

Title	非アルコール性脂肪肝炎発症におけるPorphyromonas gingivalisの役割
Author(s)	仲, 周平
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59271">https://hdl.handle.net/11094/59271</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	仲 周 平
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 25039 号
学位授与年月日	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科分子病態口腔科学専攻
学位論文名	非アルコール性脂肪肝発症における <i>Porphyromonas gingivalis</i> の役割
論文審査委員	(主査) 教授 大嶋 隆 (副査) 教授 川端 重忠 准教授 和田孝一郎 講師 野村由一郎

## 論文内容の要旨

## 【緒言】

脂肪肝は生活習慣病 1 つとされており、肝臓における脂質合成が増加することで生じると考えられている。脂肪肝は飲酒との因果関係がよく知られているが、アルコール非摂取者においても、過剰栄養摂取に起因する脂肪肝が認められ、非アルコール性脂肪肝と呼ばれている。また、病状がさらに進行し、肝臓の炎症性変化や線維化が顕著になった状態は、非アルコール性脂肪肝と称されている。これまでに、いくつかの生活習慣病と歯周病原性細菌との関連が検討されているが、脂肪肝との関連についての報告はなされていない。本研究では、非アルコール性脂肪肝における歯周病原性細菌の果たす役割について、*Porphyromonas gingivalis* に焦点をあて検討することにした。

## 【材料および方法】

## 1. 非アルコール性脂肪肝患者唾液中の歯周病原性細菌の分析

## 1) 対象

横浜市立大学附属病院消化器内科および市立奈良病院消化器肝臓病センターにおいて、肝生検により非アルコール性脂肪肝と診断された150名の患者(うち非アルコール性脂肪肝と診断された患者は102名)と同施設の事務系職員で定期健康診断時の血清学的検査結果から脂肪肝が否定された健常者60名を対象とした。両病院の倫理委員会において本研究計画の承認を得た後、同意の得られた対象から唾液約1mLの提供を受けた。

## 2) 歯周病原性細菌の分析

被験者の各唾液サンプルから細菌DNAを抽出し、歯周病原性細菌6種 *P. gingivalis* (*Pg*)、*Prevotella intermedia* (*Pi*)、*Treponema denticola* (*Td*)、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*)、*Tannerella forsythia* (*Tf*)、*Campylobacter rectus* (*Cr*) のそれぞれに対する菌種特異プライマーを用いた polymerase chain reaction (PCR) 法により、歯周病原性細菌種の存在を検討

した。また、*Pg* が検出されたサンプルにおいては、線毛遺伝子 (*fimA*) 型に特異的なプライマーを用いた PCR 法によって *fimA* 型の特定を行った。

### 3) 発症関連因子の検討

被験者 210 名 (脂肪肝群 150 名、対照群 60 名) における唾液中の *Pg* 保有、Body Mass Index (BMI)、糖尿病罹患の各指標と非アルコール性脂肪肝との関連に対して多変量解析を行った。

#### 2. 非アルコール性脂肪肝炎症病態動物モデルにおける検討

##### 1) *P. gingivalis* 感染による影響の評価

6 週齢の C57BL/6J マウス (オス) には、実験期間中常に高脂肪食を摂取させた。実験開始の 4 週目に 2 群に分け、1 群のマウスには、頸静脈より *P. gingivalis* OMZ314 株を感染させ、他群のマウスは非感染のままとした。実験開始 12 および 16 週後に屠殺し、血清 ALT 値を測定するとともに、それぞれの群における体重、肝臓および内臓脂肪の重量を計測した。さらに、屠殺後に摘出した肝臓の組織切片を作製し、Hematoxylin-Eosin 染色および Masson-Trichrome 染色を行い、肝臓の炎症性変化、脂肪の蓄積および線維化を分析した。

##### 2) 肝臓における遺伝子発現の網羅的解析

上記と同じ動物実験系において、*Pg* の感染 24 時間および 72 時間後にマウスを屠殺し、肝臓組織を採取した。採取したそれぞれのサンプルより mRNA 抽出を行い、逆転写反応により cDNA を合成し、マイクロアレイ解析を行って *Pg* 感染によって影響を受ける遺伝子を評価した。

#### 【結果】

##### 1. 非アルコール性脂肪肝患者における分析

非アルコール性脂肪肝患者群では、対照群と比較して唾液中の *Pg* および *Td* の保有率が有意に高いことが明らかとなった。また、*Pg* 陽性サンプルにおいて *fimA* 型を特定したところ、歯周病に対する病原性が高い遺伝子型が高頻度に検出された。また、多変量解析の結果、唾液中の *Pg* 保有は、BMI 値、糖尿病罹患とともに、非アルコール性脂肪肝発症に関連のある独立した因子の 1 つであることが示された。

##### 2. モデルマウスにおける解析

*Pg* 感染群では非感染群と比較して、12 および 16 週後に有意な体重増加と脂肪蓄積を伴う肝重量の増加を認めた。また、感染群の肝臓組織において、非アルコール性脂肪肝で認められる典型的な所見である脂肪蓄積や局所の線維化が認められた。一方、マイクロアレイ解析の結果、*Pg* 感染によって、肝臓での脂質代謝を担う脂肪酸酸化系の  $\beta$  および  $\omega$  酸化系酵素の遺伝子の発現量の低下が認められた。

#### 【考察】

ヒト研究において、非アルコール性脂肪肝患者の唾液中に歯周病原性の強い *Pg* が高頻度に存在していること、また、口腔内における *Pg* の保有が非アルコール性脂肪肝発症の危険因子となりうることが示された。また、マウスを用いた研究から、*Pg* を血液中に感染させると、肝臓における脂質代謝関連酵素系遺伝子の発現が低下し、非アルコール性脂肪肝の病態

を悪化させることが示された。これらの結果は、過剰栄養摂取に陥った個体において、*Pg* の血液中への感染が非アルコール性脂肪肝発症を促進する可能性があることを示唆している。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、非アルコール性脂肪肝患者の病態と *Porphyromonas gingivalis* との関連について分析するとともに、脂肪肝発症における *P. gingivalis* の役割をモデル動物で検討したものである。その結果、非アルコール性脂肪肝患者の唾液中には高病原性の *P. gingivalis* が高頻度で存在していること、また *P. gingivalis* の頸静脈への感染がモデルマウスの脂肪肝を増悪させることを明らかにした。そのメカニズムの一つとして、*P. gingivalis* の感染が、肝臓における脂質代謝関連酵素系遺伝子の発現を低下させ、脂肪肝の発症を促進する可能性が示唆された。

以上の結果は、非アルコール性脂肪肝発症における *P. gingivalis* の役割を明らかにするものであり、博士 (歯学) の学位授与に値するものと認める。