

令和 5 年 5 月 22 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K09908

研究課題名（和文）歯牙喪失における遺伝子環境交互作用に関する研究：ゲノムワイド関連解析を用いた検討

研究課題名（英文）Investigation of gene-environment interactions in tooth loss: a genome-wide association analysis

研究代表者

内藤 真理子 (Naito, Mariko)

広島大学・医系科学研究科（歯）・教授

研究者番号：10378010

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）：日本多施設共同コホート研究（J-MICC研究）の静岡地区、大幸研究、京都フィールド参加者のうち、3,074名を対象としてゲノムワイド関連解析（GWAS）データ解析を実施した。J-MICC研究では、35-69歳の参加者を対象に、共通のプロトコルにて生体試料や生活習慣、健康状態等のデータを収集している。GWASデータ解析では、年齢、性別、BMI、喫煙等を調整因子とした。有意水準は 5×10^{-8} に設定した。その結果、ゲノムワイド有意水準に到達した一塩基多型（SNP）（rs75073920）が認められた。同定されたSNPについて、静岡地区および大幸研究の生体試料を用いて再現性の検証を実施した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯牙喪失につながる歯周病や齲蝕をアウトカムとしたGWAS研究報告は認められるものの、分子疫学分野において歯数に関する研究報告はまだまだ少ない状況である。遺伝学的背景や環境が異なる集団での外的妥当性は不明であり、日本人を対象とした検討の必要性も増している。歯牙喪失にかかわる環境要因として、性や年齢以外に、喫煙や糖尿病罹患、精神的健康度、身体活動度など多数報告されている。様々な環境要因を含めた、歯牙喪失の遺伝子環境交互作用に関する検討は重要な意義を持つ。本研究成果は生涯を通じた口腔の健康づくりに資するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In the Japan Multi-Institutional Collaborative Cohort Study (J-MICC Study), participants aged 35-69 years provided biological samples and lifestyle data after giving informed consent. The GWAS data analysis was performed on 3,074 participants from the Shizuoka area, the Daiko study, and the Kyoto field of the J-MICC study with no missing data on tooth number. Several factors such as age, sex, BMI, smoking, and education were considered as adjustment variables. The significance level was set at 5×10^{-8} . One single nucleotide polymorphism (SNP) (rs75073920) was identified that reached the genome-wide significance level. The reproducibility of the identified SNP was verified using samples from the Shizuoka area and the Daiko study.

研究分野：疫学

キーワード：歯数 ゲノムワイド関連解析

1. 研究開始当初の背景

2000年以降、Biobank Japan や東北メディカルメガバンクなどの大規模なバイオバンク立ち上げと歩を同じくして、本邦では DNA を含む生体試料の収集やそれらを用いた遺伝子解析が活発に行われるようになってきている。遺伝子解析手法のひとつであるゲノムワイド関連解析 (Genome Wide Association Study: GWAS) は、ゲノム全体をほぼ網羅するような、50 万個以上の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) の遺伝子型を決定し、主として SNP の頻度と疾患や量的形質との関連を統計的に調べるものである。

永久歯の喪失原因として、主に齲蝕や歯周病の進展や外傷による抜歯が考えられる。全国の日本歯科医師会会員を対象とした調査から、永久歯の抜歯原因が歯周病 (42%)、齲蝕 (32%)、破折 (11%) の順であることが示されている。また、歯周病による抜歯の占める割合が増加傾向にあることも指摘されている¹⁾。

これまでの双子研究より、歯周病や齲蝕の遺伝率はおよそ 50%であることが示されている²⁾。歯周病の候補遺伝子として、サイトカインによる炎症反応、自己免疫、細胞表層の受容体などの検討が進められてきた。これまで GWAS を用いた研究論文が出版されているが、一致した結論は得られていない。齲蝕についても、歯の形成や唾液、免疫応答等の候補遺伝子の検討が進められているものの、十分なエビデンスが得られているとは言い難い。不一致の理由として、人種や集団の違い、統計学的なパワー不足などが背景にあることが推察される。ゲノム医療の急速な発展と拡大に伴い、口腔疾患や口腔状態に関して、とりわけ日本人を含むアジア人を対象とした、分子疫学研究的蓄積が求められている。

2. 研究の目的

歯牙喪失につながる歯周病や齲蝕をアウトカムとした GWAS 研究報告は散見されるものの、歯牙喪失に着目した報告は認められていない。歯牙喪失にかかわる環境要因として、年齢や性以外に、喫煙や糖尿病罹患、精神的健康度、身体活動度など多数報告されている。様々な環境要因を含めた、歯牙喪失の遺伝子環境交互作用に関する検討は、これから取り組むべき重要な課題と考えられる。本研究の目的は、歯牙喪失に係る遺伝的要因の探索ならびに検証を行い、遺伝子環境交互作用を明らかにすることである。

3. 研究の方法

日本多施設共同コホート研究 (J-MICC 研究) 静岡地区、大幸研究、京都フィールドで収集されたデータと生体試料を使用して、歯数をアウトカムとした GWAS データ解析を実施した。J-MICC 研究はゲノムコホート研究として 2005 年に開始された。全国 14 研究機関の共同研究であり、10 万名の参加者が登録されている。インフォームドコンセントを行った上で、35 ~ 69 歳の研究参加者が生体試料や生活習慣や健康状態等のデータを提供した。

静岡地区 (人間ドック受診者を対象) では 2006 年から 2008 年、大幸研究 (名古屋市住民を対象) では 2008 年から 2011 年、京都フィールド (地域住民、職域を対象) は 2008 年から 2015 年にかけて、ベースライン調査が実施された。3 地区合計 17,000 名の登録者に対して、共通のプロトコルに従ってアンケート調査 (生活習慣、病歴、薬の服用など) や生体試料収集が行われ、追跡調査が継続されている。さらに、3 地区では歯科関連情報が収集されている。

GWAS データセット作成のプロセスは以下の通りである。J-MICC 研究が行われた 12 地域

から無作為抽出した 14,539 名の試料を GWAS 遺伝子型判定に使用した。DNA は BioRobot M48 Workstation(QIAGEN)を用いてバフィーコートから抽出した。ジェノタイピングは、Illumina OmniExpressExome Array (Illumina, San Diego, CA, USA) を用いて、理化学研究所により 964,193SNPs に対して行われた。14,091 サンプルがサンプル単位の遺伝子型コール率基準 (> 0.99)を満した。遺伝子型コール率が 0.98 未満、および/または Hardy-Weinberg 平衡の正確検定 p 値が 1×10^{-6} 未満、マイナーアレル頻度が 0.01 未満、または 1000 Genomes Phase 3 EAS(東アジア)サンプルから計算したアレル頻度と異なる SNP は除外された。QC フィルタリングの結果、14,091 名、570,162SNPs が得られた。

サンプルの品質チェックとして、IBD(identity by descent)の割合が 0.1875 を超える参加者、主成分分析の外れ値、研究同意を撤回した参加者を除外し、14,083 名の分析対象者を得た。1000 ゲノムプロジェクト国際標準パネル(フェーズ 3)に基づき、SHAPEIT Version 2 および IMPUTE2 ソフトウェアを用いて遺伝子型のインピュテーションを実施した。

4. 研究成果

J-MICC 研究静岡地区、大幸研究、京都フィールド参加者で歯数データの欠損のない 3,074 名を対象として、GWAS データ解析を実施した。SNP データは常染色体のみの imputed data を使用した。年齢、性別、BMI、喫煙、教育歴、糖尿病などを調整因子として検討した。有意水準は 5×10^{-8} に設定した。ゲノムワイド有意水準に到達した SNP(rs75073920)が認められた。同定された SNP について、静岡地区と大幸研究の生体試料を用いて再現性の検証を実施した。

近年の当該研究分野の状況として、歯周病を中心とした GWAS 研究が多数報告されている。フィンランドの成人を対象とした GWAS 研究で 4 mm以上の歯周ポケットを持つ歯数と rs4444613 との関連($p = 1.35 \times 10^{-7}$)が認められたが、設定した有意水準には到達しなかった³⁾。また最近、口腔分野の GWAS 研究で関連が示された遺伝子型について、米国で replication study が実施されている⁴⁾。その結果から、*CLEC19A* と無歯顎と歯周ポケット 4 mm以上の歯の割合、*IL37*、*HPVC1*、*TRPS1*、*ABHD12B*、*LDLRAD4*、*TGM3*、*GRK5* と歯周ポケット 4 mm以上の歯の割合、*DAB2IP* と歯周ポケット 6 mm以上の歯の存在、*KIAA1715(LNPK)*、*ROBO2*、*RAB28*、*LINC01017*、*NELL1*、*LDLRAD4(C18orf1)*、*CRYBB2P1*と 3 mm以上のアタッチメントロスを有する歯の割合、*RUNX2*、*LAMA2*と 5 mm以上のアタッチメントロスを有する歯の割合との関連が示された。一方、遺伝子型と歯数の関連は示されなかった。

分子疫学分野において、歯数に着目した研究報告はいまだ少ない状況である。遺伝学的背景や環境が異なる集団での外的妥当性は不明であり、日本人を対象とした検討の必要性は増している。今年度中に本研究の結果を学術報告する予定である。

< 参考文献 >

1. 財団法人 8020 推進財団. 永久歯の抜歯原因調査報告書. 2005 年 3 月.
2. Chapple IL, Bouchard P, Cagetti MG, Campus G, Carra MC, Cocco F, Nibali L, Hujuel P, Laine ML, Lingstrom P, Manton DJ, Montero E, Pitts N, Rangé H, Schlueter N, Teughels W, Twetman S, Van Loveren C, Van der Weijden F, Vieira AR, Schulte AG. Interaction of lifestyle, behaviour or systemic diseases with dental caries and periodontal diseases: consensus report of group 2 of the joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal diseases. J Clin Periodontol. 2017;44 Suppl 18:S39-S51.

3. Tegelberg P, Leppilähti JM, Ylöstalo A, Tervonen T, Kettunen J, Suominen AL, Ylöstalo P. Genome-wide association study of periodontal pocketing in Finnish adults. *BMC Oral Health*. 2021;21(1):611.
4. Yang T, Cheng B, Noble JM, Reitz C, Papapanou PN. Replication of gene polymorphisms associated with periodontitis-related traits in an elderly cohort: the Washington Heights/Inwood Community Aging Project Ancillary Study of Oral Health. *J Clin Periodontol*. 2022;49(5):414-427.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Suma Shino, Naito Mariko, Wakai Kenji, et al.	4. 巻 13
2. 論文標題 Tooth loss and pneumonia mortality: A cohort study of Japanese dentists	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	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） 10.1371/journal.pone.0195813	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 Takeuchi Kenji, Naito Mariko, Kawai Sayo, et al.	4. 巻 31
2. 論文標題 Study Profile of the Japan Multi-institutional Collaborative Cohort (J-MICC) Study.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Epidemiology	6. 最初と最後の頁 660 ~ 668
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2188/jea.JE20200147	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 近藤実南, 隅谷笑里, 西村瑠美, 石津花子, 浅尾友里愛, 岩本優子, 内藤真理子.	4. 巻 54
2. 論文標題 母親のう蝕経験と子どもの早期小児う蝕の関連: システムティック・レビューによる検討.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 広大歯誌	6. 最初と最後の頁 63-68
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 濱久保晴香, 佐々木香奈栄, 西村瑠美, 鶴田圭伊子, 石上真麗, 重田茉穂, 内藤真理子.	4. 巻 54
2. 論文標題 歯周病と認知機能低下に関する文献的考察.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 広大歯誌	6. 最初と最後の頁 69-77
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Asaeda M, Nishimura R, Suma S, Tsukamoto M, Kadomatsu Y, Kubo Y, Okada R, Nagayoshi M, Tamura T, Hishida A, Takeuchi K, Wakai K, Ishizu H, Naito M.
2. 発表標題 Association of number of teeth present with nutrient intake.
3. 学会等名 The 2nd World Dysphagia Summit (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石津花子, 西村瑠美, 山田幸子, 瀬川伸広, 内堀典保, 畔柳由佳里, 宇佐美毅, 若井建志, 内藤真理子.
2. 発表標題 糖尿病既往と口腔状態および口腔保健行動や意識の関連.
3. 学会等名 第105回広島大学歯学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 隅谷笑里, 近藤実南, 西村瑠美, 石津花子, 浅尾友里愛, 岩本優子, 内藤真理子.
2. 発表標題 母親のう蝕経験と子どもの早期小児う蝕の関連: システマティック・レビューによる検討.
3. 学会等名 第80回日本公衆衛生学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 浜久保晴香, 佐々木香奈栄, 内藤真理子, 西村瑠美.
2. 発表標題 歯周病と認知機能低下の関連: システマティック・レビューによる検討.
3. 学会等名 日本歯科衛生学会第15回学術大会
4. 発表年 2020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
研究分担者	若井 建志 (Wakai Kenji) (50270989)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	
研究分担者	中枿 昌弘 (Nakatochi Masahiro) (10559983)	名古屋大学・医学系研究科(保健)・准教授 (13901)	
研究分担者	松井 大輔 (Matsui Daisuke) (20613566)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教 (24303)	
研究分担者	渡邊 功 (Watanabe Isao) (10636525)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教 (24303)	
研究分担者	三宅 達郎 (Miyake Tatsuro) (40200141)	大阪歯科大学・歯学部・教授 (34408)	
研究分担者	伊藤 博夫 (Ito Hiro-0) (40213079)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(歯学域)・教授 (16101)	

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
---------	---------