

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24593121

研究課題名(和文) 歯周炎・肥満・骨粗鬆症関連遺伝子PPARガンマーの閉経後女性における解析

研究課題名(英文) Associations between PPARgamma gene polymorphism and periodontitis, obesity and osteoporosis in postmenopausal women

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) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：核内レセプターPPARガンマは炎症抑制・脂質・骨代謝調節機能を有する。従来PPARガンマ遺伝子多型と炎症・肥満・骨粗鬆症との関連が知られていた。閉経後女性ではこれらの疾患のリスクが増大する。そこでPPARガンマPro12Ala多型がこれらの疾患の共通リスクか否かを解明するため新潟市横越地区の閉経後女性359名を対象に肥満・骨粗鬆症・歯周炎の指標とPPARガンマ遺伝型との関連性を調べた。その結果、PPARガンマPro12Ala多型のAlaアレルは歯周炎と肥満・骨粗鬆症との関連を強めることが示唆された。この成果は疾患リスク診断に寄与しPPARガンマ制御が治療に役立つ可能性を示している。

研究成果の概要(英文)：Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) is a nuclear hormone receptor and regulates inflammation, lipid and bone metabolism. Previous studies reported associations between polymorphisms in PPARgamma gene and inflammation, obesity and osteoporosis. Postmenopausal women have higher risks for these diseases. Therefore, to elucidate whether PPARgamma Pro12Ala polymorphism was a common risk factor for the diseases, we assessed possible associations between the genotypes and parameters of obesity, osteoporosis and periodontitis in 359 postmenopausal Japanese women living in Niigata City. As a result, the Ala allele carriage was suggested to enhance associations between periodontitis and obesity or osteoporosis. The finding might contribute to risk diagnosis and suggest possible effects of PPARgamma regulation in therapies of these diseases.

研究分野：歯周治療学

キーワード：歯学 歯周炎 骨密度 肥満 ゲノム

1. 研究開始当初の背景

PPAR(peroxisome

proliferator-activated receptor)は、リガンド対応性の核内レセプター型の転写因子であり、脂質代謝に関与するタンパクとして発見された。その中の PPAR γ は、脂肪細胞分化や、脂質代謝、インスリン感受性に対して抑制作用を有するほか、転写因子 AP-1, STAT および NF- κ B の活性化抑制、サイトカインおよびケモカインの産生抑制機能を示す。

PPAR γ にはエクソン B のコドン 12 のプロリン(Pro)がアラニン(Ala)に置換した機能的な遺伝子多型が発見され、Ala アレルでは転写活性が 3/4 に低下していることが明らかになった。その後、PPAR γ 遺伝子多型と炎症性疾患、肥満、骨粗鬆症、糖尿病、早産、自己免疫疾患、胃癌、結腸癌との関連性が報告され、広範囲の疾患に対するリスク遺伝子多型として注目された。

一方、女性では閉経に伴いエストロゲン分泌が大幅に低下するため、内臓脂肪型肥満および骨粗鬆症を発症し易くなると考えられている。

近年、歯周炎が肥満のリスク因子となり得ることを示唆する報告が相次いでいる。しかし、研究者間で結論は一致しておらず、さらなる研究が必要とされていた。

また、骨粗鬆症については、従来、全身の骨量の減少に伴って歯周炎のリスク因子、増悪因子となることが示唆されてきた。しかしこれについても、関連性があるとする報告と、なしとする報告があり、一致した結論が得られていない。しかし一方で、大部分の報告において残存歯数と骨粗鬆症の間の関連性は一致して認められた。

報告者らは、日本人妊婦を対象とした以前の研究において、PPAR γ Pro12Ala 遺伝子多型が歯周炎の各種パラメーターと有意な関連性を有することを明らかにした。すなわ

ち PPAR γ Pro12Ala は歯周炎感受性因子であることを示唆した。

これらのことから、閉経後女性において PPAR γ Pro12Ala 遺伝子型が炎症抑制機能の低下という作用を介して歯周炎の罹患率および重症度と関連している可能性は高く、したがって肥満・骨粗鬆症・歯周炎の共通リスク因子となっているのではないかと考えた。また、従来歯周炎と肥満の関連性が示唆されていることから、PPAR γ Pro12Ala 遺伝型は、歯周炎・肥満に対してそれぞれ独立に関連するのみでなく、歯周炎の存在下において肥満を増悪させるメカニズムに関与する、すなわち歯周炎と肥満を結び付ける因子となっている可能性があるのではないかと考えて本研究を計画した。

2. 研究の目的

閉経後女性を対象に、肥満・骨粗鬆症・歯周炎のそれぞれの指標と PPAR γ Pro12Ala 遺伝型の頻度分布との関連性を調べることにより、PPAR γ Pro12Ala 遺伝型がこれらの疾患の共通リスクであるか否かを明らかにし、PPAR γ Pro12Ala 遺伝型が歯周炎と肥満、あるいは歯周炎と骨粗鬆症との間の関係に関与する可能性を検証し、その結果により歯周炎および肥満・骨粗鬆症の診断と治療の発展に寄与することを目的とした。

3. 研究の方法

PPAR γ Pro12Ala 遺伝子多型が、肥満・骨粗鬆症・歯周炎の共通リスク因子か否かを明らかにするため、新潟市横越地区の閉経後女性 359 名を対象に、肥満・骨粗鬆症・歯周炎のそれぞれの指標と PPAR ガンマ Pro12Ala 遺伝型頻度分布との関連性を調べた。なお無歯顎者、喫煙者、腎臓病患者、ステロイドまたはビスフォスフォネートまたはビタミン D またはエストロゲンを投与されている女性は対象から除外した。歯周検査については、すべての残存歯の近心および頬側における

probing pocket depth (PPD)および clinical attachment level (CAL)を測定した。またブローピング時の出血 bleeding on probing (BOP)のあった部位を記録した。骨密度を腰椎および大腿骨頸部において測定し、若年成人女性平均値に対するパーセンテージで表し、70%未満を骨粗鬆症、80%未満を骨減少症とした。身長と体重から bone mass index (BMI)を算出し 25 以上を肥満とした。また血液中の骨代謝マーカー、脂質代謝マーカーおよび炎症マーカーを測定した。PPAR γ Pro12Ala 遺伝型については、末梢血から抽出したゲノム DNA を使用して制限酵素切断断片法にて同定した。これらのデータについて多変量解析を行い関連性の有無を検討した。

4. 研究成果

日本人閉経後女性において歯周炎と骨密度の間に、直接の有意な関連性は認められなかった。しかし、PPAR γ Pro12Ala 遺伝型のうち Ala アレル保有者のみにおいて平均 CAL と骨密度の間に有意な相関が認められた。同様の相関は Ala アレル非保有者では認められなかった。このことから PPAR γ Pro12Ala 多型は歯周炎と骨密度の間に影響を与える可能性が示唆された。

| | Ala 保有者 | | Ala 非保有者 | |
|------------|---------|-------|----------|-------|
| | r | p 値 | r | p 値 |
| 平均 CAL(mm) | 0.294 | 0.043 | -0.065 | 0.254 |
| 血清ビタミン D | 0.422 | 0.003 | 0.086 | 0.131 |

表. BMD との相関 (Wang et al., *Oral Diseases*. 2013).

次に血中炎症マーカーである高感度 CRP と歯周炎あるいは肥満との関係を調べたところ、PPAR γ の持つ炎症抑制機能が弱いとされる Ala アレル保有者においては、歯周炎と高感度 CRP の間に有意な相関が認められた。一方で従来比較的肥満になりやすいとされ

る Ala アレル非保有者(Pro12Pro 遺伝型)の女性においては BMI と高感度 CRP の間に有意な相関が認められた。

| | Ala 保有者 | | Ala 非保有者 | |
|-----------------|---------|-------|----------|-------|
| | r | p 値 | r | p 値 |
| PPD \geq 4mm% | 0.293 | 0.043 | 0.053 | 0.347 |
| BMI | 0.112 | 0.448 | 0.121 | 0.033 |

表：高感度 CRP との相関 (Wang et al., *Gerodontology*, 2014).

また、同対象者において、従来骨代謝と炎症に關与することが知られている IL-6 の遺伝型と骨密度、歯周炎との関連性を解析した。日本人において頻度の高いプロモーター多型である IL-6-572A/G 遺伝型を制限酵素切断断片法にて同定した。IL-6-572A/G 遺伝型はオステオカルシンレベルには有意な関連性を示したものの、骨密度や歯周炎それぞれと直接関連性を示さなかった。しかし歯周炎をアウトカムとした多変量解析の結果、歯周炎と骨減少症の間には IL-6-572A/G 遺伝型を変数に加えたときのみ、有意な関連性が認められた (Hanai et al., *Archives of Oral Biology*, 2015)。

次いで、対象者のうち BMI が 25 以上の肥満女性に関して、PPAR γ Pro12Ala 遺伝型および、糖尿病リスク因子として従来よく知られているアドレナリン受容体ベータ 3 (ADRB3)の遺伝型の分布と歯周炎との関係を調べたところ、PPAR γ Pro12Ala と ADRB3 の交互作用項が歯周炎に有意に関連していた。

| 従属変数 | 独立変数 | | |
|------|------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| | ADRB3 Arg allele | PPAR γ Ala allele | ADRB3 X PPAR γ |
| | | | |

| | | | | |
|-----------------------|-----|---------|-------|---------|
| CAL \geq 6mm 部位数 | PRR | 0.13 | 1.21 | 12.61 |
| | p 値 | 0.058 | 0.683 | 0.024 |
| CAL 4-5mm 部位数 | PRR | 0.43 | 0.66 | 2.25 |
| | p 値 | <0.0001 | 0.012 | 0.002 |
| PISA (mm) | PRR | 0.59 | 1.03 | 1.97 |
| | p 値 | <0.0001 | 0.432 | <0.0001 |

表. BMI \geq 25 の対象者における prevalence rate ratio (PRP) (Yoshihara A, et al., *Journal of Periodontology*. 2015).

これらの結果から、閉経後日本人女性において PPAR γ Pro12Ala 遺伝子多型は肥満・骨粗鬆症・歯周炎それぞれに直接有意な関連性を示さなかったが、歯周炎と骨粗鬆症、また歯周炎と血中高感度 CRP の関係、および肥満女性における歯周炎に影響を及ぼす可能性が示唆された。

これらの成果をまとめた論文はいずれも国際学術雑誌（査読あり）に掲載された。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Yoshihara A, Sugita N, Iwasaki M, Wang Y, Miyazaki H, Yoshie H, Nakamura K. The interaction between beta-3 adrenergic receptor and PPAR gamma gene polymorphism to periodontal disease in community-dwelling elderly Japanese. *Journal of Periodontology*. 査読あり. 2015, Apr 9:1-16. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25855572.

Hanai Y, Sugita N, Wang Y, Yoshihara A, Iwasaki M, Miyazaki H, Nakamura K, Yoshie H. Relationships between IL-6 gene polymorphism,

low BMD and periodontitis in postmenopausal women. *Archives of Oral Biology*. 査読あり. 2015;60(4):533-539. doi:10.1016/j.archoralbio.2014.12.005.

Wang Y, Sugita N, Yoshihara A, Iwasaki M, Miyazaki H, Nakamura K, Yoshie H. PPAR γ gene polymorphism, C-reactive protein level, BMI and periodontitis in post-menopausal Japanese women. *Gerodontology*. 査読あり. 2014, doi:10.1111/ger.12110.

Yoshihara A, Sugita N, Iwasaki M, Miyazaki H, Nakamura K. The interaction between beta-3 adrenergic receptor polymorphism and obesity to periodontal disease in community-dwelling elderly Japanese. *Journal of Clinical Periodontology*. 査読あり. 2014;41(5):460-466. doi: 10.1111/jcpe.12235.

Wang Y, Sugita N, Yoshihara A, Iwasaki M, Miyazaki H, Nakamura K, Yoshie H. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ polymorphism, vitamin D, bone mineral density and periodontitis in postmenopausal women. *Oral Diseases*. 査読あり. 2013;19(5):501-506. doi: 10.1111/odi.12032.

〔学会発表〕(計 8 件)

Sugita N, 他 4 名, Association between numbers of teeth and serum cytokine levels in Japanese adults: A cross-sectional study from PROST. 第 62 回国際歯科研究学会日本部会学術大会, 2014 年 12 月 5 日, KKR ホテル大阪 (大阪) .

Hanai Y, Sugita N, Nakamura K, 他 4 名, Relationships between IL-6 gene polymorphism, bone mineral density and periodontitis. 国際歯科研究学会, 2014 年 6 月 25 日, ケープタウン (南アフリカ共和国) .

Sugita N, Nakamura K, 他 6 名, UCP3 gene polymorphism associated with serum vitamin D levels and periodontitis in postmenopausal Japanese women. Human Genome Meeting 2014, 2014 年 4 月 28 日, ジュネーブ(スイス連邦) .

Wang Y, Sugita N, Nakamura K, 他 4 名. CRP levels in postmenopausal women with PPAR polymorphism and periodontitis. The 60th annual meeting of Japanese association for dental research. 2012 年 11 月 14 日. 朱鷺メッセ (新潟市) .

Sugita N, Wang Y, Yoshie H. Effects of genetic

polymorphisms on maternal periodontal disease and pregnancy outcomes. Harbin Periodontology Meeting (招待講演). 2012年9月25日、ハルビン(中国).

Wang Y, Sugita N, Nakamura K, 他 4 名. PPAR gamma, albumin, obesity and periodontitis in postmenopausal Japanese women. 第 55 回秋季日本歯周病学会総会学術大会、2012 年 9 月 23 日、つくば国際会議場(つくば市).

Wang Y, Sugita N, Yoshie H. Effects of genetic polymorphisms between periodontal diseases and systemic diseases in women. The 14th Chinese Stomatological Association Annual Meeting. 2012 年 9 月 14 日、西安(中国).

Sugita N, Nakamura K、他 5 名、IL-6 polymorphism and relationships between periodontitis and adiposity in postmenopausal Japanese women. EuroPerio7、2012年6月7日、ウィーン(オーストラリア).

6. 研究組織

(1)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

(2)連携研究者

中村 和利 (NAKAMURA KAZUTOSHI)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：70207869