

学位研究紹介

インタ - ロイキン 6 (IL-6)- 373 A9T11 アリ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

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

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻
摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野
小松 康高
Division of Periodontology,
Department of Oral Biological Science,
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences.
Yasutaka KOMATSU

【目 的】

歯周炎は成人の約 80% が罹患する common disease の一つであり、歯を喪失する最たるものである。この事は、高齢者の QOL の低下を招くことにつながり、現在の日本における深刻な社会問題の一つである。歯周炎は、『慢性炎症の持続』と『骨破壊』を特徴とし、IL-6 は双方の病状に深く関与する重要な分子である。歯周炎病態形成における IL-6 の関与は明白で、歯周炎患者での局所（歯肉溝滲出液、歯肉組織）および末梢血中 IL-6 濃度の上昇をみる。IL-6 の生理活性作用は非常に広範に及び、制御機構の破綻が慢性関節リウマチ、SLE などの炎症性疾患、自己免疫疾患に深く関与する事が近年の報告で明らかになりつつある。このような背景からシグナル伝達鎖 gp130 の機能的解析やそのシグナル経路をブロックする新薬の開発は後をたたく、多様な生理活性を有する IL-6 の研究は歯周炎のみならず、非常に各方面で注目されている。

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、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 3 mm 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, -174 SNPs（一塩基多型）は PCR-RFLP（制限酵素切断断片長多型）法、-373AnTm は PCR-SSCP（一本差 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 ($D' = 0.98$, $r^2 = 344.5$, $p < 0.0001$), -572/C と -373/A10T10 および -572/G と -373/A10T11, A 9 T11 アリル間に強い連鎖が見られた。
- ③ -373 A 9 T11 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 Table 1, 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[A 9 T11] 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 [A 9 T11] : $p = 0.008$ Fig 1)。

Table 1 Distribution of IL-6 promoter -572 and -373 polymorphisms in Non-CP and CP subjects.

Position	Non-CP subjects			CP subjects			p-value
		%	(n = 77)	%	(n = 112)		
- 572	Genotype frequency	C/C	53.2	(41)	63.4	(71)	0.37
		C/G	41.6	(32)	32.1	(36)	
		G/G	5.2	(4)	4.5	(5)	
	Allele frequency*	C	74.0	(114)	79.5	(178)	0.22
		G	26.0	(40)	20.5	(46)	
- 373	Genotype frequency	A10T10/A10T10	54.5	(42)	64.3	(72)	0.14
		A10T10/A10T11	23.4	(18)	24.1	(27)	
		A10T10/A9T11	18.2	(14)	8.0	(9)	
		A10T11/A10T11	1.3	(1)	3.6	(4)	
		A10T11/A9T11	1.3	(1)	0.0	(0)	
		A9T11/A9T11	1.3	(1)	0.0	(0)	
	Allele frequency	A10T10	75.3	(116)	80.4	(180)	0.03
		A10T11	13.6	(21)	15.6	(35)	
A9T11		11.1**	(17)	4.0	(9)		

*Total number of alleles: Non-CP 2n = 154, CP = 224

**Significantly higher when compared to CP with Bonferroni's correction (OR = 2.96, 95% CI = 1.21-7.43, $Z = 7.02$, $p = 0.008$).

【考 察】

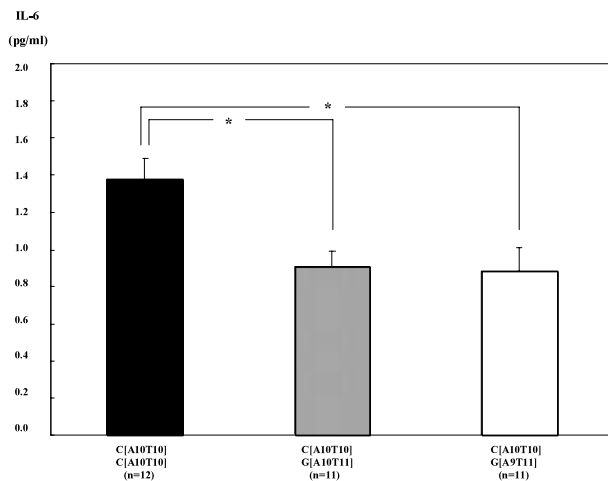


Figure 1 Influences of the common IL-6-572 and -373 diplotypes on serum IL-6 level in Japanese Non-CP subjects.

Bars represent the mean \pm standard error. * $p < 0.01$

Peripheral blood serum IL-6 level were determined in duplicate using commercially available Quantikine™

ELISA kits (R&D) Systems, Wiesbaden-Nordenstadt, Germany) according to the manufacturer's instructions.

The sensitivity of the assay was 0.039 pg/ml.

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 A 9 T11 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（歯周炎、年齢、性、エストロゲン）を除外して検討した結果、-373 A 9 T11 アリルが血清レベルの低下に関連した。よって、-373 A 9 T11 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、統計学および *in-vivo* での機能解析により、IL-6 -373 A 9 T11 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。

【参 考 文 献】

Y Komatsu, H Tai, JC Galicia, Y Shimada, M Endo, K Akazawa, K Yamazaki and H Yoshie. Interleukin-6 (IL-6) -373 A 9 T11 allele is associated with reduced susceptibility to chronic periodontitis in Japanese subjects and decreased serum IL-6 level. Tissue Antigens 2005; 65: 110-114.