

氏名 小松康高
学位 博士(歯学)
学位記番号 新大院博(歯)第28号
学位授与の日付 平成17年3月23日
学位授与の要件 学位規則第3条第3項該当
博士論文名

Interleukin-6(IL-6) -373 A9T11 allele is associated with reduced susceptibility to chronic periodontitis in Japanese subjects and decreased serum IL-6 level

(インターロイキン6(IL-6) -373 A9T11 アレルは日本人における慢性歯周炎の感受性低下および血清IL-6レベル低下に関連する)

論文審査委員 主査 教授 吉江弘正
副査 教授 織田公光
教授 宮崎秀夫

博士論文の要旨

歯周炎の病態形成、進展には炎症性サイトカインの役割が重要であり、IL-6は局所の炎症遷延化や骨代謝に関わることからその関与が示唆されている。一方、歯周炎は多因子性疾患であり、遺伝的要因の関与が示唆されており、我々は既に、IL-1ファミリー、TNF α 、TNFレセプター遺伝子多型について解析を重ねてきた。そこで、今回はIL-6プロモーター領域遺伝子多型の頻度を検索し、慢性歯周炎との関連性について検討した。

【材料と方法】

インフォームドコンセントを得た日本人慢性歯周炎患者(CP)112名(うち5年以内の喫煙歴がある者は対象から除外)と年齢マッチした健常者(Non-CP)77名の末梢血よりゲノムDNAを抽出した。被験者グループの基準はmPPD、mCAL<3mmかつBL<20%を満たすものをNon-CP群、それ以外をCP群とした。IL-6 -597、-572、-190、-174SNPs(一塩基多型)はPCR-RFLP(制限酵素切断断片長多型)法、-373A_nT_mはPCR-SSCP(一本鎖DNA高次構造多型)法とダイレクトシーケンス法の併用により遺伝子型を同定し、統計学的解析を行った。また、Non-CP群77名から無作為に34名を抽出し、末梢血を遠心分離して得られた血清中IL-6濃度を高感度ELISA法にて測定し、遺伝子型ごとに解析した。

【結果】

- ① 今回検索した日本人では-572、-373のみに遺伝子多型を認め、その頻度は白人とは大きく異なっていた。
- ② -572、-373遺伝子多型は連鎖不平衡にあり ($D'=0.98$ 、 $\chi^2=344.5$ 、 $p<0.0001$)、-572/Cと-373/A10T10および-572/Gと-373/A10T11、A9T11アリル間に強い連鎖が見られた。
- ③ -373 A9T11アリル頻度及び保有率はNon-CP群でCP群に比較し、有意に高かった (カイ2乗検定、Non-CP群 vs. CP群; アリル頻度 11.1% vs. 4.0%、 $p=0.008$ 、オッズ比=2.96、アリル保有率 20.8% vs. 8.0%、 $p=0.011$ 、オッズ比=3.0)。
- ④ 血清IL-6レベルは-572、-373のディプロタイプで比較したところ、C[A10T10]/C[A10T10]群で C[A10T10]/ G[A10T11]、C[A10T10]/ G[A9T11]群に比較して有意に高かった (Wilcoxon signed rank test、順に 1.38 ± 0.11 、 0.90 ± 0.07 、 0.88 ± 0.13 pg/ml、C[A10T10]/ C[A10T10] vs. C[A10T10]/ G[A10T11]: $p=0.007$ 、C[A10T10]/ C[A10T10]vs. C[A10T10]/ G[A9T11]: $p=0.008$)。

【考察】

Case-control study では遺伝子多型の人種差や研究デザインなどの違いにより、しばしば矛盾した結果が導き出される事がある。しかし、今回有意差の認められた、-373 A9T11 アリルは比較的人種差が少なかったため、共通の genetic factor となる可能性があると思われた。また、遺伝子多型の機能解析の一つとして、血清 IL-6 レベルへの影響を可能な限り修飾因子を除外して検討した結果、-373 A9T11 アリルが血清レベルの低下に関連した。よって、-373 A9T11 アリルが転写活性に影響し、IL-6 産生の低下に関連している可能性が示唆された。以上のように、統計学のおよび *in-vivo* での機能解析により、IL-6 -373 A9T11 アリルが日本人における慢性歯周炎の抵抗性ならびに血清 IL-6 レベルの低下に関連する事が示唆された。しかしながら、一つのプロモーター領域遺伝子多型のみで転写活性は制御されるものではなく、今後ハプロタイプを考慮した *in-vitro* での機能解析の必要性があると思われる。

【結論】

IL-6 プロモーター領域 -373 9A11T アリルは慢性歯周炎における疾患抵抗性マーカーとなりうる事が示唆された。

審査結果の要旨

本論文では、遺伝的要因の関与が示唆されている歯周炎について、IL-6プロモーター領域遺伝子多型の頻度を検索し、慢性歯周炎との関連、疾患感受性との関連性についてケース・コントロール研究で検討している。日本人慢性歯周炎患者 (CP) 112名と年齢マッチした健常者 (Non-CP) 77名の末梢血よりゲノムDNAを抽出した。IL-6 -597、 -572、 -190、 -174SNPsはPCR-RFLP法、-373A_nT_mはPCR-SSCP法とダイレクトシーケンス法の併用により遺伝子型を同定し、統計学的解析を行った。さらに、Non-CP群77名から無作為に34名を抽出し、末梢血を遠心分離して得られた血清中IL-6濃度を高感度ELISA法にて測定し解析した。その結果、-572、-373遺伝子多型は連鎖不平衡にあり、-572/Cと-373/A10T10および-572/Gと-373/A10T11、A9T11アリル間に強い連鎖が見られた。また、-373 A9T11アリル頻度及び保有率はNon-CP群でCP群に比較し、有意に高かった。さらに、血清IL-6レベルは-572、-373のディプロタイプで比較したところ、C[A10T10]/ C[A10T10]群で C[A10T10]/ G[A10T11]、C[A10T10]/ G[A9T11]群に比較して有意に高かった。以上のことより、IL-6プロモーター領域-373 9A11Tアリルは慢性歯周炎における疾患抵抗性マーカーとなりうる事が示唆された。本論文で有意差の認められた、-373 A9T11アリルは比較的人種差が少なく、共通のgenetic factorとなる可能性があり、また、遺伝子多型の機能解析として、-373 A9T11アリルが血清IL-6レベルの低下が認められた。このことは、連鎖解析のみでなく機能解析をおこない、関連性が認められたことより、信憑性、新規性のある評価の高い所見と考えられる。一つのプロモーター領域遺伝子多型のみで転写活性が制御されるものではないにもかかわらず、臨床サンプルで有意差が認められたことは興味深い。ハプロタイプによる*in-vitro*での機能解析は、今後の課題である。

いずれにしても、IL-6 プロモーター領域 -373 9A11T アリルが慢性歯周炎における疾患抵抗性マーカーとなりうることは、極めて新規性のある結果、結論であり、本研究を学位論文としての価値を認める。