

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K09607

研究課題名（和文）歯周治療の反応性とIL-10を指標とした早産リスクのエピジェネティクスでの検証

研究課題名（英文）Epigenetic verification of risk of preterm birth using IL-10 as an indicator with response to periodontal treatment

研究代表者

小出 容子 (Koide, Yoko)

昭和大学・歯学部・講師

研究者番号：40407466

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：歯周炎と診断された出産経験のある女性のエクソーム解析を行い、歯周炎患者における早産の原因遺伝子候補を検討した。IL-10が歯周炎患者の早産低体重児出産のリスク因子となりうるか、また関連性の報告があるPTGER3遺伝子多型の発現も検討した。早産群、妊娠37週以降での分娩既往で低体重児出産だった者がいたため対照群とは分けてFGR（胎児発育不全）群として解析した。9名の対象者のエクソーム解析の結果、合計10,395個の変異を検出した。このうち、疾患群とFGR群で共通する変異は9個だった。IL-10やPTGER3は、今回抽出された9個の変異の中に含まれていなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において早産群と胎児発育不全群で共通して検出された9個の変異は、歯周炎患者における早産の原因遺伝子の1つとなりうる可能性がある」と期待される。今後、疾患モデル動物による遺伝子の機能解析など詳細な研究が必要である。

研究成果の概要（英文）：To investigate possible causative genes for preterm birth in periodontitis patients, we performed an exome analysis of nine women who had given birth and were diagnosed with periodontitis. The subjects had 10,395 mutations, nine common to the preterm birth and FGR groups.

研究分野：歯周病学

キーワード：早産 歯周病 低体重児出産 エクソーム解析

1. 研究開始当初の背景

歯周病は日本人の 70~80%が罹患していると言われる一般的な疾患で、歯周病原細菌が原因で歯の支持組織の炎症により歯の脱落をきたす疾患である。近年、歯周病は歯周囲の支持組織の炎症のみでなく、血管障害、早産・低体重児出産、誤嚥性肺炎、関節リウマチ、菌血症、慢性腎疾患、非アルコール性脂肪性肝炎などとの関連性が報告されている。

これまでの歯周病と早産に関する研究は、慢性的な細菌感染とそれに付随して発生する炎症物質に主眼が置かれていた。早産低体重児出産のリスク因子に関する歯周病研究は、海外でコホート研究、介入研究、メタ解析等さまざまな手法で多くの調査が行われているが、未だ定まった見解は得られていない。日本の妊婦の歯周病に関する研究自体が少なく、これまでの結果は歯周病や歯周病原細菌が早産低体重児出産に対し増悪・リスク因子となる可能性を示唆するものである¹⁻⁴⁾。

これまで本学産婦人科との共同で、2009年6月から昭和大学病院にて分娩予定で研究協力に同意の得られた妊婦を対象に、歯周病が早産のリスク因子となり得るか前向きコホート調査を行い、2013年12月までに300名が分娩終了した(投稿準備中)。我々のこれまでの研究結果は、歯周病が早産と関係する傾向は示せたが、被験者数が少なく確証には至っていない。また、これまでの研究を通して、歯周病や腔内細菌フローラの不均衡などの慢性的な細菌感染があっても、早産になる人、早産にならない人が存在するを経験した。また、妊娠初期の血液中のサイトカイン値(IL-6, IL-8, TNF- α , IL-4, IL-10)を調べた結果、歯周病の徴候がみられた者ではIL-10のみ有意に低値だった(P=0.0341)。

プロスタグランジンE受容体(*PTGER3*)の遺伝子多型には、切迫早産の妊婦における歯周治療の反応性の低下との関連を示唆する報告⁵⁾や、早産に関するメタゲノム解析での検出⁶⁾も報告がある。しかし、IL-10レセプターアンタゴニストと早産に関する報告⁷⁾、IL-10と歯周病に関する報告は多数あるが、IL-10と早産と歯周病の3つの関係に関する報告はない。初産婦における早産を予知する因子に関する報告はこれまでほとんどない⁸⁾。IL-10と歯周治療の反応性が初産婦における早産を予知する指標になる可能性を検討することを考えた。

2. 研究の目的

本研究では、早産低体重児出産および歯周病のリスク因子として抗炎症性サイトカインであるIL-10の低値に着目した。切迫早産のため昭和大学病院産婦人科に入院中の妊婦を対象として、口腔衛生指導とスクレーリングを中心とした歯周治療を3回実施し、歯周治療後の再評価の結果に基づき、炎症改善群と非炎症改善群の2群に分け、IL-10関連遺伝子多型の発現に群間で相違がみられるか調査する観察研究を計画した。本研究の研究費申請時の目的は、エピジェネティックな変化でもたらされるIL-10の低値が早産低体重児出産および歯周病のリスク因子となりうるか評価することである。また、IL-10関連遺伝子多型の発現を調査する際に、既に関連性が報告されている*PTGER3*遺伝子多型の発現についても調査し、比較検討することである。しかしながら、研究費交付決定後の2020年4月以降COVID-19感染が拡大したことで、切迫早産のため入院中の妊婦を産婦人科病棟から歯科診療室に移動して歯周治療を実施することが認められず、研究費申請時に計画した観察研究を行うことを断念せざるを得なかった。

そのため、対象を昭和大学歯科病院歯周病科外来に通院中の慢性歯周炎および侵襲性歯周炎と診断された出産経験のある女性患者に変更した。また、研究目的は対象者のヒト全エクソーム

解析を行い、解読結果を基にした一塩基多型 (SNP) や挿入欠失 (Indel) といった遺伝子多型の検出、さらには歯周炎患者における早産の原因遺伝子を検索し、将来的な早産の予防・診断・治療への応用の可能性を検討することに変更した。

3. 研究の方法

(1) 研究対象者

対象者は、昭和大学歯科病院歯周病科外来に通院中の慢性歯周炎および侵襲性歯周炎と診断された出産経験のある女性患者のうち、アメリカ歯周病学会の診断基準に基づいて慢性歯周炎および侵襲性歯周炎と診断された妊娠 37 週未満での分娩既往のある患者を疾患群 (研究の目標人数 5 名) とした。対照群は、慢性歯周炎および侵襲性歯周炎と診断された妊娠 37 週以降での分娩既往のある患者 (研究の目標人数 10 名) とした。慢性歯周炎および侵襲性歯周炎と診断された分娩既往のある患者で妊娠中に切迫早産治療を経て妊娠 37 週以降での分娩既往のある患者 (研究の目標人数 5 名) をハイリスク群とした。研究に協力の得られた患者には、本研究に関するインフォームド・コンセントを十分にを行い、同意を得られた方を本研究における研究対象者 (研究の目標人数 20 名) とした。

本研究は、昭和大学ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査委員会の承認を得て実施した (承認番号 G325)。

(2) 実施場所

研究対象者から昭和大学歯科病院歯周病科外来にて説明文書、同意文書をもって同意を得た。また、研究対象者から昭和大学歯科病院歯周病科外来にて試料採取 (唾液 2mL) を実施した。採取した唾液を本学で符号化した後、株式会社理研ジェネシス (神奈川県川崎市) に送付した。DNA 抽出およびヒト全エクソーム解析は株式会社理研ジェネシスに委託して実施された。データ解析結果を基にして、昭和大学歯科病院歯周病科にて、歯周炎患者における早産の原因遺伝子の同定を検討した。

(3) 試料・情報の種類と量、及び入手方法

対象とする試料は、唾液 2mL およびゲノム DNA で、研究のために研究対象者から唾液採取を実施した。唾液の採取および DNA 抽出は、Oragene®・DISCOVER (OGR-600, DNA Genotek Inc, Ottawa, Canada) を用いた。臨床情報は、研究対象者の診療録から年齢、性別、家族歴、歯周治療歴、エックス線写真、歯周組織検査を用いた。研究対象者の妊娠中の情報は、研究対象者からの聴取、母子手帳の記録から抽出した。

(4) ヒト全エクソーム解析におけるバイオインフォマティクス解析

DNA 抽出および品質評価が行われたゲノム DNA からイルミナ社 NovaSeq6000 を用いて DNA シークエンス解析が行われた。産出されたリード配列の品質評価が行われ、品質のよいリードを用いてマッピング、SNV/InDel の検索が行われた。得られた SNV/InDel に対してアノテーションが付与され、一定の基準を満たす SNV/InDel の一次絞り込みが行われた。

(5) 解析方法

ヒト全エクソーム解析のアノテーション情報に基づいて、一塩基多型 (SNP) や挿入欠失 (Indel) といった遺伝子多型の検出、歯周炎患者における早産原因遺伝子の候補を検討した。

4. 研究成果

(1) 対象者の情報

2021 年 6 月から 12 月に昭和大学歯科病院歯周病科外来に通院中の慢性歯周炎および侵襲性歯

表1：対象者の内訳

対象者	出産回数	分娩時の妊娠週数	出生時体重 (g)	分類
1	1	37週3日	1741	FGR群
1	2	37週5日	1929	
2	1	33週5日	1943	疾患群
2	2	37週5日	2395	
3	1	40週2日	3202	対照群
3	2	37週6日	2909	
4	1	39週3日	3066	FGR群
4	2	38週1日	2420	
5	1	41週0日	2658	対照群
5	2	40週3日	2977	
6	1	40週2日	2850	対照群
6	2	38週2日	2890	
6	3	37週5日	2908	
7	1	42週0日	2984	対照群
8	1	39週2日	3140	対照群
9	1	40週0日	3120	対照群
9	2	39週3日	3311	

周炎と診断された出産経験のある女性患者で、研究参加に文書で同意の得られた 9 名を対象とした。対象者の内訳を表 1 に示す。出産回数が 1 回の者は 2 名、2 回の者は 6 名、3 回の者が 1 名であった。妊娠 37 週未満での出産既往のある疾患群は 1 名で、2 回の出産のうち、1 回が早産低体重児出産、もう 1 回が低体重児出産だった。妊娠中に切迫早産治療を経て妊娠 37 週以降での分娩既往のあるハイリスク群はいなかった。一方、慢性歯周炎および侵襲性歯周炎と診断された妊娠 37 週以降での分娩既往で出生時体重が 2400g 未満の低体重児出産だった者が 2 名いたため、対照群の 6 名とは分けて FGR (胎児発育不全: fetal growth restriction) 群として解析した。

(2) エクソーム解析

9 名の対象者のエクソーム解析の結果、合計 10,395 個の変異を検出した。このうち、疾患群 1 名と FGR 群の 3 名で共通する変異は 9 個だった。

計画当初に着目した IL-10 や過去に報告がある *PTGER3* は、今回抽出された 9 個の変異の中に含まれていなかった。今後 3 名に共通して抽出された 9 個の遺伝子について、早産との関連について検討する。

引用文献

- 1) Hasegawa K et al. J Periodontol. 2003; 74(12):1764-70.
- 2) Hasegawa-Nakamura K et al. J Periodontal Res. 2011; 46(4):497-504.
- 3) Tateishi F et al. J Clin Periodontol. 2012; 39(5):417-24.
- 4) Ye C et al. Arch Gynecol Obstet. 2013; 288(1):65-72.
- 5) Jeffcoat MK et al. J Periodontol. 2014;85(3):446-54.
- 6) Ryckman KK et al. PLoS ONE. 2010; 5(2): e9040.
- 7) Velez DR et al. PLoS ONE. 2008; 3(9): e3283.
- 8) 塩崎有宏ら. 日本周産期・新生児医学会雑誌 47 (2) : 461-461, 2011.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	大槻 克文 (Otsuki Katsufumi) (90276527)	昭和大学・医学部・教授 (32622)	
研究分担者	岡松 良昌 (Okamatsu Yoshimasa) (50286845)	昭和大学・歯学部・講師 (32622)	
研究分担者	大場 智洋 (Oba Tomohiro) (60439370)	昭和大学・医学部・講師 (32622)	
研究分担者	安藤 智 (Ando Satoshi) (00384438)	昭和大学・医学部・助教 (32622)	

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