

平成 22 年 4 月 20 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20791568

研究課題名（和文） 先天性多数歯欠損の家系における変異と表現系に関する研究

研究課題名（英文） Genotype-phenotype correlations in non-syndromic tooth agenesis patients.

研究代表者

小川 卓也（OGAWA TAKUYA）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：50401360

研究成果の概要（和文）：近年、転写因子である PAX9 や MSX1 の変異により常染色体性優性に非症候群性の先天性多数歯欠損症が引き起こされることが報告されたが、特定の遺伝的变化により欠損歯数や欠損部位を特定するのは困難なことが現状である。本課題では、PAX9 の変異蛋白の機能解析を行ったところ、PAX9 の DNA 結合能が欠損歯数を決定する要因の一つとなっていることを示唆した。また、バイオインフォマティクスの手法により構築した立体構造を解析することで得られた知見は、機能解析により得られた知見と類似性を示しており、欠損歯数の予測に応用できると思われた。

研究成果の概要（英文）：Mutations in the paired-domain transcription factor PAX9 are associated with non-syndromic tooth agenesis that preferentially affects posterior dentition. We determined the structural and functional consequences of these paired domain missense mutations and correlated our findings with the associated dental phenotype variations. The degree of loss of DNA-binding and promoter activation correlated quite well with the severity of the tooth agenesis pattern *in vivo*. Our structure-based studies, which modeled DNA binding and subdomain stability, were able to predict functional consequences quite reliably.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：先天性多数歯欠損症、PAX9、MSX1、転写因子

### 1. 研究開始当初の背景

永久歯胚の先天欠損は、顎顔面領域にみられる最も頻度が高い疾患の一つであり、永久歯胚の先天欠損を主訴に矯正歯科に来院する患者の数は少なくない。近年、転写因子である PAX9 や MSX1 の変異により常染色体性優性に非症候群性の先天性多数歯欠損症が引き起こされることが報告され、主に小・大臼歯を中心とした後方歯が欠損するとされている。しかし、PAX9 や MSX1 の変異が同定されたとしても、特定の遺伝的变化により欠損歯数や欠損部位を特定するのは困難なことが現状である。また、欠損部位の特定には PAX9 や MSX1 の単独の変異だけでなく、二つの遺伝子の変異による相互作用、さらにこれらの遺伝子以外にも様々な因子が関与しているとも考えられ、多くの点の解明が待たれている。

### 2. 研究の目的

(1) 既に同定されている PAX9 の変異を有する多数歯欠損症の一家系において MSX1 の多型の同定を行い、この多型が疾患の発症と関連があるかどうか検討することを目的とした。

(2) PAX9 の変異として、現在のところ 18 変異が同定されており、そのうち 8 変異が欠損部位や欠損歯数などの臨床的表現型が明確な DNA 結合ドメイン内に認められるミスセンス変異である。そこで、それらのミスセンス変異を有する変異蛋白の機能解析ならびにバイオインフォマティクス的手法により構築した立体構造を解析し、PAX9 の遺伝的变化と表現型の関連を検索することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) テキサス大学矯正科に来院した患者を発端者として、既に同定されている PAX9 の変異を有する多数歯欠損症の一家系、5 世代、41 名（患者：18 名、正常：23 名）のうち、インフォームドコンセントを得て、DNA が得られた 21 名（患者：8 名、正常：13 名）に、PCR 増幅により MSX1 の多型解析を行った。また、変異蛋白間の機能解析を検討するため、免疫沈降ならびに歯胚の分化に重要な Bmp4 のプロモーター活性を評価した。

(2) PAX9 の DNA 結合ドメイン内に認められるミスセンス変異を有する変異蛋白の細胞内局在、DNA 結合能、Bmp4 や Msx1 プロモーターに対する転写活性化能、ならびに同じく先天性多数歯欠損症の原因遺伝子である Msx1 との相互作用を解析した。また、バイオインフォマティクス的手法により構築した立体構造を解析し、PAX9 の遺伝的变化と表現型の

関連を検索した。

### 4. 研究成果

(1) 既に同定されている PAX9 にフレームシフト変異 (793InsC) (J Dent Res, 2002) をもつ 8 名と正常 2 名に MSX1 の多型 (C101G、Ala34Gly) を認めた (図 1、2)。タンパク間の機能解析を検討するため、793InsCPax9 と Ala34GlyMsx1 タンパクを COS7 細胞内で発現させたところ、免疫沈降によりタンパク間の相互結合を認めた。また、歯胚の分化に重要な Bmp4 のプロモーター活性を評価したところ、野生型 Pax9 と 793InsCPax9 単独において転写活性に有意な差を認めなかった。また、793InsCPax9 と Ala34GlyMSX1 の組み合わせと、793InsCPax9 と野生型 MSX1 の組み合わせの間に有意な差はみられなかった (図 3)。以上の結果より、PAX9 の変異と MSX1 の多型を同時に同定したものの、タンパク間の機能解析により、その多型と多数歯欠損の発症との関連を認めることが出来なかった。この家系において、多数歯欠損を引き起こす原因には、PAX9 や MSX1 の相互作用によるだけでなく、これら二つの遺伝子以外にも様々な因子が関与した複雑な機序が存在する可能性が考えられる。

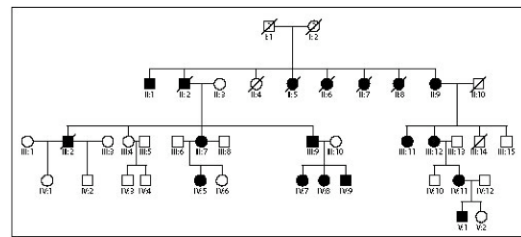


図 1 先天性多数歯欠損症の家系

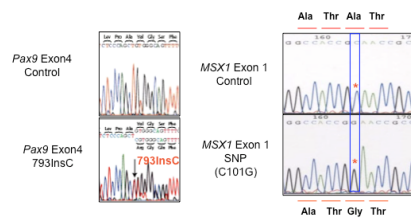


図 2 PAX9 の変異と MSX1 の多型

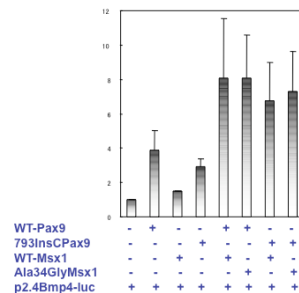


図 3 793InsCPax9 と Ala34GlyMsx1 による Bmp4 の転写活性

(2) 8 変異中 7 変異において、DNA 結合能や、*Bmp4* ならびに *Msx1* プロモーターに対する転写活性化能の喪失程度と欠損歯数に関連性を認めた (図 4)。1 変異に関しては、DNA 結合能や *Bmp4* ならびに *Msx1* プロモーターに対する転写活性化能の喪失がみられなかったが、比較的多数の欠損歯を認めた。これは *Bmp4* ならびに *Msx1* プロモーターに対する *Msx1* との相助作用が影響したためだと考えられる。以上より、PAX9 の DNA 結合能が欠損歯数を決定する要因の一つとなっていることが推測された。また、バイオインフォマティクス的手法により構築した立体構造を解析することで得られた知見は、機能解析により得られた知見と類似性を示しており、欠損歯数の予測に応用できる可能性が示唆された (図 5)。

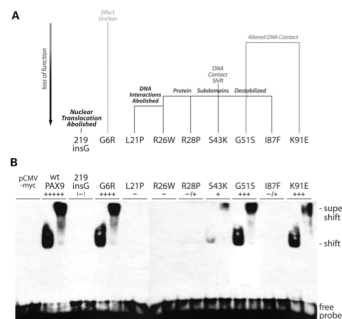


図 4 PAX9 変異蛋白による DNA 結合能

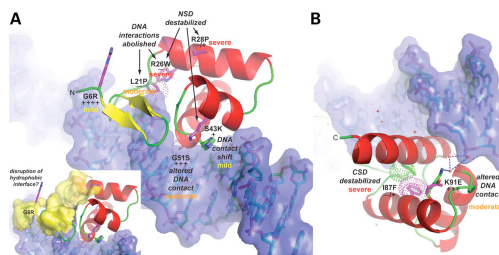


図 5 立体構造と欠損歯数の関係

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

1. Wang Y, Groppe JC, Wu J, Ogawa T, Mues G, D'Souza RN, Kapadia H. Pathogenic mechanisms of tooth agenesis linked to paired domain mutations in human PAX9. *Hum Mol Genet.* 査読有 18(15):2863-74, 2009.
2. Kawafuji A, Suda N, Suzuki T, Ichikawa N, Kakara S, Baba Y, Ogawa T, Tsuji M, Moriyama K. Systemic and maxillofacial characteristics of individuals affected by Beckwith-Wiedemann syndrome who have not

received a glossectomy. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 査読有 (in press), 2009.

[学会発表] (計 10 件)

1. 小川卓也, 森山啓司. 先天性多数歯欠損症における PAX9 遺伝子変異と欠損歯数との関連. 第 3 回硬組織疾患ゲノムセンターシンポジウム、東京医科歯科大学(東京都)、平成 22 年 2 月 16 日.

2. 茂木和久、福岡裕樹、小川卓也、阿彦希、岡村絵里花、中山友美子、馬場祥行、森山啓司. 先天性多数歯欠損症患者の顎顔面形態に関する頭部 X 線規格写真を用いた検討. 第 68 回日本矯正歯科学会、福岡、平成 21 年 11 月 16-18 日.

3. Ogawa T, Wirahadi Kusumah S, Moriyama K. Dentofacial changes of a congenital myopathy patient after orthodontic treatment. 85th Congress of the European Orthodontic Society, Helsinki, June 10-14, 2009.

4. Suda N, Kawafuji A, Ogawa T, Tsuji M, Moriyama. Characteristics of Japanese Beckwith-Wiedemann syndrome patients without glossectomy. 85th Congress of the European Orthodontic Society, Helsinki, June 10-14, 2009.

5. Kawafuji A, Suda N, Ichikawa N, Kakara S, Suzuki T, Ogawa T, Tsuji M, Moriyama K. Systemic and maxillofacial characteristics of Beckwith-Wiedemann syndrome patients without having glossectomy. 2nd Joint Meeting of the Korean Association of Orthodontists and the Japanese Orthodontic Society, Seoul, December 6-8, 2008.

6. 小川卓也、森山啓司. PAX9 の変異を有する先天性多数歯欠損家系における MSX1 の多型解析. 第 26 回日本骨代謝学会学術集会、大阪、2008 年 10 月 29-31 日.

7. 小川卓也、シンタ ウィラハディ クスマ、森山啓司. 矯正治療後に長期観察を行った先天性ミオパチー患者の顎態変化. 第 67 回日本矯正歯科学会大会、千葉、2008 年 9 月 16-18 日.

8. 金谷和宏、小川卓也、辻美千子、須田直

人、大林尚人、倉林亨、森山啓司. 歯科用コーンビーム CT 画像による hemifacial microsomia の顎関節周辺部の三次元的解析. 第 67 回日本矯正歯科学会大会、千葉、2008 年 9 月 16-18 日.

9. 佐藤麻緒、ウン・イン・ウー、小川卓也、辻美千子、須田直人、小野卓史、森山啓司. 機能的矯正装置で治療した hemifacial microsomia 5 例の顎態の非対称性変化に関する検討. 第 67 回日本矯正歯科学会大会、千葉、2008 年 9 月 16-18 日.

10. 鈴木剛史、小川卓也、佐藤麻緒、井口隆人、川元龍夫、森山啓司. 集学的歯科治療により咬合の確立を図った oligodontia の 2 症例. 第 67 回日本矯正歯科学会大会、千葉、2008 年 9 月 16-18 日.

〔図書〕(計 1 件)

小川卓也、森山啓司. 医歯薬出版株式会社. 矯正歯科治療この症例にこの装置. 2010. 200-208.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等  
該当なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小川 卓也 (OGAWA TAKUYA)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究

科・助教

研究者番号：50401360

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし