

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09572

研究課題名(和文) エネルギー代謝調節遺伝子UCPの歯周炎における役割の解明

研究課題名(英文) Uncoupling protein gene polymorphisms associated with severe periodontitis in Japanese adults

研究代表者

杉田 典子 (Sugita, Noriko)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：30313547

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ミトコンドリア内膜の脱共役タンパク(Uncoupling protein; UCP)はエネルギーを熱として放散させる。UCP2は白血球を主として広汎な組織に、UCP3は骨格筋等に分布する。UCP遺伝子多型は糖尿病・肥満に関連し、また歯周炎とこれら疾患との関連性が報告されている。我々は以前、閉経後女性でUCP2、UCP3遺伝型と重度歯周炎の関連性、細胞実験にてUCP2の活性酸素および炎症性サイトカイン産生抑制機能を示した。そこで本研究では成人男女を対象に歯周炎・糖尿病・BMIとUCP遺伝子多型との関連性を解析した。その結果UCP2およびUCP3遺伝子多型は重度歯周炎との有意な関連性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果は、エネルギー代謝を調節する分子であるUCPが、従来報告されてきた糖尿病や肥満のみならず、歯周炎というヒトの炎症性疾患に関与する可能性をはじめ示唆した。また、骨格筋に多く分布するUCP3の遺伝子多型が有意な関連性を示したことは、歯周炎に対する骨格筋の役割を検討する必要があることを示している。この成果は歯周炎・糖尿病・肥満のオーダーメイド医療に寄与し、将来、UCPをターゲットとした新しい歯周炎予防・治療法の開発が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Uncoupling proteins (UCP) are mitochondrial membrane transporters which regulate energy expenditure and the metabolism of lipids and carbohydrates. UCP2 is expressed in a broad range of cells including immune cells. UCP3 is expressed in skeletal muscle cells and spleen. We have previously reported associations between the UCP gene polymorphisms and severe periodontitis in postmenopausal women. In vitro study revealed that UCP2 attenuated production of reactive oxygen species and proinflammatory cytokines. In this study, we validated the associations in another Japanese adult population. All outpatients of Sado General Hospital were invited to participate in a cohort study. The final subjects were composed of 115 men and 100 women (mean age 67 years). Edentulous person and participants with missing data were excluded. Adjusted for age, sex, diabetes, body mass index and smoking, the UCP2 rs659366 and the UCP3 rs2075577 were significantly associated with severe periodontitis.

研究分野：歯周治療学

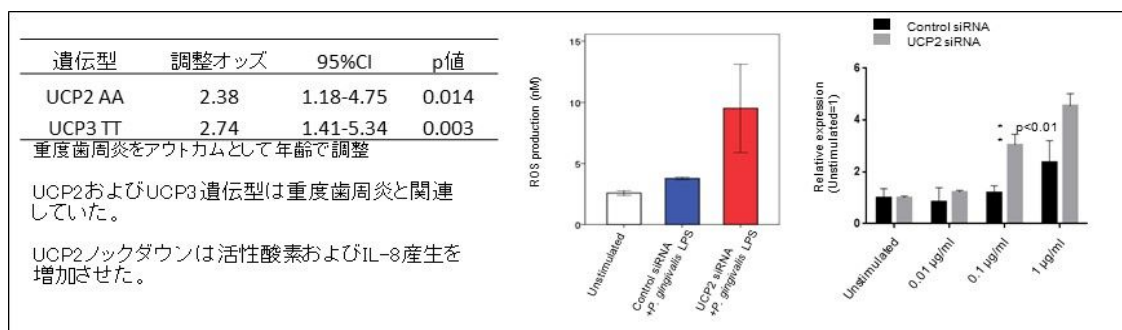
キーワード：脱共役タンパク 歯周炎 炎症 遺伝子多型 エネルギー代謝 ミトコンドリア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) ミトコンドリアの電子伝達系と ATP 合成は、プロトン濃度勾配によって共役している。脱共役タンパク (Uncoupling protein; UCP) は、酸化リン酸化の脱共役を行うことによりエネルギーを ATP 合成に利用せずに熱へと変換させる。これまでに UCP1 から 6 が同定されている。UCP1 は褐色脂肪組織、UCP2 は白血球をはじめ全身の組織に広く発現し、UCP3 は主に骨格筋に分布する他、褐色脂肪組織、胸腺、脾臓にも発現している。UCP は糖代謝および脂質代謝を調節する機能を有することが知られており、UCP 遺伝子多型と糖尿病・肥満との関連性が報告されている (Brondani et al, 2014)。一方、免疫・炎症への UCP の関わりも示唆されてきた。UCP2 欠損マウスにおいては活性酸素産生が著しく増強され、トキソプラズマ感染に抵抗性であった (Arsenijevic et al, 2000)。また UCP3 欠損マウスでは胸腺や脾臓の細胞構成が野生型と異なっていた (Kelly et al, 2011)。しかしヒトの炎症性疾患における UCP の関与は報告されていなかった。

(2) 我々はこれまでに閉経後女性を対象に UCP 遺伝子多型と歯周炎・糖尿病・肥満との関係を解析し、その結果、UCP2 rs659366 および UCP3 rs2075577 遺伝子多型は他の因子とは独立に重度歯周炎と有意な関連性を示した (国際学会 EuroPerio8 にて発表、2015 年)。しかしこの閉経後女性群では糖尿病・肥満の有病者数が少なかった。また THP-1 由来マクロファージ様細胞にて UCP2 ノックダウンを行った結果、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) 由来 lipopolysaccharide 刺激時の活性酸素およびインターロイキン 8 の産生が増加した。これらより UCP2 が活性酸素産生抑制およびサイトカイン産生抑制を介して歯周炎の進行に關与する可能



性が示唆された (国際学会 EuroPerio9 にて発表、2018 年)。

2. 研究の目的

本研究では前述の閉経後女性群とは異なり糖尿病および肥満等の有病者をより多く含む日本人成人男女において、歯周炎・糖尿病・肥満と UCP1、UCP2 および UCP3 遺伝子多型の関連性を解析した。その研究成果により、ヒト炎症性疾患である歯周炎における UCP の関与をあらためて検証するとともに、歯周炎・糖尿病・肥満のオーダーメイド医療に寄与し、UCP をターゲットとした新しい歯周炎予防・治療法開発の端緒とすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究はヘルシンキ条約に従い、新潟大学倫理委員会より承認を得て実施した (承認番号 G2020-0034)。

(1) 対象者

新潟県佐渡市佐渡総合病院の外来患者を対象とした PROST (Project in Sado for Total health) は 2008 年開始のコホート研究である。本研究は PROST 参加者のうち同意を得た 40 歳以上の男女を対象とし、無歯顎者およびデータに欠損のある者を除外した。最終的な対象者の構成は男性 115 名、女性 100 名、平均年齢は 67 歳であった。

(2) 遺伝型同定

PROST にて同意を得て採取した静脈血より抽出し保管した DNA を用いて UCP2 rs659366、および UCP3 rs2075577 遺伝型を同定した。そのうち rs659366 については Japonica Array® (東北大学) により、rs2075577 についてはフィルジェン社 (愛知県名古屋市) に依頼して TaqMan 法® により同定した。

(3) 医科データおよびアンケート

診断名および身体計測データは佐渡総合病院外来カルテより抽出した。身長および体重より BMI (Body mass index) を算出した。また参加者全員に生活習慣・受診状況・服薬状況および既往歴等に関するアンケートを実施した。過去および現在の喫煙者を「喫煙」と定義した。

(4) 歯科データ

歯周病検査を含む歯科検査は佐渡総合病院常勤歯科医師 1 名が実施した。プロービング時の出血を伴う 6mm 以上の PPD (歯周ポケット Probing pocket depth) を 2 歯以上に有する人を重度歯周炎と定義した。

(5) 統計解析

統計解析ソフト SPSS バージョン 19.0 を用いて多変量ロジスティック解析を含むすべての解析を実施し、 $P < 0.05$ を有意とした。連鎖不平衡は Haploview バージョン 4.1 にて解析した。

4. 研究成果

(1) UCP2 および UCP3 それぞれの遺伝型の特徴を解析した結果を示す。

特徴	UCP2 rs659366 遺伝型		
	GG (n=64)	GA (n=103)	AA (n=48)
年齢 (歳)	66.8±10.2	67.9±12.0	67.4±11.5
性別 (男/女)	30/34	57/46	28/20
歯数	19.8±7.9	20.2±7.3	21.5±6.7
糖尿病 (%)	19 (30)	23 (22)	11 (23)
BMI (kg/m ²)	23.9±3.8	23.5±3.4	24.6±5.8
喫煙 (%)	28 (44)	48 (47)	23 (48)
平均 PPD (mm)	2.79±0.92	1.74±1.00	2.79±1.00

表 1. UCP2 rs659366 各遺伝型の特徴。数値は人数あるいは平均 ± 標準偏差を示す。

特徴	UCP3 rs2075577 遺伝型		
	CC (n=59)	CT (n=101)	TT (n=55)
年齢 (歳)	67.3±10.4	67.6±12.0	67.3±11.9
性別 (男/女)	28/31	56/45	31/24
歯数	19.7±8.1	20.6±7.1	20.5±6.9
糖尿病 (%)	18 (31)	23 (23)	12 (22)
BMI (kg/m ²)	23.7±3.9	23.5±3.4	24.7±5.4
喫煙 (%)	26 (44)	45 (45)	28 (51)
平均 PPD (mm)	2.81±0.93	2.68±0.95	2.98±1.12

表 2. UCP3 rs2075577 各遺伝型の特徴。数値は人数あるいは平均 ± 標準偏差を示す。各遺伝型の特徴をノンパラメトリック検定 (クラスカル・ウォリス検定、マン・ホイットニー U 検定、カイ二乗検定あるいは正確確率検定) で解析した結果、いずれにも有意差は認められなかった。

(2) UCP2 および UCP3 それぞれの遺伝子多型と重度歯周炎との関連性の解析結果を示す。

UCP2 rs659366 遺伝型	重度歯周炎 例数 (%)	調整 オッズ 比	95%CI	p 値
Co-dominant model				
GG reference	6 (9)			
GA	12 (12)	1.190	0.403-3.515	0.753
AA	11 (23)	2.982	0.957-9.289	0.059
Dominant model				
GG reference	6 (9)			
GA+AA	23 (15)	1.330	0.515-3.432	0.556
Recessive model				
GG+GA reference	18 (11)			
AA	11 (23)	2.666	1.102-6.446	0.030
Over-dominant model				
GG+AA reference	17 (15)			
GA	12 (12)	0.671	0.291-1.548	0.350

表 3 . UCP2 rs659366 遺伝子多型と重度歯周炎の関連性。重度歯周炎をアウトカムとした多変量ロジスティック解析結果。年齢、性別、糖尿病、BMI、喫煙にて調整済み。

UCP3 rs2075577 遺伝型	重度歯周炎 例数 (%)	調整 オッズ 比	95%CI	p 値
Co-dominant model				
CC reference	5 (8)			
CT	12 (12)	1.359	0.432-4.278	0.600
TT	12 (22)	3.208	0.987-10.423	0.053
Dominant model				
CC reference	5 (8)			
CT+TT	24 (15)	1.919	0.668-5.513	0.226
Recessive model				
CC+CT reference	17 (11)			
TT	12 (22)	2.613	1.096-6.234	0.030
Over-dominant model				
CC+TT reference	17 (15)			
CT	12 (12)	1.440	0.623-3.330	0.394

表 4 . UCP3 rs2075577 遺伝子多型と重度歯周炎の関連性。重度歯周炎をアウトカムとした多変量ロジスティック解析結果。年齢、性別、糖尿病、BMI、喫煙にて調整済み。

表 3 および 4 より、UCP2 rs659366 および UCP3 rs2075577 遺伝子多型は他の因子とは独立に Recessive model において重度歯周炎と関連性を示した。

(3)結果のまとめおよび考察

UCP2 および UCP3 遺伝型の分布についてはいずれもハーディ・ワインベルク平衡が成立して

いた。また、それぞれの遺伝型について年齢、性別、歯数、糖尿病、BMI、喫煙および平均ポケット深さの有意差は認められなかった。年齢、性別、糖尿病、BMI、喫煙で調整した多変量解析の結果、UCP2 rs659366 および UCP3 rs2075577 遺伝子多型は Recessive model において重度歯周炎との間に有意な関連性を示した。UCP2 rs659366 と UCP3 rs2075577 の間には前回の閉経後女性での解析結果と同様に強い連鎖不平衡が認められたため、両遺伝子多型のどちらかのみが重度歯周炎に関与しているという可能性も否定できない。しかし以前の我々の細胞実験の結果は少なくとも UCP2 が白血球で歯周炎の進行に関与する生物学的機序が存在することを示唆していた。加えて UCP3 についても、マイオカインの産生を始めとする炎症への骨格筋の関与が示唆されていること (Pedersen et al., 2012) さらに UCP3 は胸腺や脾臓での発現も認められることから、やはり歯周炎の進行に関わっている可能性がある。これらについて今後、*in vitro* および *in vivo* 実験で確認することが必要と考えられる。

Recessive model 以外では有意な関連性が認められなかったこと、また多重比較を考慮してボンフェローニ補正を行った場合には有意とならないことについては、残念ながら本研究の対象者数が比較的小規模であることが影響している可能性がある。今回の研究では Covid-19 拡大の影響もあり得られた例数が限られていた。しかし Covid-19 終息後には PROST コホート参加者総数および歯周病検査の受検者が増えると予想されるため、より大規模な集団での検証が可能である。

(4) 結論

UCP2 rs659366 および UCP3 rs2075577 遺伝子多型は病院外来患者である日本人成人男女において、重度歯周炎と有意な関連性を示した。本研究の結果は我々の以前の関連解析研究および細胞実験の結果に一致した。

<参考文献>

Brondani LA, de Souza BM, Assmann TS, Bouças AP, Bauer AC, Canani LH, Crispim D. Association of the UCP polymorphisms with susceptibility to obesity: case-control study and meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2014 Aug;41(8):5053-67. doi: 10.1007/s11033-014-3371-7.

Arsenijevic D, Onuma H, Pecqueur C, Raimbault S, Manning BS, Miroux B, Couplan E, Alves-Guerra MC, Goubern M, Surwit R, Bouillaud F, Richard D, Collins S, Ricquier D Disruption of the uncoupling protein-2 gene in mice reveals a role in immunity and reactive oxygen species production. *Nat Genet.* 2000 Dec;26(4):435-9. doi: 10.1038/82565.

Cabrera JA, Ziemba EA, Colbert R, Kelly RF, Kuskowski M, Arriaga EA, Sluiter W, Duncker DJ, Ward HB, McFalls EO. Uncoupling protein-2 expression and effects on mitochondrial membrane potential and oxidant stress in heart tissue. *Transl Res.* 2012 May;159(5):383-90. doi: 10.1016/j.trsl.2011.11.001.

Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol.* 2012 Apr 3;8(8):457-65. doi: 10.1038/nrendo.2012.49.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takamisawa Kei, Sugita Noriko, Komatsu Shigeki, Wakasugi Minako, Yokoseki Akio, Yoshihara Akihiro, Kobayashi Tetsuo, Nakamura Kazutoshi, Onodera Osamu, Momotsu Takeshi, Endo Naoto, Sato Kenji, Narita Ichiei, Yoshie Hiromasa, Tabeta Koichi	4. 巻 6
2. 論文標題 Association between serum IgG antibody titers against Porphyromonas gingivalis and liver enzyme levels: A cross-sectional study in Sado Island	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e05531 ~ e05531
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.heliyon.2020.e05531	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Miyazawa Haruna, Nakajima Takako, Horimizu Makoto, Okuda Kazuhiro, Sugita Noriko, Yamazaki Kyoko, Li Lu, Hayashi-Okada Yoshiko, Arita Takuya, Nishimoto Misa, Nishida Mieko, Genco Robert, Yamazaki Kazuhisa	4. 巻 8
2. 論文標題 Impact of Local Drug Delivery of Minocycline on the Subgingival Microbiota during Supportive Periodontal Therapy: A Randomized Controlled Pilot Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dentistry Journal	6. 最初と最後の頁 123 ~ 123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/dj8040123	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kaneko Chihiro, Kobayashi Tetsuo, Ito Satoshi, Sugita Noriko, Murasawa Akira, Ishikawa Hajime, Tabeta Koichi	4. 巻 -
2. 論文標題 Association among periodontitis severity, anti agalactosyl immunoglobulin G titer, and the disease activity of rheumatoid arthritis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Periodontal Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jre.12867	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Che Yulan, Sugita Noriko, Yoshihara Akihiro, Iwasaki Masanori, Miyazaki Hideo, Nakamura Kazutoshi, Yoshie Hiromasa	4. 巻 102
2. 論文標題 MAEA rs6815464 polymorphism and periodontitis in postmenopausal Japanese females: A cross-sectional study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Archives of Oral Biology	6. 最初と最後の頁 128 ~ 134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.archoralbio.2019.04.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Che Yulan, Sugita Noriko, Yoshihara Akihiro, Iwasaki Masanori, Miyazaki Hideo, Nakamura Kazutoshi, Yoshie Hiromasa	4. 巻 700
2. 論文標題 A polymorphism rs6815464 in the macrophage erythroblast attacher gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Japanese women	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gene	6. 最初と最後の頁 1~6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.gene.2019.03.027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakajima Mayuka, Hosojima Michihiro, Tabeta Koichi, Miyauchi Sayuri, Yamada-Hara Miki, Takahashi Naoki, Miyazawa Haruna, Matsuda-Matsukawa Yumi, Sato Keisuke, Sugita Noriko, Komatsu Yasutaka, Ishikawa Tomomi, Akiishi Kazuhiro, Yamazaki Kazuhisa, Kato Kiminori, Saito Akihiko, Yoshie Hiromasa	4. 巻 2019
2. 論文標題 2-Microglobulin and Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin, Potential Novel Urine Biomarkers in Periodontitis: A Cross-Sectional Study in Japanese	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Dentistry	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2019/1394678	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Che Y, Sugita N, Yoshihara A, Iwasaki M, Miyazaki H, Nakamura K, Yoshie H.	4. 巻 102
2. 論文標題 MAEA rs6815464 polymorphism and periodontitis in postmenopausal Japanese females: A cross-sectional study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Archives of Oral Biology	6. 最初と最後の頁 128-134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.archoralbio.2019.04.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Che Y, Sugita N, Yoshihara A, Iwasaki M, Miyazaki H, Nakamura K, Yoshie H.	4. 巻 700
2. 論文標題 A polymorphism rs6815464 in the macrophage erythroblast attacher gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Japanese women.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gene	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.gene.2019.03.027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kuroki A, Sugita N, Komatsu S, Wakasugi M, Yokoseki A, Yoshihara A, Kobayashi T, Nakamura K, Momotsu T, Endo N, Sato K, Narita I, Yoshie H	4. 巻 4
2. 論文標題 The number of remaining teeth as a risk indicator of cognitive impairment: A cross-sectional clinical study in Sado Island.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Dental Research	6. 最初と最後の頁 291-296
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cre2.147	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計7件(うち招待講演 0件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 金子千尋、小林哲夫、杉田典子、吉江弘正、村澤章、中園清、伊藤聡
2. 発表標題 間接リウマチ患者におけるPISA、RA活動度および好中球細胞外トラップ血清レベルの関連性
3. 学会等名 第62回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高見澤圭、杉田典子、葎原明弘、小林哲夫、吉江弘正、多部田康一
2. 発表標題 血清抗Porphyromonas gingivalis IgG抗体価と肝機能マーカー値の関連性 新潟県佐渡市における横断研究
3. 学会等名 第62回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sugita N, Takahashi N, Che Y, Takamisawa K, Yoshie H.
2. 発表標題 Uncoupling protein 2 attenuates production of reactive oxygen species and interleukin-8 in THP-1 cells stimulated with Porphyromonas gingivalis-derived lipopolysaccharide.
3. 学会等名 EUROPERIO 9 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takamisawa K, Sugita N, Yoshihara A, Iwasaki M, Che Y, Kuroki A, Miyazaki H, Nakamura K, Yoshie H.
2. 発表標題 The effect of Gli-similar 3 gene polymorphism on the relationship between periodontitis and renal function in postmenopausal Japanese women.
3. 学会等名 EUROPERIO 9 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kuroki A, Sugita N, Kobayashi T, Yoshihara A, Nakamura K, Yoshie H.
2. 発表標題 Associations between cognitive impairment and number of teeth classified in small groups: a cross-sectional clinical study in Sado Island.
3. 学会等名 EUROPERIO 9 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Che Y, Sugita N, Takahashi N, Takamisawa K, Yoshie H.
2. 発表標題 Expression and function of macrophage erythroblast attacher in THP-1 cells and human periodontal ligament fibroblasts stimulated with Porphyromonas gingivalis derived lipopolysaccharide.
3. 学会等名 EUROPERIO 9 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sugita N, Komatsu S, Lyu H, Yoshihara A, Kobayashi T, Tabeta K.
2. 発表標題 Uncoupling protein 2 gene polymorphism associated with severe periodontitis in Japanese adults
3. 学会等名 EUROPERIO 10 (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------