

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19285

研究課題名(和文) 顎顔面領域の先天異常症候群に対する網羅的遺伝子検査技術開発と矯正歯科診断への応用

研究課題名(英文) Development of comprehensive genetic testing technology for congenital anomaly syndrome and application for orthodontic diagnosis

研究代表者

丸岡 亮 (Maruoka, Ryo)

東京大学・医学部附属病院・特任臨床医

研究者番号：30826946

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：顎顔面領域の先天異常症候群に対する網羅的遺伝子検査を行えるシステムを開発すべく、対象とする疾患の選定を行なった。東京大学医学部附属病院口腔顎顔面外科・矯正歯科外来へ矯正歯科治療目的に過去10年間に受診をした患者を対象に対象疾患の抽出を行い、リスト化した。結果、単一遺伝子疾患の原因遺伝子を選定し、候補遺伝子とした。合わせて、症例数の多い、マルファン症候群について、疾患特有の特徴について分析を行なった。今後、他の症候群も含め、遺伝子型と表現型の関連を調査するための基礎的な資料を作ることができたと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

市場には、多くの遺伝子を網羅的に検査できるExome解析や遺伝子パネルが上市されているが候補となる遺伝子が多く、データ分析が煩雑となる、検査にかかる時間、費用が余計にかかる、偶発的発見における倫理的な問題もあることを考えると、標的を絞った検査方法を確立することは今後、遺伝子検査を広く実施する上で有益であると思われる。近年、矯正歯科外来を受診する先天異常症候群患者においては、すでに遺伝学的検査を行い、診断を得ている患者も増加しているものの、歯科領域で検査を行える施設は少ないと思われる。患者への遺伝カウンセリングを含め、体制作りが必要と考えられる。本研究はその一助となるのではないかと考えられた。

研究成果の概要(英文)：In order to develop the system of comprehensive genetic testing for congenital anomaly syndrome, we try to chose the candidate gene first. We extract the cases of congenital anomaly syndrome of orthodontic clinic in the university of Tokyo hospital in ten years and made the candidate gene list. Additionally, we analyzed the characteristic of Marfan syndrome, one of the most common congenital anomaly syndrome case of our hospital and presented the result in annual meeting of Japan Cleft Palate Association. We developed the basic data of genotype-phenotype correlation including other congenital anomaly syndromes.

研究分野：矯正歯科学

キーワード：矯正歯科診断

1. 研究開始当初の背景

先天異常をもつ患者に対し治療を行う際、鑑別を行い、確定診断を下すことは、その後の患者の予後、成長の予測を行い、治療計画を立案する上で重要である。確定診断を行う際は、分子遺伝学的検査が必要であり、従来、染色体異常に起因するとされる先天異常患者においては染色体検査を、単一遺伝子の異常に起因するとされる先天異常症候群が疑われる患者に対してはサンガー法をはじめとする直接シークエンス法が用いられていた。一方、単一遺伝子疾患であっても非定型的な臨床所見を複数持ち、鑑別すべき疾患が多い症例も少なくない。この場合、疑われる遺伝子疾患の候補となる遺伝子領域に対し、その異常をすべて調べる必要がある。遺伝子によってはタンパク質をコードする遺伝子領域が複数ある場合もあり、直接シークエンス法にてそれらを一一つ調べることは困難である。そのため、分子遺伝学的検査による確定診断はすすんでおらず、臨床所見により診断を行っている場合が多い。

近年、次世代シーケンサーが登場し、多くの情報を解析できる機能を活かし、多数の遺伝子を網羅的に解析できる技術が開発され、臨床応用が期待されている。次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析方法では、ヒトゲノム約 30 億塩基対すべてに対し、その配列を決定する Whole-Genome Sequencing、ヒトゲノムの約 1%に相当する、タンパク質をコードする領域(exon 部位)のみの配列を決定する Exome Sequencing があるが、さらに標的とする遺伝子領域のみを選択し、その配列を決める Target Sequencing 等があげられる。Target Sequencing では扱う情報量が Whole-Genome Sequencing や Exome Sequencing と比較少なく、患者の標的とした遺伝子の配列の決定、参照配列との比較が容易であり、短時間で異常な遺伝子の候補を決めることが可能である。また Target Sequencing による遺伝子診断では、Whole-Genome Sequencing や Exome Sequencing による遺伝子診断にて問題となる偶発的発見による倫理的問題を回避することができる利点がある。このような点から Target Sequencing を用い、がん遺伝子、難聴遺伝子など関連する遺伝子をあらかじめ集約し設計された診断パネル、キットが実用化され、臨床応用が始まってきている。診断パネルを用いた診断システムは複数の原因遺伝子を網羅的に解析できる最も合理的な方法であると考えられ、臨床への応用が期待されている。

2. 研究の目的

対象とする顎顔面領域(頭蓋、上下顎骨、口腔内、眼窩、耳介など)に症状を示す先天異常症候群の中で、本診断システムに適し、臨床的意義があると考えられる単一遺伝子疾患を検討しリストアップする。それら発症に関与していると考えられている遺伝子について変異の有無を確認できる遺伝子診断パネルを設計する。検体からの DNA 抽出から遺伝子変異の有無の検出までの一連の解析システムを構築、最適な解析方法、合理的な遺伝子診断システム確立のために必要な要件を明らかにする。

また臨床所見との関連付けを行うため、対象とした先天異常症候群に対し、文献検索を行うとともに当科における臨床資料を用い、基礎資料を作成、遺伝子型と表現型の関係性の推察を行う。症例数を蓄積させ、これらの症候群の遺伝子型と表現型の関連性を明らかにする。

これらの検討の後、臨床所見のみでは診断を下すのが難しい非典型例に関して、本システムを適応するのに必要な要件を検討し、臨床応用への可能性を模索する。

3. 研究の方法

研究対象とする顎顔面領域に主な症状を示す先天異常症候群を選定する。候補となる症候群は、歯科矯正歯科分野において文献報告の多い症候群、過去 20 年に当科にて受診歴のある症候群、保険適応の症候群等を参考に、対象を選定する。対象とした先天異常症候群の原因遺伝子について文献的な調査を行い、本システムの検査対象遺伝子を決める。これら対象疾患の中で症例数が多い疾患に関して、患者の初診時の所見(顔貌、口腔内、研究用模型、パノラマ X 線写真、セファロ画像、3D-CT 等)を用い、過去の症例との比較も行いながら疾患に特徴的な臨床所見を明らかにする。これらの遺伝子型と臨床所見から得られた表現型に関して、関連する事項を検討する。

次いで、患者検体から対象遺伝子を選択的に抽出(濃縮)できるよう診断パネルを設計する。設計は illumina 社 Design Studio を使用し、合理的に対象領域を選択的に濃縮できるように設計を行う。これらの検討の後、臨床所見のみでは診断を下すのが難しい非典型例に関して、本システムを適応するのに必要な要件を検討し、臨床応用への可能性を検討する。

4. 研究成果

・対象とする先天異常症候群、対象遺伝子の選定

対象とする先天異常症候群を選定するため、東京大学医学部附属病院口腔顎顔面外科・矯正歯科外来（以下、当科）に受診、資料採得を行った症例について調査を行った。調査は過去 10 年間に矯正歯科治療目的に当科を受診した患者を対象とし、診療録、初診時資料などから該当の疾患についてリストアップを行なった。結果、106 症例にて医科にて臨床診断（または染色体検査、遺伝子検査）にて、先天異常症候群の病名が付けられていた。疾患名と症例数は表 1 の通りであり、クルーゾン症候群、トリーチャー・コリンズ症候群、ピエール・ロバンシークエンス（ピエール・ロバン症候群を含む）、マルファン症候群、骨形成不全症、ベックウィズ・ウイーデマン症候群の順に認められた。これらの症例について、その原因別に分類（染色体異常、単一遺伝子疾患、多因子疾患など）したところ、単一遺伝子疾患 54 例、多因子疾患 25 例、染色体異常 9 例、その他（原因不明とされているものを含む）18 例であった。これらの単一遺伝子疾患について、文献にて報告のある主要な原因遺伝子について、抽出を行い、リスト化を行なった（表 2）。

名前	症例数	疾患名	症例数	原因とされる主な遺伝子
クルーゾン症候群	13	クルーゾン症候群	13	FGFR2
トリーチャー・コリンズ症候群	9	トリーチャー・コリンズ症候群	9	TCOF1, POLR1C, POLR1D
ピエール・ロバンシークエンス	8	マルファン症候群	7	FBN1,TGFBR1,2
マルファン症候群	7	骨形成不全症	7	COL1A1,COL1A2
骨形成不全症	7	軟骨形成不全・軟骨無形成症	6	FGFR3
ベックウィズ・ウイーデマン症候群	7	アペール症候群	3	FGFR2
軟骨形成不全・軟骨無形成症	6	鎖骨頭蓋異形成症	3	RUNX2
ダウン症候群	5	ヌーナン症候群	1	PTPN11,SOS1
先天性部分無歯症	5	Cornelia de Lange症候群	1	NIPBL SMC1A
アペール症候群	3	Loyes Dietz 症候群	1	SMAD2, SMAD3, TGFB2, TGFB3, TGFB1, TGFB2
鎖骨頭蓋異形成症	3	シュプリンツェン-ゴールドバーク症候群	1	SKI
リンパ管腫	3	基底細胞母斑症候群	1	PTCH1
アグロメガリー	3	進行性骨化性線維異形成症	1	ACVR1/ALK2
強皮症	3			
大理石骨病	3			
ラッセル・シルバー症候群	2			
クラインフェルター症候群	2			
非症候群性頭蓋骨早期癒合	2			
成長ホルモン分泌不全性低身長	2			
線維性骨異形成症	2			

表 2 単一遺伝子疾患の原因遺伝子

表 1 先天異常症候群の症例数

・代表的な先天異常症候群の臨床像の把握

上記の先天異常症候群の中で、症例数が多く、臨床診断基準が定まっているマルファン症候群 (MFS) とその関連疾患である Loyes Dietz 症候群 (LDS)、シュプリンツェン-ゴールドバーク症候群 (SGS) について、特徴的な臨床所見の抽出と文献との比較、遺伝子型と表現型の関連についての検討を行った。対象は MFS7 例（男性 3 例、女性 4 例、平均年齢 23.7 歳）、LDS1 例（男性、20 歳）、SGS1 例（男性、13 歳）であり、いずれも臨床診断基準を満たしていた。資料は初診時の診療録、写真、歯列模型、パノラマ X 写真、頭部 X 線規格写真を用い、身体的特徴、口腔内所見、歯列弓形態、口蓋高径の評価、セファログラム分析、分子遺伝学的探索について、評価を行った。結果身体的特徴については、MFS 群 6 例で高身長、くも指（長い手足の指）を認めたが、LDS、SGS では明確には認められなかった。頭蓋顎顔面領域での特徴では、MFS 群において 4 例で 5mm 以上の過大なオーバージェット、3 例で骨格性上顎前突を示し、概ね、文献報告と一致した傾向を示した。また 4 例で 5mm 以上の叢生、4 例で高口蓋が認められたほか、埋伏歯を有する症例が 2 例あり、通常の埋伏歯の発生頻度と比較し高いと思われ、新たな知見と考えられた。LDS および SGS においては、特徴とされている頭蓋縫合早期癒合や口蓋裂は認められなかった。LDS、SGS とも MFS と同様に骨格性上顎前突が特徴的とされているが、骨格性反対咬合が認められ、SGS では平均的な顎間関係であったが、顔貌所見では小下顎を示した。これらの所見について、過去の文献報告とも異なる部分もあり、特に本邦における症例の蓄積と分析が必要と考えられた。

また、これらの症例のうち MFS6 例、LDS および SGS 症例においては、初回受診前に他院または他の診療科にて分子遺伝学的検査が行われていた。そのうち MFS6 例、LDS および SGS について、それぞれ病的意義があると考えられる変異が検出されていた。これまで顎顔面領域における遺伝子型と表現型の関連に関する文献報告は乏しい限りないため、今後、症例の蓄積を行い、関連性の検討を行うことが必要と思われた。

これらの結果は、第 46 回日本口蓋裂学会学術大会にて演題発表を行なった。

これらに続いて、ベックウィズ・ウイーデマン症候群 (BWS) について検討を行なった。BWS は発生機序が大きく分けて、KIP2/LIT1 ドメインの DNA 低メチル化、片親性ダイソミー (UPD)、KIP2 の遺伝子異常、染色体構造異常があげられる。当院の症例において、初回初診時に遺伝学的検査を実施し原因と思われる結果を得ていた患者は 2 例あり、ともに父性ダイソミーであった。今後、残りの症例の遺伝学的検索と、遺伝子型と表現型の関連について検討を進めていくが、その

足掛かりとなる資料を作成することができた。

・今後の臨床応用への検討

これまでの結果から顎顔面領域に症状を呈する先天異常症候群について、実際に矯正歯科外来を受診した症例像の把握と、今後、遺伝学的検査を実施する際に必要とされる標的遺伝子のリストアップを行うことができた。市場には、多くの遺伝子を網羅的に検査できる Exome 解析や遺伝子パネルが上市されているが候補となる遺伝子が多く、データ分析が煩雑となる、検査にかかる時間、費用が余計にかかる、偶発的発見における倫理的な問題もあることを考えると、標的を絞った検査方法を確立することは今後、遺伝子検査を広く実施する上で有益であると思われた。近年、矯正歯科外来を受診する先天異常症候群患者においては、すでに遺伝学的検査を行い、診断を得ている患者も増加しているものの、歯科領域で検査を行える施設は少ないと思われる。患者への遺伝カウンセリングを含め、体制作りが必要と考えられる。本研究はその一助となるのではないかと思われた。また、上記の症候群について、臨床症状の把握と遺伝子型と表現型の検討に資する基礎的な資料の作成を進めることができた。今後、遺伝学的検査が広まるにつれ、症状の細分化や予後の予測ができるようになるのではないかと予想される。本研究はその一助となる結果を得ることができたと思われた。

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 内野 夏子, 須佐美 隆史, 岡安 麻里, 丸岡 亮, 宇賀 凜, 大久保 和美, 星 和人	4. 巻 45
2. 論文標題 唇顎裂・唇顎口蓋裂患者に用いる人工歯付き固定式保定装置 接着ブリッジとしての可能性	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本口蓋裂学会雑誌	6. 最初と最後の頁 203 212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11224/cleftpalate.45.203	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9件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 平野 友紀子, 高橋 路子, 西條 英人, 大久保 和美, 杉山 円, 岡安 麻里, 内野 夏子, 丸岡 亮, 柏木 美樹, 谷口 明紗子, 星 和人
2. 発表標題 Pierre Robin sequenceとStickler症候群を合併した1例の言語治療経過
3. 学会等名 第44回日本口蓋裂学会総会・学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡安 麻里, 大久保 和美, 高橋 直子, 宇賀 凜, 内野 夏子, 丸岡 亮, 松林 幸枝, 高橋 路子, 平野 友紀子, 杉山 円, 谷口 明紗子, 柏木 美樹, 須佐美 隆史, 西條 英人, 星 和人
2. 発表標題 Hemifacial microsomialにおける矯正治療後の咬合評価
3. 学会等名 第44回日本口蓋裂学会総会・学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 内野 夏子, 須佐美 隆史, 大久保 和美, 西條 英人, 末永 英之, 杉山 円, 柏木 美樹, 成田 理香, 岡安 麻里, 丸岡 亮, 宇賀 凜, 松林 幸枝, 高橋 路子, 平野 友起子, 星 和人
2. 発表標題 唇顎口蓋裂患者に用いる接着ブリッジ
3. 学会等名 第44回日本口蓋裂学会総会・学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 内野夏子, 大久保和美, 岡安麻里, 丸岡亮, 松林幸枝, 宇賀凜, 末永英之, 西條英人, 星和人
2. 発表標題 著しい下顎前突を改善後に安定した予後が得られた外科的矯正治療の1例
3. 学会等名 第27回日本成人矯正歯科学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内野夏子, 須佐美隆史, 大久保和美, 岡安麻里, 丸岡亮, 宇賀凜, 星和人
2. 発表標題 唇顎口蓋裂患者における平均顎顔面形態3Dモデル作成法の開発
3. 学会等名 第78回日本矯正歯科学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丸岡亮, 上床喜和子, 大久保和美, 岡安麻里, 内野夏子, 松林幸枝, 宇賀凜, 須佐美隆史, 星和人
2. 発表標題 金属アレルギーに配慮し上顎前突を改善した一例 ベータチタンワイヤーを用いて
3. 学会等名 第78回日本矯正歯科学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内野 夏子、大久保 和美、西條 英人、末永 英之、谷口 明紗子、成田 理香、岡安 麻里、丸岡 亮、宇賀 凜、松林 幸枝、星 和人
2. 発表標題 口唇口蓋裂患者に対する顎矯正手術についての調査
3. 学会等名 第31回日本顎変形症学会総会・学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成田 理香、西條 英人、青木 絵里香、柏木 美樹、久保田 恵吾、谷口 明紗子、丸岡 亮、内野 夏子、岡安 麻里、大久保 和美、星 和人
2. 発表標題 Van der Woude症候群の下唇瘻孔に対し逆T型切除術を用いた治療経験
3. 学会等名 第18回日本口腔ケア学会総会・学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平野 友紀子、高橋 路子、西條 英人、大久保 和美、岡安 麻里、成田 理香、内野 夏子、丸岡 亮、柏木 美樹、谷口 明紗子、星 和人
2. 発表標題 過去10年間に東大病院口唇口蓋裂センター言語外来を受診した口唇口蓋裂患者の臨床統計
3. 学会等名 第45回日本口蓋裂学会総会・学術大会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------