

〔学位論文紹介〕

女性ホルモンの変動による歯周組織と細菌叢の変化と
それらを介した切迫早産との関連

杉山 のどか

北海道医療大学 歯学部 口腔機能修復・再建学系 歯周歯内治療学分野

Effects of fluctuations of the female sex hormones on the periodontal tissues
and microbiota associated with threatened preterm labor.

Nodoka SUGIYAMA

Division of Periodontology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation,
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

Key words : estradiol, progesterone, microbiota, 16S rRNA, next-generation sequencing (NGS)

緒 言

歯周病と早産・低体重児出産の関連について多くの知見がこれまでに得られているが、その詳細は未だ不明な点が多い。特に妊娠中の女性ホルモン濃度の変動による歯周組織と各部位の細菌叢への影響については十分に明らかにされていない。本研究では、女性ホルモンの変動による歯周組織と各部位の細菌叢の変化とそれらを介した切迫早産との関連を明らかにするために〔研究1〕切迫早産妊婦における女性ホルモンの歯周組織状態と細菌叢への影響、〔研究2〕ヒト歯肉上皮細胞における女性ホルモンの影響、〔研究3〕卵巣摘出マウスにおける女性ホルモンの影響について検討した。さらに、歯周病原菌のリポポリサッカライド (LPS) による腸内細菌叢の変化を明らかにするために〔研究4〕*Porphyromonas gingivalis*由来LPS (Pg-LPS) の全身投与による腸内細菌叢の変化について検討した。

材料および方法

〔研究1〕切迫早産妊婦 (TPL群) と非切迫早産妊婦 (non-TPL群)、各30名を被験者とした。被験者情報を聴取後、歯周組織検査を実施した。ホルモン濃度測定のために唾液を、細菌DNA抽出のために唾液・頬・膣・腸管粘膜を採取した。唾液中のエストラジオール (E2)、プロゲステロン (P4) 濃度はEIA法で測定した。細菌DNAを用いて、細菌叢解析と予測メタゲノム解析を

行った。

〔研究2〕ヒト歯肉上皮細胞 (HGEP) を培養し、E2あるいはP4 (25 μ M, DMSOで溶解) を添加し、12時間培養した。抽出したRNAを用いてRNA-seqを行った。そのデータを基に発現変動遺伝子 (DEG) を検出し、pathway解析 (IPA) を行った。IPAによって得られた関連遺伝子について、RT-qPCRで再現性を確認した。

〔研究3〕卵巣摘出Slc : ICRマウスにE2あるいはP4 (2.5mg/kg, ゴマ油で懸濁) を20日間皮下投与した。頬粘膜の細菌DNAを用いて、細菌叢解析と予測メタゲノム解析を行った。また、歯肉組織からmRNAを抽出し、IL1 β , IL6, TNF α またin vitroで再現性を確認した遺伝子の発現度を解析した。

〔研究4〕C57BL/6JマウスにPg-LPS (5 mg/kg) を3ヶ月間投与した。便から抽出した細菌DNAを用いて細菌叢解析と予測メタゲノム解析を行った。また、大腸・小腸組織からmRNAを抽出し、組織切片の製作、HE染色、IL1 β , IL6, TNF α の発現度を解析した。

結 果

〔研究1〕TPL群ではnon-TPL群と比較して、プロービングポケット深さ (PPD)、歯肉の炎症程度が大きかった。唾液中ホルモン濃度はTPL群で有意に低く、切迫早産はP4濃度の低下と4 mm以上PPDの増加と有意差が認められた。細菌叢解析では、ANCOMでTPL群の唾液中*Lactobacillae*属の減少、頬粘膜*Veillonella*属の減少と

Staphylococcus 属の増加, 腸粘膜 *Bifidobacterium* 属の減少, 膈粘膜 *Muribaculaceae* 属, *Alistipes* 属, *Staphylococcus* 属の増加が検出された。

〔研究 2〕DEG は対照群と比較して, E2 群では 699 遺伝子の増加と 348 遺伝子の減少, P4 群では 1448 遺伝子の増加, 924 遺伝子の減少が DEG で認められた。E2 群では 143 経路, P4 群では 154 経路の変化が認められた。E2・P4 群に共通して, wound healing signaling pathway を上昇させることが予測された。また, DEG で検出された経路の遺伝子発現が確認された。

〔研究 3〕細菌叢解析では α 多様性の faith pd と β 多様性に変化が認められた。歯肉組織の遺伝子発現では, IL1 β , IL6, TNF α に有意差は認められなかったが, in vitro で抽出した遺伝子のいくつかに有意差が認められた。

〔研究 4〕細菌叢解析では α ・ β 多様性に変化は認めなかった。予測メタゲノム解析では, Pg-LPS 群で 47 の経路が上昇, 17 の経路が低下した。遺伝子発現解析では全てに変化は認められなかった。

考 察

〔研究 1〕TPL 群において女性ホルモン依存性に増殖する共生細菌である唾液中の *Lactobacillales* 目や腸内の *Bifidobacterium* 属の減少を認めた。女性ホルモン濃度の低下は共生細菌に影響し, 妊婦や子の健康に影響する可能性がある。

〔研究 2〕で検出された経路の中に創傷治癒に関する経路が確認され, これより妊娠期で女性ホルモンの上昇は歯肉の恒常性の維持に作用することが推察される。これは〔研究 1〕を支持する結果である。

〔研究 3〕では, ホルモン投与により, α 多様性の faith pd と β 多様性が変化し, これらは臨床研究を支持する結果であった。また, 乳酸菌は P4 によって増加する可能性があり, 臨床研究での増加も P4 によるものと考えられる。〔研究 2〕で再現性が確認された遺伝子が本研究

でも確認され, 〔研究 2〕を支持する結果であり, ヒトの口腔内でも同じ現象が起きている可能性がある。

〔研究 4〕では, コンドロイチン硫酸分解に関わる経路が Pg-LPS で上昇しており, これは〔研究 1〕でも変化している経路であった。このコンドロイチン硫酸は妊娠とともに上昇するものであり, その分解と早産に関係があると考えられている。

結 論

切迫早産妊婦は健常妊娠と比較してプロゲステロン濃度は低下し, 歯肉の炎症が増悪する可能性が示された。また, 妊娠時の女性ホルモンの変動は, 歯肉上皮や口腔細菌叢に影響を及ぼすことが示唆された。これらのことから, 切迫早産にはプロゲステロン濃度, 歯肉の炎症, 細菌叢の変化が相互に関連して影響する可能性が示された。



杉山 のどか

令和 2 年 3 月 北海道医療大学歯学部歯学科 卒業

令和 2 年 4 月 北海道医療大学歯科クリニック 研修歯科医

令和 6 年 3 月 北海道医療大学大学院歯学研究科博士課程 終了

令和 6 年 4 月 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 歯周歯内治療学分野 助教