

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 18 日現在

機関番号：32710

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22792071

研究課題名（和文） 齲蝕発症リスク評価法の確立と臨床応用

研究課題名（英文） The establishment of diagnostic method for caries risk and the clinical application

研究代表者

太田増美 (OHTA MASUMI)

鶴見大学・歯学部・助教

研究者番号：40410047

研究成果の概要（和文）：

本研究の目的は高齲蝕感受性と低齲蝕感受性を有する患児における *KCNJ12* と *STIMI* 遺伝子の SNPs のスクリーンをすることであった。我々は *KCNJ12* と *STIMI* 遺伝子の SNPs が齲蝕感受性遺伝子と関連があるか調査した。被験者は5～6歳の小児計103人とした。*S. mutans*（-）グループでは chi-square 検定により *KCNJ12* の rs4985866 SNP と齲蝕感受性の有意な関連が認められた。この研究から *STIMI* の rs3813880 SNP と rs3750996 SNP においては齲蝕感受性と関連が認められず、*KCNJ12* の rs4985866 SNP は齲蝕感受性にかかわる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The objective of this study was to screen for single nucleotide polymorphisms (SNPs) in genes coding *KCNJ12* and *STIMI*, in patients with severe caries and in low caries susceptibility individuals. We investigated whether SNPs in both *KCNJ12* and *STIMI* genes are associated with the caries susceptibility. Cases were 103 children ages 5-6 yrs. Statistical analysis based on Chi-square test revealed a significant association of the rs4985866 SNP of *KCNJ12* with susceptibility to caries in low-*S. mutans* group. Within the limitations of this study, rs3813880 SNP and rs3750996 SNP of *STIMI* seem to be negatively associated, while rs4985866 SNP of *KCNJ12* is associated with caries susceptibility.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	820,000	3,640,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：齲蝕感受性、SNPs 解析、生活習慣病、遺伝子検査

### 1. 研究開始当初の背景

齲蝕発症は歯と唾液に代表される宿主、細菌、食餌の3つの主要因と時間の相互作用による多因子疾患である。近年、齲蝕は生活習慣に起因するコントロール可能な疾患と考えられるようになった。そこで疾病予防に対する患児および保護者の意識を高めることは重要である。さらに、疾病予防プログラムも各個人に対応したオーダーメイド歯科医療が求められる。このような観点から、遺伝子検査としての齲蝕発症に対するリスク診断法を確立するため齲蝕感受性に関わる候補遺伝子の特定を進めている。

宿主を標的にした研究としては齲蝕症と主要組織適合抗原 (HLA-DR) との関連について報告されている。一方、疾患モデルマウスを用いた分子遺伝学的研究では、齲蝕感受性マウスと齲蝕低抗性マウスの確立により齲蝕発症に遺伝的要因が関与していることが示唆され、齲蝕感受性に関与する遺伝子の存在する候補染色体が報告されている。ヒトにおいても高齲蝕感受性と低齲蝕感受性に関与する候補染色体領域が報告され始めている。

### 2. 研究の目的

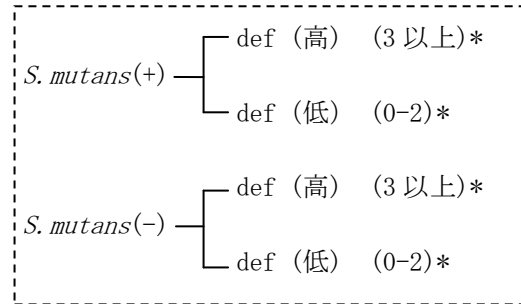
近交系マウスの交配実験から初期齲蝕感受性に関与する候補遺伝子が染色体3, 7, 8, 11, 16, 17番の6つの特定領域に存在していることを報告し、さらに数個の候補遺伝子の絞込みに成功している。そこで動物モデルで同定された候補遺伝子がヒトの齲蝕感受性をコントロールする主要遺伝子と成り得るか否か、そして最終候補遺伝子におけるSingle nucleotide polymorphism (SNP) が、齲蝕発症に関わる危険因子と成り得るのか否かを検討した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 被験者

本研究について説明し、文書による同意を得られた鶴見大学小児歯科外来を受診した小児と横浜市内の幼稚園に通園している5~6歳の小児、計103名とした。なお、本研究は鶴見大学歯学部倫理審査委員会の承認を得ている(承認番号: 704)。

(2) *S. mutans*の有無と def 歯数評価  
各被験者からDentcult SM (Oral care)による *S. mutans*の有無と口腔内診査による def 歯数を判定した。



\* def 歯数の判定基準は *J Dent Res* 87 (5) :435-439, 2008 に準じた方法で行った。

#### (3) 口腔内上皮細胞の採取

滅菌した綿棒あるいはOmniSwab (Whatman Inc, Piscataway, NJ, USA) を用いて被験者の口腔内、頬内側の上皮細胞を採取した。

#### (4) ゲノム DNA の抽出

綿棒の綿球部あるいはOmniSwab 繊維部をマイクロチューブ(1.5 ml)に入れ、水酸化ナトリウム水溶液(0.2 M) 20 μL を綿球部あるいは繊維部に浸潤させた後ドライバスを用いて75°Cで10分間加熱した。この後、180 μL の緩衝液(40 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA pH 6.5)を加えて中和させると同時にゲノムDNAを抽出した。マイクロチューブをVortex Mixerを用いて1分間攪拌したのち、7000 gで5分間遠心して上澄みをゲノムDNA水溶液とした。

#### (5) Single Nucleotide Polymorphism (SNP) タイピング

齲蝕感受性候補遺伝子 *KCNJ12* (potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 12 : 17p11.2) の SNP(rs4985866) 及び *STIMI* (stromal interaction molecule1 : 11p15.5) の SNP(rs3813880, rs75185880, rs3750996) についての各アレルの存在を、TaqMan SNP Genotyping Assay System (Applied Biosystems, Foster City CA.) を用いて検出した。

(6) 統計解析

各遺伝子型と齶蝕経験(def)との相関分析はχ<sup>2</sup>自乗検定(chi-square 検定)を用いて行った。

4. 研究成果

*S. mutans* の存在する群としない群の中で def の高値(3以上)と低値(0~2)との2群に分け、各遺伝子型と齶蝕経験との相関分析を行った。その結果、*KCNJ12* の SNP(rs4985866)において *S. mutans* の存在しない群で有意差が認められた(P<0.05)。さらに、齶蝕が多い人に A/A が多い傾向が、齶蝕が少ない人に A/G が多い傾向が認められた。また、*STIMI* の3つの SNP において rs75185880 では多型はみられず、rs3813880、rs3750996 において有意差は認められなかった(P>0.05 表 1)。

表 1 def スコアに対する *KCNJ12* と *STIMI* 多型の評価

候補遺伝子	齶蝕経験	遺伝子型		
<i>KCNJ12</i> (rs4985866)	<i>S. mutans</i> (+)	AA	AG	GG
	def<3	0	13	0
	def≥3	3	29	0
	P-value	0.253		
<i>STIMI</i> (rs3813880)	<i>S. mutans</i> (-)	AA	AG	GG
	def<3	1	46	0
	def≥3	2	7	0
	P-value	0.0142*		
<i>STIMI</i> (rs3750996)	<i>S. mutans</i> (+)	TT	GT	GG
	def<3	1	7	3
	def≥3	5	20	7
	P-value	0.837		
<i>STIMI</i> (rs75185880)	<i>S. mutans</i> (-)	TT	GT	GG
	def<3	11	27	10
	def≥3	3	4	2
	P-value	0.764		

<i>STIMI</i> (rs3750996)	<i>S. mutans</i> (+)	CC	TC	TT
def<3	0	2	8	
def≥3	0	6	20	
P-value	0.735			
<i>STIMI</i> (rs75185880)	<i>S. mutans</i> (-)	CC	TC	TT
def<3	0	13	34	
def≥3	0	2	7	
P-value	0.803			

P<0.05\*

過去に我々はマウスにおける齶蝕感受性に関与する候補遺伝子は染色体7、11番の特定領域に存在し、さらに染色体11番の *KCNJ12* が主要遺伝子の1つである可能性について報告している。今回、ヒトにおいて候補染色体領域に存在し、マウスと相同性をもつ候補遺伝子 *KCNJ12*、*STIMI* の SNPs 解析を行ったところ、*KCNJ12* の SNP(rs4985866)で有意差が認められた。このことより *KCNJ12* の SNP(rs4985866)が齶蝕感受性にかかわる危険因子となる可能性が示唆された。

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)

[学会発表] (計 1件)

太田増美、船山ひろみ、田島格、加藤靖隆、澤屋敷沙織、平山展大、朝田芳信、小児における齶蝕感受性候補遺伝子のSNPs解析、第49回日本小児歯科学会大会、2011,11,28-29、岩手県民情報交流センター

6. 研究組織

(1) 研究代表者

太田 増美 (OHTA MASUMI)

鶴見大学・歯学部・助教

研究者番号：40410047

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし