

〔総説〕

歯周病と糖尿病のオーダーメイド治療を目指して

長澤 敏行¹, 辻 昌宏², 古市 保志¹

1. 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
2. 北海道医療大学 個性差医療科学センター

Custom-made treatment of periodontitis and diabetes

Toshiyuki NAGASAWA¹, Masahiro TSUJI² and Yasushi FURUICHI¹

1. Division of Periodontology & Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido
2. Institute of Personalized Medical Science, Health Sciences University of Hokkaido

Abstract

Periodontitis is an inflammatory disease caused by Gram-negative anaerobic bacteria, and regarded to have a close relationship to diabetes mellitus. In this review, we have summarized 1 : the characteristics of periodontitis and diabetes, 2 : the current understanding of the pathogenesis of periodontitis and the diagnosis of periodontitis, 3 : the possible mechanisms of the relationship between periodontitis and diabetes, 4 : periodontitis associated with genetic disorders, 5 : the role of genetic polymorphisms in periodontitis, and 6 : the custom-made treatment of periodontitis and diabetes. Importance of the genome-wide association study (GWAS), and possible application of GWAS for custom-made treatment of periodontitis and diabetes were also discussed.

Key words : Periodontitis, Diabetes, insulin resistance genome-wide association study (GWAS), Custom-made treatment

1. 歯周病と糖尿病の特徴

歯周病はグラム陰性嫌気性桿菌による炎症性疾患である。歯周病は炎症が歯肉に限局している歯肉炎と、歯肉結合組織の破壊と歯槽骨の吸収をきたした歯周炎の総称である。歯周炎は成人が歯の喪失をきたす主因となっており、通常35歳以降で発症する事が多いが、若年期に重度の歯周炎を発症する例も認められる。

歯周病は糖尿病、心臓血管疾患、誤嚥性肺炎、早産、骨粗鬆症などの様々な全身疾患と関連することが注目されている。とりわけ糖尿病は歯周炎のリスクファクターとして古くから知られており、糖尿病の慢性合併症の一つとして取り上げられている。また糖尿病に与える炎症の分子機構が明らかになるに連れて、歯周病が糖尿病に与える影響も注目されるようになってきた (Nagasawa et al. 2010)。

糖尿病はインスリンの作用不足による慢性の高血糖状

態を主徴とする代謝性疾患であり、インスリンの分泌低下、インスリン抵抗性が問題となっている。2型糖尿病は、インスリン分泌低下やインスリン抵抗性をきたす素因を含む複数の遺伝要因に、過食、運動不足、肥満、ストレスなどの環境因子や加齢が加わって発症すると考えられている。糖尿病と同様に歯周病も肥満、ストレス、加齢などによってリスクが増大するため、歯周病と糖尿病は生活習慣病一つとして位置づけられ、生活習慣を改善することで病気の発症や進行が予防できる疾患であると考えられるようになった。

これまで分子レベルでの歯周病診断および治療は確立していない。本稿では歯周病の病因と診断に関わる問題点について整理し、糖尿病と歯周病に関係する代謝・免疫機構について検討する。さらに分子レベルの診断に基づくオーダーメイド医療の可能性について考察を加える。

2. 歯周病の病因と診断の現状

1) 細菌検査

口腔清掃を停止すると歯の周囲にはプラークと呼ばれる細菌集塊が形成される。プラークの堆積は歯肉炎を引き起こし、プラークを除去すれば再び健康な歯肉が得られる (Loe, Theilade and Jensen 1965) ことから歯肉炎の原因がプラーク細菌であることが明らかとなった。歯周炎では細菌による炎症性破壊が歯肉辺縁から歯周組織深部に及ぶ不可逆的な破壊が起こっており、特別な再生治療などを行わない限り細菌を除去しても元の状態には回復しない。

歯周炎の多くは35歳以降に発症し、組織破壊の速度が比較的緩慢である。このような歯周炎は慢性歯周炎と分類される。*Porphyromonas gingivalis* (Pg) 菌は慢性歯周炎に多く認められる。10~30歳代の若年期に発症する重度の歯周炎は侵襲性歯周炎と分類され、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) 菌が関与する場合が多いとされている。しかしPg菌もAa菌もそれぞれ慢性歯周炎および侵襲性歯周炎で必ず検出されるわけではない。また歯周病原細菌が検出されても必ずしも重度の歯周組織破壊が認められないこともあり、細菌検査だけに基づいた歯周炎の分類は行われていない。

プラーク細菌の多くは口腔内常在細菌であり、歯肉炎は常在菌による感染であると考えられている。常在菌を完全に口腔内から除菌することはより危険な細菌によるSuperinfectionが起こり、著しい組織破壊が進行する恐れがある (Rams et al. 1992) ため好ましくないと考えられている。そのため歯周病の治療は細菌数を減少させることを目的として、口腔清掃や歯石の除去などの機械的なプラーク細菌の除去が原則的に行われている。

しかしプラーク細菌の病原性はすべて一様ではなく、特定の細菌は歯周病原細菌として他のプラーク細菌と区別されている。とりわけPg菌とAa菌は、細菌が存在することによって歯周炎のリスクが有意に高まること、また排除されることで歯周組織の改善が見られることから病原性が高いと考えられており、外来性菌として除菌すべきであるという考えも存在する (van Winkelhoff and Winkel 2005)。

Haubekらはモロッコの公立学校に通う700人の生徒の歯周病の有無とAa菌の関係を調査し、Aa菌が認められた学生では2年後の調査で有意に高い割合で歯周炎が発症したことを報告した (Haubek et al. 2008)。特にロイコトキシン高産生株であるJP2タイプのAa菌を有していた人では18倍も歯周炎発症のリスクが高く、JP2タイプ

以外のAa菌を有していた人でもリスクが3倍高かった。Aa菌は単独でも健康な歯周組織を破壊する可能性があり、外来性菌として排除する必要性が高いと考えられる。

Pg菌が存在する部位でも歯周組織破壊のリスクが増加するという報告があり、Pg菌の病原性が高いことは認められている。しかしPg菌はプラークが堆積して多くの細菌が定着した後に、最後に定着する細菌であり、かつ感染率も高いため、プラークが残存している状態でPg菌を除菌することは難しい (Socransky and Haffajee 2002)。抗生剤で一時的にPg菌の除菌を行ったとしても、患者の口腔清掃が不十分であれば再感染するリスクが非常に高い。Pg菌を抑制するためには、Pg菌の定着する場所をなくすことが重要である。機械的にプラーク除去を行うと同時に、不適合な修復物を適合の良い物に替え、歯並びを矯正するなど、プラークが停滞しにくい口腔内の環境を確立する事がPg菌の抑制には有効であると考えられる。

2) 免疫学的検査

侵襲性歯周炎では急速な歯周組織破壊が起こり、かつ家族内発症がみられることから、遺伝的に感受性が高いことが示唆される。これまで宿主の免疫機能を中心に急速な歯周組織破壊の病因について研究が進められてきた。Cianciolaらが好中球の機能異常を報告して以来 (Cianciola et al. 1982)、侵襲性歯周炎の原因として好中球の異常が注目を集め多くの報告がなされた (Van Dyke, Levine and Genco 1985)。好中球の異常が認められる全身疾患では重度の歯周炎がみられることから (Genco 1996)、好中球機能の低下は重度歯周炎の原因となることは明らかである。しかし侵襲性歯周炎においては、好中球の機能異常は認められないという報告や (Kinane et al. 1989)、好中球の異常は歯周炎の原因ではなくて歯周炎によって産生されたIL-1が原因である (Agarwal, Suzuki and Riccelli 1994) という報告もあり、好中球の機能異常は侵襲性歯周炎で必ず認められるわけではない。

侵襲性歯周炎では、リンパ球に異常があるという報告や (Suzuki, Park and Falkler 1984) (Nagasawa et al. 1995) (Takahashi et al. 1995)、単球の炎症性サイトカイン産生が亢進している事も報告され (Nagasawa et al. 2004)、好中球以外にも何らかの免疫学的な異常が存在することも示唆されている。

侵襲性歯周炎と慢性歯周炎の鑑別診断に直結する免疫学的な異常は未だ明らかになっていないが、侵襲性歯周

炎はもとより慢性歯周炎においても歯周炎患者の好中球 (Matthews et al. 2007) や単球 (Nagasawa et al. 2004) は、わずかな細菌のLPSなどによる刺激に対して多量の活性酸素や炎症性サイトカインを産生する (Hyper reactiveである) ため、歯周炎が全身的に影響を与える可能性が注目されるようになってきた (Beck et al. 1998)。特に糖尿病におけるインスリン抵抗性はTNF α やIL-6によって引き起こされるため、これらのサイトカイン産生を介して歯周炎が糖尿病の病態に関与する可能性が考えられている。

3. 歯周病と糖尿病に関わる代謝・免疫機構

歯周病も糖尿病も加齢に伴い有病率が高くなる。しかし歯周病における細菌に対する免疫反応、糖尿病における糖代謝の異常が加齢現象とどのように関係するのかは明らかになっていない。ヒトは寿命も長く、代謝や免疫系も複雑であるために単純なモデルを構築することは困難であるが、線虫やショウジョウバエなど動物実験で得られた基本的な概念はヒトの疾患を考える上でも参考になると思われる。

1) 糖代謝と免疫機構

Target of rapamycin (TOR) は細胞増殖や代謝の制御において重要な蛋白キナーゼである。恒常的なTORの活性化は癌や心臓の機能不全、肥満と関連した代謝性の疾患と関連する (Wulleschleger S and Loewith R2006)。また逆にTORの抑制は寿命を延ばし、加齢に伴う病的変化を抑制してQOLを向上させることが知られている (Wulleschleger S and Loewith R2006)。

インスリンやインスリン様増殖因子はphosphoinositide 3 kinase (PI 3 K) および蛋白キナーゼAktの活性化を介して、TORを活性化する。これに対してadenosine monophosphate-activated kinase (AMPK) はカロリー摂取制限 (CR) やDNAの損傷などで活性化され、ストレスに対応して誘導されるTORのインヒビターである。Sestrinは酸化ストレスに対する抗酸化作用を有しており (Budanov et al. 2004)、AMPKを介してTORを抑制する (Budanov and Karin 2008)。Sestrin遺伝子をノックアウトしたショウジョウバエでは中性脂肪の蓄積、ミトコンドリアの機能異常、筋肉の変性、心臓の機能異常などの異常が認められる。このためショウジョウバエにおける加齢に伴う病的な変化をSestrinは抑制すると考えられている (Lee JH et al. 2010)。

免疫機能も年齢と共に低下がおこる (Gavazzi G and Krause KH 2002) が、免疫機能の老化については十分に

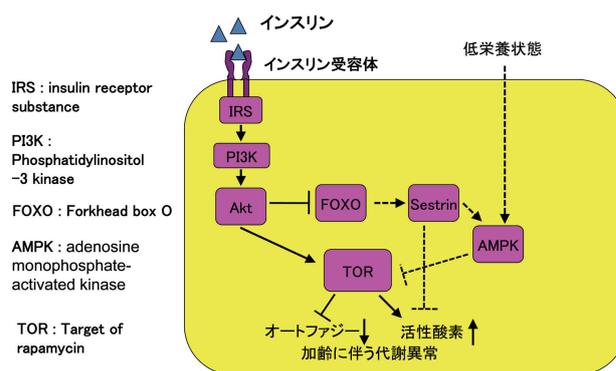


図1 インスリンシグナルによるオートファジーの抑制と活性酸素の増加 インスリンシグナルの経路を実線、それを抑制する経路を破線で表す。IRS: insulin receptor substance, PI3K: Phosphatidylinositol-3 kinase, FOXO: Forkhead box O, AMPK: adenosine monophosphate-activated kinase, TOR: Target of rapamycin

明らかになっていない。オートファジーは真核細胞すべてが有する細胞内の蛋白質を分解するシステムであるが、細菌の排除の他、異常タンパクの分解にも関わり、生体の恒常性の維持に重要であることが知られている。オートファジーは細胞内寄生菌の抑制や線虫における寿命の延長に関わっており、年齢と共に低下することが知られている (Melendez 2003) (Hansen M 2008) (Jia K et al. 2009)。線虫におけるインスリン様のシグナルはDAF-2を介して行われるが、DAF-2遺伝子の不活化によってもたらされる細菌に対する抵抗性はオートファジーの活性化によることも明らかとなっている (Jia K et al. 2009)。

またFOXO遺伝子欠損マウスでは、FOXOによる活性酸素の除去がないために骨髄の造血幹細胞が低下しており、造血幹細胞の維持にFOXOが必要であることが報告された (Tothova et al. 2007)。また、活性酸素の増加はインスリン抵抗性を介して糖尿病を悪化させることが明らかとなっている (Houstis, Rosen and Lander 2006)。

これらのことから、過剰なインスリンシグナルはPI3Kを介してTORの活性化とFOXOの抑制をきたし、オートファジーの抑制と活性酸素の増加を引き起こし、加齢に伴う様々な代謝異常を引き起こす。これに対しカロリー制限などで活性化されるFOXOやAMPKを介したシグナルは過剰なインスリンシグナルの経路を抑制することが明らかとなっている (図1)。

2) 消化管における常在菌と宿主の共存を調節する免疫機構

口腔から始まる消化管では数多くの常在細菌が存在する (Hooper and Gordon 2001)。多くの場合は常在細菌と宿主の間には共生関係が保たれている。哺乳類では細菌も免疫機構も複雑であるため、常在細菌に対する免疫応

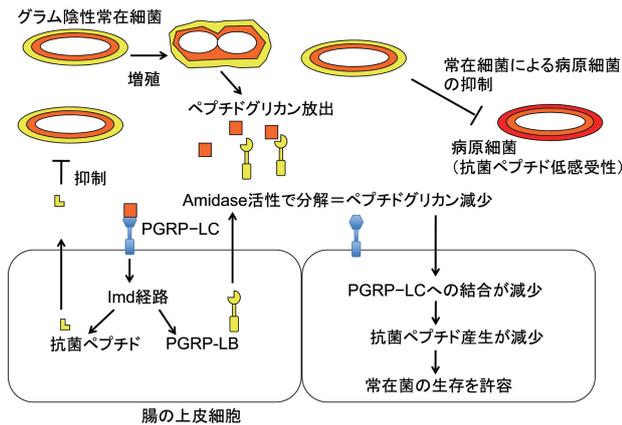


図2 ショウジョウバエにおける腸の常在細菌のコントロール Imd : Immune deficiency, PGRP : peptidoglycan recognition proteins

答の制御については十分に明らかになっていない。消化管には常在細菌に対してパイエル板などの特殊な腸管関連リンパ組織が存在し、IgA産生を行って粘膜を防御するほか、食物に含まれる抗原に対しては免疫応答を抑えて食物アレルギーを抑制する経口免疫寛容を誘導することが知られている（長澤敏行 and 多田富雄, Nagasawa et al. 1993）。

ショウジョウバエの免疫機構は細菌をToll like receptor (TLR) 経路あるいはImmune deficiency (Imd) 経路によって認識し、NF kappa Bの活性化によって抗菌ペプチドを産生する自然免疫機構が主体である。細菌、宿主の免疫機構は比較的単純であるため、常在菌と宿主の関係について研究が進んでいる。

宿主と常在細菌の共生関係を保つためには、細菌の数に応じて宿主の反応を調節する必要がある。Imd経路は主としてグラム陰性細菌の感染に対する抗菌ペプチド産生に関わっている。ペプチドグリカンはグラム陽性菌もグラム陰性菌も細胞壁を構成する上で必須の高分子である。グラム陰性細菌のペプチドグリカンはLPSの中に隠れているため、グラム陰性細菌が放出するペプチドグリカンの量は細菌の増殖に依存する。ショウジョウバエはpeptidoglycan recognition proteins (PGRPs) によってグラム陰性細菌の産生したペプチドグリカンを認識する。PGRPsにはいくつかの種類があり、その中でPGRP-LCはペプチドグリカンを認識してImd経路を活性化し抗菌ペプチド産生を上昇させる一方で、PGRP-LB産生を上昇させる。PGRP-LBはamidase活性があり、グラム陰性細菌のペプチドグリカンを分解して活性を失わせるため、PGRP-LCに結合するペプチドグリカンが減少し、Imd経路の活性化が弱まっていく（Zaidman-Remy et al. 2006）。Imd経路においてPGRP-LBと抗菌ペプチド産生のバランスをとることで細菌と宿主が共存する状態になると考えられる（図2）。

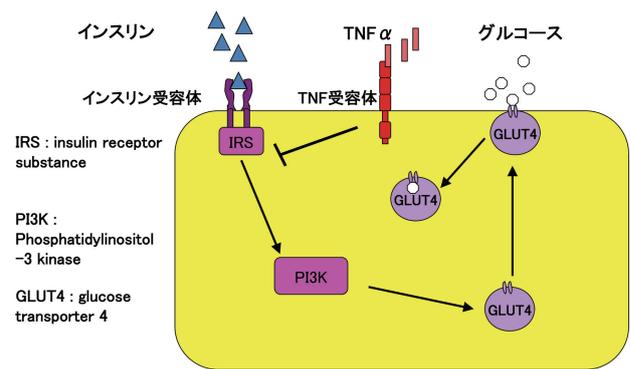


図3 TNFαによる細胞のインスリン抵抗性

IRS : insulin receptor substance, PI3K : Phosphatidylinositol-3 kinase, GLUT4 : glucose transporter 4

ショウジョウバエの体節を形成するのに重要なホメオボックス遺伝子である Caudalは腸において抗菌ペプチドの発現を抑える働きがあり、この遺伝子に変異を与えると腸における抗菌ペプチドの過剰産生がおこる。この抗菌ペプチドの過剰産生は、抗菌ペプチドに感受性の高い正常な細菌を死滅させ、代わりに抗菌ペプチドに強い病原細菌の増加をもたらした。その結果、Caudal遺伝子に変異のあるショウジョウバエは病原細菌による腸の細胞のアポトーシスによって死に至ることが報告された（Unoki et al. 2008）。

細菌感染などによる免疫機能の活性化とは全く別の経路で、飢餓状態に対応して免疫機能が活性化することがショウジョウバエで報告されている。飢餓状態にあるショウジョウバエではFOXO依存性に抗菌ペプチドの産生が上皮に誘導される（Becker et al.）。また飢餓状態におけるFOXO依存性の抗菌ペプチド誘導は、Caudal欠損の際の抗菌ペプチド発現のように強力な誘導ではなく、常在細菌と宿主のバランスを崩す事はない。FOXO依存性の抗菌ペプチドの誘導は栄養状態が悪い環境下で感染から防御するシステムが存在することを示唆する。

哺乳類におけるImd経路にあたるのがnucleotide-binding oligomerization domain protein 1 (NOD 1) であるが、マウスにおいて腸の孤立リンパ小節とよばれるリンパ組織が発生する際にはグラム陰性細菌のペプチドグリカンをNOD 1が認識することでリンパ小節の形成の引き金が引かれることが報告され、ペプチドグリカンを介した常在細菌と宿主の免疫機構の相互作用は哺乳類においても存在することが明らかとなっている（Bouskra et al. 2008）。

これらのことから、宿主と常在細菌の相互作用にかかわる遺伝子の変異は常在細菌に変化をもたらし、宿主との共存関係を破綻させる可能性があることが示唆される。クローン病は消化管に炎症と潰瘍を起こす原因不明

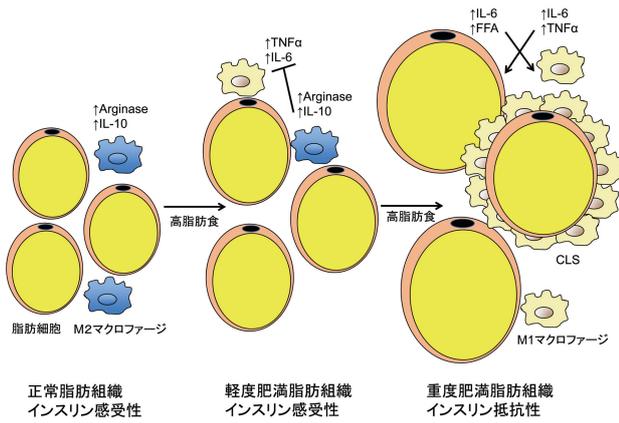


図4 肥満に伴う脂肪組織のマクロファージの変化
 左図：正常脂肪組織ではM2マクロファージが浸潤し、インスリン感受性も正常である。中央：軽度肥満の脂肪組織ではM1マクロファージが浸潤するがM2マクロファージの抗炎症性サイトカインによってインスリン感受性は正常に保たれる。右図：重度肥満の脂肪組織ではM1マクロファージの浸潤はしばしば王冠様の構造（CLS）を呈する。脂肪細胞のFFAはマクロファージの炎症性サイトカイン産生を増強し、マクロファージのTNFαは脂肪細胞の炎症性サイトカイン産生を増強する。炎症性サイトカインによってインスリン抵抗性が引き起こされる。FFA：Free Fatty Acid CLS：Crown like Structures

**歯周炎患者および健常者におけるCD14⁺CD16⁺単球
 (各群の中央値を示す検体)**

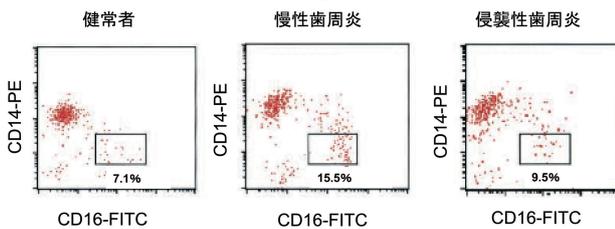


図5 歯周炎患者および健常者におけるCD14⁺CD16⁺単球
 歯周炎患者ではCD14⁺CD16⁺単球（四角で囲まれている部分）が増加している。

の疾患であり、腸内細菌に対する過剰な反応が病因の一つとして知られている (Balfour Sartor 2007)。クローン病の疾患関連遺伝子としてNOD遺伝子は知られている (McGovern et al. 2006)。常在細菌と宿主の間の共存関係の破綻とも考えられるクローン病にペプチドグリカンを認識するNOD遺伝子が関与している事は興味深い。さらに最近になってTLR5のノックアウトマウスでは腸内細菌叢が変化し、その変化した腸内細菌が高脂血症、高血圧、インスリン抵抗性などのメタボリックシンドロームを引き起こすことが報告された (Vijay-Kumar 2010)。この結果は宿主の遺伝子の変異に伴う常在細菌の変化が糖尿病のリスクとなる可能性を示唆しており、歯周病における細菌の変化に関しても同様の検討が必要であると思われる。

3) 炎症とインスリン抵抗性

肥満によって脂肪細胞がTNFαを産生し、TNFαがインスリン抵抗性を引き起こすことが報告されてから

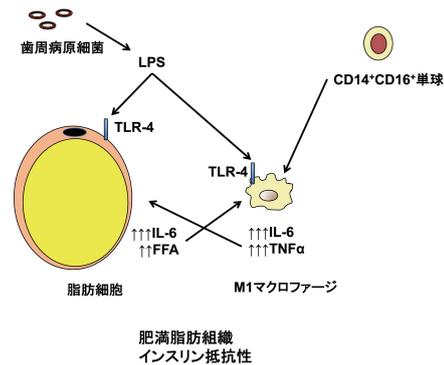


図6 歯周病による脂肪組織からの炎症性サイトカイン産生亢進
 脂肪細胞とマクロファージはいずれもLPSのレセプターであるTLR4を発現している。歯周病原細菌のLPSは脂肪細胞、M1マクロファージを刺激し、炎症性サイトカイン産生を増強する。CD14⁺CD16⁺単球は炎症性サイトカイン産生が高く、M1マクロファージの性質を有している。炎症性サイトカインによってインスリン抵抗性が増悪する。FFA：Free Fatty Acid

(Hotamisligil, Shargill and Spiegelman 1993)、炎症がインスリン抵抗性を引き起こすこと、また肥満そのものも炎症の一つと考えられるようになった。TNFαはinsulin receptor substrate 1 (IRS-1) のセリンをリン酸化することでIRS-1のチロシinkinナーゼの働きを抑制するためにインスリン抵抗性が生じる (図3) (Hotamisligil et al. 1993)。

さらに最近になって脂肪細胞に浸潤したマクロファージによってインスリン抵抗性が悪化することが注目されるようになった。マクロファージは末梢血の単球が分化して組織に浸潤した細胞であり、炎症性サイトカインの産生能が高いM1マクロファージと抗炎症性サイトカインを産生するM2マクロファージに大別される。正常なマウスの脂肪に浸潤しているのはM2マクロファージであるが、肥満状態ではM1マクロファージが浸潤する。軽度肥満の状態ではM2マクロファージが産生するIL-10がM1マクロファージの炎症性サイトカインを抑制するため、インスリン抵抗性はある程度までは抑制されている。重度肥満組織ではM1マクロファージが脂肪細胞を取り囲むように浸潤し、しばしば王冠様の構造 (Crown Like Structure：CLS) を形成する。M1マクロファージはTNFα産生が高く、インスリン抵抗性を高めることが報告されている (図4) (Lumeng CN, Bodzin JL and Saltiel AR 2007)。

健常者においては、ほとんどの単球がCD14⁺CD16⁻単球であり、単球はCD16を発現していない。CD14⁺CD16⁺単球は炎症性サイトカインの産生能が高い特殊なサブセットとして知られており、既にM1マクロファージと同様な性質を有している。歯周炎患者では歯周組織が健康な人と比較してCD14⁺CD16⁺単球が増加している (図5) (Nagasawa et al. 2004)。肥満と歯周炎が合併した

場合にはCD14⁺CD16⁺単球が脂肪組織に浸潤する可能性が高く、歯周炎のない人と比較して脂肪組織における炎症性サイトカインの産生が高い可能性が考えられる(図5)。

マクロファージと脂肪細胞の相互作用についてSuganamiらは脂肪細胞とマクロファージの共培養を行い、炎症性サイトカイン産生を検討した(Suganami, Nishida and Ogawa 2005)。その結果マクロファージとの共培養することで、単独で培養した時と比較してTNF α などの炎症性サイトカイン産生が顕著に増加した。炎症性サイトカイン産生を増加させた因子は、脂肪細胞由来の遊離脂肪酸(Free Fatty Acid: FFA)とマクロファージ由来のTNF α であると考えられた(Suganami et al. 2005)。Yamashitaらは脂肪細胞とマクロファージの共培養系にさらに低濃度(1 ng/ml)のLPSを加えて相互作用に与える影響を検討した(Yamashita et al. 2007)。脂肪細胞、あるいはマクロファージそれぞれ単独でLPS刺激した場合と比較して、共培養系にLPSを加えた場合には約100倍近くIL-6産生の亢進が認められた(Yamashita et al. 2007)。これらのことから、肥満状態ではマクロファージと脂肪細胞の相互作用によって炎症性サイトカイン産生が亢進しており、そこに歯周炎による低レベルの菌血症が合併した場合には、LPSによる炎症反応の増悪がおこることが示唆される(図6)。

日本人の2型糖尿病患者に歯周治療を行って糖尿病の病態に与える影響を調べた多施設研究では、歯周治療によってHbA1cの有意な低下が認められている。興味深いことに歯周治療を行った糖尿病患者の中でも肥満で高感度CRP値が高い患者では改善が有意に大きかったことが観察されている(Katagiri et al. 2009)。このことは実際に肥満と歯周炎が合併による炎症反応の増悪が存在する事を支持していると思われる。

4. 歯周病を発症する遺伝子疾患

歯周炎を発症する単一遺伝子疾患としてカテプシンCの変異によって発症するパピオン・レフェブル症候群が知られている。パピオン・レフェブル症候群患者では乳歯の時期に重篤な歯周炎が発症し、永久歯もほぼ全ての歯が重度歯周炎のために保存することができないと考えられていた。これに対しIshikawaらはパピオン・レフェブル症候群患者がAa菌に感染しており、Aa菌を除菌することで歯周組織破壊を阻止し、歯を保存できる事を報告した(Ishikawa, Umeda and Laosrisin 1994)(Boutsi et al. 1997)。しかし、この時点では特定の遺伝子疾患でなぜAa菌が高頻度で検出され、重度歯周炎を引き起こす

のかということについては依然として不明であった。

LL-37は抗菌ペプチドの一つで、hCAP-18がセリンプロテアーゼによってLL-37となり抗菌作用を発揮する。パピオン・レフェブル症候群患者では、カテプシンCの変異のためにhCAP-18からLL-37を産生する経路が障害される。その結果LL-37が十分にできないためにAa菌を排除することができず、パピオン・レフェブル症候群患者ではAa菌感染による重度の歯周組織破壊が起こることが報告された(de Haar et al. 2006)。この報告は特定の免疫学的な欠陥が特定の細菌の定着を許容し、歯周疾患を引き起こしたというモデルを提唱している点で興味深い。また、乳歯期に重度な歯周炎を引き起こすほどの易感染性が見られているにもかかわらず、Aa菌を排除する事で歯周組織の健康が回復されたという事は、遺伝的に免疫機能の障害があっても、問題となる病原細菌を排除することができれば歯周組織破壊を阻止できる可能性を示唆している。

5. 歯周病の感受性遺伝子の研究

1) 仮説に基づく遺伝子解析

ある生物種集団のゲノム塩基配列の中に1塩基が変異した多様性が存在し、その存在頻度が1%以上あるとき、これをSingle Nucleotide Polymorphism (SNP)と呼ぶ。これまで疾患感受性を決定する遺伝子を特定するためにSNPが解析されてきた。歯周病に関してはKornmanがIL-1遺伝子の遺伝子型と慢性歯周炎の重症度が関係するという報告を行って以来(Kornman et al. 1997)、歯周炎の感受性を決定する遺伝子として様々な分子のSNPと歯周炎との関係について研究が行われてきた。主要な報告としてIL-1をはじめとするサイトカイン遺伝子、Fcレセプター、FMLPレセプター、ビタミンDレセプターなど多くの分子のSNPが侵襲性歯周炎、慢性歯周炎と関連することが報告されている(Yoshie H et al. 2007)。

しかし多くの研究では被験者の数を増加させて追試験を行った場合に必ずしも疾患との関係が確認されていない。Kobayashiらは日本における多施設研究で172人の侵襲性歯周炎患者、147人の慢性歯周炎患者、303人の健常者を対象として、IL-1、IL-6、TNF α 、Fcレセプター、FMLPレセプターなどそれまで報告されている主要な遺伝子を含む35の遺伝子について検討した。その結果、ビタミンDレセプターと慢性歯周炎について関係が認められた他は、それまで有意な相関が報告されていた分子でも有意な相関が認められなかった(Kobayashi et al. 2009)。100人以下の被験者を対象とした研究で検討

した遺伝子が $P < 0.01$ レベルの有意水準で有意差が認められたとしても、対象とする被験者を増やして追試を行った場合に有意差が維持されるか否かは確実ではない。また数種類の遺伝子が歯周病と関連するかを検討するためだけに大規模な被験者を集める事も容易ではない。

また、同一の遺伝子にも複数のSNPが存在するため、ある1箇所のSNPに絞った検索では有意差が認められない場合でも他の部位では結果が異なることも考えられる。GunjiらはFMLPレセプター遺伝子(FPR 1)のSNPを調べ、新規に発見されたSNPを含めFPR 1のSNPと侵襲性歯周炎との関わりを検討した。その結果-12915Tアレルが侵襲性歯周炎に多いこと、さらにルシフェラーゼアッセイによりこのアレルではFPR 1の転写レベルが低いことを報告している(Gunji et al. 2007)。しかし歯周病研究で行われているSNP研究は既知の数カ所のSNPのみを調べている報告が大半であり、上記のKobayashiらが検討しているFPR 1のSNPもGunjiらの報告で有意差が認められたSNPとは別の部位を検討していた(Kobayashi et al. 2009)。

仮説に基づいて候補遺伝子を探す研究では、疾患解明のために協力した被験者の検体からわずかな情報しか活用されておらず、疾患の原因を調べる上では非常に効率が低いと思われる。また候補となった遺伝子に関しても既知の数カ所を調べるだけでは疾患との関係に関して誤った結論を導く可能性も考えられる。

2) ゲノムワイド解析の有用性

国際的なSNPのデータベースが構築され、またSNP解析技術の飛躍的な進歩がみられたことでゲノムワイド解析が可能となってきている(Nakamura 2009)。この方法では疾患と関連するSNPをゲノム全域にわたって網羅的に探すという意味で、被験者の検体から飛躍的に多くの情報を活用することになる。ゲノムワイド解析は2005年に最初の報告がなされてより5年間の間に450以上の報告がなされ、その多くはそれまで疾患との関連が全く顧みられなかった遺伝子であった(Ku C S et al. 2010)。

ゲノムワイド解析で得られた結果を基に、病態解明が進んだ例としてはクローン病が知られている。既述のようにクローン病とNOD遺伝子の関係は知られていたが、ゲノムワイド解析によって初めてIL-23Rとオートファジー経路がクローン病の病態と関わるということが明らかになってきている(Ku C S et al. 2010)。またクローン病と潰瘍性大腸炎に共通するリスク遺伝子も発見されており、特に免疫機構が関与した疾患において複数の疾患に共通するリスク遺伝子を発見するのにゲノムワイド解

析は有効であることが明らかとなっている(Zhernakova A, van Diemen C C and Wijmenga C 2009)。

既に日本人において2型糖尿病に関連する遺伝子が検索されており、ゲノムワイド解析によって同定されたKCNQ1遺伝子はアジアやヨーロッパの別の集団においても2型糖尿病の原因遺伝子であることが確認されている(Yasuda et al. 2008)。歯周病に関するゲノムワイド解析は報告されておらず、今後の進展が期待される。また上述のように歯周病と糖尿病は免疫・炎症反応と密接に結びついており、ゲノムワイド解析の応用は歯周病と糖尿病の双方に関わる原因遺伝子の解明と病態解析に有効であると思われる。

6. オーダーメイド医療

1) 現在の歯周病・糖尿病治療の問題点

現在の歯周病治療の問題点としては、臨床的な診断基準が曖昧であるために重度慢性歯周炎と侵襲性歯周炎の区別が曖昧であることがあげられる。遺伝子多型に基づく診断が可能となれば、遺伝子は生涯変化しないので同じ被験者が異なる診断を下される曖昧さはなくなることが期待される。

これまでの基礎的な報告から、常在細菌は宿主の免疫系とバランスを保っており、宿主の免疫機能の欠損が特定の病原細菌による疾患を引き起こす可能性が示唆される。ヒトの歯周炎においてもパピヨン・レフェブル症候群ではカテプシンcの遺伝的な欠損によってLL-37の異常が生じ、Aa菌の増殖による重度歯周炎が引き起こされる。ヒトの歯周炎において、カテプシンc以外にも何らかの遺伝的な形質が特定の細菌の感染を引き起こす可能性も考えられる。今後は細菌と宿主の遺伝的な形質の関係を同時に調べることで、特定の細菌に感染しやすい遺伝子多型を見いだすことができる可能性があると思われる。

歯周治療によって確実に糖尿病の改善が認められるのであれば、薬物投与による代謝の改善よりも安全であると思われる。しかし歯周病が糖尿病の病態に与える影響は未だ十分に明らかではない。

さらに重要な問題点として、ゲノムワイド解析によってクローン病とオートファジーの異常の関係が初めて明らかになったように、歯周病と糖尿病に関しても未知の病因が関与している可能性があることがあげられる。我々は未知の病因が存在するという可能性を考えて研究を遂行する必要がある。ゲノムワイド解析は未知の病因を見いだす方法として期待される。

2) 歯周病と糖尿病のオーダーメイド医療の可能性

オーダーメイド医療とは個々人にあった最適な医療を行うことである。現在オーダーメイド医療としては、薬剤の感受性に関連するSNPの情報に基づいて薬剤の種類や投与量を決定することや、特定の疾患に対して感受性が高い人をSNPの情報を利用して発症前に同定し、効果的な予防措置を行うことなどが期待されている。歯周病と糖尿病においても、ゲノムワイド解析によって疾患関連遺伝子が明らかとなれば、SNP情報に基づいて感受性が高い人を同定し、予防処置によって発症を未然に防ぐ事が期待される。

疾患関連遺伝子を調べる事で、従来の診断・治療と比較して、どのような治療上のメリットが生じるかは現時点では明らかではない。糖尿病治療と歯周病に関わる疾患関連遺伝子によって原因が明らかとなれば、それに対応した薬物療法などの新規治療が可能となることも考えられる。また糖尿病のコントロールに歯周治療が有効である糖尿病患者と、効果が低い患者とを疾患関連遺伝子で鑑別診断するなど、従来の画一的な治療を変えられる可能性もある。オーダーメイド医療を確立するためには、従来の治療に対する反応や予後が、疾患関連遺伝子の有無によってどのように異なるのか調べる必要もあると思われる。

7. まとめ

歯周病と糖尿病はいずれも免疫応答・炎症反応が疾患の発症と重症化に深くかかわっている。歯周病と糖尿病は共に様々なリスク因子が病態を修飾するために、同じような臨床症状であっても個々人は多様な背景を有する。遺伝子多型に基づく診断は環境因子や病期・病態に影響を受けない点で優れており、今後はゲノムワイド解析による歯周病・糖尿病のリスク遺伝子を検討する事が必要であると思われる。

また得られた結果に基づいてオーダーメイド医療を確立するためには、リスク遺伝子の有無による治療の予後の違いを長期にわたって観察する必要がある。研究結果を少しでも早く患者に還元するという観点に立った場合、横断研究を行ってリスク遺伝子を調査するのと同時に、リスク遺伝子の有無による予後の違いに関する縦断研究も早急に着手する事が望ましいと思われる。

参考文献

Agarwal, S., J. B. Suzuki & A. E. Riccelli Role of cytokines in the modulation of neutrophil chemotaxis in localized juvenile periodontitis. *J Periodontol Res*, 29, 127-37, 1994.

Balfour Sartor, R. Bacteria in Crohn's disease : mechanisms of inflammation and therapeutic implications. *J Clin Gastroenterol*, 41 Suppl 1, S37-43, 2007.

Beck, J. D., S. Offenbacher, R. Williams, P. Gibbs & R. Garcia Periodontitis : a risk factor for coronary heart disease? *Ann Periodontol*, 3, 127-41, 1998.

Becker, T., G. Loch, M. Beyer, I. Zinke, A. C. Aschenbrenner, P. Carrera, T. Inhester, J. L. Schultze & M. Hoch FOXO-dependent regulation of innate immune homeostasis. *Nature*, 463, 369-73, 2010.

Bouskra, D., C. Brezillon, M. Berard, C. Werts, R. Varona, I. G. Boneca & G. Eberl Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. *Nature*, 456, 507-10, 2008.

Boutsi, E. A., M. Umeda, T. Nagasawa, N. Laosrisin & I. Ishikawa Follow-up of two cases of Papillon-Lefevre syndrome and presentation of two new cases. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 17, 334-47, 1997.

Budanov, A. V. & M. Karin p53 target genes sestrin1 and sestrin2 connect genotoxic stress and mTOR signaling. *Cell*, 134, 451-60, 2008.

Budanov, A. V., A. A. Sablina, E. Feinstein, E. V. Koonin & P. M. Chumakov Regeneration of peroxiredoxins by p53-regulated sestrins, homologs of bacterial AhpD. *Science*, 304, 596-600, 2004.

Cianciola, L. J., B. H. Park, E. Bruck, L. Mosovich & R. J. Genco Prevalence of periodontal disease in insulin-dependent diabetes mellitus (juvenile diabetes). *J Am Dent Assoc*, 104, 653-60, 1982.

de Haar, S. F., P. S. Hiemstra, M. T. van Steenberghe, V. Everts & W. Beertsen Role of polymorphonuclear leukocyte-derived serine proteinases in defense against *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun*, 74, 5284-91, 2006.

Gavazzi G & Krause KH Aging and infection. *Lancet Infect Dis*, 2, 659-666, 2002.

Genco, R. J. Current view of risk factors for periodontal diseases. *J Periodontol*, 67, 1041-9, 1996.

Gunji, T., Y. Onouchi, T. Nagasawa, S. Katagiri, H. Watanabe, H. Kobayashi, S. Arakawa, K. Noguchi, A. Hata, Y. Izumi & I. Ishikawa Functional polymorphisms of the FPR1 gene and aggressive periodontitis in Japanese. *Biochem Biophys Res Commun*, 364, 7-13, 2007.

Hansen M A role for autophagy in the extension of lifespan by dietary restriction in *C. elegans*. *PLoS genetics*, 4, e24, 2008.

Haubek, D., O. K. Ennibi, K. Poulsen, M. Vaeth, S. Poulsen & M. Kilian Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* in Morocco : a prospective longitudinal cohort study. *Lancet*, 371, 237-42, 2008.

Hooper, L. V. & J. I. Gordon (2001) Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*, 292, 1115-8.

Hotamisligil, G. S., N. S. Shargill & B. M. Spiegelman Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, 259, 87-91, 1993.

Houstis, N., E. D. Rosen & E. S. Lander Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature*, 440, 944-8, 2006.

Ishikawa, I., M. Umeda & N. Laosrisin Clinical, bacteriological, and immunological examinations and the treatment process of two Pa-

- pillon-Lefevre syndrome patients. *J Periodontol*, 65, 364–71, 1994.
- Ila K, Thomas C, Akbar M, Sun Q, Adams-Huet B, Gilpin C & Levine B Autophagy genes protect against Salmonella typhimurium infection and mediate insulin signaling-regulated pathogen resistance. *PNAS*, 106, 14564–14569, 2009.
- Katagiri, S., H. Nitta, T. Nagasawa, I. Uchimura, H. Izumiyama, K. Inagaki, T. Kikuchi, T. Noguchi, M. Kanazawa, A. Matsuo, H. Chiba, N. Nakamura, N. Kanamura, S. Inoue, I. Ishikawa & Y. Izumi Multi-center intervention study on glycohemoglobin(HbA1c) and serum, high-sensitivity CRP (hs-CRP) after local anti-infectious periodontal treatment in type2 diabetic patients with periodontal disease. *Diabetes Res Clin Pract*, 83, 308–15, 2009.
- Kinane, D. F., C. F. Cullen, F. A. Johnston & C. W. Evans Neutrophil chemotactic behaviour in patients with early-onset forms of periodontitis(II). Assessment using the under agarose technique. *J Clin Periodontol*, 16, 247–51, 1989.
- Kobayashi, T., T. Nagata, S. Murakami, S. Takashiba, H. Kurihara, Y. Izumi, Y. Numabe, H. Watanabe, M. Kataoka, A. Nagai, J. Hayashi, H. Ohyama, Y. Okamoto, Y. Inagaki, H. Tai & H. Yoshie Genetic risk factors for periodontitis in a Japanese population. *J Dent Res*, 88, 1137–41, 2009.
- Kornman, K. S., A. Crane, H. Y. Wang, F. S. di Giovine, M. G. Newman, F. W. Pirk, T. G. Wilson, Jr., F. L. Higginbottom & G. W. Duff The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 24, 72–7, 1997.
- Ku C S, Loy E Y, Pawitan Y & Chia K S The pursuit of genome-wide association studies : where are we now? *J Hum Genet*, 55, 195–206, 2010.
- Lee JH, Budanov AV, Park EJ, Birse R, Kim TE, Perkins GA, Ocorr K, Ellitsman MH, Bodmer R, Bier E & Karin M Sestrin as a feedback inhibitor of TOR that prevents age-related pathologies. *Science*, 327, 1223–1228, 2010.
- Loe, H., E. Theilade & S. B. Jensen Experimental Gingivitis in Man. *J Periodontol*, 36, 177–87, 1965.
- Lumeng CN, Bodzin JL & Saltiel AR Obesity induce phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*, 117, 175–184, 2007.
- Matthews, J. B., H. J. Wright, A. Roberts, N. Ling-Mountford, P. R. Cooper & I. L. Chapple Neutrophil hyper-responsiveness in periodontitis. *J Dent Res*, 86, 718–22, 2007.
- McGovern, D. P., H. Butler, T. Ahmad, M. Paolucci, D. A. van Heel, K. Negoro, P. Hysi, J. Ragoussis, S. P. Travis, L. R. Cardon & D. P. Jewell TUCAN (CARD8) genetic variants and inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 131, 1190–6, 2006.
- Melendez Autophagy genes are essential for dauer development and lifespan extension in C.elegans. *Science*, 301, 1387–1391, 2003.
- Nagasawa T, Noda M, Katagiri S, Takaichi M, Takahashi Y, Wara-Aswapati N, Kobayashi H, Ohara S, Kawaguchi Y, Tagami T, Furuchi Y & Izumi Y Relationship between Periodontitis and Diabetes-Importance of a Clinical Study to Prove the Vicious Cycle. *Internal Medicine*. 49, 881–5, 2010.
- Nagasawa, T., H. Kobayashi, M. Aramaki, M. Kiji, S. Oda & Y. Izumi Expression of CD14, CD16 and CD45RA on monocytes from periodontitis patients. *J Periodontal Res*, 39, 72–8, 2004.
- Nagasawa, T., H. Nitta, H. Watanabe & I. Ishikawa Reduced CD8+ peripheral blood T lymphocytes in rapidly progressive periodontitis. *Arch Oral Biol*, 40, 605–8, 1995.
- Nagasawa, T., K. Sano, F. Ike, H. Kishimoto, T. Nakayama, Y. Asano, I. Ishikawa & T. Tada Negative selection of thymus-dependent CD4+8+ intestinal intraepithelial lymphocytes by internal superantigens. *Cell Immunol*, 147, 158–66, 1993.
- Nakamura, Y. DNA variations in human and medical genetics : 25 years of my experience. *J Hum Genet*, 54, 1–8, 2009.
- Rams, T. E., D. Feik, V. Young, B. F. Hammond & J. Slots Eneerococci in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*, 7, 249–52, 1992.
- Socransky, S. S. & A. D. Haffajee Dental biofilms : difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000*, 28, 12–55, 2002.
- Suganami, T., J. Nishida & Y. Ogawa A paracrine loop between adipocytes and macrophages aggravates inflammatory changes : role of free fatty acids and tumor necrosis factor alpha. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25, 2062–8, 2005.
- Suzuki, J. B., S. K. Park & W. A. Falkler, Jr. Immunologic profile of juvenile periodontitis. I. Lymphocyte blastogenesis and the autologous mixed lymphocyte response. *J Periodontol*, 55, 453–60, 1984.
- Takahashi, K., A. Nagai, N. Satoh, H. Kurihara & Y. Murayama Studies on the phenotypic and functional characterization of peripheral blood lymphocytes from patients with early-onset periodontitis. *J Periodontol*, 66, 391–6, 1995.
- Tothova, Z., R. Kollipara, B. J. Huntly, B. H. Lee, D. H. Castrillon, D. E. Cullen, E. P. McDowell, S. Lazo-Kallanian, I. R. Williams, C. Sears, S. A. Armstrong, E. Passegue, R. A. DePinho & D. G. Gilliland FoxOs are critical mediators of hematopoietic stem cell resistance to physiologic oxidative stress. *Cell*, 128, 325–39, 2007.
- Unoki, H., A. Takahashi, T. Kawaguchi, K. Hara, M. Horikoshi, G. Andersen, D. P. Ng, J. Holmkvist, K. Borch-Johnsen, T. Jorgensen, A. Sandbaek, T. Lauritzen, T. Hansen, S. Nurbaya, T. Tsunoda, M. Kubo, T. Babazono, H. Hirose, M. Hayashi, Y. Iwamoto, A. Kashiwagi, K. Kaku, R. Kawamori, E. S. Tai, O. Pedersen, N. Kamatani, T. Kadowaki, R. Kikkawa, Y. Nakamura & S. Maeda SNPs in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes in East Asian and European populations. *Nat Genet*, 40, 1098–102, 2008.
- Van Dyke, T. E., M. J. Levine & R. J. Genco Neutrophil function and oral disease. *J Oral Pathol*, 14, 95–120, 1985.
- van Winkelhoff, A. J. & E. G. Winkel Microbiological diagnostics in periodontics : biological significance and clinical validity. *Periodontol 2000*, 39, 40–52, 2005.
- Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, Cullender TC, Mwangi S, Srinivasan S, Sitaraman SV, Knight R, Ley RE & Gewirtz AT. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking toll-like receptor 5. *Science* 328, 228–231, 2010.
- Wulleschleger S & Loewith R. TOR signaling in growth and metabolism *Cell* 124, 471–84, 2006.
- Yamashita, A., Y. Soga, Y. Iwamoto, S. Yoshizawa, H. Iwata, S. Kokeguchi, S. Takashiba & F. Nishimura Macrophage-adipocyte interaction : marked interleukin-6 production by lipopolysaccharide. *Obesity (Silver Spring)*, 15, 2549–52, 2007.
- Yasuda, K., K. Miyake, Y. Horikawa, K. Hara, H. Osawa, H. Furuta, Y. Hirota, H. Mori, A. Jonsson, Y. Sato, K. Yamagata, Y. Hinokio, H. Y. Wang, T. Tanahashi, N. Nakamura, Y. Oka, N. Iwasaki, Y. Iwamoto, Y. Yamada, Y. Seino, H. Maegawa, A. Kashiwagi, J. Takeda, E. Maeda, H. D. Shin, Y. M. Cho, K. S. Park, H. K. Lee, M. C. Ng, R. C. Ma, W. Y. So, J. C. Chan, V. Lyssenko, T.

- Tuomi, P. Nilsson, L. Groop, N. Kamatani, A. Sekine, Y. Nakamura, K. Yamamoto, T. Yoshida, K. Tokunaga, M. Itakura, H. Makino, K. Nanjo, T. Kadowaki & M. Kasuga Variants in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet*, 40, 1092–7, 2008.
- Yoshie H, Kobayashi T, Tai T & Galicia JC The role of genetic polymorphisms in periodontitis. *Periodontology 2000*, 43, 102–132, 2007.
- Zaidman–Remy, A., M. Herve, M. Poidevin, S. Pili–Floury, M. S. Kim, D. Blanot, B. H. Oh, R. Ueda, D. Mengin–Lecreux & B. Lemaitre The Drosophila amidase PGRP–LB modulates the immune response to bacterial infection. *Immunity*, 24, 463–73, 2006.
- Zhernakova A, van Diemen C C & Wijmenga C Detecting shared pathogenesis from the shared genetics of immune–related diseases. *Nat Rev Immunol*, 10, 43–55, 2009.
- 長澤敏行 & 多田富雄 免疫細胞分化の場としての消化管. *細胞工学*, 18, 795–801, 1990.