

# 舌苔付着と $\beta$ ディフェンシンの遺伝子多型との関係

西村 学子 [北海道医療大学歯学部／助手]

## 背景・目的

$\beta$ ディフェンシンは主として上皮細胞から分泌される抗細菌性タンパクである。ヒトでは1～6のタイプが単離されてきているが、口腔上皮では、1、2、3の発現が明らかとなっている。本講座では、これらが角質層に貯留して機能を発揮することを明らかにした。舌苔は舌粘膜上皮の角質層に様々な程度で細菌が付着することによって形成され、形成には全身状態の関与も示唆されているが、明らかな個人差もみられる。本研究では、 $\beta$ ディフェンシン1,2,3の遺伝子多型と舌苔付着との相関解析を行い、舌苔付着および細菌付着へのリスク診断系を確立することを目的とする。

## 内容・方法

### 1. ヒトゲノム倫理委員会での承認

北海道医療大学ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理委員会により承認を得る。

### 2. 患者からのサンプルの採取

舌苔付着のグレード分類を行う。

正常口腔粘膜では検出されることの少ない、*Candida*について舌苔付着部での存在の有無について検出す。

SwabによりDNAを採取する。

### 3. $\beta$ ディフェンシン遺伝子多型の検索

PCR法によるDNA增幅の後、Real-time PCRを利用したInvader法による遺伝子多型の同定を行う。

### 4. 統計学的解析

遺伝子多型のデータは、Hardy-Weinberg equilibriumによって評価し、Chi-square解析を行う。

SeqScape Software(Applied Biosystems)により、ハプロタイプの同定を行う。

臨床との相関解析は、オッズ比と疾患に関するconfounding variableの頻度から行う。

## 結果・成果

DNAを採取した患者103例のうち60-90歳の32例を用い、舌苔付着の程度と $\beta$ ディフェンシン2遺伝子多型との関連を解析した。サンプル採取時に、全身所見、既往歴、投薬内容、問診を行い、いずれも舌苔付着に直接的に影響を及ぼす全身所見やステロイド剤や抗菌薬を常用していないことを確認した。次いで、舌苔の性状、厚さ、付着範囲、カンジダの有無、舌乳頭の萎縮、歯牙の有無などの口腔内診査を行なった。

本研究では下顎無歯頸患者を対象とした。舌苔の評価は、小島の分類に従い、舌苔無しが0度、舌面の1/3程度の薄い

舌苔を1度、2/3程度の薄い舌苔もしくは1/3程度の厚い舌苔を2度、2/3以上の薄い舌苔もしくは2/3程度の厚い舌苔を3度、2/3以上の厚い舌苔を4度とし、さらに統計処理上、0-1度をno obvious tongue coating(以下NTC)と2-4度をsevere tongue coating(以下STC)の2つに分けた。NTC、STC各データの多型部におけるアレル頻度を算出し、population genetics software(Arlequin)を用い、NTC、STCそれぞれハプロタイプを決定した。

下顎無歯頸患者32名をNTC15名、STC17名の2群に分け、両者のアレル頻度を用い相関解析を行った。しかし2群間における有意差はどの変異部位に関しても認められなかつた。またハプロタイプに関しても2群間における有意差は認められなかつた。

抗菌性タンパクである $\beta$ ディフェンシン2は主に角質層付近に局在し、その機能を発揮するといわれ、口腔上皮では $\beta$ ディフェンシン2の発現が弱い部分にカンジダ菌が集簇するとの報告もあることから、口腔上皮表層での $\beta$ ディフェンシン2の発現は細菌や真菌の付着予防に関わっているものと考えられる。舌苔の原因には一般的に全身疾患や薬物服用、ブラッシング不良などが考えられている。本研究では、これらの因子をできるだけ標準化するために、下顎無歯頸患者で、明らかな全身疾患のない患者、抗生物質の長期投与がされていない患者に絞って、相関解析を行なった。しかしながら、in vitroでの検索で $\beta$ ディフェンシン2の発現調節に影響を与えていたと考えられたSNP部を含め、いずれの $\beta$ ディフェンシン2SNPとの間に有意差は認められなかつた。このことから舌苔形成への関与は低いと思われたが、相関解析の際のサンプル数の不足も否定できず、今後、サンプル数を増やした検索が必要であると考えられた。

## 今後の展望

最近、口腔内の感染性疾患、特に歯周炎と遺伝子多型との相関解析を行なった報告がなされてきており、遺伝子多型と疾患との間に相関を示す報告がある一方、相関がないとの報告も多い。本研究でも、明らかな相関はみられず、歯周炎は環境因子も大きく関与した多因子疾患で、单一遺伝子のみの変化で相関を導きだすことは困難であり、唾液の量や質、食物の性状や口腔清掃状態などにマスクされている可能性も否定できない。そのため舌苔における付着菌の種類、量の解析をするなど、より精密な解析を加え、検索する必要があると考えている。