

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390470

研究課題名(和文)脂質・糖・骨代謝異常と歯周病との共通遺伝子・修飾要因の解明および疾患モデルの構築

研究課題名(英文)Elucidation of common gene polymorphisms and confounding factors for fat / glucose / bone metabolism disorders and periodontal disease, and construct a disorder model

研究代表者

葭原 明弘 (Yoshihara, Akihiro)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：50201033

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 9,900,000円

研究成果の概要(和文)：閉経後の女性を対象に、ADRB、PPARgamma、およびIL-6-572には歯周病との間に相互作用があるか評価した。歯周病マーカーを従属変数に、遺伝子多型および関連要因と共に独立変数に設定しポアソン分析で評価した。BMIが25以上では歯周病マーカーに対するADRBのPRRsは0.13-0.70、PPARgammaのPRRsは0.66-3.14であった。これら2つの遺伝子多型の相互作用項のPRRは1.69-12.61 ( $p<0.0001-0.329$ )であった。IL-6-572Gのアレルを持っていない対象者では、BMDが低いグループで有意にPPD 4の部位の割合が高かった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to elucidate the interaction between ADRB, PPAR gamma gene polymorphism and L-6-572 with periodontal disease. We enrolled postmenopausal women. PRRs were calculated by multiple Poisson regression analysis to evaluate the relationship between periodontal disease markers, such as the number of sites with CAL4-5 or  $\geq 6$  mm, or PD4-5 or  $\geq 6$  mm, and ADRB polymorphisms, PPAR gamma polymorphisms and the interaction term adjusted by confounding factors. In the subjects with BMI $\geq 25$ , PRRs of ADRB genotype for periodontal disease markers were 0.13-0.70 ( $p<0.0001-0.743$ ), those of PPAR gamma genotype were 0.66-3.14 ( $p=0.012-0.683$ ) and those of the interaction term for the two genotypes were 1.69-12.61 ( $p<0.0001-0.329$ ). In the IL-6-572G allele non-carriers, percentages of  $\geq 4$ mm sites were significantly higher in low BMD group compared with the healthy control group ( $p=0.021$ ). The results confirmed a gene-environmental and gene-gene interaction.

研究分野：疫学

キーワード：高齢者 疫学 肥満 炎症 歯周病 遺伝子多型 交互作用

## 1. 研究開始当初の背景

過去のツイン調査により歯周疾患の 30～50%は遺伝要因により発症および進行していることが明らかになっている。しかし、その詳細を示すことは未だできていない。一方、わが国では、生活習慣病が増加し、60歳代では高血圧と高脂血症が各 60%、肥満と高血糖が各 30%を占めている。また、日本人は肥満から糖尿病を合併する確率が高い。

肥満と歯周疾患の関連については、1998年以降、主に、横断研究が報告されている。BMI、体脂肪率、ウエストヒップ比いずれについても、その値が高いほど深い歯周ポケットを有する者の割合が高かった。肥満の歯周疾患の罹患に対するオッズ比は 3～8 倍であった。さらに、糖尿病と骨疾患についてみると、糖尿病群は非糖尿病群に比し 2～2.5 倍骨折発症率が高いという成績や、閉経後の型糖尿病女性で股関節骨折が増加することなどが報告されている。遺伝要因についてみると、同一の多型であっても、疾患への寄与率については調査間で大きな違いがあり、統計学的に有意差の認められないものも存在している。

我々の調査により、喫煙者では非喫煙者と比較し、歯周疾患の発症および進行に対し遺伝子多型の影響力がより強く出ることを発見した。その結果、個々の遺伝子のみに注目したアプローチには限界があることや、個体の疾患感受性は環境因子や代謝因子によって修飾を受けるとの明確な仮説を得た。

## 2. 研究の目的

本調査の目的は、歯周病と関連する遺伝子多型の評価、および各種遺伝子多型に対し生活習慣による交互作用があり得るのか評価することを目的としている。

## 3. 研究の方法

55～74歳の女性 1310名を対象とし、その中で調査の参加に対し同意した 674名に対し調査を実施した。最終的には、非喫煙者であ

り、骨代謝に係る薬剤を服用していたり治療を受けたりしていない者を分析対象とした。

口腔診査については特定 2名の歯科医師が行った。各歯に対し頬側中央および近心の 2点を対象に Probing pocket depth (PPD)、Clinical attachment level (CAL)、Bleeding on probing (BOP)を測定した。調査者間の一致率は、平均 PPD で 96.6%、平均 CAL で 85.6%であった。また調査者内の一致率は、平均 PPD で 99.5%および 92.5%、平均 CAL で 95.0%および 88.9%であった。

食事後 6 時間以上を経た条件下で採血を行い、オステオカルシン、総コレステロール、HDL コレステロール、HbA1C、および高感度 CRP を測定した。さらに、IL-6-572、beta-3 adrenergic receptor、および peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma の遺伝子多型を測定した。Dual-energy X-ray Absorption (QDR-4500A, Hologic Inc., Bedford, MA, USA)を用いて骨密度 (BMD) を測定した。また、質問紙を用いた聞き取りにより、身長と体重から BMI を算定すると共に喫煙状況について情報を得た。

## 4. 研究成果

### (1) 結果

IL-6-572 および PPARgamma 遺伝子多型と骨密度および歯周病との関連

IL-6-572 GG に対し CC において、血清中オステオカルシンレベルが優位に高い結果となった。その他の指標 (全身パラメーター、血中濃度) においては、各遺伝子多型間に有意差はみられなかった。また、C アレルの保有群と非保有群を比較すると、低 BMD 群 (健康な 30 代の BMD の 80%より低いグループ) において、C アレル保有群では有意に PPD 4mm の割合が大きかった。年齢・遺伝子多型・血清中アルブミンレベルで調節後、多重回帰分析を行うと、低 BMD と歯周病の間に有意差が見られた。

さらに、今回の研究では、閉経後の日本人女性において、PPARgamma Pro12Ala 遺伝子多型と歯周病・BMD・血清ビタミン D の関係を調べた。それぞれの Pro12Ala 遺伝子多型と、歯周病・BMD の間には、有意差は認められなかった。Ala allele の保有者は非保有者に対し、有意に血清中のビタミン D レベルが高い結果となった。Ala allele 保有群においてのみ、CAL の平均値と BMD、BMD とビタミン D、PPD 4mm の割合とビタミン D の間に、正の相関がみられた。また、PPARgamma の遺伝子多型が、CRP 値・BMI と歯周炎の間に影響を与えているかを調べた。各遺伝子型において、年齢・BMI 値、歯周パラメーターにて有意差は見られなかった。CRP 値が 1mg/L より高いグループの方が、1mg/L より低いグループより、PPD 4mm の割合が高い結果となった。PPARgamma Ala アレル保有群において、CRP レベルと PPD 4mm の割合との間に、正の相関がみられた。Ala アレル非保有群において、BMI 値と CRP レベルの間に、正の相関がみられた。年齢、遺伝子型、PPD 4mm の割合で調整し、多重回帰分析を行ったところ、CRP 値と BMI 値の間に、有意差が見られた。PPARgamma Pro12Ala 遺伝子多型は、歯周病・CRP 値・BMI 値に対し、単独での影響は見られなかったが、歯周病罹患患者で PPARgamma Ala アレル保有者の CRP レベル、Ala アレル非保有者の BMI 値は、関係があった。PPARgamma Pro12Ala 遺伝子多型は、歯周病・CRP 値・BMI 値に対し、単独での影響は見られなかったが、PPARgamma Ala アレル保有者で CRP レベルと PPD 4mm の割合とは正の関連が認められた ( $p<0.043$ )。また、PPARgamma Ala アレル非保有者では BMI と PPD 4mm の割合とは正の関連が認められた ( $p<0.033$ )。

Beta-3 adrenergic receptor と環境要因としての BMI との関連

Beta-3 adrenergic receptor のカテゴリ (Arg allele carrier と Arg non-carrier) を比較すると、年齢、BMI、血清中総コレステロール、血清中中性脂肪、現在歯数、歯周病マーカーについて両群間で差は認められなかった。BMI で  $<18.5$ 、 $18.5-25.0$ 、 $>25.0$  の 3 群で分けた後選択された要因を比較してみると、HbA1C、および血清中中性脂肪は BMI の増加とともに統計学的に有意に高い値を示した。BMI のそれぞれの値をカットポイントとし、ポアソン分析により prevalence rate ratio (PRR) を算定した。その際、歯周病のパラメーターを従属変数、Beta-3 adrenergic receptor 遺伝子多型、年齢、HbA1C を独立変数に、測定部位数をオフセットとして採用した。その結果、BMI が 25 以上の集団では、Beta-3 adrenergic receptor と 6mm 以上の Clinical attachment level の部位数は正の関連が認められた。またその関連は BMI の増加と共に顕著となり、BMI が 30 以上では PRR は 3.10 であった。

Beta-3 adrenergic receptor および PPAR gamma の gene-environmental interaction および gene-gene interaction

BMI が 25 以上では歯周病マーカーに対する beta-3 adrenergic receptor polymorphisms の PRRs は  $0.13-0.70$  ( $p<0.0001-0.743$ )、PPAR gamma genotype の PRRs は  $0.72-3.14$  ( $p=0.031-0.683$ ) であった。さらにこれら 2 つの遺伝子多型の相互作用項の PRRs は  $2.12-12.61$  ( $p<0.0001-0.329$ ) であった。しかし、BMI が 25 未満の対象者では一定の傾向は認められなかった。歯周病マーカーに対する beta-3 adrenergic receptor polymorphisms の PRRs は  $0.29-1.34$  ( $p<0.0001-0.818$ )、PPAR gamma genotype の PRRs は  $0.78-1.76$  ( $p<0.0001-0.226$ ) であった。さらにこれら 2 つの遺伝子多型の相互作用項の PRRs は  $0.36-2.93$  ( $p<0.0001-0.163$ ) であった。

## (2) 考察

IL-6は歯周組織への炎症波及や歯槽骨の吸収に影響与えることが知られている。特にIL-6-174G/Cと-572G/Cは、慢性歯周炎との関係について報告があるが、アジア人において、IL-6-174G/C遺伝子多型のアレル頻度は低い。Cアレルの保有群と非保有群を比較すると、低BMD群において、Cアレル保有群では有意にPPD 4mmの割合が大きかった。BMDとの間にgene-environmental interactionが生じている可能性がある。また、PPARgammaは、骨代謝と炎症に関係している。本調査では、PPARgammaPro12Ala遺伝子多型は、歯周炎・CRP値・BMD値に対し、単独での影響は見られなかった。しかし、PPARgamma Alaアレル保有者ではCRPレベル、Alaアレル非保有者ではBMD値が歯周病と関係があった。PPARgamma Ala、歯周病とBMDにgene-environmental interactionが働いているかもしれない。

Beta-3 adrenergic receptorの活性低下は、肥満を促進する。それが結果的には2型糖尿病の発症にも関連している。Beta-3 adrenergic receptorと歯周病との関連には肥満からくる免疫学的な影響が関連していると考えられる。さらに、肥満に対するBeta-3 adrenergic receptorの寄与度は対象者の体重によって変化することが確認された。つまりそこにはgene-environmental interactionが生じているといえる。Beta-3 adrenergic receptorによって影響を受ける肥満組織における免疫の活動性はインスリン抵抗性や歯周病と関連がある。また、肥満はサイトカインネットワークのアンバランスに関係し、結果的に全身的炎症症状とも関連している。

また、今回の調査から、Beta-3 adrenergic receptorとPPARgammaとの間には相互作用(gene-gene interaction)が生じていることが明らかになった。Beta-3 adrenergic receptorとPPARgammaは異なった染色体(Beta-3

adrenergic receptor : chr.8、PPARgamma : chr.3)に位置していることから、直接相互作用が生じているとは考えにくく、それぞれの関連アミノ酸が影響しあっているのかもしれない。しかし本テーマについては公表されている文献も少なく明確なメカニズムを検討することは困難であった。

## 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)

[雑誌論文](計5件)

Y. Wang, N. Sugita, A. Yoshihara, M. Iwasaki, H. Miyazaki, K. Nakamura, H. Yoshie: PPAR $\gamma$  gene polymorphism, C-reactive protein level, BMI and periodontitis in postmenopausal Japanese women. Gerodontology. 査読有, In press  
doi: 10.1111/ger.12110.

A. Yoshihara, N. Sugita, M. Iwasaki, Y. Wang, H. Miyazaki, H. Yoshie, K. Nakamura. The interaction between beta-3 adrenergic receptor and PPAR gamma gene polymorphism to periodontal disease in community-dwelling elderly Japanese. J Periodontol. 査読有, In press  
<http://www.joponline.org/doi/pdfplus/10.1902/jop.2015.140472>

Y. Hanai, N. Sugita, Y. Wang, A. Yoshihara, M. Iwasaki, H. Miyazaki, K. Nakamura, H. Yoshie: Relationships between IL-6 gene polymorphism, low BMD and periodontitis in postmenopausal women. Arch Oral Biol. 査読有, 2014;60(4):533-9.  
doi: 10.1016/j.archoralbio.2014.12.005.

A. Yoshihara, N. Sugita, M. Iwasaki, H. Miyazaki, K. Nakamura:  
The interaction between beta-3 adrenergic receptor polymorphism and obesity to

periodontal disease in community-dwelling elderly Japanese. J Clin Periodontol. 査読有, 2014; 41(5):460-6.  
doi: 10.1111/jcpe.12235.

Y. Wang, N. Sugita, A. Yoshihara, M. Iwasaki, H. Miyazaki, K. Nakamura, H. Yoshie: PPAR $\gamma$ , Bone Mineral Density and Periodontitis in Postmenopausal Women. Oral Disease. 査読有, 2013;19:501-6.  
doi: 10.1111/odi.12032.

〔学会発表〕(計6件)

Y. Hanai, N. Sugita, A. Yoshihara, M. Iwasaki, H. Miyazaki, K. Nakamura, H. Yoshie: Relationships between genetic polymorphisms of inflammatory cytokines, CRP levels and periodontitis. 92th IADR/AADR/CADR General Session & Exhibition. 2014年6月25-28日, ケープタウン, 南アフリカ.

Y. Hanai, N. Sugita, A. Yoshihara, Y. Wang, M. Iwasaki, H. Miyazaki, K. Nakamura, H. Yoshie: Relationship between IL-6 gene polymorphism, bone mineral density and periodontitis. 92th IADR/AADR/CADR General Session & Exhibition. 2014年6月25-28日, ケープタウン, 南アフリカ.

A. Yoshihara, N. Sugita, M. Iwasaki, H. Miyazaki, K. Nakamura: Beta-3 adrenergic receptor polymorphism and obesity to periodontal disease. 92th IADR/AADR/CADR General Session & Exhibition. 2014年6月25-28日, ケープタウン, 南アフリカ.

Y. Wang, N. Sugita, A. Yoshihara,

M. Iwasaki, H. Miyazaki, K. Nakamura: CRP level in postmenopausal women with PPAR $\gamma$  polymorphism and periodontitis. 第60回国際歯科研究学会日本部会(JADR)総会・学術大会, 2012年12月14日-15日, 朱鷺メッセ, 新潟

N. Sugita, Y. Wang, A. Yoshihara, M. Iwasaki, H. Miyazaki, K. Nakamura, H. Yoshie: IL-6 polymorphism and relationships between periodontitis and adiposity in postmenopausal Japanese women. Europerio 7, 2012年6月7日, Messe Wien Exhibition & Conference Center, ウィーン, オーストリア.

Y. Wang, N. Sugita, A. Yoshihara, M. Iwasaki, H. Miyazaki, K. Nakamura, H. Yoshie: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma polymorphism in postmenopausal Japanese women with periodontitis and osteoporosis. Europerio 7, 2012年6月7日, ウィーン Messe Wien Exhibition & Conference Center, オーストリア.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕(計0件)  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

葭原 明弘 (YOSHIHARA, Akihiro)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：50201033

(2) 研究分担者

宮崎 秀夫 (MIYAZAKI, Hideo)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：00157629

中村 和利 (NAKAMURA, Kazutoshi)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：70207869