

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：33902

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25870860

研究課題名(和文)ニコチン代謝能の低下は喫煙関連歯周炎を増悪するか? : CYP2A6 遺伝子多型の解析

研究課題名(英文) A study of the relationship between the reduction of nicotine metabolism and smoking-related periodontitis.

研究代表者

亀井 英彦 (Kamei, Hidehiko)

愛知学院大学・歯学部・講師

研究者番号：50421243

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：喫煙は歯周病の最も影響の強いリスク因子であり、タバコに含まれるニコチンは歯周病に悪影響を与える。生体におけるニコチン代謝はCytochrome P450 (CYP) 2A6により制御されている。CYP2A6遺伝子多型は、ニコチン代謝能の低下を引き起こし、喫煙後、ニコチンを生体内に長く残留させることが明らかとなっている。しかし、喫煙者の歯周炎とCYP2A6遺伝子多型との関係は明らかでない。本研究課題では、CYP2A6遺伝子の多型の中から、低ニコチン代謝型を示す遺伝子多型について、各被験者の遺伝子型を同定し、患者-対照者群間で遺伝子型頻度解析を行った結果、両群間でその頻度に有意差は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：Smoking is a strong risk factor the most impact of periodontal disease, nicotine contained in tobacco adversely affect the periodontal disease. Nicotine metabolism in the body is controlled by the Cytochrome P450 (CYP) 2A6. CYP2A6 gene polymorphism can cause a reduction in nicotine metabolism, after smoking, it is allowed to remain long nicotine into the body it has become apparent. However, the relationship between periodontitis and CYP2A6 gene polymorphism of smokers is not clear. In this research subject, from the polymorphism of CYP2A6 gene, the genetic polymorphisms exhibiting low nicotine metabolism type, and genotyped for each subject, the patient - The result of genotype frequencies Analysis among control subjects group, significant difference in the frequency between the two groups was observed.

研究分野：歯周病学

キーワード：喫煙 歯周炎 ニコチン代謝能 CYP2A6 遺伝子 一塩基多型 インターロイキン1受容体 IL1R2

### 1. 研究開始当初の背景

歯周病の2大リスク因子は、喫煙と糖尿病であり、喫煙は最も影響の強いリスク因子であることが認知されている。喫煙は、歯周組織における宿主応答や治癒機転に不利な影響を及ぼすと考えられている。タバコに含まれる有害物質の中でも、とりわけニコチンは、免疫能、微小循環系、好中球機能、炎症性サイトカイン産生への悪影響から、喫煙者では歯周組織破壊が重症化するとともに、歯周治療への生体反応性や歯周外科手術の予後が悪化することが報告されている (Johnson and Hill, *J Periodontol*, 2004)。Tomar & Asma (2000年)は、そのような喫煙の悪影響を受けた歯周病の病態を、独立した疾患として「smoking-attributable periodontitis」と提唱し、日本歯周病学会(2006年)による歯周病分類システムでは「喫煙関連歯周炎 (periodontitis associated with smoking)」と分類されている。また禁煙により、進行した歯周炎に対する治療の予知性を高め、歯の喪失が抑えられる効果についても報告されているが (Dietrich et al, *J Dent Res*, 2007)、一方で、重度の喫煙者であるにもかかわらず、顕著な歯周組織破壊が認められない者も多く、喫煙と歯周炎との関連性はいまだ不明な点が多い。

喫煙により肺から吸収されたニコチンの約90%は、肝臓においてコチニンへと代謝され、コチニンはさらに酸化され、トランス 3'-水酸化コチニンへと代謝される。この2つの代謝経路にはチトクロム P450 (Cytochrome P450, CYP)の一分子種である CYP2A6 が関与することが明らかになっている。CYP2A6 をコードする CYP2A6 遺伝子はヒト第 19 染色体上に存在し、とくに隣接する CYP2A7 遺伝子との相同性は極めて高い。肝臓において CYP2A7 mRNA は、CYP2A6 mRNA と同等の発現量を示すが、翻訳されたタンパクは酵素活性を g いる。これまでに CYP2A6 遺伝子多型は、CYP2A6 遺伝子全欠損型 (CYP2A6\*4 多型、コピー数多型)を含む 20 以上の遺伝子多型が報告されている。また遺伝子多型解析と、ニコチンガムを用いたニコチン代謝能判定検査 (ニコチン摂取後の経時的な尿検査)によって、10 種の CYP2A6 多型 (CYP2A6\*2、\*4、\*5、\*7、\*9、\*10、\*11、\*17、\*19、\*20 多型)が、その酵素活性の低下を引き起こすことが明らかとされており、個人が有する CYP2A6 遺伝子多型によって、そのニコチン代謝型は、正常代謝型 (extensive metabolizer) と低代謝型 (poor metabolizer) に分類されることが報告されている (Nakajima et al, *Clin Pharmacol Ther*, 2001) (図 1)。さらに日本人の低代謝型多型では CYP2A6\*4、\*7、\*9 多型のみが高頻度 (マイナーアリル頻度が 10%以上)で認められることが報告されている (Nakajima et al, *Clin Pharmacol Ther*, 2006)。

これまでに、日本人において、肺がんと低

ニコチン代謝型を示す CYP2A6 遺伝子多型との関連性が示唆されているものの、歯周病と

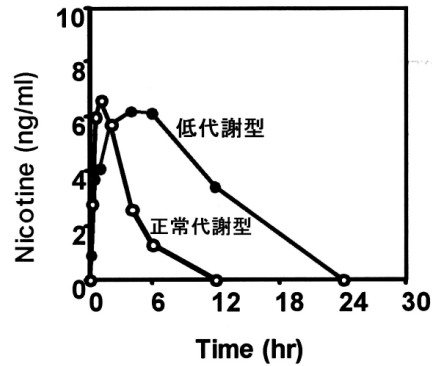


図 1. CYP2A6 遺伝子多型によるニコチン代謝速度の違いの関連性はいまだ検討されていない。

### 2. 研究の目的

喫煙歴を有する者のうち、中等度以上の歯周炎患者と、歯周組織健全者を対象に、日本人の低ニコチン代謝に関連のある CYP2A6 遺伝子多型解析を行うことで、喫煙者における歯周炎とニコチン代謝能との関連性を検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

CYP2A6 遺伝子の多型の中から、日本人に高頻度で認められ、低ニコチン代謝型を示す CYP2A6 多型を PCR-ダイレクトシーケンス法 (Nakajima et al, *Clin Pharmacol Ther*, 2006) にて同定する。患者-対照者群間でそれら多型のアリル、遺伝子型頻度解析を行い、喫煙者における歯周炎とニコチン代謝能との関連性について検討する。統計手法として Fisher の正確確率検定、カイニ乗検定を用い、さらにプリンクマン指数、男女比、年齢等を考慮し多重ロジスティック回帰分析にて調整オッズ比、信頼区間を算出することにした。

### 4. 研究成果

歯周病は生活習慣病であり、国民の 8 割以上に何らかの歯周病所見が認められると報告されている。一方、成人の喫煙実態は、2011 年の国民健康栄養調査では、男性 32.4%、女性 9.7%、全体で 20.1%と報告され、2003 年以降、男女とも減少傾向にあるが、諸外国と比べると高い状況にある。歯周炎と喫煙との関連性については、これまでに数多くの研究が報告されており、喫煙者の歯周病罹患率は、非喫煙者に比べ約 2~9 倍高いことや、禁煙することにより歯周病に対するリスクが軽減することが判明している。しかし日常臨床において、喫煙者の中に著しい歯周組織の破壊を伴う重度歯周炎患者がいる一方で、喫煙者であっても歯周炎が軽度、もしくは発症しない者もいる。タバコの主な有害成分であるニコチンの代謝物にはニコチンのような薬理作用がないため、個人のニコチン代謝能の優劣が、喫煙者における歯周炎の発症や進行のしやすさに関連があるのではないかと

と考えた。そこで、喫煙歴を有する歯周炎患者群と、喫煙歴を有する歯周組織健常者群において、ニコチン代謝能との関連性が示唆されている CYP2A6 遺伝子多型解析を行い、両群間の遺伝的なニコチン代謝能の差異を検討することで、歯周炎の宿主因子としてのニコチン代謝能の優劣の関与を明らかにすることを目的とした。これらの関連が明らかになると、喫煙歴を有する歯周組織健常者や喫煙を開始する前の未成年者の歯周病予防や喫煙歴を有する歯周炎患者に対する具体的な禁煙支援が可能になり、国民の生活の質の向上が期待できる。同意を得た研究被験者からのゲノム DNA のサンプリングを実施した。喫煙歯周炎群 (91 名) と喫煙対照群 (39 名) は、喫煙歯周炎群で平均 PD 4.52mm、平均 AL 5.25mm、対照群で平均 PD 2.05mm、平均 AL 2.27mm となった。CYP2A6 遺伝子多型解析では、低ニコチン代謝型を示す CYP2A6\*7 遺伝子多型 (I471T) と CYP2A6\*9 遺伝子多型 (A1013G-T48G) を PCR-ダイレクトシーケンス法にて同定し、両群のアリル頻度解析を行った結果、両群間に統計学的な有意差は認められなかった。

一方で、これまで課題申請者が研究対象としてきた 2 型インターロイキン 1 受容体 (IL1R2) 遺伝子の一塩基多型解析において、歯周炎患者と健常者群の喫煙歴をロジスティック回帰分析にて調整し、解析したところ、興味深い結果が得られた。この解析においては、IL1R2 遺伝子の一塩基多型 (SNPs) を用い連鎖不平衡を調査し、その結果を基に侵襲性歯周炎について、それぞれの遺伝子との関連性の検討を行ったところ、IL-1R 遺伝子における SNPs において、歯周炎患者群 (n=119) と対照者群 (n=102) との間に統計学的な有意差が認められた。

表 1 多重ロジスティック回帰分析による IL1R 遺伝子 (アリル頻度) と侵襲性歯周炎との関連性の検討

rs SNP ID	Gene	Additive model		
		p	Adjusted OR*	(95% CI)
rs2287048	IL1R1	0.263	0.82	(0.57-1.17)
rs3213736	IL1R1	0.243	0.78	(0.51-1.19)
rs28362304	IL1R1	0.971	0.99	(0.49-1.98)
rs3917324	IL1R1	0.541	1.17	(0.70-1.97)
rs2110726	IL1R1	0.365	1.21	(0.80-1.83)
rs3732131	IL1R1	0.899	0.97	(0.62-1.53)
rs3819370	IL1R2	<b>0.016</b> †	1.66	(1.09-2.52)
rs3819369	IL1R2	0.158	0.7	(0.43-1.15)
rs3218974	IL1R2	<b>0.007</b> †	0.59	(0.40-0.87)
rs3218977	IL1R2	<b>0.027</b> †	1.77	(1.06-2.97)
rs2236921	IL1R2	0.118	1.43	(0.91-2.25)

OR, odds ratio; CI, confidence interval; OR for the homozygote carriership of the minor allele.

\*Adjusted by gender and smoking status in logistic regression analysis.

†Significant difference between AgP and control subjects (p <0.05).

また、性別と喫煙歴の有無を調整した場合の、

両遺伝子と侵襲性歯周炎との関連性を、多重ロジスティック回帰分析により検討した結果、特定の SNPs (rs3819370, rs3218974, rs3218977) において、両群間に有意差が認められ (表 1)、さらに 2 SNPs (rs3819370, rs3218974) で構成したハプロタイプにおいても、両群間に有意差が認められた。以上の結果から、IL-1R 遺伝子における特定の SNPs (rs3819370, rs3218974, rs3218977) や、それらと連鎖不平衡にある SNPs (rs2302589, rs2282744, rs2282743, rs2072480, rs2072475, rs2072473, rs3212326) が、歯周炎の発症や進行に影響し得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)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Kamei H, Ishihara Y, Fuma D, Niwa T, Kamiya Y, Yokoi T, Suzuki M, Izawa A, Mizutani H, Hayashi J, Sakaki Y, Noguchi T, Kojima T: Interleukin-1 receptor gene variants are associated with aggressive periodontitis in the Japanese. Archives of oral biology, 査読有 59: 756-763, 2014.

Inagaki K, Kamei H, Mitani A, Noguchi T: Management of traumatic dental injury after periodontal surgery in patient with hereditary gingival fibromatosis: Case report. Oral Health and Dental Management, 査読有 13(2): 260-265, 2014

〔学会発表〕(計 3 件)

Inagaki Koji, Hidehiko Kamei 他: Smoking-related cognition, secondhand smoke exposure, the awareness of smoking and the effects of anti-smoking education among fifth and sixth grade elementary school children, The 10th APACT Conference(Chiba, Japan), 2013

小澤佑介, 石原裕一, 亀井英彦他: 末梢血清中の可溶性インターロイキン 1 補助タンパクの歯周病マーカーとしての可能性、第 8 回日本歯周病学会中部地区大学・日本臨床歯周病学会中部支部合同研究会(塩尻)、2013

Yosuke Kamiya, Yuichi Ishihara, Hidehiko Kamei 他: High levels of sIL-1RAcP was observed in chronic periodontitis patients., 2014 Annual Meeting of American Academy of Periodontology(San Francisco), 2014

〔図書〕(計 7 件)

亀井英彦, 医歯薬出版、慢性疾患としての

歯周病へのアプローチ 患者さんの生涯にわたる QOL に貢献するために、2014、8-9

亀井英彦 他、医歯薬出版、慢性疾患としての歯周病へのアプローチ 患者さんの生涯にわたる QOL に貢献するために、2014、10-11

亀井英彦、医歯薬出版、慢性疾患としての歯周病へのアプローチ 患者さんの生涯にわたる QOL に貢献するために、2014、40-41

亀井英彦、医歯薬出版、慢性疾患としての歯周病へのアプローチ 患者さんの生涯にわたる QOL に貢献するために、2014、103-105

亀井英彦、医歯薬出版、慢性疾患としての歯周病へのアプローチ 患者さんの生涯にわたる QOL に貢献するために、2014、121-122

亀井英彦 他、医歯薬出版、慢性疾患としての歯周病へのアプローチ 患者さんの生涯にわたる QOL に貢献するために、2014、160-163

亀井英彦、医歯薬出版、慢性疾患としての歯周病へのアプローチ 患者さんの生涯にわたる QOL に貢献するために、2014、166-171

〔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〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

亀井 英彦 (KAMEI, Hidehiko)  
愛知学院大学・歯学部・講師

研究者番号：50421243

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：