

論文名 : Tumor necrosis factor- $\alpha$  gene promoter methylation in Japanese adults with chronic periodontitis and rheumatoid arthritis

新潟大学大学院医歯学総合研究科

氏名 小島 杏里

---

【目的】腫瘍壊死因子 $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 遺伝子は慢性歯周炎 (CP) および関節リウマチ (RA) などの炎症性疾患の感受性に関与することが知られているが、それらの epigenetic な役割は解明されていない。本研究の目的は、CP および RA における TNF- $\alpha$  遺伝子プロモーター領域のメチル化状態を解析することである。

【材料・方法】インフォームドコンセントが得られた CP 患者 30 名 (CP 群)、RA 患者 30 名 (RA 群) ならびに健常者 30 名 (H 群) を対象に末梢静脈血液を採取し、ゲノム DNA を抽出後、バイサルファイト処理を行った。TNF- $\alpha$  遺伝子プロモーター領域のプライマーを用いて PCR 増幅後、ダイレクトシーケンスにて cytosine-guanine dinucleotide (CpG) 部位のメチル化状態を解析した。メチル化頻度において統計学的に有意な群間差を認めた CpG 部位については、健常者血液由来の単核細胞を対象に *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide 刺激時の TNF- $\alpha$  産生量を ELISA にて測定・比較を行い、メチル化の有無による機能差も併せて検証した。

【結果・考察】DNA メチル化に影響する年齢・性別・喫煙状態について統計学的に有意な群間差は認められなかった。ダイレクトシーケンスの結果、TNF- $\alpha$  遺伝子プロモーター (-343 ~ +57bp) 領域で計 12 の CpG 部位を認めた。同領域における CP 群のメチル化率とメチル化頻度は H 群と比べて -72bp において有意に高かった ( $p < 0.01$ )。H 群と比べて RA 群のメチル化率は 7 部位 (-302、-163、-119、-72、-49、-38、+10 bp) において有意に高く ( $p < 0.01$ )、RA 群のメチル化頻度も 6 部位 (-163、-119、-72、-49、-38、+10 bp) において有意に高かった ( $p < 0.01$ )。ELISA の結果、CpG -163 bp 部位での非メチル化群はメチル化群と比べて TNF- $\alpha$  産生量は有意に多く ( $p = 0.03$ )、他の CpG 部位 (-161、-119 bp) でも同様に非メチル化群の方が TNF- $\alpha$  産生量が多い傾向にあった。このように、CP・RA では TNF- $\alpha$  遺伝子は高メチル化状態にあり TNF- $\alpha$  発現は抑制されていることが示された。この結果は、血清 TNF- $\alpha$  レベルと全身・局所の炎症程度と正の相関を示した過去の報告とは異なる。この相違が認められた一因として、CpG 部位の高メチル化状態は慢性炎症による DNA メチルトランスフェラーゼ活性化の結果と考えられ、炎症性疾患との関連付けには更なる解析が必要であると考えられる。

【結論】以上の結果から、TNF- $\alpha$  遺伝子プロモーター領域の高メチル化状態は日本成人の慢性歯周炎や関節リウマチに特有であることが示唆された。