

2021年10月26日

新潟大学
理化学研究所

非アルコール性脂肪性肝疾患悪化に 歯周病原細菌による腸内環境への悪影響が関係する

新潟大学大学院医歯学総合研究科歯周診断・再建学分野の山崎恭子研究員、同研究科口腔保健学分野の山崎和久教授（研究開始時、現所属：理化学研究所生命医科学研究センター粘膜システム研究チーム客員研究員）と理化学研究所生命医科学研究センター粘膜システム研究チームの大野博司チームリーダーらの共同研究グループは、歯周病が非アルコール性脂肪性肝疾患（Nonalcoholic Fatty Liver Disease; NAFLD）を悪化させるメカニズムとして、飲み込まれた歯周病原細菌による腸内環境の変化が関係することを明らかにしました。

【本研究成果のポイント】

- 歯周病は NAFLD のリスク因子であることが知られていましたが、そのメカニズムは明らかになっていませんでした。
- NAFLD モデルマウスに健康な状態、歯周病の状態を代表する口腔細菌をそれぞれ口腔から投与してそのメカニズムを解析しました。
- 健康な口腔内を代表する細菌は NAFLD 病変を悪化させることはありませんでしたが、歯周病と関係する細菌、特に代表的な歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* は腸内細菌機能、腸内細菌代謝物を変化させるとともに腸管のバリア機能を低下させて内毒素血症を誘発することで、肝臓の機能に悪影響を与えることを明らかにしました。
- 口腔の健康維持は腸内環境を通じて全身の健康に深く関わっていることが明白となりました。

1. 研究の背景

非アルコール性脂肪性肝疾患（Nonalcoholic Fatty Liver Disease; NAFLD）は、顕著なアルコール摂取がないにもかかわらず肝臓に脂肪蓄積を認める疾患です。NAFLD は、脂肪蓄積はあってもほとんど進行せず予後が良好な非アルコール性脂肪肝と、脂肪変性に加えて炎症・線維化が顕著で肝硬変や肝臓がんに行進するリスクが高い非アルコール性脂肪肝炎の2種類に分類されます。後者は肝臓関連死が有意に高く、心疾患によって死亡する可能性も高くなること

報告されています。世界的に患者数は増加の一途をたどり、我が国においても 1,000 万人を超える患者が存在すると推定されています。

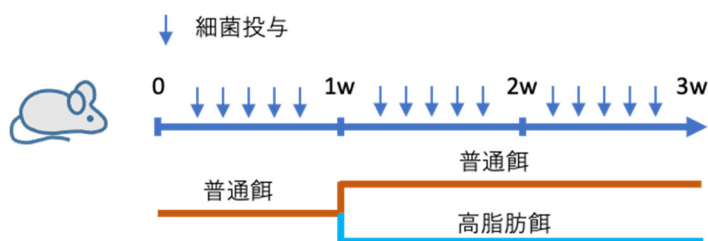
NAFLD 病態を誘発するものとして肥満や糖尿病などのメタボリックシンドロームが知られていますが、近年の研究により腸内細菌叢の関与が注目されています。腸管は食事中の栄養素を消化・吸収し、門脈という血管を介して肝臓に直接供給しますが、腸内細菌・菌体成分や腸内細菌代謝物も肝臓に運ばれます。それらが肝臓において炎症を誘導したり、遺伝子発現に影響を与えたりすることが明らかになっています。

歯周病は様々な全身疾患のリスク因子であることが疫学研究によって明らかにされていますが、多くの場合、因果関係を説明するメカニズムは明確にわかっていません。NAFLD もそうした疾患の一つです。私たちは唾液とともに口腔細菌を飲み込んでいますが、歯周病患者の唾液中には多くの歯周病原細菌が含まれています。本研究グループはこれまで口腔細菌、特に歯周病原細菌が腸内細菌叢や腸管バリア機能、腸内細菌代謝物を変化させることを報告してきました。こうした変化は NAFLD の病態発現と深く関わる現象であることから、歯周病と NAFLD の関連には、飲み込まれた歯周病原細菌による腸内細菌叢への影響が関与しているのではないかと推測に至りました。

II. 研究の概要

普通食を与えて飼育したマウス口腔に 1 週間に 5 回、1 回あたり 1×10^9 の各種口腔細菌を投与したのち、対照群では普通食を維持した一方、実験群では NAFLD を発症しやすい餌（高脂肪食：CDAHFD60）に変更し、さらに 2 週間細菌の投与を継続しました（図 1）。細菌投与開始前、開始 1 週後、細菌投与を継続しながら餌を変更して 2 週後にそれぞれ糞便を採取して腸内細菌叢をメタゲノム解析するとともに、実験終了時に血液や肝臓、腸管組織を採取して NAFLD の病態や病因を解析しました。

図 1 実験の概要



その結果、健康な口腔に関連する細菌 (*Actinomyces naeslundii* 及び *Veillonella rogosae*) では菌を投与しない場合と同等であったのに比較して、歯周病と関連する細菌 (*Prevotella intermedia* 及び *Porphyromonas gingivalis*) を投与した場合に NAFLD が有意に重症化していました。また、歯周病原細菌の中でも病原性の強い細菌 (*P. gingivalis*) はそれよりも病原性の弱い細菌 (*P. intermedia*) と比較してより重症化させました（図 2）。メタゲノム解析の結果、歯周病原細菌の投与により腸内細菌叢において芳香族アミノ酸合成に関わる遺伝子群の発現が高まること、高脂肪食を与えた環境においては *P. gingivalis* 投与群で *P. intermedia* 投与群と

比較して分岐鎖アミノ酸合成系の遺伝子発現の上昇が明らかになりました（図3）。腸管バリア機能低下とそれに伴う内毒素血症の程度は *P. gingivalis* 投与群で有意に亢進し、血清代謝物のプロフィールも *P. gingivalis* 投与群において対照群、*P. intermedia* 群とは明らかに異なり（図4）、芳香族アミノ酸や糖リン酸のレベルの上昇が認められました。芳香族アミノ酸や分岐鎖アミノ酸の上昇は心血管疾患や糖尿病の予測因子になることが報告されています。肝臓における網羅的遺伝子発現解析の結果は、*P. intermedia* 投与群と *P. gingivalis* 投与群で明らかな発現パターンの違いを示しました（図5）。特に *P. gingivalis* の投与により、NAFLD 発症・進行に関与する小胞体ストレス、サーカディアンリズム、線維化、腫瘍化に関与する遺伝子発現に影響を与えることが示されました。

図2 肝臓の組織像

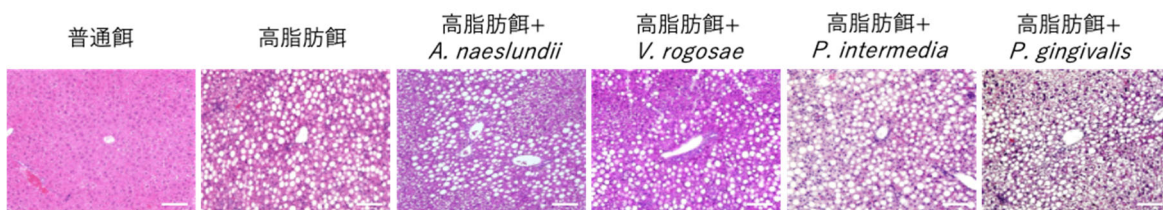


図3 2群間比較において機能が亢進した遺伝子群

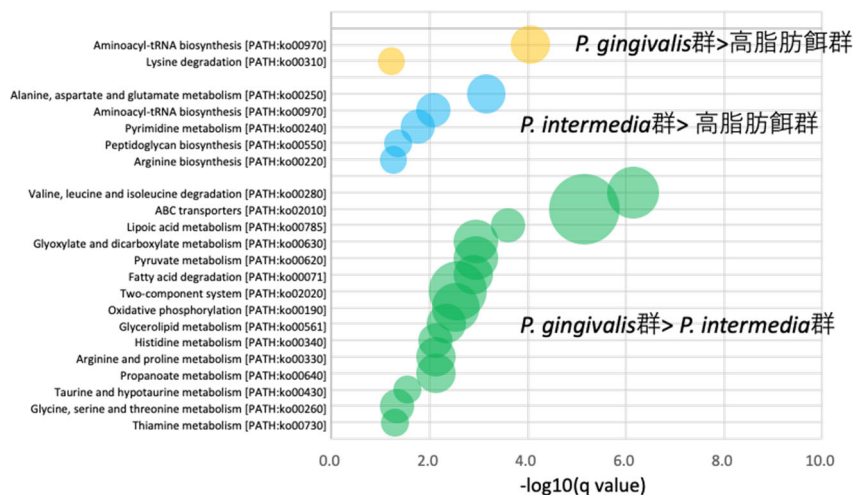


図4 各群における血清メタボローム解析結果（主成分分析）

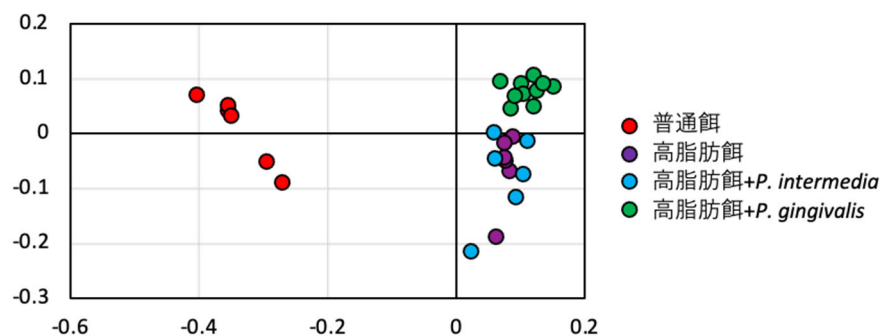
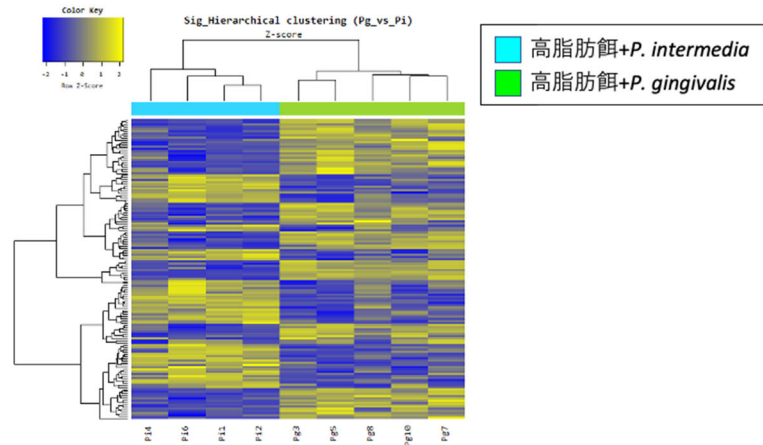
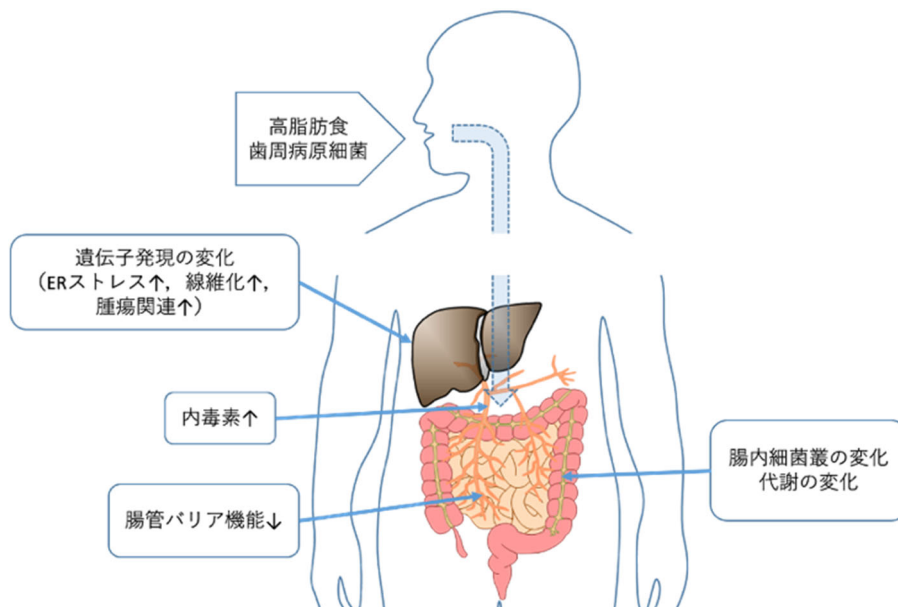


図5 *P. intermedia*と*P. gingivalis*投与群における肝臓遺伝子発現パターンの違い



以上の結果から、唾液とともに飲み込まれた歯周病原細菌は腸内細菌の構成と機能を変化させるとともに、腸管透過性を亢進させることで肝臓の機能に悪影響を与え、NAFLDの発症・進行に関わることが明らかになりました（図6）。

図6 NAFLDに及ぼす歯周病と食事の影響



III. 今後の展開

歯周病原細菌により影響を受ける腸内細菌を同定することで、原因となる細菌（群）を同定するとともに、健康な口腔細菌の中で歯周病原細菌による腸内細菌への影響を阻害する性質を持つ細菌の発見が待たれます。それらを基盤として細菌叢をターゲットにした生物学的治療法の開発により、従来の歯周病治療における再発リスクを低減できる可能性が高まることに加えて、腸内細菌への介入効果により全身の健康維持にも貢献できると考えます。

IV. 研究成果の公表

これらの研究成果は、2021年10月11日、国際免疫学会連合のオンラインジャーナル Frontiers in Immunology に掲載されました。

論文タイトル：Oral Pathobiont-Induced Changes in Gut Microbiota Aggravate the Pathology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice

著者：Kyoko Yamazaki, Tamotsu Kato, Yuuri Tsuboi, Eiji Miyauchi, Wataru Suda, Keisuke Sato, Mayuka Nakajima, Mai Yokoji-Takeuchi, Miki Yamada-Hara, Takahiro Tsuzuno, Aoi Matsugishi, Naoki Takahashi, Koichi Tabeta, Nobuaki Miura, Shujiro Okuda, Jun Kikuchi, Hiroshi Ohno, Kazuhisa Yamazaki

doi: 10.3389/fimmu.2021.766170

本件に関するお問い合わせ先

新潟大学広報室

E-mail : pr-office@adm.niigata-u.ac.jp

理化学研究所広報室報道担当

E-mail : ex-press@riken.jp