

令和 3 年 4 月 16 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09854

研究課題名(和文) 基礎的・臨床的エビデンスを融合した低ホスファターゼ症包括的歯科診療システムの構築

研究課題名(英文) Construction of a comprehensive dental care system for hypophosphatasia that combines basic and clinical evidence

研究代表者

大川 玲奈 (Okawa, Rena)

大阪大学・歯学部附属病院・講師

研究者番号：80437384

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、低ホスファターゼ症(HPP)の歯科全国実態調査を行い、歯限局型の89%が常染色体優性遺伝であったのに対して、歯限局型以外の病型の96%が常染色体劣性遺伝であり、HPPの治療に際しては、この違いを考慮することが重要であることが示唆された。また、この結果をもとに、日本人に最も多い遺伝子変異を有する重症型モデルマウス、日本人に2番目に多い遺伝子変異を有する軽症型モデルマウス、歯にのみ症状が現れる遺伝子変異を有するモデルマウスを作製を試みた。さらに、乳歯の歯周細胞の抽出・培養方法を確立し、歯限局型、小児型、酵素補充療法を受けている周産期重症型のHPP患者由来の歯周細胞を3系統樹立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低ホスファターゼ症は稀少疾患であり、歯科症状の詳細は解明されておらず、根本的歯科治療法は確立されていない。また、近年、全身への治療法が開発され、重症型の生命予後が改善されたが、その歯科症状は不明であった。本研究は、重症型と軽症型では遺伝形式や歯科症状が異なることを明らかにし、病型に応じた歯科的対応法が必要であることが示された。また、重症型と軽症型の原因遺伝子変異部位の特徴の解明は、モデルマウス作製などの歯科治療法確立のための基礎研究につながってきている。さらに、患者由来の乳歯歯周細胞を樹立したことによって、細胞の性質や薬剤への反応の検討が可能となっている。

研究成果の概要(英文)：A nationwide survey of HPP in Japan was conducted, with the results analyzed specifically for understanding prominent genetic and dental manifestations of odonto and other so-called “non-odonto” types. An autosomal dominant inheritance pattern was significantly more prevalent in odonto-type patients, while an autosomal recessive pattern was predominant in the non-odonto-type. Thus, such differences should be considered during clinical treatment of HPP patients. In addition, based on those results, we established a severe mouse model possessing the most frequent gene mutation noted in patients in Japan and a mild model mouse with the second most frequent gene mutation, as well as model mice with a gene mutation resulting in symptoms that only affect teeth. Furthermore, a method for extracting and culturing periodontal cells of primary teeth was developed, which resulted in establishment of three cell lines, including odonto-type, childhood type, and perinatal severe type.

研究分野：小児歯科

キーワード：低ホスファターゼ症 骨系統疾患 セメント質形成不全 乳歯早期脱落 アルカリホスファターゼ

1. 研究開始当初の背景

低ホスファターゼ症 (Hypophosphatasia: HPP) は、骨の石灰化不全と乳歯の早期脱落を主症状とする遺伝性代謝性骨系統疾患である。軽症型 HPP は乳歯の早期脱落が初発症状となることが多いため、小児歯科領域から診断につながることもあるものの、HPP 症例の頻度は少なく、重症度が幅広いことから、潜在的な症例が多く存在すると考えられる。しかし、年齢とともに歯から全身へと症状が広がるため、早期に発見して全身管理することが重要である。重症型に対しては、世界に先駆けて本邦で酵素補充療法が開始され、生命予後が大幅に改善された。そのため歯科を受診する小児が増加しているものの、重症型の歯科的症状に関する報告は極めて少なく、酵素補充療法の歯科領域における影響については不明な点が多い。また、次世代における治療法としてモデルマウスにおける遺伝子治療の研究が進んでいるが、その歯科的効果については解明されていない。さらに、乳歯の早期脱落に対しては根本的な歯科的治療法が確立されておらず、最近になって永久歯の早期脱落症例も報告され始めていることから、根本的治療法の開発が急がれている。

2. 研究の目的

(1) 歯科データベースの構築

HPP は診断時年齢と重症度により臨床病型が分類され、診断時期が早いものほど全身症状は重篤だが、歯科症状はどの病型においても認められる。しかし、臨床病型と歯科症状との関連は不明である。また、酵素補充療法によって、乳歯が萌出するまで生存できなかった小児の生命予後が大幅に改善されたが、開始されてもなない治療法であることからヒトの歯への効果は不明である。そこで、これらの点を明らかにする必要があると考えた。

(2) HPP モデルマウスへの遺伝子治療の歯科的影響

遺伝子治療の開発がモデルマウスにおいて、新生児 HPP モデルマウスにおける遺伝子治療が生後の治療開始では歯科的症状が野生型と同程度まで回復されているとは言えないため、歯胚の形成を考慮した胎児期 HPP モデルマウスにおける遺伝子治療が歯科的にどのような影響があるのかを検討する必要があると考えた。

(3) HPP 患者由来歯周組織の細胞分子学的解析

最近になって永久歯においても脱落を認める症例が報告されているものの、根本的な歯科的治療法が存在していない。本研究では、HPP 歯周組織由来細胞においてどのようなサイトカインが石灰化を促進するのかに注目し、新規再生治療の樹立につながる基礎的検討を行い、有効な局所的歯科薬剤の開発を行いたいと考えた。

3. 研究の方法

(1) HPP 歯科全国実態調査

まず一次調査として、全国 29 の歯科大学及び歯学部小児歯科、総合病院歯科等に HPP 患者の受診の有無を確認した。次に二次調査として、対象患者の存在する施設に詳細な情報(性別、初診時年齢と最終来院時年齢、病型、遺伝子型、早期脱落乳歯及び永久歯の有無と脱落時期および部位、酵素補充療法の有無)を提供していただいた。得られた情報を HPP 歯科データベースとして集積し、また酵素補充療法が歯科症状にどのように影響を及ぼすのか検討した。

(2) 胎児期遺伝子治療の歯科的影響の評価

HPP の原因遺伝子である TNALP 遺伝子をレンチウイルスベクターで導入した骨髄細胞を妊娠 15 日齢の胎児 HPP モデルマウスに移植し、1 か月生存したマウスの下顎骨を摘出後にマイクロ CT を用いて第一臼歯歯根周囲の歯槽骨の骨密度を算出した。脱灰後、通法に従い、薄切切片(前歯頬舌断、第一臼歯近遠心断)を作製し、Osteopontin、DMP1、Runx2、TRAP、Osteorix 抗体の免疫組織化学染色を行い観察した。コントロールとして、未治療モデルマウス、野生型マウスも同様の実験を行った。

(3) HPP 患者由来の歯周組織からの細胞の抽出・培養技術の確立と石灰化能の評価

まず HPP 患者において、自然脱落または保存不可能のため抜歯に至った乳歯および付着した歯周組織から歯根膜細胞、歯髓細胞、歯肉線維芽細胞を抽出し、培養する手法を確立した。次に、コントロールとして健康な小児の歯周組織から抽出した細胞を用いて、Alkaline phosphatase (ALP) 活性測定、遺伝子発現解析、ALP 染色、アリザリン染色により石灰化能を経時的に評価した。

4. 研究成果

(1) HPP 歯科全国実態調査

歯科全国実態調査から構築した歯科データベースをもとに、歯限局型(16 症例)と歯限局型以外の病型(36 症例)について、病型と歯科症状の関係について分析した。その結果、診断時血中 ALP 値は歯限局型が歯限局型以外の病型よりも有意に高かった。歯限局型の 89% が常染色体顕性遺伝であったのに対して、歯限局型以外の病型の 96% が常染色体潜性遺伝であった。ALP

活性を有さない日本人特有の変異である“c.1559delT”は全症例の約 70%に認められた。歯科症状に関しては、歯限局型では全ての症例で乳歯早期脱落を認めた一方で、歯限局型以外の病型では、56%の症例において乳歯早期脱落が認められた。歯(エナメル質・象牙質)の石灰化不全は42%の歯限局型以外の病型において認められたのに対して、歯限局型で歯の石灰化不全を有した症例は存在しなかった。以上の結果から、歯限局型と歯限局型以外の病型の遺伝形式は有意に異なり、HPP の治療に際しては、この違いを考慮することが重要であることが示唆された。

(2) 胎児期遺伝子治療の歯科的影響の評価

胎児期 HPP モデルマウスの入手が困難になったため、新たに HPP モデルマウスの作製を試みることにした。HPP 歯科全国実態調査の結果から明らかとなった日本人に最も多い遺伝子変異を有する重症型モデルマウス、日本人に 2 番目に多い遺伝子変異を有する軽症型モデルマウス、歯限局型の遺伝子変異を有するモデルマウスの 3 種類をゲノム編集にて作製した。現在、研究を進める上で最適な動物モデルの選定を行っている。

(3) HPP 患者由来の歯周組織からの細胞の抽出・培養技術の確立と石灰化能の評価

乳歯由来の歯周組織からの細胞の抽出・培養技術を確立した。この技術を応用して、HPP 患者由来の歯周細胞を抽出し、3 系統(歯限局型、小児型・酵素補充療法を受けている周産期重症型)を樹立した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Hamada Masakazu, Okawa Rena, Matayoshi Saaya, Ogaya Yuko, Nomura Ryota, Uzawa Narikazu, Nakano Kazuhiko	4. 巻 9
2. 論文標題 Ankylosed Primary Molar in a Japanese Child with Hypophosphatasia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dentistry Journal	6. 最初と最後の頁 3~3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/dj9010003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Okawa Rena, Kadota Tamami, Matayoshi Saaya, Nakano Kazuhiko	4. 巻 87
2. 論文標題 Dental Manifestations Leading to the Diagnosis of Hypophosphatasia in Two Children	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Dent Child (Chic)	6. 最初と最後の頁 179-183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -
1. 著者名 Okawa Rena, Matayoshi Saaya, Kariya Rina, Ogaya Yuko, Nomura Ryota, Nakano Kazuhiko	4. 巻 44
2. 論文標題 Effects of Enzyme Replacement Therapy for Primary Teeth in a Patient with Infantile Hypophosphatasia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Pediatric Dentistry	6. 最初と最後の頁 348 ~ 351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.17796/1053-4625-44.5.9	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 -
1. 著者名 Kadota Tamami, Okawa Rena, Otsugu Masatoshi, Ohata Jumpei, Hanaoka Issei, Nakano Kazuhiko	4. 巻 31
2. 論文標題 Mouthguards for a childhood hypophosphatasia patient to protect periodontal tissue of immature permanent teeth ? Case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Dental Journal	6. 最初と最後の頁 117 ~ 122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pdj.2021.01.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 大川玲奈、仲野和彦	4. 巻 73
2. 論文標題 「低ホスファターゼ症」という病気をご存知ですか	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本歯科医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 211～219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 大川玲奈、苅谷里奈、又吉彩綾、古々本一馬、仲野和彦	4. 巻 21
2. 論文標題 大阪大学歯学部附属病院小児歯科における低ホスファターゼ症患者の実態調査	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ヘルスケア歯科学会誌	6. 最初と最後の頁 22～29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 大川玲奈、仲野和彦	4. 巻 26
2. 論文標題 低ホスファターゼ症を理解し、乳歯の早期脱落に注目を	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 保育と保健	6. 最初と最後の頁 71～73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 大川玲奈、仲野和彦	4. 巻 136
2. 論文標題 低ホスファターゼ症に関する最新トピックス	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 歯界展望	6. 最初と最後の頁 705～708
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Okawa Rena, Kokomoto Kazuma, Kitaoka Taichi, Kubota Takuo, Watanabe Atsushi, Taketani Takeshi, Michigami Toshimi, Ozono Keiichi, Nakano Kazuhiko	4. 巻 14
2. 論文標題 Japanese nationwide survey of hypophosphatasia reveals prominent differences in genetic and dental findings between odonto and non-odonto types	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0222931
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0222931	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 大川玲奈	4. 巻 13
2. 論文標題 ほんとうは怖い乳歯の早期脱落	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 DHstyle	6. 最初と最後の頁 77-85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 大川玲奈	4. 巻 3
2. 論文標題 Clinical Question HPP患者へはどのような歯科治療が行われているのですか？	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 HPPフロンティア	6. 最初と最後の頁 38-40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 大川玲奈、仲野和彦	4. 巻 446
2. 論文標題 低ホスファターゼ症を知っていますか？	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 デンタルハイジーン	6. 最初と最後の頁 304-305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 大川玲奈	4. 巻 44
2. 論文標題 歯科医師が発見できる小児の全身疾患 –低ホスファターゼ症–	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Dental Diamond	6. 最初と最後の頁 64-69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 大川玲奈、仲野和彦	4. 巻 315
2. 論文標題 低ホスファターゼ症を歯科でスクリーニング	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 アポロニア21	6. 最初と最後の頁 64-71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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11件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 苅谷里奈、大川玲奈、 仲野和彦
2. 発表標題 本院小児歯科における低ホスファターゼ症患者に関する実態調査
3. 学会等名 第58回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 門田珠実、大継将寿、永山佳代子、大川玲奈、 仲野和彦
2. 発表標題 小児型低ホスファターゼ症患者に対し幼若永久歯の歯周組織保護を目的としてマウスガードを装着した1例
3. 学会等名 第38回日本小児歯科学会近畿地方会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Rena Okawa, Kazuma Kokomoto, Kazuhiko Nakano
2. 発表標題 Genetic Features of Hypophosphatasia Patients in Japanese Nationwide Dental Survey
3. 学会等名 97th General Session & Exhibition of the IADR (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大川玲奈、古々本一馬、北岡太一、窪田拓生、大園恵一、仲野和彦
2. 発表標題 小児型低ホスファターゼ症における酵素補充療法の歯科領域への効果の検討
3. 学会等名 第13回ALPS研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大川玲奈
2. 発表標題 歯科から発見できる低ホスファターゼ症
3. 学会等名 関西障害者歯科臨床研究会第11回研究集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Rena Okawa, Takashi Nakamoto, Saaya Matayoshi, Naoya Kakimoto, Kazuhiko Nakano
2. 発表標題 Evaluation of Alveolar Bone Density in Hypophosphatasia Patients Using Orthopantomography
3. 学会等名 98th General Session & Exhibition of the IADR (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 門田珠実・大繼將寿・永山佳代子・大川玲奈・仲野和彦
2. 発表標題 小児型低ホスファターゼ症患者に対し幼若永久歯の歯周組織保護を目的としてマウスガードを装着した1例
3. 学会等名 第38回日本小児歯科学会近畿地方会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Rena Okawa, Kazuma Kokomoto, Takashi Ooshima, Kazuhiko Nakano
2. 発表標題 Nationwide Dental Survey of Hypophosphatasia Cases in Japan.
3. 学会等名 96th General Session of the International Association for Dental Research (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Rena Okawa, Kazuma Kokomoto, Tamami Kadota, Kazuhiko Nakano
2. 発表標題 Dental findings in mild and severe hypophosphatasia cases.
3. 学会等名 66th General Session of Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazuma Kokomoto, Rena Okawa, Kazuhiko Nakano
2. 発表標題 Effects of Enzyme Replacement Therapy for Hypophosphatasia on Tooth Development.
3. 学会等名 66th General Session of Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 門田珠美、大川玲奈、仲野和彦
2. 発表標題 開業歯科医の気づきで小児型低ホスファターゼ症の診断に繋がった1例
3. 学会等名 第37回日本小児歯科学会中四国地方会大会
4. 発表年 2018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	古々本 一馬 (Kokomoto Kazuma) (00803107)	大阪大学・歯学部附属病院・特任助教(常勤) (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------