

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏 名 星野 剛志
 学 位 博士（歯学）
 学 位 記 番 号 新大院博(歯)第 500 号
 学位授与の日付 令和 4 年 3 月 23 日
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
 博 士 論 文 名 Associations between plasma antibody levels against *Porphyromonas gingivalis* and atrial fibrillation among community-dwelling older individuals in Japan: cross-sectional study
 (日本の地域在住高齢者における血漿中抗 *Porphyromonas gingivalis* 抗体価と心房細動との関連：横断研究)

論文審査委員 主査 教授 多部田 康一
 副査 教授 小川 祐司
 副査 教授 葭原 明弘

博士論文の要旨

学位申請者 星野 剛志 氏より提出のあった主論文の要旨は以下の通りである。

【背景および目的】心房細動は臨床でよく見られる不整脈の一つであり、脳梗塞や心筋梗塞、心不全などの心血管疾患（Cardiovascular disease: CVD）のリスクを増加させることが報告されている。また、加齢に伴い有病率が増加する疾患であることから、急速な高齢化が進行している現代において今後さらなる罹患者数の増加が予想される。これまでに CVD と全身性炎症との関連が報告されているが、心房細動についても全身性炎症が主要な原因の一つであることが示唆されている。歯周病は歯周病原性細菌の長期的な感染に対する宿主の免疫応答によって生じる慢性炎症性疾患である。近年、歯周病による局所の炎症が全身性炎症を惹起することで様々な全身疾患に影響を及ぼすことが示唆されており、動脈硬化や心筋梗塞などの CVD との関連性についても報告されている。しかしながら、これまでのところ、心房細動と歯周病との関連性を評価した報告は少なく、その関連性を裏付けるエビデンスが十分とは言えない。*Porphyromonas gingivalis* は主要な歯周病原性細菌であり、歯周病による様々な全身疾患への影響に関与していることが報告されている。また、*P. gingivalis* に対する血中免疫グロブリン G (IgG) 抗体価は歯周病と全身疾患の関連を評価するための有用な指標であり、臨床的な歯周状態をよく反映した代用マーカーとされている。そこで、本研究では、血漿中抗 *P. gingivalis* 抗体価を用いて、地域在住の高齢者における歯周状態と心房細動との関連性を明らかにすることを目的とした。

【対象および方法】本研究は、2012–2014 年に行われた魚沼コホート研究のベースラインデータを用いた横断研究である。このベースライン調査では、新潟県魚沼地域に在住の 40 歳以上の高齢者を対象に質問紙調査および健診が行われた。本研究では、質問紙調査と健診の両方に参加した 60–79 歳の高齢者 4,203 名のうち、喫煙者、無歯顎者およびデータ欠損者を除いた 3,091 名を解析対象とした。質問紙調査より喫煙状況および現在歯数に関するデータを収集した。また、問診および健診結果から心疾患の既往（心房細動、心筋梗塞、狭心症、心不全）、body mass index (BMI)、収縮期血圧、non-high density lipoprotein-cholesterol (non-HDL-C)および glyated hemoglobin (HbA1c)に関するデータを収集した。さらに、化学発光免疫自動測定装置（POCUBE、サンスター社）を用いて血漿中の *P. gingivalis* ジンジパインに対する IgG 抗体価（抗 P.g 抗体価）を測定した。抗 P.g 抗体価の第三四分位数を基準に対象者を 2 群に分け、第三四分位数を超えた群を「高値群」、第三四分位数以下の群を「低値群」とした。心房細動と抗 P.g 抗体価および他の項目との関連についての解析では、量的変数の比較に Mann-Whitney の U 検定を用い、質的変数の比較に χ^2 検定を用いた。さらに、心房細動の既往の有無を目的変数とし、抗 P.g 抗体価を説明変数

としたロジスティック回帰分析を行った。共変量は年齢、性別に加えて心房細動の危険因子とされる肥満、収縮期高血圧、脂質異常、糖尿病、他の心疾患の既往および過剰飲酒とした。有意水準は0.05とした。

【結果および考察】対象者 3,091 名の平均年齢は 68.6 ± 4.9 歳であり、男性は 1,411 名 (45.7%) であった。また、心房細動の既往のある者は 56 名 (1.8%) であった。抗 P. g 抗体価高値群は低値群に比べて心房細動の既往のある者が有意に多かった (3.0% vs. 1.4%; $p = 0.005$)。さらに、ロジスティック回帰分析より、心房細動の危険因子によって調整した後も抗 P. g 抗体価と心房細動の既往との間に有意な関連性が認められ、そのオッズ比 [95%信頼区間; p 値] は 2.13 [1.23–3.69; $p < 0.01$] であった。歯周病と心房細動の関連を調査したこれまでの研究の多くは、歯周ポケット測定に基づく臨床的指標を用いて歯周状態を評価しているが、これらは口腔細菌の感染による全身状態への影響を直接表したものではなく、歯周病と全身疾患の関連を評価するのに適した指標とはいえない。この点において、抗 P. g 抗体価はこの細菌の長期的な感染に対する宿主の免疫応答を反映したものであり、それを用いた本研究は歯周状態が心房細動に悪影響を及ぼす可能性をより正確に評価したものであると考えられる。

【結論】地域在住の高齢者において、抗 P. g 抗体価と心房細動の既往との間に有意な関連が認められた。このことから、歯周状態の悪化が心房細動の発症に関与している可能性が示唆された。

審査結果の要旨

本研究の研究テーマの背景と妥当性については以下のとおりである。

心房細動は臨床で最もよく見られる頻脈性不整脈であり、脳梗塞や心不全といった日本の死因上位を占める疾患のリスクを増加させる疾患である。また、加齢に伴い有病率が増加することから、急激な高齢化が進んでいる現代において、今後さらなる有病率の増加が予想される。歯周炎の有病率も加齢とともに増加しており、また近年高齢者における現在歯数の増加によりさらなる歯周炎の有病率の増加が認められる。こうした背景から、高齢者において両者の関連性を明らかにすることで、高齢者における心房細動発症予防における歯周炎予防の重要性を示すことができると考えられる。先行研究から、両者の間には炎症を介したメカニズムが存在することが示唆されている。すなわち、歯周炎における局所的炎症が全身性炎症を引き起こし、心筋における構造的・電氣的リモデリングを誘発することによって心房細動が発症する可能性が報告される。しかしながら、高齢者を対象に歯周炎と心房細動の関連性を評価した疫学研究は少なく、それらの関連性を裏付けるエビデンスが十分でない。また、先行研究のほとんどは歯周ポケット検査に基づく臨床的指標を用いて歯周状態を評価するが、これらは口腔細菌の感染による全身状態への影響を直接表したものでなく、歯周病と全身疾患の関連を評価するのに適した指標とならない。この点において、抗 *P. gingivalis* 抗体価はこの細菌の長期的な感染に対する宿主の免疫応答を反映したものであり、それを用いた本研究は歯周状態が心房細動に悪影響を及ぼす可能性をより正確に評価すると考えられる。3000 人以上の高齢者を対象に抗 *P. gingivalis* 抗体価の測定を行った研究は本研究が初めてであり、本研究は高齢者における歯周状態と心房細動との関連性を明らかにするうえで学術的意義がある。

研究方法と論旨の展開の審査結果については以下のとおりである。

喫煙者を除外して解析を行うことによる理由とデータに与える影響についての考察は以下である。喫煙は心房細動に影響を及ぼすことが知られており、歯周病および心房細動の危険因子とされる肥満や高血圧、脂質異常、糖尿病、心血管疾患、飲酒とも強く関連する。また、歯周病および各種の心房細動の危険因子と心房細動の中間因子ではないことから、これらの関連を評価する際の交絡因子となる。したがって、本研究では喫煙により交絡バイアスを未然に防ぐため、対象者のうち喫煙者を除外して解析を行った。本研究では肥満や脂質異常、糖尿病、過剰飲酒と心房細動との間に有意な関連が認められなかったが、この理由の一つとして本研究における肥満、脂質異常、糖尿病、過剰飲酒の者の割合が全国データ（令和元年国民健康・栄養調査）との比較で約 10% 少なかったことの影響が考えられる。これは、本研究の対象が健診に参加した者のみであり、比較的健康な集団に偏っている可能性（選択バイアス）に加え、解析対象者を非喫煙者に限定したことの影響があると考えられる。

性別での層化の有無の結果に与える影響についての考察として、性別で層化して行った解析結果では、男性では 60 代および 70 代のいずれにおいても、抗 *P. gingivalis* 抗体価が高値であることは心房細動の既往と有意な関連を示した。一方、女性では 60 代および 70 代のいずれにおいても、抗 *P. gingivalis* 抗体価と心房細動の既往との間に有意な関連性は認められなかった。また、調整後の解析結果について、男女いずれにおいても、心房細動の危険因子（年齢、性別、BMI、収縮期血圧、HbA1c、Non-HDL-C、飲酒、狭心症の既往、心不全の既往）と心房細動の間に有意な関連は認められなかった。以上の結果から、高齢者の男性においてのみ、他の因子と比較しても、*P. gingivalis* による感染が心房細動に大きく影響していることが示唆された。この男女差について明確に説明することはできないが、理由の一つとして、男女間における *P. gingivalis* による感染の程度の差が考えられる。本研究において抗 *P. g* 抗体価は男性の方が高く、特に心房細動の既往のある者において男女差が大きかった（中央値[log₁₀]=3.12 vs. 2.94）。この差がどれほど心房細動に影響するのかは評価できないが、本研究において、男性においてのみ抗 *P. gingivalis* 抗体価と心房細動の有意な関連性が認められた理由の一つと推察する。

現在歯数に関する情報を質問紙で収集する妥当性については以下のとおりである。質問紙を用いた主観的評価による現在歯数調査の妥当性についてはいくつかの先行研究により検討されている（安藤、池田 et al. 1997, Ueno, Zaitu et al. 2010, Matsui, Yamamoto et al. 2016, Ueno, Shimazu et al. 2018）。高齢者を含め、質問紙を用いて得られた現在歯数の「自己申告値」と口腔内診査による実際の現在歯数の平均値の差は極めて小さく、質問紙により現在歯数の情報を収集することの妥当性は高いとされている。また、両値の間に生じる誤差の要因としてはポンティックやインプラントによる現在歯数の過大評価が挙げられているが、本研究は無歯顎者を除外する目的でのみ現在歯数の情報を用いるため、質問紙による影響は極めて小さく妥当と考えられる。

魚沼コホート調査の特徴から今回の調査を行うに適切な集団かの評価についての考察は以下である。魚沼コホート調査は新潟県の魚沼地域（魚沼市および南魚沼市）に在住の 40 歳以上の住民を対象に、アンケート調査および健診結果（住民のうち自治体健診を受診した国民健康保険加入者および後期高齢者医療制度加入者）から生活習慣や健康状態に関する情報を収集した調査であり、2012 年から 2014 年までの間にベースライン調査が行われた。調査時期の魚沼地域では、全国と比較し年少人口割合は同程度であるが、生産年齢人口割合は全国より低く、老年人口割合は全国よりも高い。この老年人口は 2025 年の日本全国の推計老年人口割合に近く、将来の日本の高齢者人口のモデルに近いと考えられる。本研究では、今後高齢化による心房細動の有病率の増加が予想され、歯周病が心房細動に及ぼす影響を検討することがこれまで以上に重要になってくるという背景のもと、高齢者における歯周状態と心房細動の関連について調査することを目的としている。したがって、魚沼地域の高齢者を対象に本研究を行うことは妥当であると考えられる。

抗体価の特性、今回測定した方法の特性、ジンジパインに対する抗体価の特性等については以下である。抗体価の測定方法の一つとして、酵素免疫測定法（ELISA 法）がある。これは固相化した抗原に対して抗体を結合させた後、そこに酵素標識した抗体を結合させ、発色基質を加えることで酵素活性を測定する方法であり、複数の標準血清の測定値から検量線を作製し、それを用いることで被検血清の測定値から抗体価を算出する。本研究では、この ELISA 法に準じた方法である化学発光酵素免疫測定法（CLEIA 法）を原理とした自動分析装置（POCube, サンスター社）を用いて抗体価を測定した。ELISA 法が吸光度測定により酵素活性を算出するのに対し、CLEIA 法は発光量測定から酵素活性を算出する点のみが異なる。被検血清の発光量を測定し、サンスター社にて複数の標準血清の測定値から作製された検量線を用いて抗体価を算出した。また、本研究では *P. gingivalis* のジンジパインの組み換えタンパクを抗原として抗体価を測定したが、その精度は全菌体を超音波破碎・超遠心した後の上清を抗原としていた従来の測定精度よりも高く（Kudo, Naruishi et al. 2012）、特異性が高いことが臨床性能評価（歯周炎 84 名、健常者 59 名）で示されている（健常者：全顎プロービングにて PD<4mm かつ BOP≤10%）。

日本人の高齢者において心房細動の有病率には特徴的な所見については以下である。全国規模での調査は近年行われていないが、2003 年の日本循環器学会による疫学調査では、約 63 万人の 40 歳以上の健康診断受診者を対象に心房細動の有病率を調査している。これによると、心房細動の有病率は男女とも加齢に伴い増加し、特に 60 歳以上ではその増加がより顕著であった。ま

た、各年齢層とも男性の方が女性よりも有病率が高い。これらは米国での報告と同じ傾向であったが、高齢者の有病率は米国と比較して低かった。これは、日本人では心房細動の主なリスクファクターである冠動脈疾患が少ないことの影響とされている。この背景には日本と米国における食生活の違いが考えられる。しかしながら、近年はファストフード店の普及や冷凍食品・レトルト食品の充実化から、日本においても食生活の欧米化が進んでいる。したがって、今後日本における心房細動の有病率はより増加していくことが予想される。

心房細動の有無などは質問紙調査の結果であり、歯周状態は血漿中の抗体価を用いている点を踏まえ、本研究データの解釈における考察は以下である。問診で得た情報が実際の疾患の有無とどの程度一致しているかについての報告は見つからなかったが、医師による確認を行う点で質問紙調査よりもその妥当性は高いと考えられる。また、本研究における心房細動の割合は、全国規模での心房細動の有病率調査の結果と近似し、対象者の心房細動の実態を反映していると考えられる。しかしながら、本研究では実際に心房細動に罹患していた時期については不明である。また、血漿中の抗 *P. gingivalis* 抗体価については、慢性歯周炎患者に対する歯周治療後に低下する傾向が認められたが、健常者と比較すると 30 か月経過後も高値を保っていたとする報告があるが、具体的な感染時期については把握できない。以上から、対象者が心房細動に罹患していた時期と *P. gingivalis* による感染時期の前後関係が明らかでなく、両者の因果関係が不明であることは考慮すべき点である。

本調査で心房細動と飲酒が関連しなかったことの考察については、対象者における過剰飲酒の割合が全国データと比較して 10% 程度低い集団であったことの影響が考えられる。これは、本研究における解析対象者が非喫煙者であるためと推察される。

新規性・創造性・学際インパクトについては以下のとおりである。心房細動は脳梗塞や心不全といった死に直結する疾患のリスクを増加させる疾患であり、高齢化が進むにつれて今後有病率が増加すると予想されている。また、心房細動は自覚症状に乏しいことや心房細動の発症自体がさらなる心房細動の悪化を招くという特徴がある。したがって、心房細動を発症する前に予防することが非常に重要となってくる。高齢者における歯周状態と心房細動の関連性を明らかにすることで、歯周状態を健康に保つことが心房細動の予防につながることを示されれば、医科における歯周病予防の重要性の認識がさらに増すことが期待される。これまで、歯周病と心疾患の関連について、その科学的根拠が乏しいとする医科の声明もあったが、この背景として臨床的な歯科検査による指標に客観性が乏しく、歯周病が心疾患へ及ぼす影響を考察するうえで適切とはいえないことが推察されている。これに対し、歯周病原細菌に対する血中 IgG 抗体価は歯周病原細菌に対する生体の免疫反応を定量的かつ客観的に評価しうる指標である。したがって、この抗体価を用いて歯周状態と心房細動の関連性を明らかにすることが、医科において歯周病が心疾患に及ぼす影響について認識を高めるための橋渡しとなることが期待される。

本研究結果の学術的発展性や応用価値は以下である。本研究では、地域在住の高齢者において、抗 *P. gingivalis* 抗体価と心房細動の既往との間に有意な関連性が認められ、*P. gingivalis* の感染による歯周状態の悪化が心房細動に影響を及ぼす可能性が示唆された。したがって、*P. gingivalis* が生育しにくい口腔環境を維持することが心房細動を予防する一助になる可能性が示唆される。そのためには、歯科における歯周状態の管理が不可欠であり、高齢者における積極的な歯科保健行動を推進していくことで、心房細動の予防に寄与することが期待される。具体的には、歯科受診患者に対し歯周病患者とそうでない者の歯肉の状態の違い（歯肉の色や腫脹の程度）について、実際の口腔内写真などを用いて視覚的に伝えることにより、セルフチェックやセルフコントロールの向上につながられる可能性がある。また、高齢者の間で心房細動という疾患自体があまり浸透していないことが予想される。今後歯周状態と心房細動の関連性がより確立したものとなり、歯科疾患と関連のある疾患の一つとして心房細動に関する情報を歯科受診患者に提供することができれば、心房細動に関する関心および認識を向上させることができると考えられ、本研究がその一助となることが期待される。

論文構成・文法・語法の適切性については適切に執筆されている。

以上