

201231090B

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 23 ～ 24 年度 総合研究報告書

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 23 ～ 24 年度 総合研究報告書

研究代表者 村上 伸也

平成 25 (2013) 年 5 月

目次

I.	総合研究報告	
	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.	研究成果に関する刊行物一覧-----	20
III.	参考資料	
	歯周病の診断と治療の指針 2007-----	32
	歯周病の検査・診断・治療計画の指針 2008-----	78

[I] 総合研究報告

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）

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～24 年度 総合研究報告書

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、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および類縁疾患患者、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ないものの、高口蓋を伴う歯列不正による歯周病原性細菌バイオフィルム蓄積の結果、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- β 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る。マルファン症候群モデルマウスおよび培養細胞を用いた基礎実験からも、TGF- β シグナル異常が歯周組織の恒常性維持や再生機能に影響を及ぼすことが示され、歯周組織におけるTGF- β 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。

研究分担者

梅澤明弘

国立成育医療研究センター

森崎裕子

国立循環器病研究センター

山崎和久

新潟大学大学院医歯学総合研究科

齋藤正寛

東京理科大学基礎工学部

北村 正博

大阪大学大学院歯学研究科

山田 聡

大阪大学歯学部附属病院

A. 研究目的

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。早期発症型侵襲性歯周炎の原因は不明であり、その診断基準や効果のある治療法は未だ確立されていないのが現状である。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。

そこで、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。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は、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。さらに、歯周炎と動脈硬化性疾患・脂質代謝異常との関連を解析するために歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) に対する抗体価と動脈硬化性疾患・脂質代謝異常との関連について検索する。また、マルファン症候群モデルマウスおよび培養細胞を用いて、TGF- β シグナルの細胞生物学的機能解析および微細線維形成の誘導能を有するADAMTSL6 β の早期発症型歯周病の治療効果を検証することで治療技術の開発を目指す。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

1) マルフア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。

2) 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

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。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。

3) マルフアン症候群と早期発症型侵襲性歯周炎の相関性の調査

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 130 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。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, TGFB2, SKI 各遺伝子について解析を行った。

(倫理面への配慮)

国立循環器病研究センター倫理委員会の審査・承認を得て研究を実施した。

4) 歯周炎と冠動脈心疾患・脂質代謝に関する研究

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。

さらに、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 *P. gingivalis* 抗体価、IL-6、TNF- α 、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・承認を得て研究を実施した。

5) *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

(1) 歯根膜損傷モデルを用いた創傷治癒能力の判定試験：マルファン症候群モデル動物の歯根膜の損傷治癒効果を判定するために、歯根膜の損傷モデルを用いて判定した。生後 1 ヶ月の下顎の歯根膜を脱臼による損傷を与え、整復した後に 1 週間、3 週間後に顎を摘出し創傷治癒過程を組織学的に評価した。組織評価はと同様の手法で解析した。

(2) ADAMTSL6 β の局所投与実験：組み換え ADAMTSL6 β を 293 free style にて産生させて精製した後に、コラーゲンゲル内に混入しゲルを作製した。この ADAMTSL6 β 配合型コラーゲンゲルを (1) のモデルにて歯根膜脱臼部位に挿入した。(1) と同様の方法にて組織解析を行った。

(3) 微細線維形成の確認：ADAMTSL6 β 配合型コラーゲンゲルの局所投与効果による微細線維の修復効果は、微細線維のマーカーである抗 fibrillin-1 抗体、抗 ADAMTSL6 β を用いた免疫組織化学的手法を用いて解析を行った。

(4) TGF- β シグナルの評価：ADAMTSL6 β の歯根膜損傷モデルによる

TGF- β シグナルに及ぼす影響を解析する目的に、抗リン酸化 SMAD2/3 抗体および抗マトリックスメタロプロテナーゼ (MMP) -9 抗体を用いた免疫染色にて評価した。

(5)ADAMTSL6・トランスジェニックマウスの解析：生後一ヶ月の全身で ADAMTSL6 β を発現するトランスジェニックマウス (TSL6-TG) 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ーである抗 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。

(6) ADAMTSL6 β によるマルファン症候群モデルマウスの解離性大動脈瘤に及ぼす影響：TSL6-TG とマルファン症候群モデルマウス (MF マウス) と交配し (TSL6-TG/MF マウス)、同マウスの大動脈弓部を摘出し、HE 染色と EVG 染色で血管壁の崩壊に及ぼす影響を解析した。抗 fibrillin-1 抗体を用いた免疫染色で微細線維の再生能力を解析した。ADAMTSL6 β による微細線維の再生効果は、抗 fibrillin-1 抗体、抗 ADAMTSL6 β を用いた蛍光免疫染色で解析を行った。微細線維の再生の定量化は画像ソフト (Imaris : カールツアイス) で蛍光強度を解析した。

(倫理面への配慮)

本動物実験は、東京理科大学動物実験委員会の承認を得た上で行われた。

C. 研究結果

1) 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

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、ビールス症候群 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。

一方、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- β 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- β 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- β シグナルの機能を解析したところ、細胞分化が TGF- β 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- β 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。

2) 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

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、解析可能な領域に拡大することができた。

さらに、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。

3) 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

平成 23 年度において、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

されていなかった 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 *FBN1* 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。

さらに、平成 24 年度において、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。

4) 歯周炎と冠動脈心疾患・脂質代謝

に関する研究

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。さらに、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- α 、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。

5) *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

歯根膜損傷モデルでマルファンモデル症候群モデルマウスの歯根膜には創傷治癒不全が引き起こされることが観察された。また抗 fibrillin-1 抗体陽性の微細線維は断裂化し、これ

に伴い歯根膜の構造の崩壊が観察された。歯根膜損傷部位に ADAMTSL6 β 配合型コラーゲンを局所投与した結果、マルファン病モデル動物の歯根膜における創傷治癒不全の改善が観察された。染色にて歯根膜の構造は回復が確認され、また抗 fibrillin-1 抗体および抗 ADAMTSL6 β 抗体陽性の微細線維の修復が観察された。ADAMTSL6 β 配合型コラーゲンの局所投与による創傷治癒改善機構を調べるため、TGF- β シグナルに及ぼす影響を調べた。免疫染色の結果、ADAMTSL6 β 配合型コラーゲンの局所投与によりリン酸化 SMAD2/3 の活性化と MMP-9 の発現の低下が認められた。一方、コントロールとしてコラーゲンを投与した部位においては、リン酸化 SMAD2/3、MMP-9 の発現は維持されており、歯根膜の組織破壊の亢進が確認された。

さらに、平成 24 年度において、TSL6-TG の大動脈を解析した結果、野性型マウスと比較して大動脈壁の弾性板の数の増加が見られた。また、ADAMTSL6 β の増加に伴い抗 fibrillin-1 抗体陽性の微細線維の増加が観察された。TSL6-TG/MF マウスの解離性大動脈瘤発症に及ぼす影響を解析した結果、MF マウスでは生後 3 ヶ月以降で、解離性大動脈瘤の特徴である大動脈の肥厚に伴い大動脈壁の肥厚化と弾性板の崩壊が観察された。TSL6-TG/MF マウスにおいても MF マウスと同様の変化が観察された。しかし免疫染色において微細線維形成

を観察した結果、TSL6-TG/MF マウスは MF マウスと比較して大動脈弓部における ADAMTSL6 の発現上昇に伴い、fibrillin-1 陽性の微細線維の形成亢進が観察された。TSL6-TG/MF マウスで誘導された微細線維形成量を Imaris で定量化した。MF マウスと比較して TSL6-TG/MF マウスでは、有意に fibrillin-1 陽性の微細線維形成量の増加が観察された。

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、叢生歯などとともに、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 ADAMTSL6 β 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、*FBN1* 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、歯周組織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。その結果、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- β 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、TGF- β 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。

新潟大学分担研究者山崎による研究結果から、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、が考えられた。さらに、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- α 、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。

一方、培養細胞あるいはマルファン症候群モデルマウスを用いた研究において、国立成育医療研究センター分担研究者梅澤の結果から、アレイ CGH 法の応用は、微細ゲノム異常の探索を可能とし、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する可能性が示された。また、既知の染色体異常症やがんの遺伝子・染色体診断に応用することで、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と思われる。さらに、東京理科大分担研究者齋藤による研究結果から、マルファン症候群モデルマウスでは、微細線維低下が早期発症型侵襲性歯周炎の原因になる可能性が示された。さらに、ADAMTSL6 β を補充する新たな治療技術が、早期発症型歯周炎の治療のみならずマルファン症候群における解離性大動脈瘤発症の予防技術として発展する可能性が示された。

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、歯周疾患と心臓血管系疾患・脂質代謝異常との関連性に基づいて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- β 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を明確化できる可能性が見出された。さらに、ADAMTSL6 β を補充する新たな治療

技術が、早期発症型歯周炎の治療のみならずマルファン症候群における解離性大動脈瘤発症の予防技術として発展する可能性が示された。

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 β or *P. gingivalis* lipopolysaccharide via nicotinic acetylcholine 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 α 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.

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 β 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- γ 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- α -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

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.

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.

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.

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.

Morisaki H, Yamanaka I, Iwai N, Miyamoto Y, Kokubo Y, Okamura T,

CDH13 gene coding T-cadherin influences variations in plasma adiponectin levels in the Japanese population. *Hum Mutat*. 33(2): p. 402-410.(2012).

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).

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).

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).

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 マルファン症候群. 日本遺伝カウンセリング学会誌. 33(4): p. 209-212.(2012).

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

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).

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).

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)

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).

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).

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.

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.

M. Arakaki, M. Ishikawa², T. Nakamura, T. Iwamoto, A. Yamada, E. Fukumoto, M. Saito, K. Otsu, H. Harada, Y. Yamada, and S. Fukumoto, Role of epithelial-stem cell interactions during dental cell differentiation. J Biol Chem;287(13):10590-10601 2012

M.Saito, T.Tsuji, Extracellular matrix administration as a potential therapeutic strategy for periodontal ligament regeneration. Expert Opin Biol Ther, Mar;12(3):299-309, 2012

M. Saito, M. Kurokawa, M. Oda, M. Oshima, K. Tsutsui, K. Kosaka, K. Nakao, M. Ogawa, R. Manabe, N. Suda, G. Ganjargal, Y. Hada, T. Noguchi, T. Teranaka, K. Sekiguchi, T. Yoneda and T. Tsuji. ADAMTSL6B rescues fibrillin-1 microfibril disorder in Marfan syndrome mouse model through the promotion of fibrillin-1 assembly. J Biol Chem.

4:286(44):38602-38613, 2011

M. Oshima, M. Mizuno, A. Imamura, M. Ogawa, M. Yasukawa, H. Yamazaki, R. Morita, E. Ikeda, K. Nakao, T. Takano-Yamamoto, S. Kasugai, M. Saito and T. Tsuji. Functional tooth regeneration using a bioengineered tooth unit as a mature organ replacement regenerative therapy. *PLoS ONE*, 6(7) e21531, 2011.

N. Kanamura, T. Amemiya, T. Yamamoto, K. Mishima, M. Saito, T. Tsuji, T. Nakamura, Dental Regenerative Therapy using Oral Tissues.

Anti-Aging Medicine 9 (1) : 14-23, 2012

齋藤正寛、辻 孝：マルファン症候群における歯根膜創傷治癒不全の回復機構、*clinical calcium*、22(1):35-42 2012

齋藤正寛、辻 孝：蘇る臓器、再生医療の実現化への挑戦、*科学フォーラム 2011年6月号(東京理科大学)*、28(6)、34-35、2011.

大島正充、齋藤正寛、辻 孝：次世代の歯科治療システムとしての歯科再生治療～組織修復再生治療と臓器置換再生治療としての歯の再生～、*日本歯科医師会雑誌* 64(5)、23-34、2011

Hayano, S., Kurosaka, H., Yanagita, T., Kalus, I., Milz, F., Ishihara, Y., Nurul, Islam, M., Kawanabe, N., Saito, M., Kamioki, H., Adachi, T., Dierks, T. and Yamashiro, T.*: Roles of heparan sulfate sulfation in dentinogenesis. *J Biol Chem* 287(15): 12217-12229, 2012.

M. Arakaki, M. Ishikawa, T. Nakamura, T. Iwamoto, A. Yamada, E. Fukumoto, M. Saito, K. Otsu, H. Harada, Y. Yamada, and S. Fukumoto, Role of epithelial-stem cell interactions during dental cell differentiation. *J Biol Chem*;287(13):10590-10601 2012

Kanamura, N., Amemiya, T., Yamamoto, T., Mishima, K., Saito, M., Tsuji, T. and Nakamura, T.*: Dental Regenerative Therapy using Oral Tissues. *Anti-Aging Medicine* 9 (1): 14-23, 2012.

M.Saito., and T. Tsuji: "Tooth regeneration therapy" as a next generation of regenerative medicine., Hiromasa Yoshie, At the forefront. Illustrated Topics in dental research and clinical practice, Quintessence Publishing Co, Inc., Hanover Park, 2012,39-42.

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,
2nd 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, 9th 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

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）

Morisaki H, Yoshida A, Ogino H,
and Morisaki T. “Distinct
phenotypic differences between
TGFBR1 and TGFBR2 gene
mutation carriers in Loews-Dietz
syndrome.” in 61th ASHG (11th
ICHG). 2011. Montreal

森崎裕子. 「ロイス・ディーツ症候群」
in 遺伝性結合織病市民公開セミナー
in 大阪. 2011. 大阪.

森崎裕子. 「ロイス・ディーツ症候群」.
in 遺伝性結合織病市民公開セミナー