

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年5月22日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20654

研究課題名(和文) エピゲノム解析を用いた非症候性唇顎口蓋裂における新規病因因子の同定

研究課題名(英文) Exploration of new factors associated with non-syndromic cleft lip and palate using epigenome analysis

研究代表者

高橋 正皓 (Takahashi, Masahiro)

昭和大学・歯学部・講師

研究者番号：10736713

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：裂型が異なる非症候性唇顎口蓋裂の一卵性双生児不一致患者2組を対象に全ゲノムシーケンス解析を行った。全ゲノムシーケンス解析の結果から、2組それぞれの兄弟間において遺伝的相違は認められなかった。1組に唇顎口蓋裂との関連が報告されているnoggin (NOG)とmethylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)に、もう1組にtropomyosin 1 (TPM1)とgrainyhead like transcription factor 3 (GRHL3)に新規のrare variantsが認められたが、いずれも非罹患者である父親または母親由来のものであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一卵性双生児は基本的に遺伝子情報が同じであるが、一方が疾患に罹患し、もう一方が罹患していない一卵性双生児を対象とした最近の研究から、一卵性双生児においても微妙な遺伝子情報の違いが存在する場合があります。その違いが疾患を引き起こすことが分かってきた。今回、裂型が異なる唇顎口蓋裂を伴う一卵性双生児不一致症例を対象に、世界で初めて全ゲノムシーケンス解析を行った。解析結果から、両者間に遺伝子情報の違いは認められなかったが、唇顎口蓋裂の発症や裂型の多様性には、遺伝的要因だけでなく、エピジェネティクスといった環境的要因が関与している可能性が示唆され、今後の研究の新しい筋道を明確にすることができた。

研究成果の概要(英文)：We compared the entire genome sequence of two pairs of monozygotic (MZ) twins presenting with different type of orofacial clefts. We found no genetic discordance among them. We also confirmed whether the MZ twins and their parents without orofacial clefts have gene variants reported to be associated with the occurrence of orofacial clefts by using conventional Sanger sequencing. Two pairs of MZ twins had a few concordant novel rare variants, respectively. Both a pair of MZ twins had variants in noggin and methylenetetrahydrofolate reductase, and both the other pair of MZ twins had variants in tropomyosin 1 and grainyhead like transcription factor 3. However, only one parent in both pairs had the respective concordant variant for each gene.

研究分野：矯正・小児系歯学

キーワード：唇顎口蓋裂 一卵性双生児 遺伝子解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1)唇顎口蓋裂患者は重篤な不正咬合を呈する。

歯科矯正治療において、現在、我が国が保険治療の適応を認めている疾患は、唇顎口蓋裂に起因した咬合異常、顎離断等の手術を必要とする顎変形症やゴールドデンハー症候群（鰓弓異常症を含む）他、咬合異常を呈する 40 以上の先天性疾患にまで及び。年々、保険治療の対象となる疾患が追加され、今日、歯科矯正臨床分野においても、保険診療の意義が益々重要となってきた。唇顎口蓋裂は、本邦では約 500 人あたりに対して 1 人の割合で発症を認め、最も頻度の高い先天性疾患の 1 つであり、日常の歯科矯正臨床においても、最も多く認められる疾患である。唇顎口蓋裂は、主に審美障害、言語障害、咬合異常を呈することから、包括的なチーム医療が必須であり、治療に関与する診療科は多岐にわたる。特に咬合異常に関しては、唇顎口蓋裂に起因する不正咬合ならびに咀嚼障害は重篤であり、出生後から成人に至るまで、長期間の治療や定期観察を必要とし、外科的矯正治療の適応となることも少なくない。

(2)非症候性唇顎口蓋裂の発症原因は未だ不明である。

唇顎口蓋裂の発症原因について、これまでに様々な研究が報告されてきたが、現在その発症は、環境的要因と遺伝的要因が複数関与した多因子によるものと考えられている [Nat Rev Genet 12:167-178, 2011]。環境的要因に関しては、母親の妊娠期間中におけるアルコールの摂取、喫煙や一部の薬剤摂取等が報告されているが、詳細は不明である。遺伝的要因に関しては、唇顎口蓋裂の罹患頻度には人種差が存在すること、家族集積性や性差が認められることから、長年、数多くの研究が行われてきた。そうした中で、症候性唇顎口蓋裂を伴う Van der Woude 症候群や Pop Liteal Pterygium 症候群は、IRF6 遺伝子における変異によって発症することが解明された [Nat Genet 32:285-289, 2002]。IRF6 の変異は、非症候性唇顎口蓋裂発症の候補遺伝子としても注目されている。その他にも、OFC、FOXE1、PDGF-C、TGF、WNT といったいくつかの候補遺伝子が報告されてきた。しかし、いずれの遺伝子も、非症候性唇顎口蓋裂の発症を十分に実証するまでには至っておらず、ヒトゲノム解析のアプローチのみからでは病因の説明は有限である。さらに、これまで唇顎口蓋裂を対象に、全ゲノムシーケンス解析を用いて遺伝子解析を行った報告はない。

2. 研究の目的

本研究は、全ゲノムシーケンス解析を用いた遺伝子解析と網羅的 DNA メチル化解析を用いたエピジェネティクスアプローチから、非症候性唇顎口蓋裂の発症に関する新規の原因因子を同定することを目的とする。

3. 研究の方法

昭和大学歯科病院矯正歯科を受診した裂型が異なる非症候性唇顎口蓋裂の一卵性双生児不一致患者 2 組（右側唇顎口蓋裂と左側唇顎口蓋裂を伴う兄弟、両側唇顎口蓋裂と両側唇裂及び左側顎裂を伴う兄弟）計 4 名から唾液の採取および DNA の抽出を行い、全ゲノムシーケンス解析を行った。さらに非罹患患者であるそれぞれの両親から唾液の採取および DNA の抽出を行い、全ゲノムシーケンス解析で変異が認められた唇顎口蓋裂との関連が報告されている遺伝子を対象に、サンガー法によるターゲットリシーケンスを行った。

4. 研究成果

全ゲノムシーケンス解析の結果から、2 組それぞれの兄弟間において遺伝的相違は認められなかった。1 組に唇顎口蓋裂との関連が報告されている *noggin* (*NOG*) と *methylenetetrahydrofolate reductase* (*MTHFR*) に、もう 1 組に *tropomyosin 1* (*TPM1*) と *grainyhead like transcription factor 3* (*GRHL3*) に rare variants が認められたが、いずれも非罹患患者である父親または母親由来のものであった。裂型の異なる唇顎口蓋裂を伴う一卵性双生児不一致症例を対象に、世界で初めて全ゲノムシーケンス解析を行い、報告した。

本研究成果を学会で発表し、以下の賞を受賞した。

(1)優秀発表賞受賞

高橋正皓、山口徹太郎、細道一膳、長濱諒、吉田寛、田島敦、榎宏太郎：非症候性唇顎口蓋裂を伴う一卵性双生児不一致症例における全ゲノムシーケンス解析
第 77 回日本矯正歯科学会学術大会、横浜、2018 年 10 月 30-11 月 1 日

(2)優秀ポスター発表賞受賞

高橋正皓、山口徹太郎、細道一善、長濱諒、田嶋敦、榎宏太郎：裂型が異なる唇顎口蓋裂の一卵性双生児不一致症例における全ゲノムシーケンス解析
第 42 回日本口蓋裂学会総会、大阪、2018 年 5 月 24-25 日

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

(1) Takahashi M, Hosomichi K, Yamaguchi T, Nagahama R, Yoshida H, Marazita ML, Weinberg SM, Maki K, Tajima A. Exploration of genetic factors determining cleft side in a pair of monozygotic twins with mirror-image cleft lip and palate using whole-genome sequencing and comparison of craniofacial morphology. Arch Oral Biol. 2018 Dec;96:33-38.
(査読有)

(2) Takahashi M, Hosomichi K, Yamaguchi T, Nagahama R, Yoshida H, Maki K, Marazita ML, Weinberg SM, Tajima A. Whole-genome sequencing in a pair of monozygotic twins with discordant cleft lip and palate subtypes. Oral Dis. 2018 Oct;24(7):1303-1309.
(査読有)

〔学会発表〕(計 2 件)

(1)高橋正皓、山口徹太郎、細道一膳、長濱諒、吉田寛、田島敦、榎宏太郎：非症候性唇顎口蓋裂を伴う一卵性双生児不一致症例における全ゲノムシーケンス解析
第 77 回日本矯正歯科学会学術大会、横浜、2018 年 10 月 30-11 月 1 日

(2)高橋正皓、山口徹太郎、細道一善、長濱諒、田嶋敦、榎宏太郎：裂型が異なる唇顎口蓋裂の一卵性双生児不一致症例における全ゲノムシーケンス解析
第 42 回日本口蓋裂学会総会、大阪、2018 年 5 月 24-25 日

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号 (8 桁)：

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。