

201231090A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（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 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 村上 伸也

平成 25 (2013) 年 5 月

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（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 24 年度 総括・分担研究報告書

**研究代表者 村上 伸也**

平成 25 (2013) 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	
遺伝子プロファイル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-----	10
森崎 裕子（国立循環器病研究センター 室長）	
歯周炎と脂質代謝に関する研究-----	15
山崎 和久（新潟大学・大学院医歯学総合研究科 教授）	
<i>in vivo</i> 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-----	17
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-----	20
IV. 研究成果の刊行物・別刷-----	26
V. 参考資料	
歯周病の診断と治療の指針 2007-----	226
歯周病の検査・診断・治療計画の指針 2008-----	272

# [I] 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金  
(難治性疾患等克服研究事業 (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 (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。本研究は、早期発症型侵襲性歯周炎の診断基準を確立することを目的として、国立循環器病研究センター病院に開設した歯周病外来にて、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いるマルファン症候群患者を対象として歯周病罹患実態調査研究を行った。本年度は、前年度から更に多くの症例を解析し、マルファン症候群およびその類縁疾患患者、合計126名の歯周組織検査を行った。その結果、マルファン症候群患者においては、早期発症型侵襲性歯周炎の罹患は認められず、マルファン症候群患者の歯周組織におけるFibrillin-1の異常は、直接的には早期発症型侵襲性歯周炎の病態形成には関与していない可能性が明らかとなった。一方、興味深いことに、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組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、TGF- $\beta$ のシグナル異常が早期発症型侵襲性歯周炎の一因となっている可能性が見出された。

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

本研究は、口腔における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ものである。前年度の研究結果から、侵襲性歯周炎の疾患感受性は、マルファン症候群およびその類縁疾患において原因となる遺伝子変異によって異なっている可能性が示された。そこで、平成 24 年度において、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目指した研究を遂行した。

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。

また、マルファン症候群およびその類縁疾患において、原因遺伝子の違いが歯周組織に与える影響が異なる可能性について検討を加えていく。

## 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

平成 25 年 3 月 31 日現在で、合計 126 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。症候群数として、マルファン症候群 99 名、ロイス・ディーツ症候群 9 名、ピールズ症候群 2 名、原因遺伝子の確定に至っていない不明なもの 16 名、以上の 4 疾患の合計 126 名となった。被験者の平均年齢は 38.6 歳、現在歯数：27.3 本、平均ポケット深さ：2.6 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等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。

個々の検査データを解析したところ、歯周病原性細菌由来バイオフィルムの蓄積が原因となる慢性歯周炎を呈する患者は見受けられたものの、侵襲性歯周炎を示すものは認められなかった。

一方、平成 23 年度の研究結果から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。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、大白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。現在までに合計 9 名のロイス・ディーツ症候群患者の歯周組織検査を行った結果、1 名の歯周性歯周炎患者が見出されている。侵襲性歯周炎との関連性を明らかにするためには更なる症例数が必要と考える。

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、歯根膜細胞の硬組織形成細胞への分化過程において TGF- $\beta$ シグナルの機能を解析したところ、細胞分化が TGF- $\beta$ シグナル阻害剤を添加

することで、促進されることを見出された。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。歯根膜組織の細胞分化・再生機能が、過剰なTGF- $\beta$ シグナルにより抑制されている可能性が示唆され、TGF- $\beta$ のシグナル異常が早期発症型侵襲性歯周炎の一因となっている可能性が見出された。

#### E. 結論

本研究の結果、マルファン症候群患者では、高口蓋や歯列不正に起因するプラーク性慢性歯周炎のリスクがあり、重度の循環器系疾患を考慮した専門的な歯周炎の予防および治療の必要性が明らかとなった。さらに、マルファン症候群類縁疾患であるロイス・ディーツ症候群と早期発症型侵襲性歯周炎との関連性が示唆されたことから、歯周組織におけるTGF- $\beta$ シグナル異常を解析することで、早期発症型侵襲性歯周炎の診断基準および技術を開発できる可能性が見出された。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Hou J, Yamada S, Kajikawa T, Ozaki N, Awata T, Yamaba S, Murakami S: Role of ferritin in the cytodifferentiation of periodontal ligament cells, *Biochem Biophys Res Commun* 5; 426(4): 643-648, 2012.

Kudo C, Naruishi K, Maeda H, Abiko Y, Hino T, Iwata W, Mitsuhashi C, Murakami S, Nagasawa T, Nagata T, Yoneda S, Nomura Y, Noguchi T, Numabe Y, Ogata Y, Sato T, Shimauchi H, Yamazaki K, Yoshimura A, Takashiba S\*: Assessment of use of plasma/serum IgG test to screen for periodontitis, *J Dent Res* 91: 1190-1195, 2012.

Kashiwagi Y, Yanagita M, Kojima Y, Shimabukuro Y, Murakami S: Nicotine upregulates IL-8 secretion in human gingival epithelial cells following stimulation with IL-1 $\beta$  or *P. gingivalis* lipopolysaccharide via nicotinic acetylcholine receptor signaling, *Arch. Oral Biol.* 57: 483-490, 2012.

Yanagita M, Mori K, Kobayashi R, Kojima Y, Kubota M, Miki K, Yamada S, Kitamura M, Murakami S: Immunomodulation of dendritic cells differentiated in the presence of nicotine with lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis*, *Eur*



J of Oral Sci 120: 408-414, 2012.

Yanagita M, Kobayashi R, Kojima Y, Mori K, Murakami S: Nicotine modulates the immunological function of dendritic cells through peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  upregulation, Cell Immunol 274: 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: 563-571, 2012.

Takedachi M, Oohara H, Smith BJ, Iyama M, Kobashi M, Maeda K, Long CL, Humphrey MB, Stoecker BJ, Toyosawa S, Thompson LF, Murakami S: CD73-generated adenosine promotes osteoblast differentiation, J. Cell. Physiol. 227: 2622-2631, 2012.

Tsutsumi K, Fujikawa H, Kajikawa T, Takedachi M, Yamamoto T, Murakami S: Effects of L-ascorbic acid 2-phosphate magnesium salt on properties of human gingival fibroblasts, J Periodont Res 47: 263-271, 2012.

Fujita T, Yumoto H, Shiba H, Ouhara K, Miyanaga T, Nagahara T, Matsuda S, Kawaguchi S, Matsuo T, Murakami S, Kurihara H: Irsogladine maleate regulates epithelial barrier function in tumor necrosis factor- $\alpha$  stimulated human gingival epithelial cells, J Periodont Res 47: 55-61, 2012.

北村正博、古市保志、藤井建男、川浪雅光、國松和司、島内英俊、山田了、小方頼昌、和泉雄一、伊藤公一、中川種昭、新井高、山崎和久、吉江弘正、野口俊英、渋谷俊昭、高柴正悟、栗原英見、永田俊彦、横田誠、前田勝正、廣藤卓雄、坂上竜資、原宜興、野口和行、小笠原健文、村上伸也: 歯周炎罹患歯に対する FGF-2 投与の長期的効果および安全性の検討, 日歯周誌 54(1): 38-45, 2012.

山羽聡子、北村正博、宮里幸祐、栗原暁子、島美和子、久保田実木子、西村誠、山本温、吉岡恵利、松本航、伊山舜吉、東山弥生、松井美樹、山口泰司、尾崎亘弘、兒嶋由子、大原廣之、梶川哲宏、小笹匡雄、柏木陽一郎、三木康史、田内拓史、竹立匡秀、北垣次郎太、山下元三、柳田学、野崎剛徳、山田聡、島袋善夫、村上伸也: 歯の保存に対する Supportive Periodontal Therapy の長期的効果、保存学会誌 56(1)40-47, 2013

## 2. 学会発表

Murakami S (招待講演) : Periodontal tissue Engineering -present status and future perspective -30th Annual academic Session of Korean Association for Dental Research, Des 01, 2012, Seoul (Korea)

村上伸也 (招待講演) : Periodontal Tissue Engineering の将来展望 -サイトカイン療法と細胞移植治療の融合を目指して-, 第 11 回日本再生医療学会総会、2012 年 6 月 13 日、横浜市 (パシフィコ横浜)

村上伸也 (招待講演) : 歯周組織再生療法の潮流を探る、第 22 回日本歯科医学会総会、2012 年 11 月 10 日、大阪市 (グランキューブ大阪)

## H. 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

## 〔Ⅱ〕 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）  
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 再生医療センター長

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。

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

エキソーム解析法はアジレント社が推奨する方法を用いた。エキソーム解析の妥当性を検討した。

（倫理面への配慮）

ヒトゲノム解析にあたっては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準じて、研究を実施した。平成 25 年 2 月 8 日に全部改訂がなされており、平成 25 年度は新指針に準じた倫理的配慮を行なっていく。

C. 研究結果

早期発症型侵襲性歯周炎患者ゲノムのエキソーム解析の妥当性検討を行い、

タンパク質配列に影響を及ぼす重要な部分の配列情報を網羅的に得ることができた。

D. 考察

エキソーム解析では、先に Wet な実験でエクソンのみを網羅的にキャプチャーし、選択されてきた分子のみを対象として次世代シーケンサー実験を行っている。エクソン全体のサイズは、全ゲノムの 1-1.5%程度なので、これによって、コストと時間は大幅に削減され、一方で、タンパク質配列に影響を及ぼす重要な部分の配列情報は網羅的に得ることが可能である。エキソーム解析の主な目的は、変異と疾患などの表現型の関連を調べることで、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エキソーム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24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

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歯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・ディーツ症候群など類縁の遺伝性結合織異常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科学的検討を行っているが、今年度は、平成24年4月1日より25年2月28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25例、その他の遺伝子変異による遺伝性大動脈瘤3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2例、の計30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  
2012年4月より2013年2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81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。また、エクソン解析にて変異の同定されなかった患者については、MLPA 解析も行った。さらに、当院にて手術を施行された患者 31 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。また、診断のために皮膚生検を行った患者 11 例についても、同様に RT-PCR 解析を行った。上記のいずれ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、臨床症状に応じて、*COL3A1*, *ACTA2*, *TGFB2*, *SMAD3*, *SKI* 各遺伝子について解析を行った。

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

2012 年 4 月より 2013 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 30 名について、当院歯周病外来を受診してもらい、大阪大学大学院歯学研究科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 29 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。また、臨床所見より先天性結合織異常が疑われ確定診断のために皮膚生検を施行された患者 12 例についても、同様に組織培養と凍結保存を行った。

## C. 研究結果

### 1) 遺伝子解析

2012 年 4 月より 2013 年 2 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ロイスディーツ症候群などの先天的結合織異常症が疑われた患者で、これまでに遺伝子解析が施行されていない 81 例について新規に遺伝子解析を行った。

その結果、24 例で *FBN1* 遺伝子変異、1 例で *TGFBR1* 遺伝子変異、1 例で

*TGFBR2* 遺伝子変異、2例で *FBN2* 遺伝子変異、7例で *COL3A1* 遺伝子変異、1例で *COL5A1* 遺伝子変異、1例で *SMAD3* 遺伝子変異、2例で *ACTA2* 遺伝子変異、1例で *FLNA* 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 30 例については、大阪大学大学院歯学研究科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 29 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)の細胞ストックを作成した。また、診断のために皮膚生検を行った 12 例についても、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 (*FBN1* 遺伝子変異) 11 例、古典型エーラスダ

ンロス症候群 (*COL5A1* 遺伝子変異) 1 例、血管型エーラスダンロス症候群 (*COL3A1* 遺伝子変異) 4 例、その他の若年性大動脈瘤 (遺伝子変異未同定) 26 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う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 ADAMTSL6 $\beta$  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、ということも多くの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ており、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、叢生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) Morisaki H, Yamanaka I, Iwai N, Miyamoto Y, Kokubo Y, Okamura T, Okayama A, and Morisaki T, CDH13 gene coding T-cadherin influences variations in plasma adiponectin levels in the Japanese population. *Hum Mutat.* 33(2): p. 402-410.(2012).
  - 2) Kawazu Y, Inamura N, Kayatani F, Okamoto N, and Morisaki H, Prenatal complex congenital heart disease with Loeys-Dietz syndrome. *Cardiol Young.* 22(1): p. 116-119.(2012).
  - 3) Iba Y, Minatoya K, Matsuda H, Sasaki H, Tanaka H, Morisaki H, Morisaki T, Kobayashi J, and Ogino H, Surgical experience with aggressive aortic pathologic process in Loeys-Dietz syndrome. *Ann Thorac Surg.* 94(5): p.



- 1413-1417.(2012).
- 4) 森崎裕子、森崎隆幸、「大動脈疾患による遺伝子異常」Annual Review 循環器 2012、山口徹 他編，中外医学社. p. 240-246. (2012).
  - 5) 森崎裕子、平田恭信、森崎隆幸，第4回遺伝カウンセリングアドバンスセミナー マルフアン症候群. 日本遺伝カウンセリング学会誌. **33**(4): p. 209-212.(2012).
  - 6) 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 - 「結合織病外来」・臨床遺伝専門医および認定遺伝カウンセラーの役割-. 日本遺伝カウンセリング学会誌. **33**(1): p. 77-81.(2012).
  - 7) 森崎裕子，エーラス・ダンロス症候群. 臨床雑誌内科. **109**(6): p. 1049-1051.(2012).
  - 8) 森崎裕子，「ロイス・ディーツ症候群」先天代謝異常症候群，遠藤文夫編 日本臨床社 p. 731-735. (2012)
  - 9) Takahashi Y, Fujii K, Yoshida A, Morisaki H, Kohno Y, and Morisaki T, Artery tortuosity syndrome exhibiting early-onset emphysema with novel compound heterozygous SLC2A10 mutations. Am J Med Genet A. **12**(10): p. 35776.(2013).
  - 10) JCS Joint Working Group, Guidelines for Diagnosis and Treatment of Aortic Aneurysm and Aortic Dissection (JCS 2011). Circ J. **77**(3): p. 789-828.(2013).
  - 11) Katsuragi S, Neki N, Yoshimatsu J, Ikeda T, Morisaki H, Morisaki T: Acute

aortic dissection (Stanford type B) during pregnancy. J Perinatol (in press)

## 2. 学会発表

- 1) 森崎裕子. 遺伝性結合織病と大血管病変. in 第42回日本心臓血管外科学会(秋田) 2012.4.18.
- 2) 森崎裕子. SMAD3 遺伝子変異を認めた若年性・家族性胸部大動脈瘤・解離患者の臨床的特徴. in 第57回日本人類遺伝学会. (東京) 2012.12.26.
- 3) Morisaki H, Yamanaka I, Yoshida A, Sultana R, Tanaka H, Iba Y, Sasaki H, Matsuda H, Minatoya K, Kosho T, Okamoto N, Kawame A, and Morisaki T. High incidence of SMAD3 mutations in thoracic aortic aneurysm and/or dissection (TAAD)patients. in 62nd Annual Meeting of American Society of Human Genetics. (San Francisco, USA) 2012.11.6-12.

## 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

歯周炎と脂質代謝に関する研究

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

歯周炎は血清 PCSK9 レベルを上昇させ、コレステロール代謝に影響を与える可能性がある。

A. 研究目的

歯周炎の脂質代謝に及ぼす影響を解析するため、歯周炎患者血清中の LDL 受容体発現調節に関与する Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9)の疾患との関連について検索する。

B. 研究方法

新潟大学医歯学総合病院を受診した中等度から重度歯周炎患者 40 名および歯周炎・全身疾患を有しない対照者 30 名を対象とし、術前術後に歯周組織診査、血清中の高感度 CRP、PCSK9、抗 *Porphyromonas. gingivalis* ( *P. gingivalis*) 抗体価、IL-6、TNF- $\alpha$ 、脂質プロファイルを解析した。

(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

歯周炎患者群において抗 *P. gingivalis* 抗体価、高感度 CRP、PCSK9 レベルが有意に高かった。歯周炎群において血清 PCSK9 レベルを 3 分位にし、脂質プロファイルとの関連を解析すると PCSK9 と逆相関の傾向が認められた。年齢、喫煙、HDL コレステロール、高感度 CRP、TNF- $\alpha$ 、平均ポケット深さを独立変数として血清中 PCSK9 レベルとの関連を重回帰分析した結果、PCSK9 レベルはポケット深さ、すなわち歯周病の重症度と有意に関連することが明らかになった。

D. 考察

PCSK9 レベルと血清コレステロールレベルに有意な相関が認められなかった理由については不明であるが、上昇した PCSK9 の値がコレステロールレベルに影響与えるほど高くなかったことが考えられるが、歯周炎群の PCSK9 値は PCSK9 遺伝子に変異を持つ日本

人における家族性高コレステロール血症患者のそれとオーバーラップしていることから、歯周炎と PCSK9 の関連のさらなる解析が必要である。

なし

3. その他  
なし

## E. 結論

歯周炎は血清 PCSK9 レベルを上昇させ、コレステロール代謝に影響を与える可能性がある。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Miyazawa H et al. Increased serum PCSK9 concentrations are associated with periodontal infection but do not correlate with LDL cholesterol concentration. Clinica Chimica Acta. 2012;412(1-2):154-159.

Miyazawa H et al. Effect of Porphyromonas gingivalis infection on post-transcriptional regulation of the low-density lipoprotein receptor in mice. Lipids in Health and Disease 2012;11:121.

### 2. 学会発表

山崎和久：歯周疾患と動脈硬化性疾患の関わりーさらなるエビデンス蓄積の必要性ー.2012年 日本歯科保存学会 2012年度秋季学術大会.広島、2012年 11月22日

## H. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

## 厚生労働科学研究費補助金（難治疾患克服研究事業）

### 分担研究報告書

#### *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

分担研究者 齋藤 正寛

東京理科大学

基礎工学部 生物工学科・准教授

研究要旨 「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）の診断基準の更なる推進に関する研究」を開発するために、マルファン病モデル動物を用いて微細線維の再生技術を解析した。昨年度までに、同モデル動物マウスにおいて歯周組織を構成する歯根膜が機能不全を起こすが、ADAMTSL6βの局所投与により、歯根膜の微細線維を再生する事を明らかにした。そこでADAMTSL6βの微細線維再生能力の普遍性を解析するため、本年度は解離性大動脈瘤部位における微細線維再生能力を解析した。そのため、全身でADAMTSL6βを過剰発現するトランスジェニックマウスとマルファン病モデル動物を交配して、解離性大動脈瘤に及ぼす影響を解析した。解離性大動脈を発症する部位において、ADAMTSL6βの強制発現により fibrillin-1陽性の微細線維形成の促進が観察された。この所見よりADAMTSL6β解離性大動脈瘤において微細線維を再生することが判明した。以上の結果より、ADAMTSL6βは早期発症型侵襲性歯周炎のみならず解離性大動脈瘤の新規治療薬として発展する可能性が示された。

#### A. 研究目的

歯周病は通常中高年以上で発症する慢性炎症性疾患であるが、歯周病患者数の0.1%である5万人の患者が若年層で発症し、早期に歯を喪失してしまう早期発症型歯周病を発症している。これまで、大動脈瘤、肺気胸を引き起こすマルファン症候群で重度の歯周病を引き起こすことが報告されており、同疾患の原因となる弾性線維の早期発症型歯周病の原因になり得ることが示唆されている。マルファン症候群とは、機械的圧力の負担の大きい大動脈や、肺、歯根膜で、体の弾力を調節する微細線維の形成不全により結合組織疾患を発症する。したがってマルファン症候群の本質的な治療には微細線維再生が必要になる。これまで研究分担者は、ADAMTSL6βが微細線維形成の誘導能を有することを見出し、さらにマルファン症候群モデルマウスにおいて歯周炎モデルにおいて微細線維を再生することを報告した。この結果よりADAMTSL6βが、微細

線維の再生能を有することが明らかにされた。そこで本年度では、ADAMTSL6βの弾性線維再生の普遍性を解析するため、がマルファン症候群の主たる死因である解離性大動脈瘤における治療効果を検証することを目標とする。

#### B. 研究方法

##### (1)ADAMTSL6βトランスジェニックマウスの解析

生後一ヶ月の全身でADAMTSL6βを発現するトランスジェニックマウス (TSL6<sup>tg</sup>)の大動脈を摘出し、凍結切片を作製後、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色およびエラスチカ・ワンギーゾン (EVG) 染色にて血管の構造を解析した。また微細線維のマーカである抗 fibrillin-1 抗体を用いた免疫染色で微細線維の形成を観察した。

##### (2) ADAMTSL6βによるマルファン症候群