

平成 21年 5 月 18日現在

研究種目：基盤研究 (C)
研究期間：2007 年度～2008 年度
課題番号：19592385
研究課題名 (和文) 早産への歯周炎の関与を解明する遺伝子学的研究
研究課題名 (英文) Polymorphisms for immunoregulatory genes in women with preterm birth and periodontitis
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

研究成果の概要：

近年、妊婦の歯周病と早産の関連性が多く報告されているが、関連がないという報告もある。そこで本研究では、日本人妊婦で免疫や炎症に関わる遺伝子型 22 種と歯周炎および早産の関係を解析した。その結果、早産と歯周病あるいは遺伝子型の間には単独での関連性は見られなかったが、多変量ロジスティック回帰分析で歯周病と遺伝子型が関与するモデルが得られた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
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：歯周病、産科学、ゲノム、遺伝子型、サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

1996 年の Offenbacher の報告以来、妊婦の歯周病と低体重児早産が関連性を示すという報告が多数挙がっているが、否定的な報告もある。歯周病は歯周病原細菌による歯周組織局所の慢性炎症であるが、従来、歯周病患者においては歯周病原細菌そのものが少なくとも一過性に血流中に存在すること、また、歯周病原細菌に対する宿主の免疫反応・炎症反応の結果生じたサイトカインや抗体の濃度が血中で上昇していることが報告されている。また、最近のいくつかの論文では、ヒトの胎盤において歯周病原細菌そのものが検出されている例もある。したがって、歯周

病を有する妊婦において、歯周病原細菌感染が直接的あるいは間接的に炎症性サイトカインの産生を促し、その結果生じたプロスタグランジンなどにより子宮収縮が促進され、早産につながるがあると推測されている。

一方、我々はこれまでに多数の免疫・炎症関連遺伝子型と歯周炎の発症あるいは進行とが、統計学的に有意な関連性を有することを報告してきた。

そこで、妊婦の免疫・炎症関連遺伝子型を調べることによって、歯周病と早産の関係を、より明確にできるとともに、早産のリスク診断に寄与できると考え、本研究の発想に至っ

たものである。

2. 研究の目的

日本人妊婦において歯周病と早産あるいは妊娠高血圧症などとの関連を調べること、および免疫・炎症関連遺伝子型とそれらの関連を調べることである。

3. 研究の方法

新潟大学医歯学総合病院産科に来院した妊婦のうち研究への参加に同意を得られた人のみを対象とした。

まずはじめに妊娠 14 週以前の母体血清について抗 *Porphyromonas gingivalis* 40kDa OMP IgG1 抗体価および TNF-alpha 濃度および高感度 CRP 濃度を測定し、正常産と早産群で比較した。

次いで、妊娠予後を悪化させる主要な要因のひとつである妊娠高血圧症候群と、母体の歯周病の有無および口腔内の歯周病原細菌との関連を調べた。

最後に、妊婦より採血して 22 種の免疫関連遺伝子型を決定し、一方、分娩後 5 日以内に歯周組織検査および口腔内の歯周病原細菌検査を行い、それらの結果と早産との関連性を調べた。

4. 研究成果

妊娠初期の母体血清と早産の関係を調べた系では、正常産群と比較して早産妊婦血清では抗 *Porphyromonas gingivalis* 40kDa OMP IgG1 抗体価が低い傾向があった。また、絨毛膜羊膜炎を認めた早産症例では、正常産群および絨毛膜羊膜炎なしあるいは絨毛膜羊膜炎軽度の場合と比較して、上記の抗体価が、統計学的有為に低かった。血清 TNF-alpha 濃度および CRP 濃度はともに早産群で正常産群より有為に高かった。これらのことから、妊娠初期に歯周病原細菌が存在し、かつ母体の抗体産生が低い場合に、サイトカイン産生を介して早産を誘発させる可能性があると考えられる。

次いで、妊娠高血圧症候群と母体の歯周病あるいは口腔内の歯周病原細菌との関係を調べた結果であるが、妊娠高血圧ではない妊婦に比較して、早発型の妊娠高血圧の妊婦では、口腔内において *Prevotella intermedia* および *Porphyromonas gingivalis* の数が有為が多かった。この結果は、これらの歯周病原細菌が妊娠高血圧症候群の発症に関連する、もしくはリスク因子となっている可能性を示唆しているかもしれない。

最後に、日本人妊婦の免疫・炎症関連遺伝子型と歯周病およびあるいは早産との関連性について検索した。その結果、早産群と正常産群との比較において、歯周炎の有無と程

度に統計学的に有為な差は見られなかった。また、早産と臨床パラメーター、あるいは口腔内の 4 種の歯周病原細菌の存在、あるいは 22 種の免疫関連遺伝子型との関連性を、それぞれ独立にカイ 2 乗検定で解析した結果、妊婦の年齢が比較的若いこと (33 歳未満) 以外には、単独で早産に関連性を示した因子は認められなかった。しかし、これらの変量と早産について多重ロジスティック回帰分析を行ったところ、有為な適合性を有するモデルが得られ、そのモデルの中では、妊婦の年齢、IL-6(-572)G/C 遺伝子型および、FccR(+56)T/C 遺伝子型、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* の数が、早産と関連性を有するという結果が得られた。

これらの結果をまとめると、

(1) 早産と歯周病と遺伝子型との間にそれぞれ単独での関連性は認められなかった。したがってこれらの関連性がもともとないか、あるとしても弱いものであるか、ある条件下 (たとえば、より重度の歯周炎の場合) でのみ関連性を示すか、いずれかであろう。

(2) しかし、単純なカイ 2 乗検定ではなく、交絡因子の影響を取り除くことのできる多変量ロジスティック回帰分析を用いることにより、歯周炎のパラメーターおよび免疫関連遺伝子型の両方を因子として含み、早産リスクを予想するモデルが得られた。

(3) 本研究のように、環境因子と遺伝的因子の両方の多変量を含む適切なモデルを使って早産のリスクを予測することは有用であると考えられる。

表 1 早産群と正常産群の臨床パラメーターおよび細菌検査結果の比較

	早産(n=51)	正常産(n=71)
年齢 ^a	30.00[19-40]	33.28[19-43]
喫煙	17	20
初産者	26	38
子宮収縮抑制	30	17
BOP(%)	15.72±19.65	12.13±13.54
PD(mm)	2.39±0.44	2.43±0.33
CAL(mm)	2.42±0.42	2.49±0.33
歯周炎あり	32	49
PCR (%)	28.12±22.49	33.00±19.42
細菌検査		

細菌数(log)	5.86±0.73	5.86±0.65
log Pg*	1.35±1.78	1.26±1.51
log Pi*	1.15±1.55	0.94±0.98
log Tf*	3.41±1.23	3.19±1.20
log Aa*	0.88±1.20	0.61±0.89

平均値±SD.

* $P=0.007$ (Mann-Whitney U -test).

他、有為差なし

表 2 早産と臨床パラメーターあるいは遺伝子型との関連性のカイ 2 乗検定

遺伝子型	χ^2	P value
年齢<33y	5.271	0.022
喫煙	0.375	0.541
歯周炎 (+)	0.523	0.470
BOP(+)>15%	0.002	0.964
Plaque control record<20%	2.251	0.134
Pg (+)	0.343	0.558
Pi (+)	0.003	0.958
Tf (+)	0.287	0.593
Aa (+)	2.329	0.127
IL-1A (+4845) G/T	0.003	0.955
IL-1B (-31) C/T	0.710	0.701
IL-1B (+3954) C/T	3.127	0.077
IL-1RA (+2018) T/C	0.843	0.359
TNFA (-863) C/A	1.302	0.522
TNFA (-857) C/T	2.058	0.358
IL-6 (-572) G/C	1.797	0.407
IL-2 (-330) T/G	0.764	0.683
IL-4 (-590) C/T	0.244	0.885
IL-4 (-34) C/T	0.244	0.885
IL-10 (-1087) G/A	1.287	0.525
IL-10 (-824) C/T	2.249	0.325
Fc γ RIIA R131H (G/A)	0.428	0.807
Fc γ RIIIA V158F (G/T)	1.501	0.472
Fc γ RIIIB (NA1NA2)	0.540	0.763

Fc γ RIIB (695) T/C	2.486	0.289
Fc γ RIIB (646-185) A/G	0.534	0.465
Fc α R (+324) A/G	1.591	0.451
Fc α R (+56) T/C	4.215	0.122
TNFR1 (-383) A/C	<0.001	0.992
TNFR2 (+587) T/G	0.116	0.117
TNFR2 (+694) G/A	1.035	0.596

表 3 早産に関連する多変量ロジスティック回帰分析

変量	Estimate	P	Odds
年齢	-0.09	0.018	0.92(0.85-0.99)
喫煙	-0.11	0.811	0.90(0.37-2.17)
CAL	1.49	0.760	1.19(0.39-3.69)
PCR%	-0.02	0.081	0.98(0.96-1.00)
BOP%	0.03	0.107	1.03(0.10-1.06)
log Aa	0.49	0.021	1.63(1.08-2.48)
IL-6 (-572) G/C	0.86	0.013	2.35(1.20-4.64)
Fc α R (+56) T/C	0.78	0.012	2.19(1.19-4.04)

表 2 より $P<0.5$ の変量を投入

Backward stepwise method.

強制投入, : 喫煙, CAL and BOP%.

モデルの適合度: $P=0.001$.

表 4 早産群と正期産群の IL-6 (-572) G/C および Fc α R (+56) T/C 遺伝子型分布

遺伝子型	早産 (n=51)	正期産 (n=71)
IL-6 (-572) G/G	2 (3.9)	6 (8.5)
G/C	20 (39.2)	32 (45.1)
C/C	29 (56.9)	33 (46.6)
Fc α R (+56) T/T	13 (25.5)	9 (12.7)
T/C	24 (47.1)	33 (46.5)
C/C	14 (27.4)	29 (40.8)

人数 (%) .

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2件)

① Sasahara J, Kikuchi A, Takakuwa K, Sugita N, 他3名. Antibody responses to *Porphyromonas gingivalis* puter membrane protein in the first trimester. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2009, in press, 査読あり.

② Sugita N, Kobayashi T, Kikuchi A, 他5名. Polymorphisms for immunoregulatory genes in women with preterm birth and periodontitis. 2009, *International Journal of Immunogenetics* に投稿中, 査読あり.

[学会発表] (計6件)

① 杉田典子、早産リスク因子としての歯周炎と免疫関連遺伝子多型の影響. 平成21年5月15日、日本歯周病学会春季学術大会、岡山市.

② 平野絵美, 杉田典子、他5名、妊婦における PPAR γ Pro12Ala 多型が歯周病と早産に及ぼす影響. 平成20年10月19日、日本歯周病学会秋季学術大会、四日市市.

③ 杉田典子、SNPs associated with preterm birth and periodontal disease. 平成20年9月11日、国際歯科研究学会ヨーロッパ部会、英国、ロンドン.

④ 杉田典子、Preterm birth with chorioamnionitis and antibody response against *Porphyromonas gingivalis*. 平成19年9月28日、国際歯科研究学会ヨーロッパ部会、ギリシャ.

⑤ 杉田典子、母体の歯周病原細菌と妊娠高血圧症候群の関連性、平成19年9月21日、日本歯周病学会秋季学術大会、東京.

⑥ 杉田典子、母体血清中の *Porphyromonas gingivalis* 抗体価, TNF α , CRP 濃度と早産の関連性、平成19年5月18日、日本歯周病学会春季学術大会、横須賀市.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

なし

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)研究分担者

なし

(3)連携研究者

菊池 朗

新潟大学・医歯学総合病院・講師

研究者番号：30293228