

機関番号：33902

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21792136

研究課題名（和文） 喫煙歴を有する歯周病患者のニコチン代謝能関連遺伝子多型解析

研究課題名（英文） Evaluation of *CYP2Y6* gene polymorphisms in periodontitis associated with smoking

研究代表者

夫馬 大介 (FUMA DAISUKE)

愛知学院大学・歯学部・非常勤助教

研究者番号：10532971

研究成果の概要（和文）：これまでに歯周炎とその危険因子である喫煙との関連性については、多数報告がされてきた。しかし、喫煙者であっても歯周炎を発症しない者もいる。そこで本研究では、喫煙歴を有する歯周炎患者と、喫煙歴を有する歯周組織健常者において、遺伝的なニコチン代謝能の差異を検討するため、両者のニコチン代謝能関連遺伝子多型を調査した。しかし、有意な差は認められなかった。今後、両者の対象者数を増やし、その差異を検討する予定である。

研究成果の概要（英文）：Smoking is a risk factor for the initiation, extent and severity of periodontal disease. However, periodontitis of the smokers is not necessarily aggravated. Therefore, in this study, I investigated genetic polymorphisms in the *CYP2Y6* gene in Japanese periodontitis patients with smoking history and periodontally healthy control subjects with smoking history. An association analysis with allelotypes showed that SNPs identified in the *CYP2Y6* gene have no significant association with periodontitis associated with smoking in the Japanese population.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯周治療系歯学

キーワード：遺伝子多型解析、ニコチン代謝能、歯周予防学、喫煙関連歯周炎、CYP2A6 遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

歯周病は生活習慣病であり、平成17年歯

科疾患実態調査の結果によると、国民の8割以上に何らかの歯周病所見が認められると報

告されている。

一方、成人の喫煙実態をみると、平成20年厚生労働省国民健康栄養調査から、国民（成人）の喫煙率は21.8%（男性喫煙率は36.8%、さらに40歳代では51.9%）であり、先進国の喫煙率としては、いまだ最悪の水準であることがわかる。

これら歯周炎と喫煙との関連性については、これまでに数多くの研究がされており、喫煙者の歯周病罹患率は、非喫煙者に比べ約2～9倍高いことや、禁煙することにより歯周病に対するリスクが軽減することなどが報告され、近年、広く知られるようになってきたところである。

しかし実際の臨床において、喫煙者の中に著しい歯周組織の破壊を伴う重度の広汎型歯周炎患者がいる一方で、重度の喫煙者（ヘビースモーカー）であっても、歯周炎を発症していない者や、歯周炎が重症化していない者に出会うこともある。

喫煙は、タバコの主成分であるニコチンの体内濃度を一定に保つ、ニコチン依存症である。喫煙によるニコチンの吸収は非常に速く、静脈内投与に匹敵する。ニコチンの腎排泄は2～15%程度であり、体内からの消失は肝代謝に依存する。ニコチンの代謝物は複数存在するが、主要な代謝反応はコチニンへの酸化であり、シトクロムP450（cytochrome P450 : CYP）の分子種であるCYP2A6によって触媒される。

ニコチンの代謝物にはニコチンのような薬理作用がないため、ニコチン代謝や個人におけるその能力は、喫煙関連歯周炎のリスクを左右させる因子のひとつかもしれない。

そこで、個人のニコチン代謝能の優劣が、喫煙者における歯周炎の発症や進行のしやすさに関連があるのではないかと考え、ニコチン代謝能との関連性が示唆されているCYP2A6遺伝子と喫煙関連歯周炎との関係について調査しようと思い、本研究の着想に至った。

## 2. 研究の目的

喫煙者の中に、著しい歯周組織の破壊を伴う重度歯周炎患者がいる一方で、喫煙者であっても歯周炎を発症しない者もいる。

そこで、個人のニコチン代謝能の優劣が、喫煙者における歯周炎の発症や進行のしやすさに関連があるのではないかと考えた。つまり喫煙歴を有する歯周炎患者群と、喫煙歴を有する歯周組織健常者群において、ニコチン代謝能との関連性が示唆されているCYP2Y6 遺伝子多型解析を行い、両群間の遺伝的なニコチン代謝能の差異を検討することで、歯周炎の病因（宿主因子）としてのニコチン代謝能の優劣の関与を明らかにすることを目的とした。

これらが明らかになると、喫煙歴を有する歯周組織健常者や、喫煙を開始する前の未成年者の歯周病予防や、喫煙歴を有する歯周炎患者に対する具体的な禁煙支援が可能になり、国民の生活の質の向上が期待できる。

## 3. 研究の方法

喫煙歴を有する歯周組織健常者と、喫煙歴を有する歯周炎患者に対し、研究内容を説明し、口頭と書面にてインフォームドコンセントを得た上で、採血を行い、ゲノムDNAを抽出・調整した。PCR-RFLP法を用いて、CYP2Y6遺伝子全欠損多型解析を行い、両群のアリル頻度の差の検定を行った。詳細は以下の通りである。

(1) 被験者の選択およびインフォームドコンセント：

① 喫煙歴を有する者を喫煙関連歯周炎患者群

中等度慢性歯周炎患者および重度慢性歯周炎患者、侵襲性歯周炎患者のうち2年以上の喫煙歴を有する者を喫煙関連歯周炎患者群とした。

② 喫煙歴を有する歯周組織健常者群（コントロール）

本院歯周病科を受診し、口腔内所見から歯周炎の罹患が認められない者および軽度慢性歯周炎患者のうち2年以上の喫煙歴を有する者を、喫煙歴を有する歯周組織健常者群（コントロール）とした。

被験者から研究協力を得るため、文書および口頭にて十分説明を行い、インフォームドコンセントを徹底した。また、同意は文書で得た。

(2) サンプルの採取：

研究協力者より末梢静脈血（17ml）を採血した。全採血量のうち末梢血10mlを用いて一般血液検査を行い、7mlを用いてゲノムDNAの抽出を行った。

サンプル採取直後から、サンプルに被験者個人情報と関係の無い連結可能サンプル符号を付け、個人情報と切り離して管理した。

(3) ゲノム DNA の抽出・濃度の測定・調整：

ゲノム DNA 抽出には抽出キットを用いた。抽出後、吸光度計にて濃度測定し、その後の解析における最適濃度に調整した。また、Polymerase Chain Reaction (PCR) 実施まで4℃の研究室備え付けの鍵付き保管庫にて保存した。

(4) PCR-RFLP法：

CYP2Y6遺伝子全欠損多型（CYP2A6\*4）を同定するため、8Sプライマー（5' -CACCGAAGTGTACCCTATGCTG-3'）、R2プライマー（5' -AAAATGGGCATGAACGCCC-3'）を用いてゲノムDNAの増幅を行った。

得られたPCR産物に対し、制限酵素（Eco8 I I と Acc II）にて処理し、2%アガロースゲルを用いて電気泳動した。得られたバンドパターンの違いから、CYP2A6\*4遺伝子多型の同定を行った。

#### 4. 研究成果

本研究では、喫煙歴を有する歯周組織健常者と、喫煙歴関連歯周炎患者から、ゲノム DNA サンプルを収集し、両群について、CYP2Y6 遺伝子の遺伝子多型解析を行った。

その結果、喫煙歴を有する歯周組織健常者群と、喫煙歴関連歯周炎患者群の両群に CYP2Y6 遺伝子全欠損多型が認められた。

しかし、そのアリル頻度、遺伝子型頻度について、両群間に有意な差は認められなかった。

今後、両群の対象者数を増やし、喫煙歴を有する歯周炎患者における、宿主因子としてのニコチン代謝能の優劣の関与を検討したうえで、公表する予定である。

#### 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)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

夫馬 大介 (FUMA DAISUKE)

愛知学院大学・歯学部・非常勤助教

研究者番号：10532971