

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11950

研究課題名(和文) 歯牙種発症に関する研究

研究課題名(英文) Identification of causative gene with odontoma

研究代表者

菊入 崇 (Kikuri, Takashi)

北海道大学・歯学研究院・助教

研究者番号：10322819

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)： 遺伝子疾患が疑われる患者の歯科診療において、その責任遺伝子が明らかであれば、診療をより計画的に進めることが可能となる。しかし、疾患を有するすべての患者が遺伝子診断を受けているわけではない。

次世代シーケンサーは、従来型とは全く異なるシーケンシング原理を採用したことにより、ひと昔前では夢物語と考えられていた個人全ゲノム配列の決定を可能とした。我々は、歯牙腫の多発と特徴的な歯の形態異常を呈する患者に対して次世代シーケンサーによる全ゲノム解析により原因遺伝子を同定した。さらに抜去歯から歯髄幹細胞の樹立を行なった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

次世代シーケンサーによる大量配列解析は、臨床診断において多くの有益な情報を与えてくれる。本症例では、臨床的にも希な歯牙腫の多発と特徴的な歯の形態異常を含むものであり、その原因遺伝子がSATB2であることを特定することが出来た。口腔内に未報告の表現型を有する症例が存在している可能性は高く、口腔内に特徴的な所見を有する患者の原因遺伝子の同定に次世代シーケンサーによる解析が有効であることが示された。

また、歯髄幹細胞の解析から、SATB2は歯の発生において重要な役割を果たしていることが強く示唆された。

研究成果の概要(英文)： It is possible to advance the medical care more systematically, if the responsibility gene is clear in the dental care of the patient who suspects the gene disease. However, not all patients with the disease have a genetic diagnosis. The next-generation sequencer enabled the determination of personal whole genome sequences by adopting a completely different sequencing principle from the conventional one. We identified causative genes by whole-genome analysis with next-generation sequencers for patients presenting with multiple odontomas and characteristic dental morphological abnormalities. Furthermore, pulp stem cells were established from the extracted teeth.

研究分野：小児歯科学

キーワード：歯学 次世代シーケンサー 歯牙腫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯牙腫が多発するという非常に特徴的な所見を有する患者に対して原因遺伝子を特定するため、全ゲノムシーケンス解析を行った。その結果、解析を行った患者では、SATB2 遺伝子に変異が生じていることが明らかになった。

Special AT-rich sequence-binding protein 2 (SATB2) 関連症候群 (SAS) は、SATB2 遺伝子の異常によって引き起こされる遺伝性疾患であり、発達の遅れや知的障害を含む表現型を特徴とする。この症候群は、1989 年に第 2 染色体に欠損のある患者の病態を Glass 症候群 (OMIM#612313) として報告されている。SATB2 が関与するほとんどのヒト染色体異常は、口腔領域に口蓋裂および頭蓋顔面奇形などの表現型をもたらすことが報告されている。一方、SAS 患者における歯の異常について詳細な報告は少ない。

2. 研究の目的

SATB2 関連症候群患者における歯の形態異常について明らかにする。

SATB2 関連症候群患者から、歯髄幹細胞を樹立し、幹細胞の特徴を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 患者およびサンプルの採取

19 歳女性。両親は健常であり、第 1 子として出生。知的発達障害あり。口蓋裂、歯牙腫の多発と歯の形態異常を認めた。

患者の両親に対し、この研究への参加について書面による実験内容について十分に説明を行い、その主旨に同意を得たのちに行った。また、サンプルの採取は北海道大学病院の倫理委員会の承認を受けている。

(2) 遺伝子解析

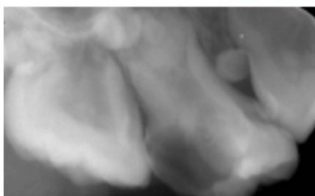
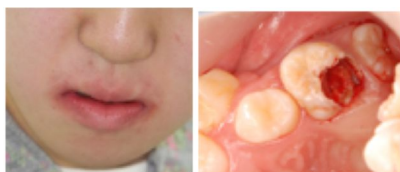
ゲノム DNA は、患者と両親の抹消末梢白血球から、プロテインナーゼ K とフェノール-クロロホルムを用いて分離した。分離した患者と両親のゲノム DNA に対して HiSeq2500 (Illumina, USA) を用いてエクソーム解析を行った。

抜去した歯と歯牙腫は、5% EDT で脱灰を行い、脱灰後にパラフィン包埋を行い、厚さ 5mm に薄切片を作成し、HE 染色を行った。

(3) 歯髄幹細胞の樹立

齶蝕のため抜歯した歯の歯髄組織に対し酵素処理を行い、歯髄細胞を単離後に細胞培養プレートに播種を行った。播種後、培養プレートに付着しコロニーを作成した細胞の継代を行い、各種の実験に用いた。

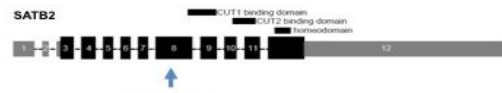
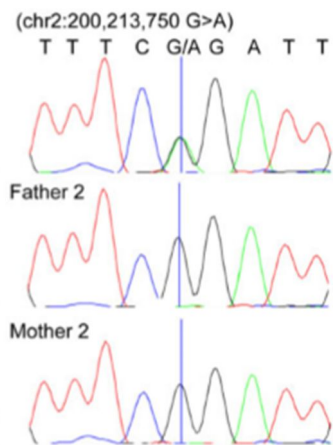
4. 研究成果



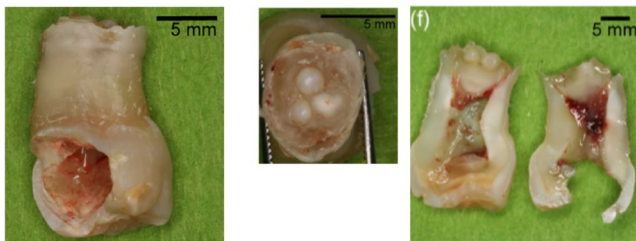
顔貌と口腔内写真およびエックス線写真



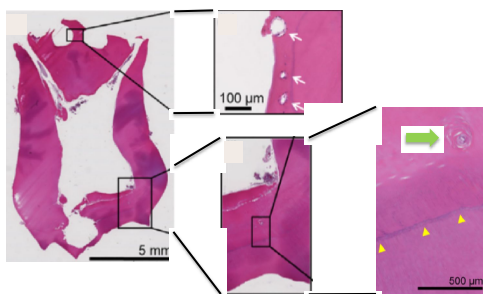
パノラマエックス線写真および CT 画像
 複雑性歯牙腫 (#) および
 複雑性歯牙腫 (*)



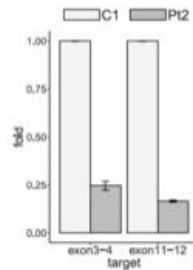
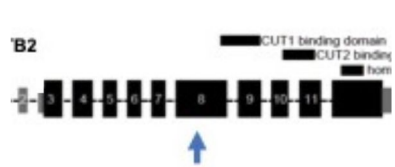
SATB2 に新規 *de novo* ナンセンス変異を見出した。



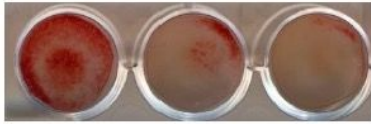
抜歯した第一大臼歯



HE 染色: 象牙質の内部に、細胞で裏打ちされた
 空洞が存在 (白矢印)。象牙細管の走行に異常が
 見られる (緑矢印)。



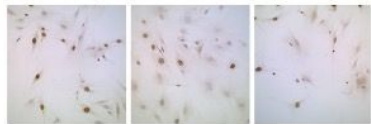
Osteogenic induction assay



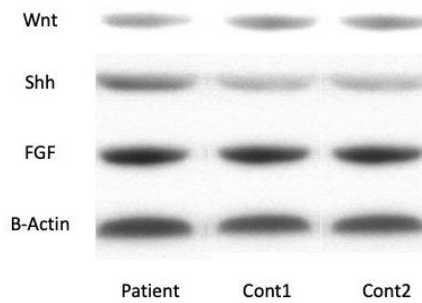
Tunel assay



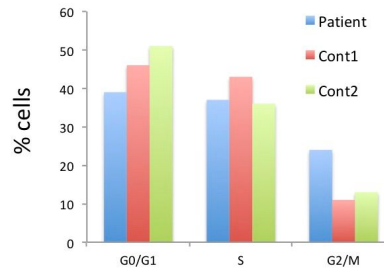
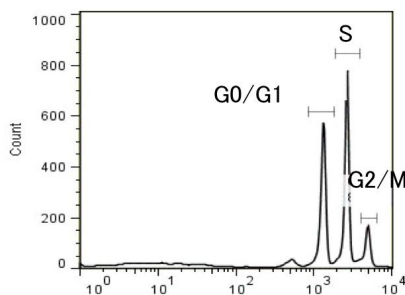
BrdU assay



Patient Cont1 Cont2



Cell cycle



次世代シーケンサーによる遺伝子解析は、有益な情報を与えてくれる。本症例では、臨床的にも希な歯牙腫の多発と特徴的な歯の形態異常を含むものであり、その原因遺伝子を特定することが出来た。*SATB2* (2p33.1) の変異は、1989年に Glass らが、口蓋裂、大きく突き出た鼻、知的発達障害などの特長を持つ症候群として報告がなされている。しかし、本症例における口腔内の表現型は、Glass 症候群としては未報告のものであった。

本症例の他にも既存の症候群にあっても、口腔内に未報告の表現型を有する症例が存在している可能性は高く、口腔内に特徴的な所見を有する患者の原因遺伝子の同定に次世代シーケンサーによる解析が有効であることが示された。

SATB2 の変異は口腔組織に特異的な臨床所見を引き起こすことが示された。また、*SATB2* は歯の発生において重要な役割を果たしていることが強く示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kikuri T, Mishima H, Imura H, Suzuki S, Matsuzawa Y, Nakamura T, Fukumoto S, Yoshimura Y et. al.	4. 巻 176
2. 論文標題 Patients with SATB2-associated syndrome exhibiting multiple odontoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Am J Med Genet A	6. 最初と最後の頁 2614-2622
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1002/ajmg.a.40670	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 前田彩子、菊入 崇、八若保孝
2. 発表標題 SATB2関連症候群の患者に発生する多発性歯牙腫
3. 学会等名 第58回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	吉村 善隆 (Yoshimura Yoshitaka) (30230816)	北海道大学・歯学研究院・准教授 (10101)	