

神奈川歯科大学学会
 第50回総会特別講演

「オーラルヘルスと全身との関係」

— *P.gingivalis* の菌性感染は非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)のリスクファクターである—

高 田 隆

広島大学大学院医歯薬保健学研究院口腔顎顔面病理病態学教授

司会 それでは、特別講演のプログラムを進めさせていただきたいと存じます。

本日、先生をお迎えするに当たりまして、学会のほうでテーマを考えたわけでございますけれども、30周年のときには、高齢者医療、歯科医療についてのシンポジウムが組まれておりました。その時々のおトピックスを選んでいただいていたのではないかと存じますが、今、口腔と全身というのは、非常に重要な課題でありまた研究のテーマとなっているところでございます。そういう中で、今後10年、15年、20年という中で、今後の研究の一つの指標ともなるようなご研究をされて、さらにその成果をはっきりと出されている先生ということで、高田先生にご講演をお願いすることになりました。

高田先生は、1978年、広島大学歯学部を卒業されておられます。1982年、広島大学大学院を修了されて博士号をお取りになられ、直ちに助手として勤務されております。さらに、1993年には助教授、2001年には教授、そして2008年、大変要職でございますが、歯学部長をお務めになっておられます。現在は広島大学の副学長ということで大変要職を務められている中、大変お忙しい中、本日は来ていただきました。

それでは、先生、きょうは大変楽しみにしております。ご講演、どうぞよろしくお願ひ申し上げます。

高田 皆様、こんにちは。ただいまご紹介いただきました広島大学の高田でございます。ご丁寧なご案内をありがとうございます。

神奈川歯科大学学会50周年の記念総会ということで、日頃よりお世話になっております先生方にお声をいただきましたので、ありがたく受けとめさせていただきます。本日はどうぞよろしくお願ひいたします。

私どもの教室は口腔病理学教室で、口の癌や、得意としている菌原性腫瘍や唾液腺腫瘍の研究もしておりますけれども、一方で、歯科の中での病理学の位置づけというところでは、歯科の二大疾患である疾病に対して、歯科疾患に対しての研究もやりたいということ、私自身の学位論文のテーマも、歯周病の再生にかかわる論文でしたので、電子顕微鏡ばかり毎日見ておりましたけれども、再生をやった関係もあって、どうしても歯周病の病理もやりたくて、今日まで至っております。

今の教室員がそれにも賛同してくれて、きょうお話しさせていただく内容は、教室員、とりわけ准教授をしております宮内のグループが上げた成果を私がスポークスマンとしてここで話しさせていただきます。

タイトルは、“Oral-Systemic Disease Connection”ということで、具体的には、代表的な歯周病細菌である *P.gingivalis* を感染させたときに、すごくトピックスになっておりますけれども、非アルコール性脂肪性肝炎、ご存じの方もいらっしゃると思いますが、これについてもお話ししながら、進めてまいりたいと思います。

歯周病は、先生方よくご存じのように、歯周ポケット内に細菌性のプラークが付着するというので、その対面には歯周組織、とりわけ歯肉の内縁が面しているところでございます。

必ずといっていいほど、内面の上皮、ポケットが形成されていますと「ポケット上皮」と呼ぶようにしてございますけれども、びらんや潰瘍が、一番炎症の原因に近いところですので、破壊をされて穴があくということでございます。それと同時に、こうして炎症が起こりますので、ここに走っている血管が拡張しますので、透過性が非常に亢進している。そして、そうい

う穴から出てきたものが、この局所でももちろん悪さをするわけでございますけれども、その部分が血流に乗って全身へ影響を及ぼすというのは想像にかたくないところかと思えます。

その結果として、歯性感染、とりわけ歯周疾患、歯周病から全身に、そこでつくられたもの、あるいは細菌そのもの等が入って行って影響を及ぼすということで、既に幾つもの疾患との関係がわかってございます。

とりわけ、歯周病とメタボリックシンドローム、その中でも特に糖尿病とは相互関係があるということで、こちらでも研究されている方はたくさんいらっしゃると思えます。

私たち、学生のときに教授の先生から病理学等で習ったそのもので、歯性病巣感染という概念から外れることはないと思えます。原病変があって、二次的な疾患が他部位にできる、あるいは病態を変えるということですから、きょうの話のテーマの中のその延長線上ということになります。

近年少し歯性病巣感染の考え方が変わってきていますので、少し触れておきたいと思うのですが、まず初めは 1900 年ぐらい、前世紀のときから、もう既に全身疾患と歯性感染との関係というのは言われていて、そのころはむしろもっと重篤で、一義的原因があったということが記録として残っております。

全部お話しする時間はないのですが、例えば、Poor dental health は systemic disease と関係あると、1911 年にそういう論文が出ていますし、“DENTAL INFECTIONS” という本を Price さんというドクターが出しておられるのですが、この中に 1 巻と 2 巻とあって、1 巻目には、“Dental focal infection” のことが出てきていますし、2 巻目には、何と何と Carbohydrate Metabolism と関係があるというようなこともここで言われていて、最近やっと歯周病と糖尿病の関係が明らかになってきたと言っているわけですが、もう既に 1923 年ぐらいからこういうことが言われている、ということが改めてわかります。

それから、Mayo さんたちは“DEATH & DENTISTRY”ということで、歯を残しておくに死に至る病気であるということで、“Orgy of Extractions” という“Orgy”は狂気の時代という意味らしいですが、歯をすぐ抜くという時代があったそうです。

ちなみに、この Price さんの息子さんというのも、歯科疾患、虫歯が原因で、その後の継発症が原因で命をおとした、というような記録が残ってございます。

その後、ものすごく重要な疾患として捉えられていったわけですが、その意義が、歯科治療も発展してまいりましたし、それから抗生剤等も出てきた

時代ですので、大体戦後ということになりますでしょうか、歯性病巣感染がすっかり忘れられていました。私たちが学生のときも、一応習ったけれども、サーッと流れたように、自分自身も記憶しています。

しかし、最近、これが重要な意味を持つのではないかと思いますけれども、歯周病巣感染復活の時代で、非常に軽微で、慢性の感染の意義というものが、各臓器で捉えられるようになって、その中で歯科疾患についてもとりわけ歯性の感染症、歯周病とか根尖病変とか、もしかしたら歯周炎も入ると思えますけれども、そういうものに意義が出てきたということです。

“Dental infection is not the primary cause of systemic disease” ですが、”plays significant roles on progression of systemic disease as a source of bacteria, their products and inflammatory cytokines.” ということで、こういう時代が今来ている中で、歯科と全身との関係が今トピックスとして挙げられているということだと理解しております。

そして、これも釈迦に説法ですが、では、慢性感染症が口腔内で起こると何が全身に影響を与えるかということですが、直接的にインプレッションとして思っているのは、口腔内細菌が、例えば管内性に移行して、誤嚥性肺炎を起こすとかいうようなこと。

それから、先ほど申しましたけれども、細菌が侵入して遠隔臓器へ移行するということ。

それから、細菌性有害物質、LPS とか酵素とかございますけれども、そういうものが移行して行って、遠隔地で障害を起こすこと。

それから、Ⅲ型アレルギーですが、抗原抗体反応が末梢で起こりますので、それが血流に乗っていくというようなこと。

それから、歯性感染病巣部で産生されたサイトカインやケミカルメディエーターが血中移行されていく。

この 5 つぐらいのことが機序として挙げられるということです。

それで、メタボリックシンドローム、とりわけ糖尿病と癌も最近増えてきていて、それとの歯科疾患との関係というものが注目されているところがございます。

これもご存じのように、メタボリックシンドローム、肥満はぐっと増えてきておりますし、高血圧もぐっと増えてきておりますし、耐糖能の異常というのも増加傾向にありますし、高コレステロール血症も増えているということで、これがメタボリックシンドロームが最近問題になっている背景です。そして肝機能異常もすごく上がってきている。これはいわずもがな、脂肪

肝のことをございます。

脂肪肝をベースとして、我が国でもかなり問題になっておりますけれども、欧米が特に肝機能異常、とりわけ非アルコール性脂肪性肝炎と申しますけれども、NASHと呼ばれている疾患が、メタボリック症候群の肝臓における、それも脂肪肝をベースとしたphenotypeとして大変重要になってきております。

ここで、非アルコール性脂肪性肝炎について申しますと、“Non-alcoholic steatohepatitis”なんですけれども、脂肪がたまる肝臓の炎症ということで、その頭をとって“NASH”と呼んでおります。これは比較的新しい概念で、もちろん昔からあったんでしょうけれども、1980年ぐらいに、ある研究者たちが肥満者の肝臓の生検を、針をついて見てみると、アルコール性肝炎によく似ている疾患があって、しかし、この人はアルコールを飲んでいないということなのです。

問題点はここであって、非アルコール性の肝障害は、アルコール性の肝障害と非常に似ているけれども、それが違っていて、しかし、それがアルコール性肝障害と同じように、肝硬変にも進展する症例があるということです。

1980年には、また別の人が、飲酒歴がないにもかかわらず、肝組織所見がアルコール性肝障害によく似ていて、それがまた同じようにより重篤な疾患だということを示した20症例をまとめて、この概念を提唱してございます。

現在では、もう少し厳格に定義されていまして、アルコール性の肝障害に類似した進展を示す病変ですけれども、アルコールだけではなくて、ウイルスとか自己免疫などほかの要因が関わらないもので、メタボリック症候群がベースにあるものというふうに規定されています。

メタボリック症候群では、肝臓に脂肪がたまって、先ほど申しましたように、脂肪肝になりますけれども、脂肪肝になった後、肝臓には炎症が起こりまして、これをベースとして炎症が起こります。その後、炎症が起こると、慢性期になってくると線維化が起こって、脂肪性の肝線維症になります。ここまでは、大体20%弱が肝硬変に進みまして、またその先、大体年率7%ぐらいが肝臓になると言われています。

我が国には、大体1,000万人ほどの脂肪肝の患者さんがいらっしゃいまして、そのうちの大体10~20%ですから、100万人から200万人がこの病態になっていまして、そのうちの10%前後ですから、10万か20万ぐらい、そしてそこからは年率で7%ずつ肝臓ができていくということで、こうやって考えてみると、きょうはちょっと食べ過ぎて、脂肪肝、フォアグラになっ

ちゃったよ、という方がたくさんいらっしゃると思うんですけども、笑い事ではないような状況になっているということをございます。

アメリカではもっと重篤で、人口も多いですが、7,000万ぐらいが脂肪肝で、NASHが700~800万人いて、肝硬変が200万人というオーダーがあるということをございます。

実際、肝臓は、我が国では、もちろんウイルス性肝炎をベースにした肝臓が多いわけですけれども、最近の動向はどうか調べようということで、これは内科のチームと一緒にやった仕事なんですけれども、HCV-HCCと、HBV-HCC、これはウイルス性肝炎のB型、C型についてですが、確かに95~99年と2005~2009年ですけれども、これをベースにした肝細胞癌の患者数は増えています。それから、既に感染しても最近ではウイルス性肝炎についてはコントロールができるようになりました。それはご存じのとおりだと思います。

注目すべきはここで、Non-B、Non-Cの肝臓は、数はウイルス性に比べると少ないんですけども、比率を見ていただくと、倍になっているということをございます。これが全部NASHによるものではないでしょうけれども、かなりの部分がNASHを背景としているメタボリック症候群を背景としているということで、非常に今、注目されているところをございます。

星細胞というのが出てきていましたけれども、虫のような細胞、あれが普通のところと言うと線維芽細胞なわけですけれども、肝臓では星細胞と呼んでいまして、それは筋線維芽細胞、myofibroblastで、それがコラーゲンをつくっているという仕組みになってございます。

それで、NASHの発生メカニズムは、2ヒットセオリーと、それからマルチヒットセオリーがあって、どちらかという最近では後者なんですけれども、きょうのお話を進める上で、2ヒットセオリーのほうが都合がいいので、これの説明をさせていただきたいと思えます。

正常な肝臓があって、第一のヒットとして肥満等があって、脂肪肝になります。脂肪肝からNASHになっていく例というのは知られているわけですけれども、10%~20%。そこにも幾つかのヒットが第二段階として起こる。そのときに、ここで酸化ストレスの一つとして炎症がありますので、感染による炎症があるのではないかと考えられています。

もう10年ぐらいになりますけれども、腸内細菌がストレスを与えているので、第二のヒットになるのではないかと論文が出ましたので、それならば、前

半で申しましたように、歯周病はもっともっと多くの患者さんが罹患していて、そして細菌の産物が血流に乗って肝臓も含めて全身に行くのであれば、歯周病原細菌の持続感染が NASH の形成や進行に影響を及ぼすのではないかとということで、数年前より仮説を立てて、私どもの研究室でやっておるところでございます。

まず、動物実験ですけれども、ラットに *P.gingivalis* を感染させます。そのときのバックグラウンドとして、ND は通常食ですけれども、食べさせていて、感染させていない群、感染させた群ということです。これは全くノーマルで感染だけ。この HF というのは高脂肪食ですから、脂肪肝を起こしておいて、そこに感染のない群、感染させた群。ここで一番ひどい状況が出ていて、歯周病細菌の感染が NASH の病態進行に関係するんだということの仮説を持って、検討を始めました。

当初、歯周病をつくろうと思ったんですけれども、なかなか齧歯類に慢性の歯周病をつくるのは難しいので、最終的には根尖性の歯周炎をつくるということにしました。根尖性の歯周炎を調べてみると、*P.gingivalis* がおり、人間でもありますので仮封して、ここで感染が成立するようにしました。

4 週間目で、*P.g.* 感染させると、歯髄が壊死になっていまして、それに対して反応があるので、ここに好中球を主体とした炎症細胞浸潤が出てまいります。歯根膜のほうは、まだそんなに正常と変わってございませぬけれども、6 週ぐらいになると、歯髄は完全に necrosis になりまして、肉芽組織の増生があって、根尖性の肉芽腫というのが形成されてございました。ほぼ頻発で形成されます。

このところに *P.gingivalis* がいるかどうかということですが、マクロファージを中心に取り込まれています。この中に取り込まれているということは、この周りにフリーなやつがたくさんいて、肉芽組織は、ご存じのように、毛細血管とか線維芽細胞から成りますので、毛細血管にすぐ入っていつているんじゃないかなという想像ができます。

ちなみに、ここにいる細菌を培養してみますと、W83 株を使っているんですけれども、それと全く同じ colony のところに、メチルメルカプタンをコードする遺伝子が同定できますので、ほかのものには出ませんので、この植えた菌が増殖しているというふうに考えています。

この *P.g.* 群と、*P.g.* (-) 群の血清中の内毒素レベルで見ますと、通常食でも脂肪食でも上がっていますので、これとこれの間には有意差がないんですけれども、あるいは局所でできた LPS が入ったのか、

入っていつているということがわかります。

ただ、血中の炎症性のサイトカインレベルではかってみますと、TNF α 、IL-17、IL-6、IL-1 β を調べてみると、6 週目、病態が大体できるころになりますと、*P.g.* 菌を感染させているほうが、いずれの炎症性のサイトカインも上がっているということで、血中にそういうものが入っているということがわかります。

いよいよ肝臓における変化なんですけれども、肝臓は、ご存じのように、肝臓があって、その中は、肝小葉から成っています。これを拡大しますと、グリソン鞘側、中心静脈側、中心静脈側に放射状に肝細胞が並んでいるということでございます。

正常では通常食で、細菌感染させていませんので、正常ではそういう並びがきれいに、中心静脈中心に周囲に見られます。

P.g. を感染させますと、そういうものが散見されるようになりますので、菌が行っているのではないかなと考えることができます。

これが脂肪食を食べさせただけで、菌は行ってないんですけれども、中心静脈の周囲に巣状の構造ができているのがわかります。そして、紫のところどころどこにあるんですけれども、そういうところには炎症細胞浸潤があります。これはここに出ている細胞が何かということで、先ほどマクロファージといたしたけれども、マクロファージを染色しますと染まっていますので、マクロファージの集簇巣が、こういう中心静脈に近いところも、グリソン鞘のところにも出てまいります。全体に出てくるということです。これはどういう状況かということ、脂肪性の肝炎ということになります。

ラットに食べさせただけでこれになったんです。見るからに肝臓の色が白っぽいというか、黄色っぽいです。そこに *P.g.* を感染させるといかがでしょうか。脂肪だらけという形です。

炎症細胞浸潤巣も、さっきのように染めてみますと、たくさん出てまいりますし、特筆すべきことは、病理の組織で、ここは肝臓組織、肝細胞で、脂肪が多くて泡のようになっていますけれども、ゾーンが見えてまいります。これは一応、細胞が増生しているんですけれども、こういうところが線維化しているなというふうに、一次染色でわかりますが、 α -smooth muscle actin、Myofibroblast、さっきの星細胞、虫のような細胞が増えているところになります。

そして、そこにはコラーゲンを青に染める染色をしてみますと、線維化が起こっていて、脂肪性の肝線維症という状況になっているということでございます。

P.g. 菌を、ハイファットダイエット群にかけたと

きには、脂肪化も促進しているんですけども、こんな線維化も促進していて、次のステップへ病態が進行しているということがわかりました。

炎症細胞の浸潤巢も、数が、*P.g.*とハイファットダイエットを合わせたものは、総花的に増えているということも確認しました。

線維化というのも非常に重要なわけです。次が肝硬変になって、肝癌へ行くときのベース、入り口ですので、そこはどのような状況かということで、線維化の程度の分け方を、ステージ0から4までで、一部線維化しているところもありますけれども、正常では何もありません。0ではないんですけども、初めに中心静脈周囲にちょっと出てきまして、それプラスグリソン鞘周囲に出てきまして、それがつながるようになって、そして全体になるというのをステージングしております。

ノーマルダイエットに*P.g.*を感染させても、さほど正常と変わりありませんが、ハイファットダイエットは、それだけで線維化が進んでおまして、さらにそれがもっと進んでいるということが、*P.g.*菌を感染させることでわかりました。

では、実際に肝臓に*P.g.*菌がいるのかどうかということですけども、炎症はありましたから、いるんだろうと想像しておりましたけれども、クッパーセルにも入っていますし、肝細胞のところにも、実は中に入っていたんですけども、*P.gingivalis*が確認できています。

今度、肝臓自体における炎症性のサイトカインレベルを見てみますと、先ほど挙げたようなものですけども、いずれも脂肪化だけでもすごく上がりまして、それに菌を感染させてやると、菌だけを感染させたときよりも、どれも一番高くなっているということで、両方相まって悪さをしているということがわかります。

今のは動物実験だったんですけども、今度は内科のほうにこういうデータがあるんですけども、ヒトの肝臓で調べることになりました。

これはヒトの肝臓のNASHと診断されたものですけども、これは肝細胞なんですけども、そこに脂肪がたまっていて、少したまつたやつはネズミ色、ものすごくたまつたものは脂肪が白い泡のようになっているわけですけども、脂肪肝があります。それに炎症が出ていますので、NASHという診断になるわけですが、その一部、青い線維が出ていて、線維化がわかります。全く動物と同じ状況が起こっています。

そこで、ヒトですけども、弱拮、強拮なんですけども、弱拮でも茶色いものがあります。強拮にするともっと

よくわかりますけれども、*P.gingivalis*の感染症例がかなりありました。

これは40例のデータで、今、300例まで見てみますけれども、300例にすると、ちょっと陽性率が減ったんですが、40例のときは、大体半分ぐらいは*P.gingivalis*陰性、*P.gingivalis*陽性でした。もうびっくりしました。患者さんの肝組織でNASHと診断された人の、針をついて抜いてきた組織の中の半分に*P.gingivalis*がいたのです。

*P.gingivalis*がいる症例ほど、これは線維化の程度が横にありますけれども、トータルのところが一番わかりやすいかと思いますが、トータルで見ると、5以上というのは非常に線維化が進んでいるものなのですが、陽性例のもので多いということがわかります。1人でも病態の進行と、*P.gingivalis*の肝臓への感染というのが、有意な差をもって見られるということが確認できました。

それから、あと血清マーカーを調べてみたんですけども、血清の*P.gingivalis*抗体との関係を見てみました。残念ながら、通常のものであまり関係なかったんですけども、ここで関係するものが2つ見つかりまして、Type IV collagenとHyaluronic acid（ヒアルロン酸）なんですけれども、2つとも肝臓の線維化に関係するマーカーとして、内科のほうでは認知されていますが、それと*P.gingivalis*に対する血清内の抗体価が有意差を持って関係していたということでございました。

では、脂肪肝に*P.g.*が感染すると、どうして炎症を増強して線維化が進行するのか、メカニズムが重要になってまいります。

そこで、*in vitro*で、正常の肝細胞、星化した細胞、私が知っている研究室の人が持っていたので、それを借りてやりました。それに、*in vitro*でのモデルには、通常パルミチン酸という脂肪を培養器の中に入れます。そうすると、細胞を取り込んで、赤に染まっているのが、オイルレッドO染色といって、脂肪をためているということになります。これを脂肪化したモデルとして、とにかくいろいろやってみました。

おもしろいことに、toll-like receptor 4は両方発現しているんですけども、toll-like receptor 2を見てください。こちらはあまり発現していないんですけども、脂肪化がずうっと出てまいります。アンテナが2本立ち始めます。

これは肝臓の組織で見てみたところなんですけれども、通常食を食べさせると、toll-like receptorの発現というのはぼつぼつ見られるだけですけども、ハイファットダイエットを食べさせて脂肪化が進

むと、こんなに染まってまいります。

これをすり潰して、mRNA の差を見てみましても、やはり *P.g.* を感染させてハイファットダイエットを上げたものに対しては、この差がこれですけれども、それよりもっと大きな差になってくるということも確認できております。

それで、脂肪化したヒト肝細胞に *P.gingivalis* 由来の LPS をかけてやると、どうなるかと見てみました。脂肪化させてあげるだけでも炎症性のサイトカインは出てまいりますけれども、脂肪化させて、そこに *P.g.* 由来の LPS をかけると、すごく出てくるということです。ということで、今までのデータと非常に合っていると思います。

それから、今度、肝臓内に、もう一つのプレーヤーとしてマクロファージが重要なんですけども、脂肪細胞を取り囲むように、リング状になってきます。そういうものをカウントしていきますと、toll-like receptor 2 ノックアウトマウスにやってみますと、toll-like receptor 2 は発現していないので、こういうマクロファージの発現が有意に抑えられます。これは細胞の *in vitro* なんですけれども、マクロファージをかっておいて、TNF α の産生を見てみるんですけれども、toll-like receptor 2 inhibitor を使うと、それがパタッと落ちてまいります。Toll-like receptor 2 は非常に重要な役割をしているということがここでわかると思います。

ご存じのように、*P.gingivalis* の LPS は、非常に unusual な LPS で、通常の LPS toll-like receptor 4 にバインドするんですけれども、こちらの *P.gingivalis* の LPS というのは、toll-like receptor 4 にもつくんですけれども、toll-like receptor 2 への affinity が非常に高いというふうに言われています。

最近の研究では、LPS そのものではなくて、LPS にまざっている何かじゃないかという論文がつい最近出ましたけれども、いずれにしましても、*P.gingivalis* を成す何かは、toll-like receptor 2 に非常に affinity が高いということでございます。

通常の細胞では、そういう刺激が入って、多少変化が起こって、炎症性のサイトカインが出てくるわけですけれども、脂肪化させていると、今まで出ていなかった toll-like receptor 2 が急に発現されてきますので、これで受け口が急に増えますから、脂肪化の影響を受けて、この経路はもっともっと進みまして、たくさんの炎症性のサイトカインができるというふうに考えています。

脂肪化させると、あるいは脂肪が来ると、どうしてこれが上がるかというのは、今、まだ検討中なんです

けれども、ここには toll-like receptor 4 とのクロストークがあるということも一部、明らかにしてございます。

次に、では、肝細胞を脂肪化させてやると、*P.gingivalis* を余計に取り込むかということも検討してみようということで、ここで palmitate で処理してみますと、これに比べて、多少濃くなっていて、たくさんの菌が入っているのではないかと。これは先ほどの *P.gingivalis* に特異的なマーカーを染めているんですけども、入っているのではないかとというふうにも思いました。

そこで、この処理をしたものから細菌を培養しましたところ、有意な差をもって、palmitate で処理した肝細胞をすり潰して培養したほうに colony がたくさんできたので、たくさんの菌が入っているということがわかりました。菌が細胞の中に入っていくときにはインテグリンを使いますので、その発現を見てみると、palmitate で処理すると、特にインテグリン $\alpha 5$ が上がっているということで、まとめて言いますと、正常細胞では *P.g.* 菌の入っていく入り口がこれぐらいしかないんですけども、脂肪化すると、それがたくさん出てきて、そして、そこについたものが入っていくというシステムがあるのではないかと、というふうに考えています。

一方で、*P.gingivalis* に感染しますと、肝臓の細胞の脂肪化がどのように影響されるかというのを調べてみました。これは LRP1 と、LDLR という脂肪を取り込むときのレセプターなんですけれども、ここにも見てとれます。*P.g.* をインフェクトすると、その発現が上がってきますので、絵で描くと、正常では、こういう脂肪の取り込みに関するレセプターは少しだけあるんですけども、菌を感染させると、脂肪に関係するものが出てきて、たくさんの脂肪が逆に入っていくということがわかりました。

次に、これは線維化に関係しているもので、どうして線維化に関係するのかというのを少し *in vitro* で検討しました。このときには、先ほどの星細胞という肝筋線維芽細胞 (myofibroblast) を使いました。これも、たまたま星細胞が手元にあったので、しました。脂肪化の影響を見ますと、この細胞も肝細胞 (hepatocyte) ではない細胞ですけれども、これもやはり toll-like receptor 2 を palmitate で処理すると出てまいります。

それで、palmitate で処理しますと、炎症性サイトカインがだんだん出てくるということが、この筋線維芽細胞でもあるようです。そして、そういう処理をすると、線維化に関係するようなマーカーが上がってくるんじゃないかと思って、これを見たところ、炎症性のサイトカインは上がるんですけれども、TN-C が若

干上がります。これも線維化には関係してまいります。ただし、TGF- β はもっと上がってくるんじゃないかなと思って想像していたんですけども、上がってきませんでした。何回やっても、ウンともスンとも言わなかったです。何かほかにこれをコントロールするものがあるんじゃないかということでやってみたのが、*P.g.* LPSを加えて培養した肝細胞 (hepatocyte) のほうにまずかけておいて、その培養上清をこの細胞にかけてやると、TGF- β が発現し、TN-Cも上がってまいります。

ということで、肝細胞のほうへ一旦かかって、肝細胞のほうから成り立っているんじゃないかということで、肝細胞のほうを調べてみると、TGF- β のほうも上がってまいりまして、自分の中でオートインライン的にレセプターまで出るということで、TGF- β がどんどん出せるような状況でした。

絵で描くと、筋線維芽細胞を脂肪化するんですけども、一部線維化にかかわるようなものとか炎症にかかわるものを出してまいります。これだけで完結しているのではなくて、肝細胞がそこにかんでいて、肝細胞を脂肪化すると、*P.g.* LPSが来たときには、TGF- β をつくって、この細胞からのコラーゲン産生を促進しているというふうに考えました。

それで、ここに描きましたように、脂肪があるとインテグリンが上がって、インテグリンが上がると感染が上がって、感染が上がると脂肪が上がって、また脂肪がたまってきて、というようにぐるぐると悪循環が増していったら、その悪循環は途中で炎症性のサイトカインをつくっていくということになる、というふうに今考えています。

では、最後ですけれども、歯科的な介入はNASHの病態を改善するかどうかということが非常に重要になってくるかと思えます。

これは、我々がやろう、やろうと思っていたうちに、やはり世界には同じことを考えている人がいるので、それも日本にいらっちゃって、それも横浜にいらっちゃったんですね。残念ながら、先を越されました。でも、今、とっても関係をさせていただいているんですけども、横浜市立大の米田先生の研究データですが、歯周病を持つNASHの患者さんに、歯周病の治療をすると肝臓の状況がよくなるということです。これはAST、ALTになりますけれども、0のときにはこれくらいのデータだったのが、高いでしょうか、それが1カ月、2カ月、3カ月と歯周病治療を継続すると、こういうふうに落ちてくるというデータです。

だから、歯科治療でNASHそのものを治すことはできないですし、糖尿病を歯科治療で治すことはでき

ませんけれども、糖尿病の病態を改善することはできるのと同じように、NASHのほうもできるということになろうかと思えます。

我々もやっていたわけですが、これは一部のデータですが、肝臓の動物実験で肝臓に、先ほどのように、ハイファットダイエットを食べさせて*P.g.* 菌を感染させると、リング状のもの、マクロファージがたくさん出てくるというお話をしました。

「RT」と記載されている箇所、これは歯科的介入で、例の冒頭に見ていただいたネズミのモデルに穴をあけて細菌を感染させてふたをしましたけれども、一回あけて根管治療をしたのです。根管治療している間に根っこが折れてしまうので、やったことは、抗生剤をそこに置いて、またかぶせただけなんですけど、そうすると、マクロファージがだいぶ減りました。

それから、線維化も抑えられましたし、マクロファージからたくさんのサイトカインが出て、線維化を促進するわけですが、それも抑えられているということで、歯科治療、それから歯周治療も米田先生たちがされたんですけども、こういうエンドの治療というのも非常に重要であるということがわかりますし、歯科治療全体に、介入が肝臓に影響を与えるということが言えると思えます。

肝臓には既に菌が行っているんで、本当は除菌する意味では、全身的な抗生剤投与というのが重要になってくるかと思えますけれども、この歯周治療だけをやっても、あまり変わらないぐらいのデータで、いかに歯科治療、もとを絶つのが重要かということがわかりました。

きょうのお話はそういうことで、たくさんの歯性感染症と全身疾患との関係が言われているわけですが、私たちは、ぜひここにNASHという部分を加えたいなと思っています。

今のモデルを使って、実はそれをメイティングさせてやると、妊娠トラブルのモデルにもなります。これは非常に明らかなデータが出ています。私どもの産婦人科の先生方とコミットしてやっていますが、大体早産の人に歯周病が多いという今までのデータなんですけれども、その間のメカニズム解析を今、すごく精力的にやっています。

そういうことで、きょうはNASHとの関係を話させていただきましたけれども、oral system disease connectionは完璧にあると思えますので、ぜひ研究が進めばいいなと思えます。

この発表をすると、「やあ、最近やはり腸内細菌ですよ」と言われるんです。これは新潟の山崎先生たちの論文で、2014年に出たものなんですけど、

“Oral pathobiont induces systemic inflammation and metabolic changes associated with alteration of gut microbiota”ということで、山崎先生たちは、通常考えられていない、口の中の細菌が胃の強酸で殺されて腸には行かないと思われていたんですけども、一部、食物に紛れて腸のほうに行くと、腸内細菌叢を変えるんだというお話です。

だから、先生のところのものは、血中、血中といっているけれども、胃を介して腸に行くと影響があるんじゃないかと言われるんですけども、ここで一つ反論は、僕たちはちゃんと仮封とか、本当に封鎖してい

たので、外へ漏れないようにしていました。それはたまたま根尖病変のほうからアプローチしたのでよかったのかなと思っているんですけども、だから、血中も介しますし、こういう可能性ももちろんあるということで、両方で、歯科疾患と全身との関係は関係してくるのではないかと考えています。

冒頭で申しましたけれども、私の研究室メンバーの宮内准教授のグループがきょうの仕事をしてくれました。私は単なるスポークスマンでございます。

本日は、大変ご清聴ありがとうございました。