なし

### 3. その他 なし

## 〔Ⅱ〕 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

遺伝子プロファイル解析に基づいた  
早期発症型侵襲性歯周炎の診断技術開発

研究分担者 梅澤明弘

独立行政法人国立成育医療研究センター 生殖・細胞医療研究部長

**研究要旨**

早期発症型侵襲性歯周炎とマルファン症候群との関連性についての病態解析研究を展開する。また、同病態解析研究を行い、有効な診断基準を選択する。これらのデータを総括することにより、早期発症型侵襲性歯周炎患者の口腔保健の維持向上を達成するための新規診断基準および技術の確立を行う。分担課題として早期発症型侵襲性歯周炎患者ゲノムの解析条件設定を行った。これらの解析より、早期発症型侵襲性歯周炎患者ゲノムのCGH解析には ADM2 Threshold = 6 が最適と判断できた。

**A. 研究目的**

本研究の目的は、難治性疾患の一つである早期発症型侵襲性歯周炎の診断基準および技術を確立することを目的とし、早期発症型侵襲性歯周炎とマルファン症候群との関連性についての病態解析研究を展開する。また、同病態解析研究を行い、有効な診断基準を選択する。これらのデータを総括することにより、早期発症型侵襲性歯周炎患者の口腔保健の維持向上を達成するための新規診断基準および技術の確立を行う。

**B. 研究方法**

aCGH 方法はアジレント社が推奨する方法を用いた。

試薬：Agilent Genomic DNA Enzymatic Labeling Kit

検体量：500 ng

Aberration Detection Method-2 Threshold を変化させて、CGH 解析の妥当性を検討した。

(倫理面への配慮)

**国立成育医療研究センター**

組織については、平成 22 年 11 月 1 日施行された「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針（平成 22 年厚生労働省告示第 380 号）」に従い、最新の社会的な影響を十分に考慮する。さらに、倫理的な手続きおよび考え方が年次毎に異なると予想されるため、「厚生労働科学研究に関する指針」に準拠する。

実験動物を用いる研究については、国立成育医療センター研究所動物実験指針に準拠して研究を実施する(承認番号 2003-002, 2005-003)。特に、動物愛護と動物福祉の観点から実験動物使用は、目的に合致した最小限にとどめる。またその際、麻酔等手段により苦痛を与えない等の倫理的配慮をおこなう。実験者は、管理者と相互協力のもと適切な環境のもと飼育管理を行う。

**C. 研究結果**

正常、癌細胞の混合試験

・コントロールサンプル

NA12878 CEPH/UTAH

PEDIGREE 1463 Female  
Caucasian B-Lymphocyte

- ・テストサンプル (Family 1925 members)  
NA16362 ANEUPLOID  
CHROMOSOME NUMBER -  
TRISOMY Male 4 YR Caucasian  
proband  
B-Lymphocyte  
NA16363 APPARENTLY  
HEALTHY NON-FETAL  
TISSUE Male 4 YR Caucasian  
twin brother  
B-Lymphocyte

健常 twin コンタミ率は 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100%とした。ADM2 Threshold = 6 (通常の設定値)では trisomy DNA が 20%から判定した。ADM2 Threshold = 10 (ゆるめの設定値)では trisomy DNA が 40%から判定した。

これらの解析より、早期発症型侵襲性歯周炎患者ゲノムの CGH 解析には ADM2 Threshold = 6 が最適と判断できた。

CGH によって低ノイズ・高シグナルで検出することができた。また、高解像・広いゲノムカバー領域を実現することができた。さらにゲノムワイド・小さなコピー数変化・より高精度の Breakpoint の検出することができた。またさらに CNVs や segmental duplications、擬常染色体領域などにもプローブを配置し、解析可能な領域がさらに拡大することができた。

#### D. 考察

CGH 法 (Comparative Genomic Hybridization: 比較ゲノムハイブリダ

イゼーション)は、1992 年に Kallioniemi らが、Science 誌で発表した方法であり、FISH 法 (Flourescence in situ hybridaization) を応用した方法で、全染色体を対象として、ゲノム DNA が増幅 (gain)、欠失 (loss) した領域を調べる方法である。

アレイ CGH (aCGH) 法は、マイクロアレイと CGH 法を組み合わせることで、ハイスループットに目的遺伝子、ゲノム DNA 領域のコピー数変化を検出する手法である。アレイ CGH 法は、微細ゲノム異常の探索を可能とする技術であり、ゲノム病の病態解明の糸口となる微細ゲノム異常の発見に威力を発揮している。また、既知の染色体異常症やがんの遺伝子・染色体診断に応用されている。

アレイ CGH の特徴としては、

- ・低ノイズ・高シグナルで高い検出力
- ・高解像・広いゲノムカバー領域
- ・ゲノムワイド・小さなコピー数変化・より高精度の Breakpoint の検出
- ・CNVs や segmental duplications、擬常染色体領域などにもプローブを配置し、解析可能な領域がさらに拡大

が挙げられることにより、本研究の目的である診断技術の開発が達成される。

#### E. 結論

早期発症型侵襲性歯周炎患者ゲノムの CGH 解析における条件設定を明らかにした。

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

平成23年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

分担研究課題：マルファン症候群と早期発症型侵襲性歯周炎の  
相関性の調査

分担研究者 森崎 裕子  
国立循環器病研究センター  
研究所 分子生物学部

研究要旨：マルファン症候群は、骨格系、眼系、心血管系に特徴的な症状を認める全身性遺伝性結合織疾患であるが、口腔歯科領域でも、しばしば、比較的若年期より歯周炎や齲蝕などの歯科的合併症が問題となる。また、マルファン症候群と類似の骨格系、心血管系症状を認めるロイス・ディーツ症候群でも同様の傾向を認める。これらの原因は、一般的には、歯列異常に起因して二次的に発症するものとかんがえられているが、一方で歯周組織の強度を調整する弾性線維の機能低下が発症あるいは重症化に関わっている可能性も考えられる。国立循環器病研究センターでは、平成22年度より、マルファン症候群および類縁の結合織病疾患の診断あるいは疑いで当院結合織病外来を受診した患者について研究同意を得て口腔歯科学的検討を行っているが、今年度は、平成23年4月1日より24年3月31日の間に遺伝学的に診断が確定されたマルファン症候群患者35例、ロイス・ディーツ症候群11例、その他の遺伝子変異による遺伝性大動脈瘤2例、および遺伝子変異の同定されていない若年性大動脈瘤4例、の計52例について、当院歯周病外来にて調査のためのデータ収集を行った。

## A. 研究目的

早期発症型侵襲性歯周炎のリスク調査を目的とし、国立循環器病研究センター結合織病外来を受診しているマルファン症候群および類縁の結合織病疾患に罹患していることが疑われる患者について、遺伝子検査を含めた遺伝学的診断を行うことにより診断を確定し、当院歯周病外来にて実態調査のためのデータ収集を行う。

## B. 研究方法

### 1) 遺伝子解析

2011年4月より2012年3月の間に国立

循環器病研究センター病院に結合織病外来を受診、あるいは手術目的で当院に入院したマルファン症候群、類縁のロイスディーツ症候群、およびその他の結合織異常による遺伝性大動脈瘤が疑われた患者49例について、診断を確定するためにまず遺伝子検査を行った。解析は、末梢血リンパ球より抽出したゲノムDNAを用い、*FBN1*、*TGFBR1*、*TGFBR2*の各遺伝子については全翻訳領域のエクソン領域、*FBN2*遺伝子については第22-36エクソン領域についてPCR法で増幅したのち直接シーケンス法にて塩基配列を決定し遺伝子変異の解析を行った。上記の方法にて遺伝子変異が同定されなかった症例については、*ACTA2*、*SMAD3*についても同様に解析を行った。さらに、当院にて手術を施行された患者35例については、術中摘出

組織より抽出した RNA およびこれより作成した初代血管組織培養細胞から抽出した RNA を用いた RT-PCR 解析も併用した。

なお、これらの遺伝子解析については、国立循環器病研究センター倫理委員会による研究承認のもとに、患者より書面による同意を得て行った。

### 2) 歯科学的臨床情報の収集

2011 年 4 月より 2012 年 3 月の間に国立循環器病研究センター結合織病外来を受診した患者のうち、すでに診断の確定している患者および 1) により新たに診断の確定した患者計 52 名について、当院歯周病外来を受診してもらい、阪大歯学部村上伸也教授の研究室の医師による診察を受けるように取りはからった。

なお、この研究についても、国立循環器病研究センター倫理委員会による研究承認のもとに、患者より書面による同意を得て行った。

### 3) 患者組織由来細胞の収集

国立循環器病研究センター病院血管外科にて、マルファン症候群および類縁のロイスディーツ症候群の疑いで大動脈人工血管置換手術を施行された患者 35 症例について、術中摘出組織を中膜および外膜に鈍的に分離し、それぞれ、DMEM (10% FBS 加)、5% CO<sub>2</sub>、37°C の条件下で組織培養を行い、そこより単離された初代血管組織培養細胞(平滑筋細胞、血管線維芽細胞)について、P1～P2 の継代条件のものを TC プロテクターに懸濁して凍結し、-133°C の条件下で

凍結保存を行った。

## C. 研究結果

### 1) 遺伝子解析

2011 年 4 月より 2012 年 3 月の間に国立循環器病研究センター病院に結合織病外来を受診、あるいは手術目的で当院に入院したマルファン症候群および類縁のロイスディーツ症候群が疑われた患者で、これまでに遺伝子解析が施行されていない 49 例について新規に遺伝子解析を行った。

その結果、15 例で *FBNI* 遺伝子変異、3 例で *TGFBR2* 遺伝子変異、2 例で *FBN2* 遺伝子変異、2 例で *COL3A1* 遺伝子変異、2 例で *SMAD3* 遺伝子変異、1 例で *ACTA2* 遺伝子変異、1 例で *CHST14* 遺伝子の複合ヘテロ変異を同定した。また、手術例については、術中摘出組織より抽出した RNA およびこれより作成した初代血管組織培養細胞から抽出した RNA を用いた RT-PCR 解析により、ゲノムにおける変異が実際に血管組織における mRNA でも認められることを確認した。

### 2) 臨床情報の収集

当院歯周病外来を紹介受診した 52 例については、阪大歯学部村上伸也教授の研究室により臨床情報の収集がなされ、現在、結果を分析中である。

### 3) 患者組織由来細胞の収集

2011 年 4 月より 2012 年 3 月の間に国立循環器病研究センター病院血管外科にて、マルファン症候群類縁疾患で大動

脈人工血管置換手術を施行された患者 35 症例について、術中摘出組織または皮膚組織より初代組織培養細胞(平滑筋細胞、血管線維芽細胞、皮膚線維芽細胞)の細胞ストックを作成した。なお、遺伝子解析による内訳は、マルファン症候群(*FBNI* 遺伝子変異)11 例、ロイス・ディーツ症候群(*TGFBR1/TGFBR2* 遺伝子変異)4 例、血管型エーラスダンロス症候群(*COL3A1* 遺伝子変異)1 例、*ACTA2* 遺伝子変異による家族性大動脈瘤 2 例、その他の若年性大動脈瘤(遺伝子変異未同定)17 例であった。

## D. 考察

マルファン症候群や類縁のロイス・ディーツ症候群では、高口蓋、そう歯などとともに、歯列異常や咬合異常などの歯科的異常を認めるものが多いことはよく知られている。実際、血管合併症の手術に際して歯周囲炎などの歯科的合併症を認めたために、術後合併症の予防の目的で、術前にやむを得ず抜歯に至るといった例が少なくないことも従前より問題になっていた。こうした高頻度の歯周囲炎の合併は、単に上記の歯列異常や咬合異常に起因するものではないかと一般的には考えられていた。

一方、当研究班の齋藤正寛らの研究により、歯根膜においてフィブリリンから細線維(microfibril)を構築する際に *ADAMTSL6beta* が重要な働きをしていることが明らかにされ、マルファン症候群

における歯周病の原因として、フィブリリン量の現象による歯根膜細線維の形成不全から歯周組織の強度を調整する弾性線維の機能が低下し、歯とその支持組織との結合力の低下を生じるために歯周炎の発症あるいは重症化に関わっている可能性が示唆されている。

他方、慢性の歯周炎そのものが、一般的な心血管系のイベントリスクを増加させる、ということも多く研究者により報告されている。

マルファン症候群等の遺伝性結合組織疾患において心血管系合併症のリスクは 80%以上とされているが、これらの要因が複雑に絡み合っただけでさらに心血管系合併症のリスクを高めている可能性も考えられた。

平成 22 年度の研究では、マルファン症候群患者では、予想されたとおり、高口蓋、そう歯などとともに歯列異常や咬合異常を認めるものが多いことが認められたが、*FBNI* 遺伝子変異の有無と歯周組織の強度低下や歯周囲炎の発症頻度については、明らかな相関は認められなかった。一方、患者数は少ないが、類縁の結合組織疾患であるロイス・ディーツ症候群では、歯周組織の強度低下や歯周囲炎の好発傾向を認めた。そこで、今年度は、解析対象をロイス・ディーツ症候群や、他の遺伝子異常に合併し発症機序の異なる若年性大動脈瘤の患者にも広げ、さらに患者数を増やして、これらの患者において、歯周囲状態の検討および心血管系合併症と歯周炎との相関を検討した。



## E. 結論

今回の解析では、組織における TGF- $\beta$  の解析は行っていないが、マルファン症候群やロイス・ディーツ症候群をはじめとする各種の遺伝性大動脈瘤では、TGF- $\beta$  シグナルの亢進が示されており、マルファン症候群等における歯周囲炎の発症に TGF- $\beta$  シグナルの亢進が関与している可能性は十分にある。したがって、対象疾患を広げることにより、*FBNI* 遺伝子変異自体ではなく、それに続く TGF- $\beta$  シグナルの亢進が歯周組織障害の要因であるか否かが明らかにできると思われた。

今回の検討を手がかりに、遺伝性結合組織疾患とくに心血管系病変を伴う患者の歯周疾患の有無や進展状況について現状把握が進み、病態解明への道筋が開けると期待される

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 森崎裕子, 大動脈疾患による遺伝子異常, Annual Review 循環器 2012, 山口徹, et al., Editors. 2012, 中外医学社. p. 240–246.
- 2) 菱川賢史, 大中恵, 浮田真吾, 山西優紀夫, 奈倉道和, 金共子, 越山雅文, 広瀬雅哉, 小笹宏, 樋口真司, 壺井伯彦, 藤澤大輔, 内山環, 石原健一, 池田幸広, 中村健治, 伴由布子, 岩朝徹, 森崎裕子,

森崎隆幸, 新生児 Marfan 症候群の 1 例. 滋賀県産科婦人科雑誌. 3: 23–25, 2011.

- 3) Kawazu Y, Inamura N, Kayatani F, Okamoto N, and Morisaki H, Prenatal complex congenital heart disease with Loeys–Dietz syndrome. *Cardiol Young*. 21: 1–4, 2011.
- 4) Iwasa T, Ban Y, Doi H, and Morisaki H, Neonatal Marfan Syndrome and Review of 12 Cases in Japan. *Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery*. 27: 262–269, 2011.

### 2. 学会発表

- 1) Morisaki H, Yoshida A, Ogino H, and Morisaki T. “Distinct phenotypic differences between TGFBR1 and TGFBR2 gene mutation carriers in Loeys–Dietz syndrome.” in 61th ASHG (11th ICHG). 2011. Montreal
- 2) 森崎裕子. 「ロイス・ディーツ症候群」 in 遺伝性結合組織病市民公開セミナー in 大阪. 2011. 大阪.
- 3) 森崎裕子. 「ロイス・ディーツ症候群」. in 遺伝性結合組織病市民公開セミナー in 東京. 2011. 東京.
- 4) Morisaki T, Honda Y, Yoshida A, Fujii K, Kohno Y, and Morisaki H. “New SLC2A10 mutations found in a Japanese patient with arterial tortuosity syndrome.” in 12th International Congress of Human Genetics. 2011. Montreal.
- 5) 森崎裕子. 「マルファン症候群を巡る最近の話題と結合組織病外来の開

設」. in マルフアンネットワーク・ジャパン総会. 2011. 東京.

- 6) 小野晶子, 森崎裕子, 森崎隆幸.  
「マルファン症候群類縁疾患遺伝子解析におけるスプライシング変異の検出」. in 第56回日本人類遺伝学会. 2011. 千葉.
- 7) 森崎裕子, 吉田晶子, 森崎隆幸.  
「稀少遺伝性循環器疾患に対する包括的医療体制」 in 第35回日本遺伝カウンセリング学会. 2011. 京都.
- 8) 森崎裕子. 「遺伝性疾患の診療と研究」. in 第17回高知県難病セミナー. 2011. 高知.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

歯周炎と冠動脈心疾患に関する研究

分担研究者 山崎和久  
新潟大学大学院医歯学総合研究科 教授

研究要旨

歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* に対する高い抗体価は将来の動脈硬化性疾患発症の予測因子になり得ることが明らかになった。。

A. 研究目的

歯周炎と動脈硬化性疾患との関連を解析するため、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* に対する抗体価と動脈硬化性疾患との関連について検索した。

B. 研究方法

新潟県十日町市の基本健診受診者を追跡して脳卒中、虚血性心疾患、糖尿病の新規罹患者を把握した調査結果を解析した。

初回健診時の *P. gingivalis* FDC381 および SU63 株に対する血清抗体価を予測変数とし、5年後の発症をアウトカムとした。

（倫理面への配慮）

新潟大学倫理委員会の審査・承認を得ている。

C. 研究結果

その他のリスク因子の影響を考慮しても男性に於いて *P. gingivalis* SU63 株に対する抗体価3分位値のうち中位、高位において脳梗塞を発症する危険が有意に高く、SU63 株に対する高い抗体価が古典的リスクファクターと独立して日本人男性の脳梗塞発症に対する予測因子になり得ることが明らかになった。また、歯周炎を有する冠動脈疾患患者と歯周炎のみを有する患者を対象とした症例対照研究においても冠動脈疾患患者は歯周炎患者と比較して *P. gingivalis* SU63 に対する抗体陽性率が有意に高かった。

D. 考察

歯周炎が動脈硬化性疾患の発症に影響するメカニズムとして、(1)病原細菌あるいは細菌産生物が血管内皮細胞や平滑筋細胞などの血管構成細胞を傷害する、(2)病変局所で産生されたあるい

は感染により全身的に上昇した炎症性サイトカインが血管に炎症性変化を誘導するとともに脂質代謝過程を動脈硬化性に変動させる、(3)病原細菌に対する免疫応答が分子相同性により血管傷害を誘発する、が考えられる。

## E. 結論

歯周炎は細菌による直接的・間接的作用により、血管内皮細胞傷害を誘導し、動脈硬化性疾患のリスクを高めると考えられる。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Tabeta K et al. Elevated Antibody Titers to *Porphyromonas gingivalis* as a Possible Predictor of Ischemic Vascular Disease. J Atheroscler Thromb. 2011;18(9):808-17.

Miyashita H et al. Relationship between serum antibody titers to *Porphyromonas gingivalis* and hs-CRP levels as inflammatory markers of periodontitis. Archs oral Biol. 2012; in press.

### 2. 学会発表

Yamazaki, K. Periodontal Disease and Atherothrombotic Disease; Lessons from Clinical and Basic Sciences. Special Lecture. 30th Annual Academic Session of Korean Division of International Association for Dental Research, Seoul, Korea, November 24, 2011.

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし