

歯周病と関節リウマチの関連メカニズムを解明

ー全身に及ぼす影響が明らかにー

本学医歯学総合研究科 山崎和久教授、佐藤圭祐大学院生らの研究グループは、理化学研究所との共同研究により、マウスを用いた実験において *Porphyromonas gingivalis* という歯周病原細菌が腸内細菌叢を変化させ、腸管免疫を Th17 優勢な応答にシフトさせることにより関節炎を悪化させるメカニズムを明らかにしました。

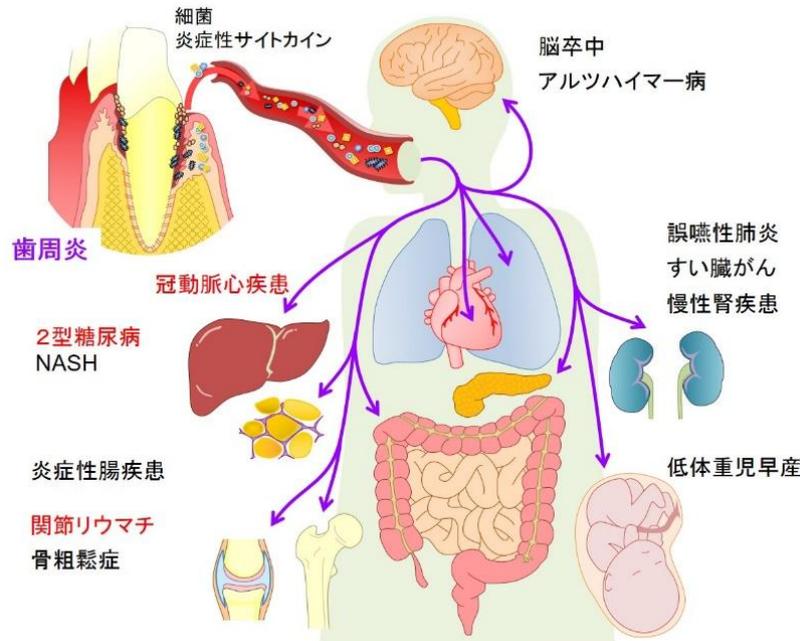
【本研究成果のポイント】

- 飲み込まれた歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* が腸内細菌叢の構成を変化させ関節リウマチモデルマウスの病状を悪化させたが、従来提唱されたメカニズムとは異なることを明らかにした。
- 腸内細菌叢の変化により腸管免疫系が Th17 優勢になり、関節炎の病態形成に重要な炎症性サイトカイン IL-17 の産生を亢進させることを明らかにした。
- 歯周病を放置しておく口腔内に腸内細菌叢のバランスを崩し、全身の健康に悪い影響を与える細菌が増えてくる。

I. 研究の背景

歯周病はごく軽度のもので含めると国民の 80% が罹患しているといわれる国民病です。歯周病の原因は口腔内に棲息する細菌であり、その構成が変化していわゆる歯周病原細菌と呼ばれる細菌群の比率の高まりに伴って歯周組織に炎症が起こって発症します。歯周炎は歯周病のうち歯を支える骨（歯槽骨）や歯と骨をつなぐ歯根膜という組織が破壊され、放置しておく歯を失い、摂食や発語などに悪影響を与える病気です。近年、口腔内の病気である歯周炎が 2 型糖尿病、動脈硬化性疾患、関節リウマチなど、実に様々な疾患のリスクを高めることが疫学的な研究により明らかになってきました。歯周病とそれら疾患の関連メカニズムとして歯周病の局所（歯肉）から血行性に細菌が全身循環に侵入する、あるいは歯周組織の局所で産生された炎症性サイトカインがやはり血行性に全身をめぐり、様々な組織・臓器において炎症を誘発すると考えられてきました（図 1）。しかしこのメカニズムでは説明できないことも多く、完全に証明されたとは言えませんでした。我々はこれまでにマウス口腔から投与した *Porphyromonas gingivalis*^{1*} が腸内細菌叢を変動させ、腸管のバリア機能を低下させると同時に軽微な内毒素血症を誘導することを報告しました (Arimatsu, Yamazaki ら Scientific Reports 2014)。このことは、歯周病の全身に及ぼす影響についての新たなメカニズムとして注目を浴びてきましたが、実際の疾患モデルにおける実証はされていませんでした。今回私たちは関節リウマチのモデルマウスを用いて歯周病原細菌の影響を解析しましたが、できるだけ実際の病態を反映させるため、細菌を口の中に投与する方法を用いました。

図 1. 歯周病の全身に及ぼす影響（従来の仮説）



II. 研究の概要

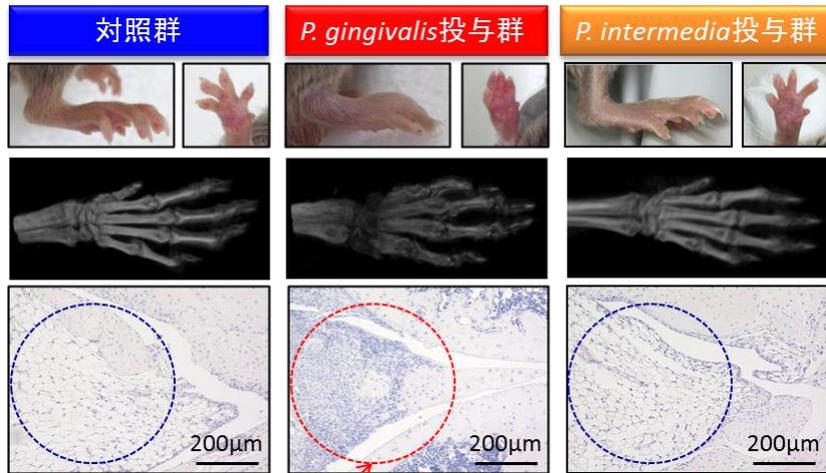
関節リウマチのモデルである DBA/1J マウスを用い、2 種類の歯周病原細菌 *P. gingivalis* と *Prevotella intermedia*、およびそれらの細菌の懸濁に用いた基材のみを週に 2 回、5 週間投与したのち、コラーゲンタイプ II を免疫して関節炎を発症させました。免疫開始から 6 週間後に関節炎の重症度、腸内細菌叢、リンパ節中の Th17^{2*} の比率、Th17 の IL-17 産生能などについて解析を行いました。

その結果、*P. gingivalis* を投与した場合にのみ、関節炎が重症化することが明らかになりました（図 2）。関節リウマチで関節炎の悪化に深く関与するサイトカイン IL-17 の血中レベルが *P. gingivalis* 投与群で有意に上昇していました。腸内細菌叢を解析した結果、*P. gingivalis* 投与群でのみ変動が認められ、その変化は細菌投与を中止した 6 週間後でも継続していました。この細菌叢の変化に伴って腸間膜リンパ節における Th17 細胞の比率が上昇し、IL-17 産生能も亢進していました（図 3）。

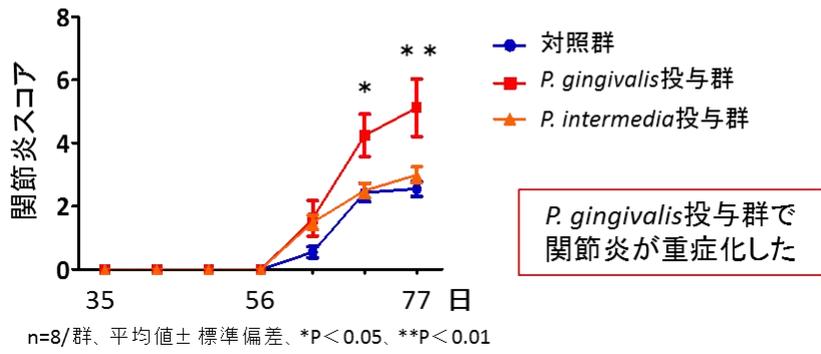
今回用いた関節リウマチモデルマウスでは関節炎の重症度は免疫したコラーゲンに対する抗体価と相関することが知られていますが、*P. gingivalis* 投与群の抗タイプ II コラーゲン抗体価は他の 2 群と違いは認められませんでした。また、関節リウマチで特異的に見られる自己抗体として抗シトルリン化タンパク抗体（抗 CCP 抗体）というものがありますが、これは Peptidylarginine deiminase (PAD)^{3*} という酵素によって正常タンパクから翻訳後修飾^{4*}により生成されたシトルリン化タンパクが自己抗原として作用するために産生される抗体です。喫煙や炎症などの影響で私たちの体自身も持っている PAD が活性化されタンパクのシトルリン化が生じますが、*P. gingivalis* もこの PAD を持っていることから歯周病の患者さんにおいてシトルリン化タンパクの生成に関与していることが示されています。このことが歯周病と関節リウマチ発症を結びつけると考えられてきましたが、これに否定的なデータも出ています。我々の今回の実験では抗 CCP 抗体レベルに違いは認められませんでした。

また、人口胃液を用いた実験の結果、*P. gingivalis* は *P. intermedia* と比較して高い耐酸性を示すことがわかりました。この性質が胃酸による傷害に耐えて腸内細菌に影響を及ぼす理由の一つと考えられました。

図 2. 各群の関節炎症状の比較

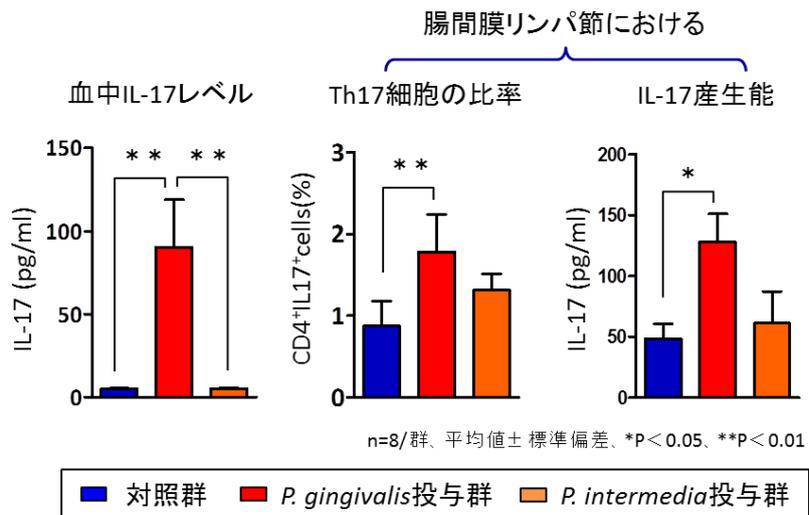


*P. gingivalis*投与群で滑膜組織における炎症性細胞浸潤(炎症状態)が認められた



*P. gingivalis*投与群で関節炎が重症化した

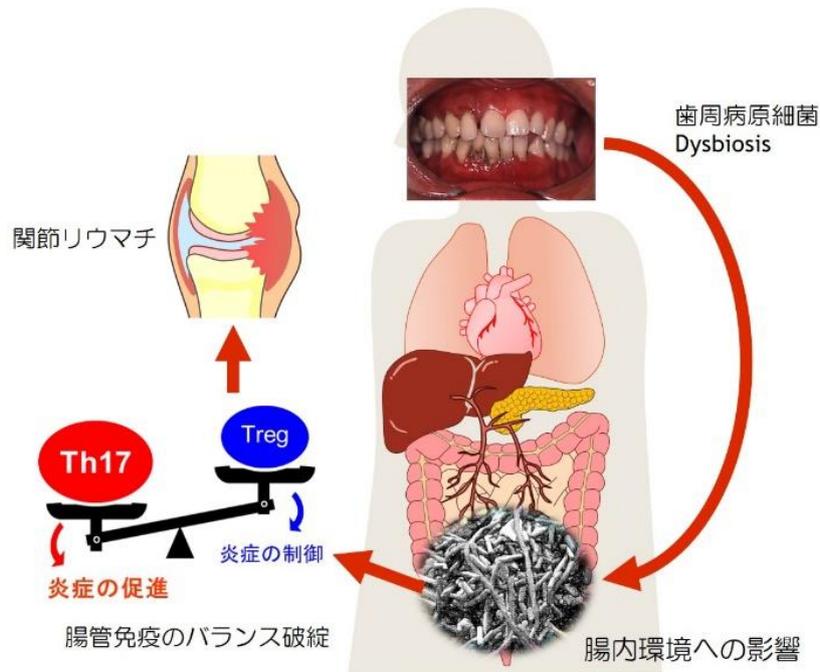
図 3. 各群の炎症マーカーと免疫応答の比較



Ⅲ. 研究の成果

1. 今回の研究結果は従来考えられてきた自己抗体の産生増強とは異なり、歯周病原細菌 *P. gingivalis* が腸内細菌叢を介して関節炎を悪化させるという新たな病原メカニズムを明らかにしました（図4）。

図4. 歯周病の関節リウマチに及ぼす影響



2. *P. gingivalis* は腸内細菌叢の変動を介して腸間膜リンパ節などにおける Th17 細胞の増殖・活性化を誘導し、血中の IL-17 レベルを上昇させることが明らかになりました。

3. 本研究における、歯周病原細菌 *P. gingivalis* が腸内細菌を変化させ、それに伴って Th17 細胞が活性化されるという知見は、歯周病と関節リウマチの新たな関連メカニズムを提唱するのみならず、歯周病とその他の疾患の関連メカニズム解明にも大きな示唆を与えると考えます。

Ⅳ. 今後の展開

マウス実験で明らかになった現象が実際に歯周病の患者さんでも生じているか確認するとともに、歯周病治療が腸内細菌叢を改善することを明らかにすることが必要です。口腔内には700種にも及ぶ細菌が棲息していると考えられており、*P. gingivalis* 以外にも全身の健康に悪影響を及ぼす細菌が口の中に存在している可能性があります。そうした細菌を最先端の網羅的解析技術を用いて明らかにします。その上で、口腔細菌叢の健康度から腸内細菌叢の健康度、ひいては全身の健康度を簡便に評価する方法の開発につなげたいと考えています。

Ⅴ. 研究成果の公表

これらの研究成果は、平成 29 年 7 月 31 日の Scientific Reports 誌 (IMPACT FACTOR 4. 259) に掲載されました。

論文タイトル: Aggravation of collagen-induced arthritis by orally administered



Porphyromonas gingivalis through modulation of the gut microbiota and gut immune system

著者 : Keisuke Sato^{1,2}, Naoki Takahashi^{2,3}, Tamotsu Kato⁴, Yumi Matsuda^{1,2}, Mai Yokoji^{1,2}, Miki Yamada^{1,2}, Takako Nakajima⁵, Naoki Kondo⁶, Naoto Endo⁶, Reiko Yamamoto^{7**}, Yuichiro Noiri⁸, Hiroshi Ohno⁴, and Kazuhisa Yamazaki¹

- 1) Research Unit for Oral-Systemic Connection, Division of Oral Science for Health Promotion, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan.
 - 2) Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan.
 - 3) Research Centre for Advanced Oral Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan.
 - 4) Laboratory for Intestinal Ecosystem, RIKEN Centre for Integrative Medical Sciences (IMS), Yokohama, Japan.
 - 5) Division of Dental Educational Research Development, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan.
 - 6) Division of Orthopedic Surgery, Department of Regenerative and Transplant Medicine, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan.
 - 7) Institute for Integrated Cell-Materials Science (WPI-iCeMS), Kyoto University, Sakyo, Kyoto, Japan.
- **Present address: Laboratory for Integrative Omics, RIKEN Quantitative Biology Center (QBiC), Osaka, Japan.
- 8) Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan.

本件に関するお問い合わせ先
新潟大学大学院医歯学総合研究科
口腔保健学分野 山崎和久教授
E-mail : kaz@dent.niigata-u.ac.jp



用語解説

1. *Porphyromonas gingivalis* :
グラム陰性嫌気性菌で歯周病の原因菌（歯周病原細菌）として有名な細菌。
 2. Th17 :
宿主の免疫系に関わる T 細胞の一種で、インターロイキン 17（IL-17）と呼ばれるサイトカインを産生する。関節リウマチなどの自己免疫疾患と深く関与することが知られている。
 3. Peptidylarginine deiminase (PAD) :
Ca²⁺依存的にアルギニン残基をシトルリン残基に変換する反応を触媒するタンパク質修飾酵素。
 4. 翻訳後修飾 :
リボソームでタンパク質が合成された後、成熟タンパク質になる過程で受ける種々の化学修飾。
-