

Interleukin-12 und Interferon- γ Genpolymorphismen bei chronischer und aggressiver Parodontitis

Sprache: Deutsch

Autoren:

Dr. med. dent. Stefan Reichert, Dr. med. dent. Jana Klapproth, Dr. med. dent. Uta Zimmermann, Univ.-Prof. Dr. med. dent. Hans-Günter Schaller, Dr. rer. nat. Susanne Schulz, Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg, Klinikum der Medizinischen Fakultät, Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie, Dr. rer. nat. Helmut K.G. Machulla, Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg, Klinikum der Medizinischen Fakultät, Interdisziplinäres HLA-Labor

Datum/Veranstaltung/Ort:

27.-29. September
Jahrestagung der DGP
Bonn

Einleitung

Interleukin (IL)-12 und Interferon (IFN)- γ triggern die zellvermittelte Immunität (Makrophagen Aktivierung) (HALL et al. 2000, TRINCHIERI und GEROSA 1996) sowie die Expression von MHC-Moleküle (RODRIGUEZ et al. 2007) und hemmen die Th2-Antwort. Beide Zytokine sind notwendig in der Bildung spezifischer IgG2-Antikörper gegen *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (TANAKA et al. 2006) und *Porphyromonas gingivalis* (KIKUCHI et al. 2005). Sie spielen weiterhin eine Rolle in der Aufrechterhaltung der Alveolarknochenhomöostase (BAKER et al. 1999, ALAYAN et al. 2007). Die Genpolymorphismen IFN- γ 874 T/A und IL-12 UTR 1188 A/C (Tab. 1) beeinflussen die Zytokinproduktion (SEEGERS et al. 2002, PRAVICA et al. 1999, PRAVICA et al. 2000) und könnten deshalb für die Diagnostik der aggressiven und chronischen Parodontitis relevant sein.

IFN- γ 874 T/A	IL-12 1188 A/C	Zytokinproduktion
AA	AA	gering
TA	AC	mittel
TT	CC	hoch

Tab. 1: IL-12 1188 A/C und IFN- γ 874 T/A beeinflussen die Zytokinproduktion

Problemstellung

Bestimmung der Allel- und Genotypfrequenzen von IFN- γ 874 T/A und IL-12 1188 A/C bei Patienten mit generalisierter aggressiver Parodontitis (AP) und generalisierter chronischer Parodontitis (CP) im Vergleich zu Kontrollprobanden ohne Parodontitis. Durchführung einer Risikoanalyse unter Berücksichtigung etablierter Kofaktoren für Parodontitis. Bestimmung des Einflusses beider Polymorphismen auf die Detektionsrate von 5 parodontalen Markerkeimen.

Material und Methoden

Probanden

In die Studie gingen 47 Patienten mit CP (Alter 47 Jahre, 68,1% Frauen), 67 Patienten mit AP (Alter 41 Jahre, 64,2% Frauen) sowie 50 Kontrollprobanden ohne Parodontitis (Alter 44,8 Jahre, 56,0% Frauen) ein.

Bestimmung von 5 parodontalen Leitkeimen

Die Plaqueproben wurden mit sterilen Papierspitzen aus der tiefsten Tasche jedes Quadranten entnommen und gepoolt. Die DNA-Präparation erfolgte mit dem QIAamp DNA Mini Kit (Quiagen, Hilden, Deutschland). Der Nachweis von *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis* und *Treponema denticola* erfolgte nach Multiplex-PCR mit spezifischen biotinmarkierten Primern und Hybridisierung mit Sonden (micro-Ident Hain Lifescience, Nehren, Deutschland).

Nachweis der IFN- γ und IL-12 Polymorphismen

Die DNA-Präparation (Quiagen, Hilden, Deutschland) erfolgte aus venösem EDTA-Blut. Beide SNPs wurden mit PCR-SSP nachgewiesen (CTS-PCR-SSP Tray Kit, Heidelberg, Deutschland).

Ergebnisse

Allel- und Genotypfrequenzen

In bivariaten Vergleichen wurden keine signifikanten Unterschiede ermittelt. Bei AP wurden der Genotyp IFN- γ 874 TA von der Tendenz vermehrt nachgewiesen während IFN- γ TT seltener vorkam (Tab. 2). In allen Patientengruppen kam IL12 CC vermindert vor (Tab. 3).

IFN- γ 874 T/A	CP n (%)	AP n (%)	AP+CP n (%)	Kontrollen n (%)
Allele	n=94	n=134	n=228	n=100
T	43 (45,7)	57 (42,5)	100 (43,9)	46 (46,0)
A	51 (54,3)	77 (57,5)	128 (56,1)	54 (54,0)
Genotyp	n=47	n=67	n=114	n=50
AA	17 (36,2)	20 (29,9)	37 (32,5)	17 (34,0)
TA	17 (36,2)	37 (55,2)	54 (47,4)	20 (40,0)
TT	13 (27,7)	10 (14,9)	23 (20,2)	13 (26,0)

Tab. 2: IFN- γ 874 T/A Allel- und Genotypfrequenzen

IL-12 1188 A/C	CP n (%)	AP n (%)	AP+CP n (%)	Kontrollen n (%)
Allele	n=94	n=134	n=228	n=100
A	74 (78,7)	108 (80,6)	182 (79,8)	73 (73,0)
C	20 (21,3)	26 (19,4)	46 (20,2)	27 (27,0)
Genotyp	n=47	n=67	n=114	n=50
AA	31 (66,0)	46 (68,7)	77 (67,5)	30 (60,0)
CA	12 (25,0)	16 (23,9)	28 (24,6)	13 (26,0)
CC	4 (8,5)	5 (7,5)	9 (7,9)	7 (14,0)

Tab. 3: IL-12 1188 Allel- und Genotypfrequenzen

Risikoanalyse mit logistischer Regression

Unter Berücksichtigung der Kofaktoren Alter, Geschlecht, Rauchen und Plaqueindex (Tab. 4 Modell 1) erhöhte der Genotyp IFN- γ 874 TA die Odds ratio für die Präsenz von AP. Wurden anstatt des API die Detektionsrate der untersuchten Bakterien berücksichtigt, ergab sich keine Signifikanz für einen IFN- γ Genotyp (Tab. 4, Modell 2).

Signifikante Variable	Regressionskoeffizient	Standardfehler	p-Werte	Odds ratio	95% CI
Modell 1					
Alter	-0,080	0,019	0,048	0,962	0,972-1,000
API	0,018	0,008	0,035	1,018	1,001-1,035
IFN- γ 874 TA	0,859	0,912	0,035	2,355	1,061-5,225
Modell 2					
Alter	-0.081	0,028	0,005	0,923	0,873-0,975
P. gingivalis	3,339	0,610	<0,001	28,20	8,54-93,18
P. intermedia	1,208	0,540	0,025	3,348	1,16-9,65

Tab. 4: Logistische Regression (rückwärts, schrittweise) für die Bestimmung der adjustierten Odds ratio für IFN- γ 874 TA. Nur die Endmodelle sind aufgeführt

Bakterien in Abhängigkeit von IFN- γ und IL-12 Genotypen

Der Genotyp IFN- γ 874 AA verminderte die Odds ratio ($=0,41$, $p=0,034$, CI 0,18-0,94) für den Nachweis von A. actinomycetemcomitans, adjustiert für Alter, Geschlecht, Rauchen und Sondertiefe an den Probenentnahmestellen. P. Intermedia wurde von der Tendenz ($p=0,052$; $p_{yates}=0,074$) häufiger bei IFN- γ TA positiven Individuen nachgewiesen (Tab. 5).

Genotyp	Aa + n (%)	Pg + n (%)	Pi + n (%)	Tf + n (%)	Td + n (%)
IFN-γ 874					
AA	11 (20,4)	36 (66,7)	26 (48,1)	47 (87,0)	45 (83,3)
TA	24 (32,4)	45 (60,8)	45 (60,8)	60 (81,8)	62 (83,3)
TT	14 (38,9)	21 (58,3)	15 (41,7)	26 (72,2)	29 (80,6)
IL-12 1188					
AA	34 (31,8)	67 (62,6)	58 (54,2)	84 (78,5)	90 (84,1)
AC	12 (29,3)	26 (63,4)	20 (48,8)	35 (85,4)	34 (82,9)
CC	3 (18,8)	9 (56,3)	8 (50,0)	14 (87,5)	12 (75,0)

Tab. 5 Nachweis von parodontalen Markerkeimen in Abhängigkeit von IFN- γ und IL-12 Genotypen; n (%) =Anzahl und Prozent von Probanden mit positivem Bakterienbefund

Schlußfolgerungen

Der mit mittlerer IFN- γ Produktion assoziierte Genotyp IFN- γ 874 TA ist ein potentieller Risikoindikator für aggressive Parodontitis. Der Genotyp IFN- γ AA verringert das Risiko für eine Infektion mit Actinobacillus actinomycetemcomitans. Er zeigte aber keine Assoziation zur Parodontitis.

Literatur

- Hall MA, McGlenn E, Coakley G et al. Genetic polymorphism of IL-12 p40 gene in immune-mediated disease. Genes Immun 2000;1:219-224.
- Trinchieri G, Gerosa F. Immunoregulation by interleukin-12. J Leukoc Biol 1996;59:505-511.
- Rodriguez T, Mendez R, Del Campo A et al. Patterns of constitutive and IFN-gamma inducible expression of HLA class II molecules in human melanoma cell lines. Immunogenetics 2007;59:123-133.
- Tanaka S, Fakher M, Barbour SE, Schenkein HA, Tew JG. Influence of proinflammatory cytokines on Actinobacillus actinomycetemcomitans specific IgG responses. J Periodontal Res 2006;41:1-9.

5. Kikuchi T, Willis DL, Liu M et al. Dendritic-NK cell interactions in *P. gingivalis*-specific responses. *J Dent Res* 2005;84:858-862.
6. Baker PJ, Dixon M, Evans RT, Dufour L, Johnson E, Roopenian DC. CD4(+) T cells and the proinflammatory cytokines gamma interferon and interleukin-6 contribute to alveolar bone loss in mice. *Infect Immun* 1999;67:2804-2809.
7. Alayan J, Ivanovski S, Farah CS. Alveolar bone loss in T helper 1/T helper 2 cytokine-deficient mice. *J Periodontol Res* 2007;42:97-103.
8. Seegers D, Zwiers A, Strober W, Pena AS, Bouma G. A TaqI polymorphism in the 3'UTR of the IL-12 p40 gene correlates with increased IL-12 secretion. *Genes Immun* 2002;3:419-423.
9. Pravica V, Asderakis A, Perrey C, Hajeer A, Sinnott PJ, Hutchinson IV. In vitro production of IFN-gamma correlates with CA repeat polymorphism in the human IFN-gamma gene. *Eur J Immunogenet* 1999;26:1-3.
10. Pravica V, Perrey C, Stevens A, Lee JH, Hutchinson IV. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. *Hum Immunol* 2000;61:863-866.

Abkürzungen

Aa	Actinobacillus actinomycetemcomitans
AP	Aggressive Parodontitis
CP	Chronische Parodontitis
IL	Interleukin
IFN-γ	Interferon gamma
IgG	Immunglobulin G
SNP	single nucleotide polymorphism (engl.)
Tf	Tannerella forsythensis
Td	Treponema denticola
Pi	Prevotella intermedia
Pg	Porphyromonas gingivalis

Dieses Poster wurde übermittelt von Dr. Stefan Reichert.

Korrespondenz-Adresse:

[Dr. Stefan Reichert](#)

Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg

Klinikum der Medizinischen Fakultät, Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie

Grosse Steinstr. 19

D-06108 Halle (Saale)

Germany



Interleukin-12 und Interferon-γ Genpolymorphismen bei chronischer und aggressiver Parodontitis



S Reichert¹, HKG Machulla², J Klapproth¹, U Zimmermann¹, HG Schaller¹, S Schulz¹

¹Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie und ²Interdisziplinäres HLA-Labor

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

EINLEITUNG

Interleukin (IL)-12 und Interferon (IFN)-γ triggern die zellvermittelte Immunität (M2-Aktivierung) sowie die Expression von MHC-Molekülen und hemmen die Th2-Antwort. Beide Zytokine sind notwendig in der Bildung spezifischer IgG2-Antikörper gegen *A. actinomycetemcomitans* und *P. gingivalis*. Sie spielen weiterhin eine Rolle in der Aufrechterhaltung der Alveolarknochenhomöostase. Die Genpolymorphismen IFN-γ 874 T/A und IL-12 UTR 1188 A/C beeinflussen die Zytokinproduktion (Tab. 1) und könnten deshalb für die Diagnostik der aggressiven und chronischen Parodontitis relevant sein.

Tab. 1 IL-12 1188 A/C und IFN-γ 874 T/A beeinflussen die Zytokinproduktion

IFN-γ 874 T/A	IL-12 1188 A/C	Zytokinproduktion
AA	AA	gering
TA	AC	mittel
TT	CC	hoch

ZIEL

Bestimmung der Allel- und Genotypfrequenzen von IFN-γ 874 T/A und IL-12 1188 A/C bei Patienten mit generalisierter aggressiver Parodontitis (AP) und generalisierter chronischer Parodontitis (CP) im Vergleich zu Kontrollprobanden ohne Parodontitis. Durchführung einer Risikoanalyse unter Berücksichtigung etablierter Kofaktoren für Parodontitis. Bestimmung des Einflusses beider Polymorphismen auf die Detektionsrate von 5 parodontalen Markern.

MATERIAL UND METHODEN

Probanden

In die Studie gingen 47 Patienten mit CP (Alter 47,1±8,6 Jahre, 68,1% Frauen), 67 Patienten mit AP (Alter 41±10,1 Jahre, 64,2% Frauen) sowie 50 Kontrollprobanden ohne Parodontitis (Alter 44,8±11,2 Jahre, 56,0% Frauen) ein.

Bestimmung von 5 parodontalen Leitkeimen

Die Plaqueproben wurden mit sterilen Papierspitzen aus der tiefsten Tasche jedes Quadranten entnommen und gepoolt. Die DNA-Präparation erfolgte mit dem QIAamp DNA Mini Kit (Quiagen, Hilden, Deutschland). Der Nachweis von *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis* und *Treponema denticola* erfolgte nach Multiplex-PCR mit spezifischen biotinmarkierten Primern und Hybridisierung mit Gensonden (micro-Ident® Hain Lifescience, Nehren, Deutschland).

Nachweis der IFN-γ und IL-12 Polymorphismen

Die DNA-Präparation (Quiagen, Hilden, Deutschland) erfolgte aus venösem EDTA-Blut. Beide SNPs wurden mit PCR-SSP nachgewiesen (CTS-PCR-SSP Tray Kit, Heidelberg, Deutschland).

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Der mit mittlerer IFN-γ Produktion assoziierte Genotyp IFN-γ 874 AT ist ein potentieller Risikoindikator für aggressive Parodontitis. Der Genotyp IFN-γ AA verringert das Risiko für eine Infektion mit *A. actinomycetemcomitans*. Er zeigte aber keine Assoziation zur Parodontitis.

ERGEBNISSE

Allel- und Genotypfrequenzen

In bivariaten Vergleichen wurden keine signifikanten Unterschiede ermittelt. Bei AP wurden der Genotyp IFN-γ 874 TA von der Tendenz vermehrt nachgewiesen während IFN-γ TT seltener vorkam (Tab. 2). In allen Patientengruppen kam IL12 CC vermindert vor (Tab. 3).

Tab. 2 IFN-γ 874 T/A Allel- und Genotypfrequenzen

IFN-γ 874 T/A	CP n (%)	AP n (%)	AP+CP n (%)	Kontrollen n (%)
Allele	n = 94	n = 134	n = 228	n = 100
T	43 (45.7)	57 (42.5)	100 (43.9)	46 (46)
A	51 (54.3)	77 (57.5)	128 (56.1)	54 (54)
Genotyp	n = 47	n = 67	n = 114	n = 50
AA	17 (36.2)	20 (29.9)	37 (32.5)	17 (34.0)
TA	17 (36.2)	37 (55.2)	54 (47.4)	20 (40.0)
TT	13 (27.7)	10 (14.9)	23 (20.2)	13 (26.0)

Tab. 3 IL-12 1188 Allel- und Genotypfrequenzen

IL-12 1188 A/C	CP n (%)	AP n (%)	AP+CP n (%)	Kontrollen n (%)
Allele	n = 94	n = 134	n = 228	n = 100
A	74 (78.7)	108 (80.6)	182 (79.8)	73 (73.0)
C	20 (21.3)	26 (19.4)	46 (20.2)	27 (27.0)
Genotyp	n = 47	n = 67	n = 114	n = 50
AA	31 (66.0)	46 (68.7)	77 (67.5)	30 (60.0)
CA	12 (25.0)	16 (23.9)	28 (24.6)	13 (26.0)
CC	4 (8.5)	5 (7.5)	9 (7.9)	7 (14.0)

Risikoanalyse mit logistischer Regression

Unter Berücksichtigung der Kofaktoren Alter, Geschlecht, Rauchen und Plaqueindex (Tab. 4 Modell 1) erhöhte der Genotyp IFN-γ 874 TA die Odds ratio für die Präsenz von AP. Wurden anstatt des API die Detektionsrate der untersuchten Bakterien berücksichtigt, ergab sich keine Signifikanz für einen IFN-γ Genotyp (Tab. 4, Modell 2).

Tab. 4 Logistische Regression (rückwärts, schrittweise) für die Bestimmung der adjustierten Odds ratio für IFN-γ 874 TA. Nur die Endmodelle sind aufgeführt

Signifikante Variable	Regressionskoeffizient	Standardfehler	p-Werte	Odds ratio	95% CI
Modell 1					
Alter	-0.080	0.019	0.048	0.962	0.972-1.000
API	0.018	0.008	0.035	1.018	1.001-1.035
IFN-γ 874 TA	0.859	0.912	0.035	2.365	1.061-5.225
Modell 2					
Alter	-0.080	0.028	0.005	0.923	0.873-0.975
<i>P. gingivalis</i>	3.339	0.610	<0.001	28.20	8.54-93.18
<i>P. intermedia</i>	1.208	0.540	0.025	3.348	1.16-9.65

Bakterien in Abhängigkeit von IFN-γ und IL-12 Genotypen

Der Genotyp IFN-γ 874 AA verminderte die Odds ratio (=0,41, p=0,034, CI 0,18-0,94) für den Nachweis von *A. actinomycetemcomitans*, adjustiert für Alter, Geschlecht, Rauchen und Sondiertiefe an den Probenentnahmestellen. *P. intermedia* wurde von der Tendenz (p=0,052; p_{value}=0,074) häufiger bei IFN-γ TA positiven Individuen nachgewiesen (Tab. 5).

Tab. 5 Nachweis von parodontalen Markern in Abhängigkeit von IFN-γ und IL-12 Genotypen; n (%) =Anzahl und Prozent Probanden mit positivem Bakterienbefund

Genotyp	Aa + n (%)	Pg + n (%)	Pi + n (%)	Tf + n (%)	Td + n (%)
IFN-γ 874					
AA	11 (20.4)	36 (66.7)	28 (48.1)	47 (87.0)	45 (83.3)
AT	24 (32.4)	45 (60.8)	45 (60.8)	60 (81.1)	62 (83.3)
TT	14 (38.9)	21 (58.3)	15 (41.7)	26 (72.2)	29 (80.6)
IL-12 1188					
AA	34 (31.8)	67 (62.6)	58 (54.2)	84 (78.5)	90 (84.1)
AC	12 (29.3)	26 (63.4)	20 (48.8)	35 (85.4)	34 (82.9)
CC	3 (18.8)	9 (56.3)	8 (50.0)	14 (87.5)	12 (75.0)