

## 歯周病原細菌由来の菌体外膜小胞を介した口腔-心臓連関の解明

山口雄大

国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所

### 【研究の背景】

歯周病は、歯周病原細菌による限局性慢性感染が引き起こす口腔疾患で、成人の 7 割近くが罹患する国民病である。近年の研究で、歯周病が心不全発症の新たな危険因子の一つであることが疫学的に明らかになってきたが、心臓と口腔、2 つの遠隔臓器の疾患がなぜ関連するのか、その詳細な機序は明らかではない。

あらゆる細菌は、真核細胞のエクソソーム様の菌体外膜小胞 (Extracellular Vesicles, EVs) を産生する。EVs は抗原や病原因子など様々な菌由来の分子の運び手となり、感染巣とは離れた細胞への情報伝達を担うことが予想されているが、その詳細な機能はいまだ明らかではない<sup>1,2)</sup>。

### 【目 的】

本研究では、歯周病原細菌由来のエクソソーム様の菌体外膜小胞 (EVs) がもつ心臓の炎症・線維化誘導性に着目し、歯周病起因性の心不全発症機構の解明を目的とした。

### 【方 法】

4 種の歯周病原細菌 (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) 由来の EVs を充填した浸透圧ポンプを 8 週齢の雄性マウス (C57BL/6) の背部皮下に埋め込み、4 種の EVs の持続投与を 4 週間行った (各 EVs 1  $\mu\text{g}/\text{day}/\text{mouse}$ )。実験終了時に、血液、心臓、肺などを採取して、臓器からは RNA を単離して EVs 投与による遺伝子発現の変化を評価した。心臓と肺については RNA-seq による網羅的な遺伝子発現解析を実施した (各群 N=3)。また、採取臓器の一部はホルマリンで固定し、病理組織学的評価に供した。採取した血液から得た血清を用いて生化学検査に供した (各群 N=6)。

### 【結 果】

血清生化学検査的では、EVs 投与により AST の有意な上昇 ( $P=0.013$ ) が認められた。また、HDL コレステロール値の有意な低下 ( $P=0.0005$ ) と LDL/HDL コレステロール比の上昇 ( $P=0.0028$ ) も認められた。

RNA-seq による心臓の網羅的遺伝子発現解析では、343 遺伝子の発現が EVs 投与により上昇、37 遺伝子の発現が抑制された。一方、肺の網羅的遺伝子発現解析では、585 遺伝子の発現が EVs 投与により上昇、52 遺伝子の発現が抑制された。さらに、発現上昇している遺伝子のパスウェイ解析により、両臓器で自然免疫の活性化に関わる遺伝子群の発現が亢進していることが確認された。

また、EVs 投与群のマウス心臓では、上皮間葉転換 (EMT) 関連の遺伝子群および RhoA GTPase 下流の遺伝子群の発現が亢進していた。また、PPAR シグナル関連の遺伝子群の発現が EVs 投与により抑制されていた。

## 【考 察】

4 種の EVs はいずれも歯周病に起因する非感染性疾患(がん、動脈硬化性疾患、糖尿病)の発症に関連することが疫学的に報告されている歯周病原細菌から得たものである<sup>3)</sup>。いずれの歯周病原細菌が心不全に関与するかは明らかではないため、今回は 4 種類の EVs の同時投与で遠隔した心臓の炎症やリモデリングなどの病態形成が生じるかを評価した。結果、遠隔部位で投与された EVs は心臓や肺での遺伝子発現を大きく変化させ、特に自然免疫の活性化に関わる遺伝子群の発現がいずれの臓器でも亢進していた。この結果は、内毒素に代表される病原体関連分子パターン(PAMPs)を介したものであり、EVs の各臓器への到達を示唆するものである。

EMT や RhoA GTPase パスウェイの活性化、PPAR シグナルパスウェイの抑制は心リモデリングの促進因子であることが知られている<sup>4-7)</sup>。すなわち、EVs の投与それ自体が、心臓の炎症と、リモデリングを促進していることが示唆された。一酸化窒素阻害薬などを用いた高血圧モデルマウスを用いることで、さらに EVs の心不全促進への寄与が明確になることが予想される。今後、さらなる検討を実施する予定である。

また、本研究では 4 種の歯周病原細菌由来の EVs を用いており、どの菌の EVs が心不全誘導性に寄与したかは明らかではない。今後、培養細胞や実験動物を用いたさらなる検討を行い、心不全誘導性をもつ EVs の特定を進めていく。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

世界的に増加傾向にある心不全患者の数は、高齢化が進む本邦では近い将来の爆発的増加(心不全パンデミック)が見込まれており、医療資源と医療経済の逼迫が危ぶまれている。本研究から得られる知見は、既存治療とは一線を画した、新たな治療・予防戦略の開発につながる。

## 【参考・引用文献】

1. Kuehn, M.J., and Kesty, N.C. (2005). Bacterial outer membrane vesicles and the host-pathogen interaction. **Genes Dev** 19, 2645-2655.
2. Hong, M., Li, Z., Liu, H., Zheng, S., Zhang, F., Zhu, J., Shi, H., Ye, H., Chou, Z., Gao, L., et al. (2023). Fusobacterium nucleatum aggravates rheumatoid arthritis through FadA-containing outer membrane vesicles. **Cell Host Microbe** 31, 798-810.e7.
3. Hajishengallis, G., and Chavakis, T. (2021). Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. **Nat Rev Immunol** 21, 426-440. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-00488-6>.
4. Wang, X., Zhu, X., Jiao, S., Qi, D., Yu, B., Xie, G., Liu, Y., Song, Y., Xu, Q., Xu, Q., et al. (2022). Cardiomyocyte peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  is essential for energy metabolism and extracellular matrix homeostasis during pressure overload-induced cardiac remodeling. **Acta Pharmacol Sin** 43, 1231-1242.
5. Lauriol, J., Keith, K., Jaffré, F., Couvillon, A., Saci, A., Goonasekera, S.A., McCarthy, J.R., Kessinger, C.W., Wang, J., Ke, Q., et al. (2014). RhoA signaling in cardiomyocytes protects against stress-induced heart failure but facilitates cardiac fibrosis. **Sci Signal** 7, ra100.
6. Hall, I.F., Aikawa, E., Sluimer, J., Baker, A.H., and Kovacic, J.C. (2025). Endothelial to mesenchymal transition in cardiovascular diseases: molecular insights and clinical perspectives. **Eur Heart J** 00, 1-15.
7. Kovacic, J.C., Dimmeler, S., Harvey, R.P., Finkel, T., Aikawa, E., Krenning, G., and Baker, A.H. (2019). Endothelial to Mesenchymal Transition in Cardiovascular Disease. **J Am Coll Cardiol** 73, 190-209.