

論文内容要旨

歯周病は耐糖能異常非依存的に非アルコール性脂肪
肝疾患(NAFLD)の増悪因子となりうる

主指導教員：河口 浩之教授
(広島大学病院 歯科医学教育学)

副指導教員：小松澤 均教授
(医系科学研究科 細菌学)

副指導教員：柴 秀樹准教授
(医系科学研究科 歯髓生物学)

田利 美沙子

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【目的】

非アルコール性脂肪肝疾患（NAFLD）は、単純性脂肪肝（NAFL）と NAFL がさらに進行し炎症性細胞浸潤・繊維化をきたす脂肪肝炎（NASH）の総称である。NAFLD は本邦で成人の約 30%と高い有病率を示し、その一部は肝硬変・肝癌まで進行して致死的な変化を引き起こす。近年、歯周炎が NAFLD を増悪させることが報告されて以来、その増悪メカニズムを調べる基礎研究が行われているが、決定的な見解は得られていない。

これまでの NAFLD 実験動物モデル作製には、高脂肪食が用いられてきた。高脂肪食の投与は多臓器に有害な脂質の蓄積を引き起こすもので、肝臓への脂質沈着の結果 NAFLD を発症するものの、肥満・耐糖能異常も併発する。歯周炎は肥満・耐糖能異常の増悪因子であり、さらに肥満・耐糖能異常が NAFLD 進展に関与するため、従来の高脂肪食を用いた NAFLD 実験動物モデルでは歯周炎の NAFLD に及ぼす直接的影響の検討が困難であった。

一方、果糖やブドウ糖に代表される高炭水化物食は肝臓の脂質合成経路を直接的に活性化し、脂肪肝を誘発することが知られている。すなわち、高炭水化物食の投与によって、肥満・耐糖能異常を伴わずに NAFLD 実験動物モデルを作製できる可能性が高い。そこで本研究では、高炭水化物食を用いて肥満・耐糖能異常を伴わない NAFLD マウスモデルを樹立し、歯周炎が直接的に NAFLD を増悪させるか調べることを目的として実験を行った。また、これまで NAFLD に及ぼす影響を調べる歯周炎モデルとしては、単一の歯周病原細菌の口腔内塗布、歯性感染が用いられてきたが、より多様な口腔内細菌が引き起こす歯周炎の影響を調べるために、絹糸結紮による歯周炎モデルを採用した。

【方法】

主に動脈硬化の研究で使用されている飼料を参考に、高炭水化物食の組成を決定した。C57/BL6 と比較して耐糖能異常を発症しにくいとされる BALB/cAJcl マウスに普通食、高脂肪食、高炭水化物食を与え、耐糖能の評価を空腹時ブドウ糖負荷試験、肥満の評価を体重測定によって行った。屠殺後肝臓を回収し、脂肪変性の程度を肉眼所見・組織学的観察にて評価した。

高炭水化物食を与えることにより樹立した脂肪肝モデルマウスの上顎第二臼歯に 5-0 絹糸を結紮することで歯周炎を惹起した。肝臓の脂肪変性、繊維化、炎症性変化の程度を組織学的観察で評価し、さらに繊維化の指標である TGF β のほか IL-1 β 、TNF α の mRNA 発現を qPCR にて解析した。歯周炎の惹起による肥満・耐糖能異常発症の有無を確認するために、体重測定、空腹時ブドウ糖負荷試験を行った。また、歯周炎による歯槽骨吸収の評価として、microCT 撮影を行い、セメントエナメル境から歯槽骨頂までの距離を定量した。

【結果】

実験開始 6 週後、普通食群と比較して高脂肪食群では肝臓が白色化し、HE 染色による組織学的検討の結果、肝組織に脂質の沈着が観察された。さらに、この肝臓の脂肪変性に伴い、肥満・耐糖能異常を併発した。一方、高炭水化物食群では肝臓に高脂肪食群と同程度の脂肪変性をみとめたが、肥満・耐糖能異常の発症はみとめなかった。以上の結果から高炭水化物食投与によって肥満・耐糖能異常未発症の脂肪肝モデルが得られた。

高炭水化物食投与に絹糸結紮歯周炎を発症させた群では、高炭水化物食投与に絹糸結紮を行わなかった群と比較して脂肪変性が進行しており、組織像にて大滴性の脂肪変性が観察された。一方で、炎症性細胞浸潤や線維化などの組織学的変化は観察されず、IL-1 β 、TNF α 、TGF β mRNA 発現にも差を認めなかった。また、絹糸結紮歯周炎によって、体重増加や耐糖能異常は増悪しなかった。普通食投与に絹糸結紮を行っても、肝臓の脂質変性は生じなかった。絹糸結紮による歯槽骨吸収量は、普通食群・高炭水化物食群で差はなかった。

【考察】

以上の組織学的観察、qPCR の結果から歯周炎が肥満・耐糖能異常非依存的に肝臓に影響を及ぼし、脂肪肝を増悪させる可能性が示唆された。しかし、本研究で歯周炎は単純性脂肪肝 (NAFL) の増悪を引き起こすにとどまり、脂肪肝炎 (NASH) へ進展させるには至らなかった。この結果は、歯周炎が脂肪肝発症の早期での脂肪変性の増悪に寄与する可能性を示す。より長期に絹糸結紮を行うことで繊維化、炎症性細胞浸潤などを認める可能性も考えられる。

絹糸結紮による歯周炎が脂肪肝を増悪させた経路として、これまでの報告から、口腔内細菌の肝臓への感染、血清 IL-6 の上昇が脂肪変性に寄与した可能性が挙げられる。また、絹糸結紮による腸内細菌叢の変化が肝臓に影響を与えた可能性も考えられる。本研究で樹立した高炭水化物誘導性脂肪肝マウスモデルは、これらの歯周炎による NAFLD 増悪メカニズムの解明に貢献すると期待される。