# 日本人における一塩基多型と歯周炎との関連性について

鈴木麻美\*1,\*2沼部幸博\*1 鴨井久一\*1

\*1日本歯科大学歯学部歯周病学講座 \*2日本歯科大学歯学部附属病院総合診療科 (2002 年 4 月 13 日受理)

Association of Single Nucleotide Polymorphisms with Periodontitis in the Japanese Population

Asami Suzuki\*1,\*2, Yukihiro Numabe\*1 and Kyuichi Kamoi\*1

\*¹Department of Periodontology, School of Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University
\*²General Dentistry, The Nippon Dental University Hospital at Tokyo
Accepted for publication 13 April 2002

In the time of the post sequence, attention has been increasingly focused on risk factors of 'common disease', caused by genetic and environmental factors. The oral environment and host immune response cause periodontitis and its progression, necessitating a better understanding of the genetic relationship to periodontitis. We studied relative factors of periodontitis with single nucleotide polymorphisms (SNPs) analysis. SNPs are the most common form of DNA sequence variation and their analysis covers many genes.

Subjects were 13 early-onset (aggressive) periodontitis patients, 9 adult (chronic) periodontitis patients, and 19 healthy controls. We studied the association of 59 single nucleotide polymorphisms (SNPs) in candidate genes of periodontitis, such as interleukin 1 (IL 1) and tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), with periodontitis using the TaqMan polymerase chain reactions. SNPs were selected based on linkage disequilibrium.

Significant differences were seen in the frequency (p<0.05) in genotypes on cathepsin G (CTSG) and TNF receptor-associated factor 1 (TRAF 1) between early-onset periodontitis patients and controls. Significant differences were also detected in the frequency in genotypes on interleukin 10 receptor  $\beta$  (IL 10 RB) and matrix metalloproteinase 9 (MMP 9) between adult periodontitis patients and controls. A further significant difference was seen in the frequency in genotypes on interferon  $\gamma$  (IFNG) between early-onset and adult periodontitis patients.

These results suggest an association of SNPs on CTSG and TRAF1 in early-onset periodontitis and on IL 10 RB and MMP9 in adult periodontitis and a difference of SNPs on IFNG in early-onset and adult periodontitis.

Further studies of SNPs registered in a Japanese SNPs database of JSNP, would thus clarify genetic risk factors in periodontitis. J Jpn Soc Periodontol, 44:159—167, 2002.

**Key words**: single nucleotide polymorphisms (SNPs), genotype, periodontitis, early-onset periodontitis, adult periodontitis

要旨:ポストシークエンスの時代に入り、複数の遺伝子と環境因子が関与して発症する多因子性疾患の危険因子の探求が注目されるようになってきた。'ありふれた病気'の一つである歯周炎の発症および進行には、口腔内環境や生体の免疫応答が関与していると考えられ、歯周炎についての遺伝子学的検索が求められている。本研究では、一塩基多型(SNPs)解析により歯周炎の関連因子の検討を行った。SNPs は、DNA 配列中に見られ

る多型のうちもっともよく見られる多型で、SNPs 解析は多くの遺伝子の解析が可能である。

被検者は、早期発症型歯周炎患者(EOP)13人,成人性歯周炎患者(AP)9人,健常者19人とした。本研究は,インターロイキン1(IL 1),腫瘍壊死因子 $\alpha$ (TNF $\alpha$ )等の歯周炎候補遺伝子の一塩基多型(Single Nucleotide Polymorphisms:SNPs)計59 について,TaqMan PCR 法により,歯周炎との関連について検討すること目的とした。また,SNPsの選択には,連鎖不平衡を考慮した。

その結果、早期発症型歯周炎群とコントロール群では、カテプシン G(CTSG)と腫瘍壊死因子レセプター関連因子 1(TRAF 1)において有意差(p<0.05)が認められた。成人性歯周炎群とコントロール群では、インターロイキン 10 レセプター $\beta$ (IL 10 RB)とマトリックスメタロプロテアーゼ 9(MMP 9)において有意差が認められた。また、早期発症型歯周炎群と成人性歯周炎群では、インターフェロン  $\gamma$ (IFNG)において有意差が認められた。

以上のことから、早期発症型歯周炎においては、CTSGの関与が推測された。成人性歯周炎においては、IL 10 RB と MMP 9 の関与が推測された。さらに、早期発症型歯周炎と成人性歯周炎においては、IFNG の関与に相違があるものと推測された。

本研究より、今後日本人の標準 SNPs のデータベースである JSNP に登録されている SNPs のさらなる解析により、日本人における歯周炎の遺伝子学的な関連因子の解明につながる可能性が示唆された。

索引用語:一塩基多型(SNPs),ジェノタイプ,歯周炎,早期発症型歯周炎,成人性歯周炎

### 緒 言

歯周炎は、II型糖尿病や高血圧症などと同様に生活習慣病の一つとされ、平成11年歯科疾患実態調査によると、歯肉に歯周炎の所見のあるものは、平均すると国民の72.9%に達するという調査結果がある。また、歯周炎は、糖尿病、心内膜炎、動脈硬化の悪化や肺炎など全身への影響が確認され、高齢社会を迎え、歯周炎の予防および適切な治療がQOL(Quality of Life)には重要であるといえる。

歯周炎は、炎症性の感染疾患であり、デンタルプラークや咬合等の環境因子と免疫応答を中心とした宿主因子との相互作用により、発症および進行する。このことから、歯周炎は、口腔内環境因子の他に複数の遺伝子因子に起因する多因子性疾患である。

近年、ヒトゲノム解析の進歩に伴い<sup>1,2</sup>、歯科においても歯周炎に関連した遺伝子学的研究が注目されるようになってきた<sup>3-17)</sup>。そして、歯周炎のような多因子性疾患については、単一の遺伝子そのものが疾患発症および進行を決める決定因子は存在しないが、疾患易罹患性に関連した複数の遺伝子が危険因子として関連していると考えられる。これらのことから、現在、包括的に遺伝子全体を構造から検索することが可能になろうとしている一塩基多型(Single Nucleotide Polymorphisms: SNPs)が注目されている。

一塩基多型とは、個人間での DNA 塩基配列の1塩 基の違いによる多型を意味する。胚細胞を生じる細胞 分裂の際に、DNA ポリメラーゼの塩基の読み違いに よって生じ、それが子孫を介して集団内で1% 以上の 頻度に広まったものである。SNPs はゲノム上に広く 高密度に分布し、人種・個人・疾患の有無により異な る有益なゲノム多様性マーカーであると同時に, それ 自身が遺伝子発現産物の質・量的な変化をもたらし, 診断・治療のターゲットとなりえる。SNPsの頻度 は、数百塩基対から1,000塩基対に1カ所の割合で存 在すると推測されている。 つまり、ヒトゲノム全体で は300万から1,000万のSNPsがあると考えられて いる<sup>18-21)</sup>。SNPs 解析はデータベースおよびタイピン グ技術の進歩により遺伝子全体の包括的な検索が可能 となろうとしており、歯周炎のような危険因子の複数 存在する多因子性疾患の解明には有用である。また, 日本人のようなほぼ単一の民族は, 人種等による個人 差が少ないと考えられることから検索しやすく, ま た,日本人についての解析が必要と考えられ Z 19−21)

SNPには、cDNAをターゲットとしたcSNPとゲノムDNAをターゲットとしたSNPがある。cDNAは、タンパク質をコードするSNPを見つけることができ、タンパク質のアミノ酸配列に変化を起こすようなSNPを見つけるのに有効である。それに対し、ゲノムDNAのSNPは、mRNAの塩基配列に反映されないイントロンのSNPや遺伝子発現を調整しているエンハンサーやサイレンサー配列などの検索に有効であるという利点がある。本研究では、安定で取り扱いが比較的容易であり、今後さらに遺伝子構造から機能の検索へとつなげるためにゲノムDNAのSNPの検索を行った。

現在までのところ、遺伝子解析技術面から、IL1や $Fc\gamma$ についての検索が行われ、歯周炎との関連が

示されている4,11-13,16,17)。

遺伝子解析技術と日本人特有のSNPs (JSNP) データベースの進歩により<sup>22,23)</sup>、複数の歯周炎関連因 子についての解析が可能となり、遺伝子配列による構 造からの歯周炎関連遺伝子の解明につながる可能性に ついての検討を目的とした。

本研究では、まず、日本人特有のSNPであるJSNPデータベースに登録されている複数のサイトカインや歯周組織破壊関連因子の歯周炎関連候補遺伝子のうち、機能と関連がある可能性をもった塩基配列位置にあるものを選択した。さらに、それらのうち、SNPsにはランダムではなく連関して存在するものあるという連鎖不平衡を考慮し、SNPs解析を行い、歯周炎関連因子について遺伝子配列から構造の検討を行った。

## 材料および方法

日本歯科大学歯学部附属病院に歯周病を主訴に来院 し, 非喫煙者で, う蝕感受性が低く, 補綴処置部位が 少なく, 咬合等の外的因子の影響が少ない患者を対象 とした。研究目的および方法を説明し,書面にて同意 を得られた22人(男性9人,女性13人,平均年齢 39.7歳)を患者群とした。さらに患者群を35歳未満 で発症し, エックス線写真で骨吸収が認められ, 歯周 組織検査で5mm以上の歯周ポケットが2歯以上 あった早期発症型歯周炎群24) (男性3人,女性10人, 平均年齢32.2歳)と,35歳以降に発症し,水平性の 骨吸収が認められ,歯周組織検査で5mm以上の歯 周ポケットと動揺が認められた歯が3歯以上あった成 人性歯周炎群(男性6人,女性3人,平均年齢50.5 歳) に分類した。また、来院者のうち、エックス線写 真および歯周組織検査より上記の特徴を有さない患者 と歯科医師19人(男性9人,女性10人,平均年齢 38.8歳)をコントロール群とした。今回の研究では, 少数ではあるが臨床所見の類似したものについて解析

研究を行うにあたり、日本歯科大学倫理委員会の審 査を受け、承認を得た。

## 1. DNA 抽出法

前腕の静脈より末梢血を7ml採取し,凝固防止剤 (EDTA 0.5 M) 処理を行った。その後,血液 DNA 抽出キット GENOMIX (Talent SRL, Italy) を用いてゲノム DNA の抽出を行い,SNPs 解析に用いた。

#### 2. SNPs 解析法

1) TagMan PCR 法<sup>25-27)</sup>による解析

歯周炎候補遺伝子のうち、日本人の標準 SNP データベース(JSNP)に登録され、連鎖不平衡を考慮し選択した 59 SNPs におけるジェノタイプ頻度分布について解析を行った。解析した SNPs および JSNP ID を表 1 に示す。

TaqMan PCR 法の原理は、約20塩基程度の長さのアリル特異的オリゴ(TaqMan プローブ)の5'末端をFAMとVICの蛍光レポーター色素で、3'末端をクエンチャー(消光物質)で標識する。その際、3'末端をリン酸化し、PCR 反応中に TaqMan プローブからの伸長反応が起こらないようにする。TaqDNAポリメラーゼの5'ヌクレアーゼ活性により、蛍光色素結合部分が切断されると蛍光色素が遊離し、クエンチャーの影響を受けなくなり発色し、その発色を検出するというものである。

1 SNP あたり DNA 5.0 ng を用いた。反応組成は、10×TaqMan Probe kit 0.5 ul (Applied Biosystems, U.S.A.), 2×TaqMan Universal PCR Master Mix 2.5 ul (Applied Biosystems, U.S.A.), Template DNA 2 ul (2.5 ng/ul) で全量 5 ul とした。増幅には GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, U.S.A.) を使用し、PCR条件は、50°C 2分、95°C 10分の後、95°C 15 秒、60°C 60 秒 40 サイクルとした。

解析装置としては、ABI PRISM 7900 HT Sequence Detection System とソフトウエア version ABI PRISM RSDS 2.0 (Applied Biosystems, U.S.A.) を使用し、Taq DNA ポリメラーゼのヌクレアーゼ活性による 5'末端の FAM または VIC の 蛍光レポーター色素の発色を検出し、アリルの検索を行った。

# 2) 統計解析

各 SNP において、(1) 早期発症型歯周炎群とコントロール群、(2) 成人性歯周炎群とコントロール群、および、(3) 早期発症型歯周炎群と成人性歯周炎群の3項目について Fisher's Exact Test ( $2\times3$ ) を行い、ジェノタイプ頻度分布について、統計学的に有意差検定 (p<0.05)  $^{28-31}$ ) を行った。

## 結 果

1. 早期発症型歯周炎群とコントロール群における ジェノタイプ頻度分布についての有意差検討

ジェノタイプ頻度分布について有意差検定(p<0.05)を行ったところ,カテプシンG(CTSG)と腫瘍壊死因子レセプター関連因子1(TRAF1)で有意

表 1-1 解析を行った SNPs (59 SNPs) の Gene Symbol および JSNP ID

Gene Name and Symbol	JSNP ID
カテプシンG (CTSG)	IMS-JST 017157
(CTSG)	IMS-JST 005651
(CTSG)	IMS-JST 005652
線維芽細胞増殖因子(FGF 1)	IMS-JST 032061
(FGF 1)	IMS-JST 026105
(FGF 1)	IMS-JST 032063
(FGF 1)	IMS-JST 032068
インターフェロンγ (IFNG)	IMS-JST 037908
(IFNG)	IMS-JST 005616
インターフェロンγレセプター 2 (IFNGR 2)	IMS-JST 005184
(IFNGR 2)	IMS-JST 021997
(IFNGR 2)	IMS-JST 034430
インターロイキン 10 レセプターα (IL 10 RA)	IMS-JST 072401
(IL 10 RA)	IMS-JST 031575
(IL 10 RA)	IMS-JST 031574
(IL 10 RB)	IMS-JST 034428
(IL 10 RB)	IMS-JST 010758
(IL 10 RB)	IMS-JST 035069
インターロイキン $1$ α (IL $1$ A)	IMS-JST 006817
(IL 1 A)	IMS-JST 006818
(IL 1 A)	IMS-JST 006815
インターロイキン $1 \beta$ (IL $1 B$ )	IMS-JST 017198
(IL 1 B)	IMS-JST 017197
インターロイキン1レセプター1 (IL1R1)	IMS-JST 037789
インターロイキン1レセプター2 (IL1R2)	IMS-JST 017403
(IL 1 R 2)	IMS-JST 009858
(IL 1 R 2)	IMS-JST 017410
(IL 1 R 2)	IMS-JST 008500
(IL 1 R 2)	IMS-JST 008492
プロスタグランジン1 (PTGER 1)	IMS-JST 013213
プロスタグランジン3 (PTGER 3)	IMS-JST 009128
(PTGER 3)	IMS-JST 021686
(PTGER 3)	IMS-JST 055733
(PTGER 3)	IMS-JST 055734
(PTGER 3)	IMS-JST 021694
(PTGER 3)	IMS-JST 055740
(PTGER 3)	IMS-JST 021696
(PTGER 3)	IMS-JST 055742
(PTGER 3)	IMS-JST 021703

表 1-2

20	
Gene Name and Symbol	JSNP ID
	IMS-JST 020522
(TIMP 3)	IMS-JST 020523
(TIMP 3)	IMS-JST 033535
(TIMP 3)	IMS-JST 033539
腫瘍壞死因子(TNF)	IMS-JST 005889
腫瘍壊死因子 α レセプター関連因子 1 (TRAF 1)	IMS-JST 010872
(TRAF 1)	IMS-JST 010868
(TRAF 1)	IMS-JST 023072
(TRAF 1)	IMS-JST 057349
マトリックスメタロプロテアーゼ1 (MMP1)	IMS-JST 006583
(MMP 1)	IMS-JST 075062
(MMP 1)	IMS-JST 010002
マトリックスメタロプロテアーゼ 3 (MMP 3)	IMS-JST 006586
マトリックスメタロプロテアーゼ 8 (MMP 8)	IMS-JST 072484
マトリックスメタロプロテアーゼ 9 (MMP 9)	IMS-JST 070716
(MMP 9)	IMS-JST 070721
(MMP 9)	IMS-JST 016721
IgEFc フラグメント高親和性レセプター 1 α サブユニット	(FCER 1 A) IMS-JST 035471
	(FCER 1 A) IMS-JST 072990
	(FCER 1 A) IMS-JST 023997

表 2 早期発症型歯周炎群とコントロール群との比較(単位:人)

	CTSG p=0.049 (IMS-JST 005652) Genotype				F1 p=	
				Genotype		
	GG	G/A	AA	CC	C/T	TT
早期発症型歯周炎群	5	4	4	2	10	1
コントロール群	9	10	0	2	6	11

表 3 成人性歯周炎群とコントロール群との比較(単位:人)

		IL 10 RB p=0.039 (IMS-JST 010758)			P9 p=0 S-JST 070	
		Genotype			Genotype	)
	GG	G/A	AA	CC	C/T	ТТ
成人性歯周炎群	1	8	0	4	2	3
コントロール群	11	8	0	8	11	0

差が認められた(表2)。

ノタイプ頻度分布についての有意差検討

ジェノタイプ頻度分布について有意差検定 (p<

0.05) を行ったところ, インターロイキン 10 レセプ 2. 成人性歯周炎群とコントロール群におけるジェ  $タ-\beta$  (IL 10 RB) とマトリックスメタロプロテアー ゼ 9 (MMP 9) で有意差が認められた (表 3)。

表 4 早期発症型歯周炎群と成人性歯周炎群との比較 (単位:人)

	(平位・バ)			
	IFNG p=0.021 (IMS-JST 005616) Genotype			
_				
	GG	G/A	AA	
早期発症型歯周炎群	6	6	1	
成人性歯周炎群	0	5	4	

# 3. 早期発症型歯周炎群と成人性歯周炎群における ジェノタイプ頻度分布についての有意差検討

ジェノタイプ頻度分布について有意差検定 (p< 0.05) を 行った と こ ろ,イ ン ターフェロ ン  $\gamma$  (INFG) で有意差が認められた (表 4)。

#### 考 察

歯周炎は、歯周組織の破壊を伴う炎症性疾患である。歯周炎の原因としては、主に、歯周病原性細菌と それに対する複数の免疫応答を中心とした生体反応が あげられることから、多因子性疾患であると考えられ る。

歯周炎を含め、生活習慣病のような多因子性疾患の発症は、遺伝疾患のような単一の遺伝子異常のみによらず、複数の疾患感受性遺伝子と環境の相加的作用によるものである。つまり、多因子性疾患にみられる遺伝子の多型は、存在するから必ず疾患が発症するという決定因子ではなく、複数の要因が重なることにより発症する危険因子である。

現在までに、歯周炎に罹患している人とそうでない人とでは、口腔内の細菌の種類や数、唾液成分などに違いがあることが報告されてきている。しかし、細菌定着や歯肉内での炎症の成立には個人差が認められる。このことから、歯周炎の発症および進行には、外部からの刺激に対する個人の生体反応の関連が推測される。

そこで本研究では、歯周炎群とそのコントロール群における遺伝子構造の相違について、DNA配列中に見られる多型のうちもっともよく見られる多型で、疾患易罹患性に関連する遺伝子を探索する際の有用な多型マーカーである一塩基多型(SNPs)から検討を行った。

実験方法としては、TaqMan PCR 法を用いた。この方法は、DNA チップと比較すると、使用するDNA 濃度は高いが、DNA チップの精度が60%台であるのに対して、TaqMan PCR 法では精度は90%

台と高い<sup>32)</sup>。また,タイピング反応および蛍光検出の2ステップしか必要としないため,タイピングに要するステップが少ないことが大きな利点である。

また、JSNP に登録されている SNPs は同じ染色体上の近傍に存在する複数のアリルが連関するという連鎖不平衡<sup>33)</sup>を考慮すると、データベースのすべての SNPs を解析する必要はない。解析項目としては、JSNP データベースより歯周炎候補遺伝子として数種を選び、遺伝子ごとに1から数 SNPs をこの連鎖不平衡を考慮して選択した。

実験結果より、早期発症型歯周炎群とコントロール群では CTSG のイントロンと TRAF1のイントロンの SNPs においてジェノタイプ頻度分布に統計学的有意差が認められた。このことから,CTSG および TRAF1が早期発症型歯周炎の関連因子である可能性が考えられる。CTSG は,結合組織破壊に関与する細胞内タンパク質分解酵素のセリンプロテアーゼの1つであり,早期発症型歯周炎における組織破壊に関与している可能性が考えられる。TRAF1は,IL  $1^{34,35}$ ) 産生や線維芽細胞のコラゲナーゼ産生作用等のある TNF $\alpha^{35}$ のレセプターである。レセプター部位において遺伝子構造に差が認められたことから,歯周炎の発症および進行と関連があるといわれている TNF $\alpha$  そのものだけではなくレセプターによる影響も考慮する必要があるといえる。

成人性歯周炎群とコントロール群では、IL 10 RB のイントロンと MMP 9 のエクソンの SNPs においてジェノタイプ頻度分布に統計学的有意差が認められた。このことから、IL 10 RB と MMP 9 が早期発症型歯周炎の関連因子である可能性が考えられる。IL 10 RB は,Th 1 の増殖抑制,B 細胞の活性化作用等をもつ IL 10 のレセプターである $^{36}$ 。 MMP 9 は,慢性炎症疾患において活性化を必要とする前駆体として分泌され,細胞外有機基質であるコラーゲンやプロテオグリカン等を破壊する $^{35,37}$ 。

また、早期発症型歯周炎群と成人性歯周炎群では、INFGのイントロンの SNPs においてジェノタイプ 頻度分布に統計学的有意差が認められた。IFNG は、 T細胞から産生され、免疫調整作用等をもつ。この ことから、早期発症型歯周炎と成人性歯周炎では、免 疫調整に影響をもつ、IFNG の作用に相違がある可能 性が考えられる。

統計学的有意差が認められた多型部位については表5に示す。CTSG, TRAF1, IL 10 RB, IFNGでは, 有意差が認められた部位は調節領域であるイントロンにあることから遺伝子発現量および表現型の変化に影響する可能性が考えられる。また, MMP9では, 有

Gene Symbol	CTSG	TRAF 1	IL 10 RB	MMP 9	IFNG
JSNP ID	IMS-JST 0005652	IMS-JST 023072	IMS-JST 010758	IMS-JST 070721	IMS-JST 005616
Type	SNP	SNP	SNP	SNP	SNP
	イントロン	イントロン	イントロン	エクソン	イントロン
SNPs Position in Sequence	1690	33414	4115463	102930	2459
Allele	A/G	T/C	A/G	T/C	A/G
Мар	14 q 11.2	9 q 33-q 34	21 q 22.11	20 q 11.2-q 13.1	12 q 14

表 5 統計学的有意差が認められた多型部位

意差が認められた部位は翻訳領域のエクソンにあることからアミノ酸変化およびそれに伴う表現型の変化に 影響する可能性が考えられる。

本研究は、比較的少量のDNAから多くのSNPs タイピングが可能になってきたことを背景に、遺伝子構造から'歯周炎をみる'手始めとして、歯周炎関連候補遺伝子から解析可能なSNPsについて検討したものである。歯周炎についての遺伝子学的危険因子の解明については、今後さらに多くの検体とSNPsについて検討を加えていく必要がある。

遺伝子解析への理解と SNPs 解析法の進歩および 連鎖不平衡の解明により、すべての SNPs を個々に 解析することなく、全 SNPs の解析が可能となり、 構造的に歯周炎関連遺伝子の多くを明らかにできる可 能性がある。そしてそこから、機能面の検索を行うこ とにより、歯周炎の発症および進行の解明へつながる ものと考えられる。

また,本研究では末梢血を用いたが,歯周炎関連遺伝子解明後は,多量のDNAを採取することなく,唾液や頰粘膜の擦過等により無痛的に検体を採取することにより,疾病罹患の予測などの発症前診断を行い,予防や適切な治療が可能となる日が近い将来訪れるものと考えられる。

本研究の一部は平成13年度科学研究費補助金奨励研究(A)課題番号13771315の補助を受けて行った。

本論文の要旨は,第 44 回日本歯周病学会秋季学術大会 (平成 13 年 10 月 18 日,岡山) において発表した。

## 文 献

1) The International SNP Map Working Group: A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. Nature, 409: 928-933, 2001.

- 2) The International Human Genome Mapping Consortium: A physical map of the human genome. Nature, 409: 934-941, 2001.
- 3) Kornman KS, Crane A, Wang H-Y, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson Jr TG, Higginbottom FL, Duff GW: The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. J Clin Periodontol, 24:72-77, 1997.
- 4) Kobayashi T, Westerdaal NA, Miyazaki A, van der Pol WL, Suzuki T, Yoshie H, van de Winkel JG, Hara K: Relevance of immunoglobulin G Fc receptor polymorphism to recurrence of adult periodontitis in Japanese patients. Infect Immun, 65: 3556-3560, 1997.
- Gore EA, Sanders JJ, Pandey JP, Palesch Y, Galbraith GM: Interleukin-1 beta+3953 allele
   association with disease status in adult periodontitis. J Clin Periodontol, 25: 781-785, 1998.
- 6) Galbraith GMP, Hendley TM, Sanders JJ, Palesch Y, Pandey JP: Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis. J Clin Periodontol, 26: 705-709, 1999.
- 7) McGuire MK, Nunn ME: Prognosis versus actual outcome. IV. The effectiveness of clinical parameters and IL-1 genotype in accurately predicting prognoses and tooth survival. J Periodontol, 70: 49-56, 1999.
- 8) Engebretson SP, Lamster IB, Herrera-Abreu M, Celenti RS, Timms JM, Chaudhary AGA, di Giovine FS, Kornman KS: The influence of interleukin gene polymorphism on expression of interleukin-1 β and tumor necrosis factor-α in periodontal tissue and gingival crevicular fluid. J Periodontol, 70: 567-573, 1999.
- 9) Mark LL, Haffajee AD, Socransky SS, Kent Jr RL, Guerrero D, Kornman K, Newman M, Stashenko P: Effect of the interleukin-1 genotype on monocyte IL-1 β expression in subjects with adult periodontitis. J Periodont Res, 35:

- 172-177, 2000.
- 10) Armitage GC, Wu Y, Wang H-Y, Sorrel J, di Giovine FS, Duff GW: Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. J Periodontol, 71: 164-171, 2000.
- 11) Kobayashi T, Sugita N, van der Pol WL, Nunokawa Y, Westerdaal NA, Yamamoto K, van de Winkel JG, Yoshie H: The Fcγreceptor genotype as a risk factor for generalized early-onset periodontitis in Japanese patients. J Periodontol, 71: 1425-1432, 2000.
- 12) Shirodaria S, Smith J, McKay IJ, Kennett CN, Hughes FJ: Polymorphisms in the IL-1 A gene are correlated with levels of interleukin-1 α protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease. J Dent Res, 79: 1864-1869, 2000.
- 13) Kobayashi T, Yamanoto K, Sugita N, van der Pol W-L, Yasuda K, Kaneko S, van de Winkel JGJ, Yoshie H: The Fcγ receptor genotype as a severity factor for chronic periodontitis in Japanese Patients. J Periodontol, 72: 1324-1331, 2001.
- 14) Laine ML, Farre MA, Garcia-Gonzalez MA, Dijk LJ, Winkel EG, Crusius JBA, Vandenbroucke JP, Winkelhoff AJ, Pena AS: Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. J Dent Res, 80: 1695-1699, 2001.
- 15) Thomson WM, Edwards SJ, Dobson-Le DP, Tompkins GR, Poulton DA, Knight DA, Braithwaite AW: IL-1 genetype and adult periodontitis among young New Zealanders. J Dent Res, 80: 1700-1703, 2001.
- 16) 加藤葉月:日本人における歯周炎患者および健常者 のインターロイキン1遺伝子の多型について. 日歯 周誌, 42:1-12, 2000.
- 17) 小林哲夫,吉江弘正:Fcγ受容体遺伝子多型と歯 周炎感受性.最新医学,55:2329-2335,2000.
- 18) Anthony JB: Review The essence of SNPs. Gene, 234: 177-186, 1999.
- 19) 森谷眞紀, 板倉光夫:多遺伝子性疾患と遺伝子多型 - ヒトゲノムの多様性(1)-. 遺伝,54:36-41, 2000.
- 20) 森谷眞紀, 板倉光夫: 関連 (アソシエーション) に よる多遺伝子性疾患の研究. 実験医学, 18:1667-1672, 2000.
- 21) 森谷眞紀,板倉光夫:SNPsと多遺伝子性疾患、実験医学,18:1907-1911,2000.
- 22) 矢田哲士: コンピュータを利用したヒト遺伝子の発見手法. 遺伝, 54:63-68, 2000.
- 23) Rosalind JC, Rob WG, 荻原 淳:SNP 検出と解

- 析のためのソフトウエアおよびデータベース. 実験 医学, 18:1888-1893, 2000.
- 24) アメリカ歯周病学会編,石川 烈監訳:AAP 歯周 疾患の最新分類,第1版,クインテッセンス出版株 式会社,東京,2001,49-64.
- 25) Lymichev V, Brow MAD, Dahlberg JE: Structure-specific endonucleolytic cleavage of nucleic acids by eubacterial DNA polymerases. SCI-ENCE, 260: 778-783, 1993.
- 26) Livak KJ: Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5'nuclease assay. Genetic Analysis: Biomolecular Engineering, 14: 143– 149, 1999.
- 27) Lyamichev V, Brow MAD, Varvel VE, Dahlberg JE: Comparison of the 5' nuclease activities of Taq DNA polymerase and its isolated nuclease domain. Proc Natl Acad Sci USA, 96: 6143-6148, 1999.
- 28) Ohashi J, Tokunaga K: The power of genomewide association studies of complex disese genes: statistical limitations of indirect appuroaches using SNP markers. J Hum Genet, 46: 478-482, 2001.
- 29) Ober C, Tsalenko A, Parry R, Cox NJ: A second-generation genomewide screen for asthma-susceptibility alleles in a founder population. Am J Genet, 67: 1154-1162, 2000.
- 30) Sasaki T, Tahira T, Suzuki A, Higasa K, Kukita Y, Baba S, and Hayashi K: Precise estimation of allele frequencies of single-nucleotide polymorphisms by a quantitative SSCP analysis of pooled DNA. Am J Hum Genet, 68: 214-218, 2001.
- 31) Ohashi J, Yamamoto N, Tsuchiya N, Hatta Y, Komata T, Matsushita M, Tokunaga K: Comparison of statistical power between 2×2 allele frequency and allele positivity tables in case contorol studies of complex disease denes. Ann Hum Genet, 65: 197-206, 2001.
- 32) 中村祐輔:SNP遺伝子多型の戦略,第1版,中山 書店,東京,2000,94-105.
- 33) Abecasis GR, Noguchi E, Heinzamann A, Traherne JA, Bhattacharyya S, Leaves NI, Anderson GG, Zhang Y, Lench NJ, Carey A, Cardon LR, Moffatt MF, Cookson WOC: Extent and distribution of linkage disequilibrium in three genomic regions. Am J Hum Genet, 68: 191–197, 2001.
- 34) Eisenberg SP, Evans RJ, Arend WP, Verderber E, Brewer MT, Hannum CH, Thompson RC: Primary structure and functional expression from complementary DNA of a human interleukin-1 receptor antagonist. Nature, 343: 341-346, 1990.

- 35) Meikle MC, Atkinson SJ, Ward RV, Murphy G, Reynolds JJ: Gingival fibroblasts degrade type I collagen films when stimulated with tumor necrosis factor and interleukin 1: evidence that breakdown is mediated by metalloproteinases. J Periodontal Res, 24: 207-213, 1989.
- 36) Avdiushko R, Hongo D, Lake-Bullock H, Kaplan A, Cohen D: IL-10 receptor dysfunction in ma-
- crophages during chronic inflammation. J leukoc Biol, 70:624-632, 2001.
- 37) Makeka M, Salo T, Uitto VJ, Larjava H: Matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) of the oral cavity: cellular origin and relationship to periodontal status. J Dent Res, 73:1397-1406, 1994.

#### 連絡先:

〒 102-8158 東京都千代田区富士見 2-3-16 日本歯科大学歯学部附属病院歯周病学講座