

論文名 : Changes in gut microbiota induced by ingested oral pathobiont deteriorate the pathology of non-alcoholic fatty liver disease in mice.

口腔由来の病原細菌による腸内細菌叢の変化はマウスにおいて非アルコール性脂肪性肝疾患の病態を悪化させる (要約)

新潟大学大学院医歯学総合研究科

氏名 山崎 恭子

【背景および目的】

メタボリックシンドロームや肥満の肝病変とされる非アルコール性脂肪性肝疾患 (Non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) は単純性脂肪肝から肝臓がんまでを含む幅広い病態を示し、患者数は年々増加傾向にある。その原因は高脂肪食の過剰摂取や腸管透過性の亢進、小胞体 (Endoplasmic reticulum; ER) ストレス、腸内細菌叢の変化など多岐にわたり、多因子性疾患とされている。一方、歯周炎は以前から NAFLD を含む全身疾患との関連が報告されており、その原因は局所からの炎症性メディエーターの遊走や細菌等の組織への浸潤によるとされてきたが、明確なエビデンスは得られていない。我々は腸内細菌叢の変化と歯周炎の両者がメタボリックシンドロームに関連することから、腸内細菌叢の変化を介した歯周炎と全身疾患との関係に着目し検証を行った。その結果、代表的な歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* 経口投与による歯周炎モデルマウスにおいて腸内細菌叢が変動し内毒素血症が誘導され、全身性の炎症とインスリン抵抗性が誘導されることが明らかとなった。この新規メカニズムの病態への影響を明かにするため、NAFLD 病態モデルを用いて腸内細菌叢の変化を介した歯周炎と NAFLD 病態形成との関連メカニズムを解明することとした。

【材料および方法】

6 週齢オス C57BL/6 マウスを普通餌 (Regular chow) 給餌の RC 群と高脂肪食 (High-fat diet) 給餌の HFD 群に分けた。HFD 群をさらに *P. gingivalis* W83 株を経口投与した *P. gingivalis* 群、コントロールとして他の歯周病原細菌である *Prevotella intermedia* ATCC25611 株を基材 (CM-セルロース) と共に投与した *P. intermedia* 群、基剤のみ投与した Sham 群に分け計 4 群とした。HFD 群の餌を高脂肪食に変更し、細菌感染と共に 2 週間継続した後にサンプリングを行った。肝臓・腸管の形態学的解析、血清エンドトキシンレベル解析、血清メタボローム解析、糞便中の細菌叢の解析、肝臓・腸管における各種遺伝子発現解析を行った。

【結果】

定量的解析により HFD 群における肝脂肪変性の指標であるトリグリセリド量、および肝傷害の指標である AST、ALT 量が増大し、感染群において肝線維化の指標であるヒドロキシプロリン量が増大した。また、肝臓における H-E 染色、マッソントリクローム染色においても同様の組織像が確認された。肝臓における遺伝子発現解析の結果、抗炎症関連遺伝子

【別紙 2】

Tsc22d3, ER ストレス関連遺伝子 *Ddit4* の *P. gingivalis* 群における有意な上昇が認められ、その他サーカディアンリズム関連遺伝子、線維化関連遺伝子の変動が認められた。糞便の菌叢解析の結果、細菌感染により腸内細菌叢の変動が誘導され、それは HFD 給餌後に食事の影響を大きく受けながらも維持されることが明らかとなった。小腸における遺伝子発現の解析により *Tjp1* (Tight junction protein 1) の発現が *P. gingivalis* 群で減少する傾向が認められ、大腸における蛍光免疫染色により E-cadherin の発現が感染群、特に *P. gingivalis* 群で低下した。また血清中エンドトキシンレベルが RC 群、Sham 群と比較し感染群で有意に増加したこと、*P. intermedia* 群と比較して *P. gingivalis* 群で大きいことが確認された。さらに血清メタボローム解析においても PCA 解析の結果 RC 群と HFD 群で違いが認められ、さらに Sham 群、*P. intermedia* 群と比較して *P. gingivalis* 群で有意な違いが認められた。

【考察】

HFD 給餌に加え、細菌感染に伴う種々の遺伝子・タンパクレベルでの変動が肝・腸両組織において認められた。これらの変化は、歯周病原細菌嚥下に伴い腸内細菌叢が変化し腸管バリア機能の低下やそれに伴う血清メタボロームの変動が誘導され生じたものと考えられる。*P. intermedia* 群と *P. gingivalis* 群での菌種による病態の違いは腸管バリア機能低下に伴い流入する細菌の量的・質的違いや、血清メタボロームの変動によるものと考えられるが、今後さらなる解析が求められる。