

ふりがな	ほんま ゆうこ
氏名	本間 祐子
学位	博士 (歯学)
学位記番号	新大院博 (歯) 第130号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Low antibody response to <i>Porphyromonas gingivalis</i> associated with Fcγ RIIB polymorphism (Fcγ RIIB 遺伝子型と <i>Porphyromonas gingivalis</i> に対する抗体産生調節との関連性)
論文審査委員	主査 教授 吉江弘正 副査 教授 星野悦郎 教授 山崎和久

博士論文の要旨

【背景と目的】

ヒト FcγRIIB は IgG 受容体の 1 つで、免疫複合体を介して B 細胞受容体 (BCR) と架橋し、B リンパ球の活性化を抑制する。FcγRIIB のこの機能は抗体産生の負の調節において必須である。我々の最近の研究により、遺伝子多型 FcγRIIB-I232T と歯周炎との関連が明らかになってきた。すなわち、FcγRIIB-232T アレルの保有が歯周炎のリスクファクターであることをケース・コントロール研究の結果より示唆した。

遺伝子多型 FcγRIIB-I232T による FcγRIIB の機能的な差異に関しては、これまでに、FcγRIIB-232T は 232I に比べてより効果的に BCR シグナルを抑制するとの報告がある一方、FcγRIIB-232T は活性化受容体を抑制する能力がない、とする報告もある。

そこで今回我々は、歯周炎患者を対象に、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) に対する IgG 抗体応答において、FcγRIIB-I232T 遺伝子型による差異が認められるか否かを調べた。

【方法】

47 名の歯周炎患者 (男性 21 名、女性 26 名、平均年齢 43.9 歳、26 歳～61 歳) について臨床歯周検査 (Probing depth, Clinical attachment level, Bleeding on probing, Bone loss) を行い、末梢血より抽出したゲノム DNA のダイレクトシーケンシングにより FcγRIIB-I232T 遺伝子型をタイピングした。また、血清中の IgG サブクラスおよび、*P. gingivalis* のソニケートおよびリコンビナント 40-kDa OMP に対する、特異的 IgG および各サブクラスのレベルを ELISA 法にて測定した。

統計解析においては、FcγRIIB-232T 保有者と非保有者間で、臨床パラメーターおよび各 IgG レベルに差があるか否かを Mann-Whitney *U* test にて検定した。また、*P. gingivalis* 特異的 IgG レベルと平均 Probing depth (mPD) の関係を解析するにあたっては、Spearman rank correlation coefficient を用いた。有意水準は 5% とした。

【結果】

FcγRIIB-232T 保有者は 13 名、非保有者は 34 名だった。FcγRIIB-232T 保有者と非保有者間で、年齢、喫煙者の割合、臨床パラメーター間の有意差は認められなかった。また、血清総 IgG レベルおよび *P. gingivalis* ソニケートに対する IgG 応答において、

有意差はみられなかった。しかし FcγRIIB-232T 保有者は非保有者に比べて、*P. gingivalis* 40-kDa OMP に対する IgG2 レベルが有意に低かった ($p = 0.04$, Mann-Whitney *U* test)。FcγRIIB-232T 保有者は、特異的 IgG および IgG1, IgG4 レベルも低い傾向がみられた (ただし有意差なし)。FcγRIIB-232T 非保有者では、mPD が深い患者において *P. gingivalis* 40-kDa OMP に対する IgG2 レベルも高い傾向があったのに対して、FcγRIIB-232T 保有者では、mPD が深い患者においても *P. gingivalis* 40-kDa OMP に対する IgG2 のレベルは低かった。

本研究においては、*P. gingivalis* の有する特異的抗原として 40-kDa 外膜蛋白を用いた。この蛋白は、*P. gingivalis* の多くの株に共通して認められ、共凝集に必要な病原因子である。これに対するモノクローナル抗体は、*P. gingivalis* に対して殺菌効果がある。一方、歯周炎患者においては *P. gingivalis* 40-kDa OMP に対する IgG 抗体レベルが健常者に比較して高いことがわかっている。本研究の結果、FcγRIIB-232T 保有者は非保有者に比べて、*P. gingivalis* 40-kDa OMP に対する IgG2 レベルが有意に低かった。また、*P. gingivalis* 40-kDa OMP 特異的 IgG, IgG1, IgG4 レベルにおいても FcγRIIB-232T 保有者で低い傾向が見られた。

日本人慢性歯周炎患者における歯肉縁下プラーク中の *P. gingivalis* 検出率は 72%、別の論文では 50~60% と報告されている。そして mPD と *P. gingivalis* の検出には関連性があるといわれている。したがって、mPD が深い日本人歯周炎患者では、*P. gingivalis* が存在する可能性が高いと予想される。本研究において FcγRIIB-232T 非保有者では、mPD が深く、かつ抗 *P. gingivalis* 40-kDa OMP IgG2 抗体レベルが高い患者群が認められたのに対して、FcγRIIB-232T 保有者では、mPD の深さに関わらず抗 *P. gingivalis* 40-kDa OMP IgG2 抗体レベルが低かった。

従来、歯周炎の臨床的重症度と血清中の抗 *P. gingivalis* IgG 抗体レベルは正の相関関係があると報告されている。以前報告した Yasuda らによる研究対象である歯周炎患者において、臨床パラメーターと FcγRIIB-1232T 遺伝子型の関係を解析したところ、FcγRIIB-232T 保有者は非保有者に比較して歯周炎がより重症であった ($p = 0.0006$ for mPD)。しかし本研究では、対象患者の臨床パラメーターはマッチさせている。したがって、今回 FcγRIIB-232T 保有者と非保有者の間で認められた抗 *P. gingivalis* IgG 抗体レベルの違いは、歯周炎重症度の差によるものではない。

今回、抗 *P. gingivalis* 40-kDa OMP IgG2 抗体レベルにおいてのみ、FcγRIIB-232T 保有者と非保有者の差が統計学的に有意になった原因は不明である。しかし FcγRIIB とヒト IgG 各サブクラスのダイマーとの結合を解析した研究では、4°C においては $IgG3 > or = IgG1 > IgG4 > IgG2$ であるのに対して、37°C においては IgG2 の結合のみ著しく増加すると報告されており、本研究の結果と何らかの関連があるかもしれない。

【結論】

本研究は、FcγRIIB-1232T 遺伝子型による機能的な差異のひとつを示唆した。FcγRIIB-232T アレルと歯周炎の間にみられた関連性は、*P. gingivalis* に対する IgG 抗体の応答レベルが低いことによるかもしれない。歯周炎および他の疾患における FcγRIIB とその遺伝子型の機能を明らかにするために、さらなる研究が必要である。

審査結果の要旨

本論文は、歯周炎患者を対象に、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) に対する IgG 抗体応答において、FcγRIIB-I232T 遺伝子型による差異が認められるか否かを明らかにすることであった。47名の歯周炎患者（男性21名、女性26名、平均年齢43.9歳、26歳～61歳）について臨床歯周検査(Probing depth, Clinical attachment level, Bleeding on probing, Bone loss)を行い、末梢血より抽出したゲノム DNA のダイレクトシーケンシングにより FcγRIIB-I232T 遺伝子型をタイピングした。また、血清中の IgG サブクラスおよび、*P. gingivalis* のソニケートおよびリコンビナント 40-kDa OMP に対する、特異的 IgG および各サブクラスのレベルを ELISA 法にて測定した。

その結果、FcγRIIB-232T 保有者は13名、非保有者は34名だった。FcγRIIB-232T 保有者と非保有者間で、年齢、喫煙者の割合、臨床パラメーター間の有意差は認められなかった。また、血清総 IgG レベルおよび *P. gingivalis* ソニケートに対する IgG 応答において、有意差はみられなかった。しかし FcγRIIB-232T 保有者は非保有者に比べて、*P. gingivalis* 40-kDa OMP に対する IgG2 レベルが有意に低かった ($p = 0.04$, Mann-Whitney *U* test)。FcγRIIB-232T 保有者は、特異的 IgG および IgG1, IgG4 レベルも低い傾向がみられた。FcγRIIB-232T 非保有者では、mPD が深い患者において *P. gingivalis* 40-kDa OMP に対する IgG2 レベルも高い傾向があったのに対して、FcγRIIB-232T 保有者では、mPD が深い患者においても *P. gingivalis* 40-kDa OMP に対する IgG2 のレベルは低かった。従来、歯周炎の臨床的重症度と血清中の抗 *P. gingivalis* IgG 抗体レベルは正の相関関係があると報告されている。以前報告した Yasuda らによる研究対象である歯周炎患者において、臨床パラメーターと FcγRIIB-I232T 遺伝子型の関係を解析したところ、FcγRIIB-232T 保有者は非保有者に比較して歯周炎がより重症であった。しかし本研究では、対象患者の臨床パラメーターはマッチさせている。したがって、今回 FcγRIIB-232T 保有者と非保有者の間で認められた抗 *P. gingivalis* IgG 抗体レベルの違いは、歯周炎重症度の差によるものではない。今回、抗 *P. gingivalis* 40-kDa OMP IgG2 抗体レベルにおいてのみ、FcγRIIB-232T 保有者と非保有者の差が統計学的に有意になった原因は不明である。しかし FcγRIIB とヒト IgG 各サブクラスのダイマーとの結合を解析した研究では、4℃においては IgG3>or=IgG1>IgG4>IgG2 であるのに対して、37℃においては IgG2 の結合のみ著しく増加すると報告されており、本研究の結果と何らかの関連がありえる。以上より、本研究から FcγRIIB-I232T 遺伝子型による機能的な差異のひとつが示唆された。FcγRIIB-I232T 遺伝子型は、*P. gingivalis* に対する IgG 抗体の応答レベルが低いことと関連していることが示唆された。

本研究は、FcγRIIB-I232T 遺伝子型では、抗体産生の抑制が生じて結果として *P. gingivalis* に対する IgG 抗体産生能が低下することを明確に示した。FcγRIIB 遺伝子多型と機能的解析そして関連性を示唆した新規所見であり、学位論文としての価値を十分に認めるものである。