

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19592350
 研究課題名（和文） 薬物誘発性歯肉肥大の発症と血中薬物濃度および
 チトクローム P450 遺伝子多型の関連
 研究課題名（英文） Relationship among gingival overgrowth, drug concentration and
 cytochrome P450.
 研究代表者
 秋山 茂久（AKIYAMA SHIGEHISA）
 大阪大学・歯学部附属病院・准教授
 研究者番号：00283797

研究成果の概要： フェニトインは広く用いられている薬剤で、血中薬物濃度は副作用である歯肉肥大の程度に相関する。フェニトインの適正な血中薬物濃度の維持は困難で、投与量によって代謝が飽和状態となり急激な血中濃度の上昇を生じる。フェニトインはチトクローム P450（CYP）2C9 と 2C19 という酵素により肝臓で代謝されるが、これらの酵素には遺伝子多型のあることが知られている。本研究では、特に抗てんかん薬フェニトイン服用者での、歯肉肥大の重症度と血中薬物濃度を調査し、薬物代謝に関与するチトクローム酵素の遺伝子多型との関連を検討した。

その結果、PHT 投与量および血中濃度で、歯肉肥大重症度に対して正の相関関係は明確には認められなかった。これは口腔衛生状態とも密接に関係しており、血中濃度のみで重症度を予測することは困難であるが、徹底した口腔衛生管理が可能であれば、歯肉の増殖を軽度抑えることが可能であると考えられる。これに関連して、CYP2C 遺伝子多型保有者も歯肉肥大重症度に有意な相関を示さなかった。しかし CYP2C19**m*2 保有者は C/D 比が有意に高くなることから CYP2C 遺伝子多型の調査により C/D 比を予測することにより、重症度予測の指標となりうる可能性がある。

交付額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2007年度 | 1,800,000 | 540,000 | 2,340,000 |
| 2008年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,100,000 | 930,000 | 4,030,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯科・矯正・小児系歯学

キーワード：歯肉肥大、抗てんかん薬、薬物代謝、チトクローム P450、遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

薬物誘発性歯肉肥大は抗てんかん薬フェニトイン（Kimball:1939）、免疫抑制剤シクロスポリン A(1983)とカルシウム拮抗薬ニフェジピン(1984)などで誘発することが知ら

れている。障害者歯科臨床では、知的障害者の占める割合が大きく、多数が合併症として、てんかんを発症している。また臓器移植患者や、自己免疫疾患、高血圧や狭心症など、小児から高齢者に至るまで幅広い年齢層の患

者にとって、薬物誘発性歯肉肥大は重要な歯科疾患の一つになっている。

本研究では、特に抗てんかん薬フェニトイン服用者での、歯肉肥大の重症度と血中薬物濃度を調査し、薬物代謝に関与するチトクローム酵素の遺伝子多型との関連を検討する。

2. 研究の目的

フェニトインは広く用いられている薬剤で、血中薬物濃度は副作用である歯肉肥大の程度に相関する。しかしフェニトインの適正な血中薬物濃度の維持は困難で、投与量によって代謝が飽和状態となり急激な血中濃度の上昇を生じる。フェニトインはチトクローム P450 (CYP) 2C9 と 2C19 という酵素により肝臓で代謝されるが、これらの酵素には遺伝子多型のあることが知られている。遺伝子多型によってフェニトインの代謝能に大きな個体差が生じると考えられるが、これを明確に示した研究はない。本研究では、CYP の遺伝子多型とそれによる CYP 酵素活性の違い、および歯肉肥大の重症度との関連を解析する。この CYP 遺伝子を調べることによって、フェニトイン代謝能と歯肉肥大の重症度を予測できることは、てんかん患者の歯科保健の向上に重要な意義をもつ。本研究は、薬物誘発性歯肉肥大という歯科領域の疾患について、臨床統計学、遺伝学および酵素科学などの手法を用いた学際的な研究である。多方面からのアプローチによって疾患のメカニズムと臨床的パラメータの関連を明らかにし、診断法と治療法に応用することができる。

3. 研究の方法

(1) 被験者

被験者の条件 (フェニトイン服用者)

- ①抗てんかん薬フェニトインの用量が1年以上にわたり一定量であるもの。
- ②調査期間中に抗てんかん薬の種類および投与量の変化のないもの。
- ③血中薬物濃度が検査されているもの。

(2) 口腔内診査

- ・歯の状態および咬合の状態
- ・口腔衛生状態 (プラークスコア、歯石沈着の程度、歯肉の炎症)
- ・歯肉肥大の程度・歯周ポケット深さの検査

(3) 服用薬剤に関する調査項目

- ・服用抗てんかん薬の種類と1日あたりの量
- ・血中薬物濃度 (医科診療録および血液検査結果表の調査)

(4) チトクローム P450 (CYP) の遺伝子多型解析

CYP ファミリーのうち、フェニトイン代謝に関与する CYP2C9 と CYP2C19 の遺伝子多型

(SNP : Single Nucleotide Polymorphism) を解析する。

(5) CYP2C9 および CYP2C19 のフェニトイン代謝活性の測定

フェニトイン代謝に関係する CYP2C9 および CYP2C19 の遺伝子変異がフェニトイン代謝活性に及ぼす影響を酵素科学的に解析する。ヒトの肝臓から全ての CYP 酵素を得ることは非常に困難であるため、大腸菌を用いて発現させた CYP を用いて酵素活性を測定する。

4. 研究成果

フェニトインの血中薬物濃度は副作用である歯肉肥大の程度に相関するとされる。我々も、この関係はラットを用いた動物実験で証明している。臨床においてフェニトインの適正な血中薬物濃度の維持は困難で、投与量によって代謝が飽和状態となり急激な血中濃度の上昇を生じることが知られている。

チトクローム P450 (CYP) は肝臓で薬物代謝酵素としての役割を果たしている。この酵素はいくつか種類があり、脂溶性薬物の水溶性を高めることで排泄を促す作用がある。遺伝子の一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphism : SNP) によりその酵素活性に影響が及ぶ。薬剤の効果および副作用には個人差が存在するが、この原因の一つとして CYP 遺伝子の多型性がある。この多型による代謝活性欠損者 (Poor Metabolizer) は、常用量の薬剤量でも副作用が現れることになる。

フェニトインの主要な代謝酵素は CYP2C9 であり、その他に CYP2C19 が代謝に関与していることが分かっている。それぞれの遺伝子多型はその酵素活性が低くなることから薬物の血中濃度が高く保たれることが考えられている。CYP の遺伝子型を調べることは、歯肉肥大発症のリスクの高い人の予測ができる。これはフェニトイン服用前の歯周治療により歯肉肥大の発症を最小限に抑える可能性があり、発症臨床上有用であると考えられる。

CYP の遺伝子多型によりフェニトイン代謝能の個体差が生じると考えられることから、CYP の遺伝子多型と歯肉肥大の重症度との関連を解析した。

(1) CYP2C 遺伝子多型の解析

フェニトイン服用者 27 名を対象とし、頬粘膜細胞をスワブで採取し、細胞 DNA を抽出した。採取した DNA サンプルを Goldstein(2001)らの方法により PCR-RFLP 法を用い多型解析を行った。

①CYP2C9 遺伝子多型の解析結果

CYP2C9 遺伝子には 24 種の多型 (CYP2C9*1 ~ CYP2C9*24) が報告されているが、日本人において臨床的意義が明らかになっている変異

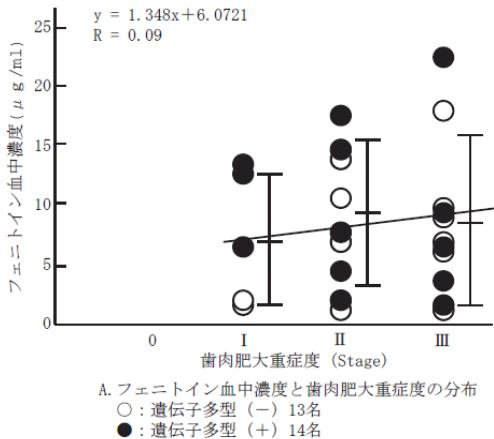
は *CYP2C9**3のみとされている。
 今回の検索では、フェニトイン服用者 27 人の全員が *CYP2C9**1 遺伝子を保有しており、*CYP2C9*によるフェニトイン代謝に異常を示すものはないと考えられた。

②*CYP2C19* 遺伝子多型の解析結果
 日本人の *CYP2C19* 遺伝子多型は *CYP2C19m1*(*2A)と *CYP2C19m2*(*3)の 2 つの一塩基多形で表現型が示される。2 つの変異の対立遺伝子の組み合わせにより酵素活性型 (phenotype) が決定される。つまり、野生型 (wild type: wt) のホモタイプ*1/*1 が正常な活性を示す個体 (extensive metabolizer: EM), *2A/*2A, *2A/*3, *3/*3 が酵素欠損者 (poor metabolizer: PM) となり, *1/*2A, *1/*3 は PM と EM の中間活性を示す個体 (intermediate metabolizer: IM) とされる (28)。

今回の調査では、フェニトイン服用者 27 人のうち、遺伝子多型保有者は 14 人 (51.9%) であった。*CYP2C19* 遺伝子多型分布では、正常活性を示す wt/wt が 13 人, wt/m1 が 9 人, wt/m2 が 3 人, m1/m1 と m1/m2 がそれぞれ 1 人, m2/m2 はいなかった。

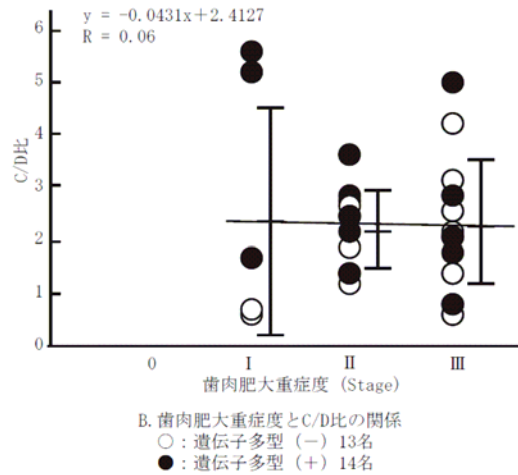
(2) フェニトイン血中濃度と歯肉肥大の関連

図 A にフェニトイン血中濃度と歯肉肥大重症度の関係を示す。



フェニトインの血中濃度と歯肉肥大重症度との間には歯肉肥大に重症度が高いほど血中濃度が高い傾向がみられたが、統計学的に有意な相関ではなかった。

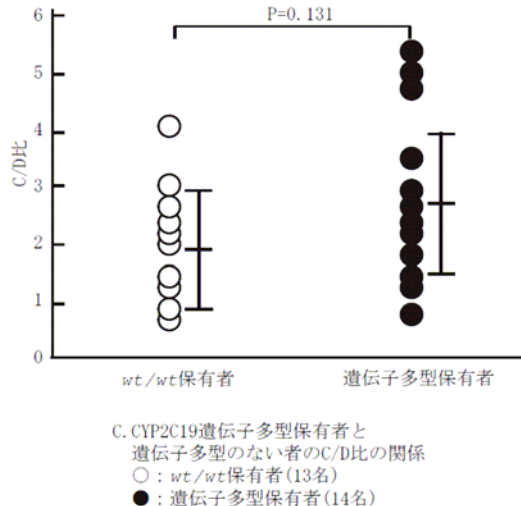
図 B に歯肉肥大重症度と C/D 比 (血中濃度/服用量) の関係を示す。歯肉肥大重症度と C/D 比においても有意な相関はみられなかった。



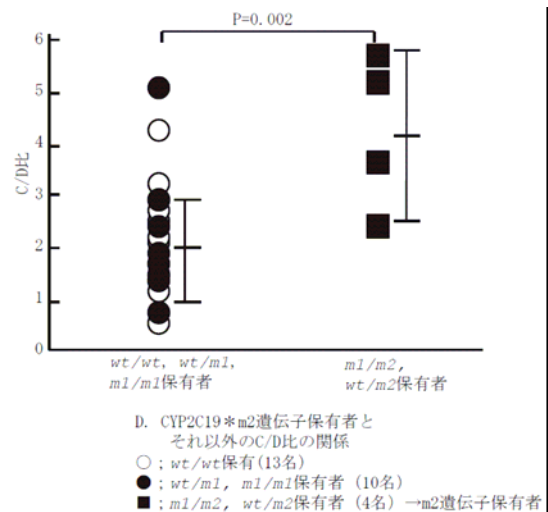
(3) *CYP* 遺伝子多型と歯肉肥大の関係

図 C に *CYP2C19* 遺伝子多型の保有とフェニトインの C/D 比の関係を示す。遺伝子多型保有者において C/D 比がやや高い傾向がみられたが、統計学的な有意差はみられなかった。

図 D に *CYP2C19* 遺伝子多型のうち wt/m2 と



m1/m2 の保有とフェニトインの C/D 比の関係を示す。



CYP2C19m2 遺伝子保有者では他のものに比べて有意に高いフェニトインの C/D 比を示した。

CYP2C 遺伝子多型保有者は歯肉肥大重症度に有意な違いを示さなかったが、C/D 比 (PHT 血中濃度と服用量の比) が有意に高いことが分かった。これは CYP2C 遺伝子多型の調査により C/D 比を予測できることを示している。これにより歯肉肥大発症の指標の一つとなる可能性を示唆しており、さらに多くのサンプル解析により、明確なデータを示せる可能性がある。障害者では多剤多量の薬物を服用することが多く、薬物の相互作用または副作用は大きな問題であり、薬物代謝遺伝子多型は他の歯科疾患とも関係すると考えられ、歯科保健の向上に重要な意義をもつ。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

① Terao Y, Isoda R, Murakami J, Hamada S, Kawabata S. Molecular and biological characterization of gtf regulation-associated genes in *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiology Immunology* 2009; 24, 211-217.

② Amano A, Murakami J, Akiyama S, Morisaki I. Etiologic factors of early-onset periodontal disease in Down syndrome. *Japanese Dental Science Review* 2008;44, 118-127.

③ Murakami J, Kato T, Kawai S, Akiyama S, Amano A, Morisaki I. Cellular motility of Down syndrome gingival fibroblasts is susceptible to impairment by *Porphyromonas gingivalis* invasion. *J Periodontol* 2008;79(4), 721-727.

④ Murakami J, Morisaki I, Ochiai. TT, Akiyama S, Amano A, Friedman CS. Extensive dental caries in unerupted permanent teeth of a disabled child with phenytoin-induced gingival overgrowth. *J Disability and Oral Health* 2008;9(1), 13-16.

⑤ Ohno T, Okahashi N, Morisaki I, Amano A. Signaling pathways in osteoblast proinflammatory responses to infection by *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol* 2008;23(2), 96-104.

[学会発表] (計 12 件)

① Akiyama S, Morisaki I, Murakami J. Phenytoin-induced gingival overgrowth: relationship among clinical feature, periodontal bacteria and drug metabolizing enzyme. 2008/10/28-31. 19th congress of the International Association of Disability and Oral Health, Santos/SP, Brazil.

② 村上旬平, 福留麗実, 和田精久, 秋山茂久, 森崎市治郎. *Streptococcus mutans* バイオフィルム形成における酸化チタン光触媒の役割. 第 27 回日本小児歯科学会近畿地方大会, 2008/10/19, 大阪. *小児歯科学雑誌* 47 巻 1 号: 172-173.

③ 村上旬平, 木村敬次リチャード, 堤香奈子, 竹内洋輝, 天野敦雄, 秋山茂久, 森崎市治郎. ダウン症候群歯肉上皮細胞の SV40 largeT 抗原導入による長期培養可能株の作製. 第 25 回日本障害者歯科学会, 2008/10/10-11, 東京. *障害者歯科* 29 巻 3 号: 346.

④ 加藤隆大, 上田甲寅, 竹内洋輝, 森崎市治郎, 天野敦雄. フェニトイン誘発性歯肉肥大の増悪に及ぼす *Porphyromonas gingivalis* 感染の影響. 第 25 回日本障害者歯科学会, 2008/10/10-11, 東京. *障害者歯科* 29 巻 3 号: 350.

⑤ 秋山茂久, 村上旬平, 堤香奈子, 福留麗実, 松木響子, 安田美貴子, 河合峰雄, 森崎市治郎. 障害者の Tooth wear の実態と要因に関する調査. 第 25 回日本障害者歯科学会, 2008/10/10-11, 東京. *障害者歯科* 29 巻 3 号: 559.

⑥ 薦田智, 小笠原正, 緒方克也, 坪井信二, 福田理, 上地智博, 江草正彦, 大塚義顕, 永田豊, 柿木保明, 加納美穂子, 玄景華, 重枝昭広, 服部清, 藤本誠, 三浦誠, 妻鹿純一, 森崎市治郎. 障害者における口腔の加齢的延長. 第 25 回日本障害者歯科学会, 2008/10/10-11, 東京. *障害者歯科* 29 巻 3 号: 564.

⑦ Murakami J, Fukutome R, Tsutsumi K, Matsuki K, Akiyama S, Morisaki I. Results of questionnaire survey on behavior guidance using a visual tool in special care dentistry. 2008/9/28-29. The Fourth Sino-Japanese Conference on Stomatology, Xi'an, China.

⑧ Morisaki I, Akiyama S, Murakami J, Kimura KR, Takada Y, Tanaka K. Experiences of general anesthesia as behavior management for dental patients with special needs at University Dental Hospital. 2008/4/26. 2008 spring congress of Korean Association for Disability and Oral Health, Seoul, Korea.

⑨ Matsuki K, Murakami J, Tanaka K, Kimura KR, Akiyama S, Morisaki I. Removal oral appliance holding a suction catheter for patient with severe developmental disabilities and sialorrhea - a case report. 2007/12/15-16. The international conference of oral care for people with disabilities Taipei Taiwan 2007, Taipei, Taiwan.

⑩ 村上旬平, 松木響子, 田中健司, 和田精久,

牧野仁志, 秋山茂久, 森崎市治郎. 太陽電池を付与した酸化チタン光触媒のバイオフィルム除去効果. 第24回日本障害者歯科学会, 2007/10/20-21, 長崎. 障害者歯科 28巻3号: 432.

⑪天野敦雄, 稲葉裕明, 加藤隆大, 竹内洋輝, 秋山茂久, 森崎市治郎. ビール・ホップポリフェノールによる歯周炎症の抑制. 第24回日本障害者歯科学会, 2007/10/20-21, 長崎. 障害者歯科 28巻3号: 431.

⑫加藤隆大, 稲葉裕明, 竹内洋輝, 森崎市治郎, 天野敦雄. 歯肉肥大発症因子のDNAマイクロアレイ解析. 第24回日本障害者歯科学会, 2007/10/20-21, 長崎. 障害者歯科 28巻3号: 254.

[図書] (計 1件)

①秋山茂久, 村上旬平, 木村敬次リチャード, 森崎市治郎. 生命歯科医学のカッティング・エッジ. (第2章 口腔微生物感染とその防御 抗てんかん薬誘発性歯肉肥大の発症メカニズムの解明 pp120-129). 米田俊之編. 総289ページ. 大阪大学出版会. 2008年3月.

[その他]

<http://www.dent.osaka-u.ac.jp/~disabl/research.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秋山 茂久 (AKIYAMA SHIGEHISA)
大阪大学・歯学部附属病院・准教授
研究者番号: 00283797

(2) 研究分担者

森崎 市治郎 (MORISAKI ICHIJIRO)
大阪大学・歯学部附属病院・教授
研究者番号: 30116115
村上 旬平 (MURAKAMI JUMPEI)
大阪大学・歯学部附属病院・助教
研究者番号: 70362689

(3) 連携研究者

なし