

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 9 日現在

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890011

研究課題名（和文） 頭蓋顔面形態異常におけるゲノムワイドな遺伝的関連解析

研究課題名（英文） Genome-wide association study for abnormal cranio-facial morphology

研究代表者

斉藤 文男 (SAITO FUMIO)

北海道大学・北海道大学病院・医員

研究者番号：00612889

研究成果の概要（和文）：第一染色体において 2 つの遺伝子座（1p32.2, 1p22.3）が骨格性下顎前突症の新規感受性領域として示唆された。遺伝子の候補として *PLXNA2* 遺伝子と *SSX2IP* 遺伝子が考えられた。*PLXNA2* 遺伝子はセマフォリンの共受容体をコードする遺伝子でセマフォリン 3A は骨代謝への関係が報告されている。*SSX2IP* 遺伝子は滑膜肉腫と関係する遺伝子であり、下顎の成長には滑膜が存在する顎関節が関係している。これらの遺伝子が下顎前突症と何らかの関係があると推測される。

研究成果の概要（英文）：Two loci (1q32.2 and 1p22.3) were likely to be as novel susceptibility regions of mandibular prognathism. *PLXNA2* and *SSX2IP* genes were considered as a genetic candidate. *PLXNA2* gene is a gene encoding semaphorin co-receptors, and the relations to bone metabolism are reported in semaphorin 3A. *SSX2IP* gene is related to a Synovium Sarcoma and the temporomandibular joint that is related to mandibular growth has synovial tissue. We speculate that these genes may be also associated with mandibular prognathism.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・歯学・細目：矯正・小児系歯学

キーワード：歯学

1. 研究開始当初の背景

骨格性下顎前突症は、下顎の前下方への成長が過大であるため、側貌における下顎の著しい突出感と、反対咬合による咀嚼障害を呈

する疾患である。

下顎前突症は、人種間で発生頻度が異なり、アジア人 (15%)、コーカソイド (1%) という報告がある。(Allwright WC, Bundred WH: A survey of handicapping dentofacial

anomalies among Chinese in Hong Kong. *Int Dent J* 14 : 505-519, 1964., Emrich RE, Brodie AG, Blayney JR: Prevalence of class I, class II, class III, malocclusions (Angle) in an urban population: an epidemiological study. *J Dent Res* 44 : 947-953, 1965.) ただし性別による差は報告されていない。

骨格性下顎前突症の原因は、これまでになされた研究では、遺伝要因と環境要因が原因であると報告されているが、長い間、骨格性下顎前突症の原因は遺伝的要因が重要であると考えられている。矯正治療の1期治療では骨格性下顎前突症の治療として、現在、成長期に下あごの成長を抑制するためにチンキャップという装置を使用しているが、長期間におよぶ治療にもかかわらず、成長期の後半の下顎の著しい成長を抑えきれずに、反対咬合を呈するケースを認める。

そういった場合は、手術を行い、外科的に下顎を後方に移動させることが必要になることがある。もし骨格性下顎前突症の原因遺伝子が明らかになれば矯正治療の治療方針を決定する上で重要な情報になると考えられる。例えば、強い遺伝的要因を持つ場合には、顎矯正手術が必要となる可能性が高いので長期間に及ぶ下顎の成長抑制治療を避ける。また、遺伝的要因が弱い場合には、積極的に下顎の成長抑制治療を行う、などのように考えることが可能になる。

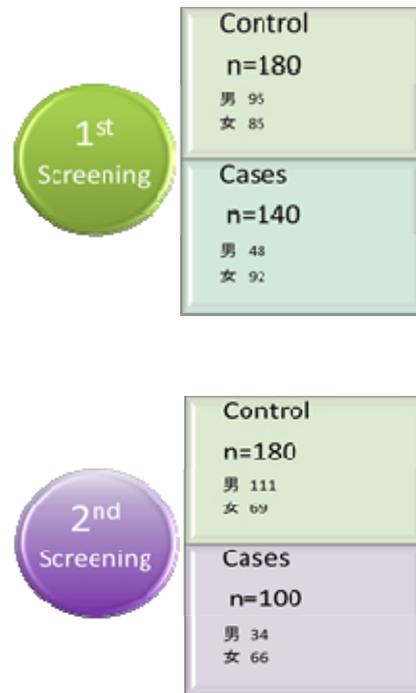
現在、世界で2件の下顎前突症のゲノムワイド連鎖解析が報告されている。1つは日本人と韓国人の罹患同胞対解析（日本 50 人の同胞対、韓国 40 人の同胞対）(Yamaguchi T, Park SB, Narita A, Maki K, Inoue I: Genome-wide linkage analysis of mandibular prognathism in Korean and Japanese patient. *J Dent Res* 84 : 255-259, 2005.)で、もう一つはヒスパニックの家系の連鎖解析である（57 人、内患者 28 人、健常者 29 人）(Frazier-Bowers S, Rincon-Rodriguez R, Zhou J, Alexander K, Lange E: Evidence of linkage in a hispanic cohort with a Class III dentofacial phenotype. *J Dent Res* 88 : 56-60, 2009.)。このように下顎前突症を対象としたゲノムワイド連鎖解析はすでに行われているが、ゲノムワイド関連解析は行われていない。

2. 研究の目的

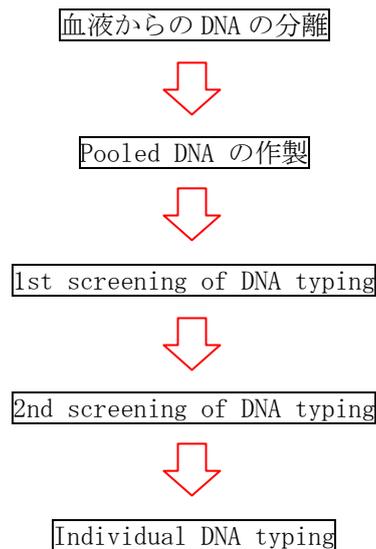
マイクロサテライトマーカーを用いたゲノムワイド関連解析により、骨格性下顎前突症の感受性対立遺伝子領域を同定することを目的とした。

3. 研究の方法

各段階のスクリーニングに使用したサンプル数は一次スクリーニングではコントロール 180 人、患者 140 人、二次スクリーニングではコントロール 180 人、患者 100 人の血液を収集した。



血液から DNA を分離し、各個人の DNA サンプルの濃度の定量を行い、DNA プール (pooled DNA) を作製した。



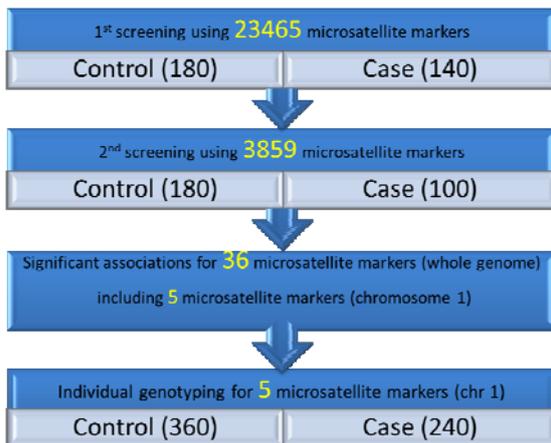
一次スクリーニングでは 23465 個のマイクロサテライトマーカーを、二次スクリーニング

では一次スクリーニングで陽性となったマイクロサテライトマーカーを用いて、通法のPCRを行った。PCR productは適切な濃度に調整し、指標となる試薬を加え、DNAの2本鎖を引き離れた上で自動DNAシーケンサーにて測定、解析を行った。二次スクリーニングで陽性となったマーカーに対し Individual genotyping を行った。

4. 研究成果

スクリーニングの結果は一次スクリーニングで 3859 コのマーカーが陽性、二次スクリーニングで明らかに偽陽性と考えられるものを省き 36 マーカーが陽性となった。

その中で第一染色体に存在した5つのマーカーに対し Individual genotyping を行った。理由としては時間的、研究費的な問題があったため、今回は前述した世界で2件の下顎前突症のゲノムワイド連鎖解析の報告の中で最も可能性のある第一染色体に絞った。



<MS Markers>

- (1) D1S411
- (2) D1S0411i
- (3) D1S1358i
- (4) D1S1028i
- (5) D1S0337i

<Cytobands>

- (1) 1p31.1
- (2) 1p22.3
- (3) 1q32.2
- (4) 1p34.3
- (5) 1p34.1

<Physical position of amplicon>

From (1) 70054757
 (2) 85179329
 (3) 208365606
 (4) 38576036
 (5) 44738410
 To (1) 70054960
 (2) 85179616
 (3) 208365706
 (4) 38576036
 (5) 44738702
 Forward (1) GAGGTCAGTTGATCCAGTGG
 (2) TGCTTGAACCTGATAGGTAGAG
 (3) AGTCACCACCTGCCATATG
 (4) TGACGTGATATTTGAAATCATA
 (5) GAGCTATTAGCAATGTCAGAAAAAC
 Reverse (1) AAGGTTTCTGAGAAGCTTTTGTG
 (2) GGCTTGTAGATGCTAGGAAAG
 (3) TCCAGGGTGTCTGTGCC
 (4) CTATTGGCATTGCTAAGATTATAG
 (5) GCTTGAGCATGAGAATCAC

すでに連鎖解析で報告された領域は含まれていなかったが、あるアレルの頻度にケースコントロール間で差があり、2つのマーカーで有意な相関が認められ、そのP valueは10のマイナス4乗レベルだった。

MS Markers	Cytobands	Allele frequency		Fisher's exact test P-value		Odds ratio (95%CI)
		Case	Control	2x2	2xm	
D1S411	1p31.1	0.174	0.230	0.02	0.084	0.70 (0.52-0.94)
D1S0411i	1p22.3	0.165	0.247	0.000666	0.002	0.60 (0.45-0.81)
D1S1358i	1q32.2	0.362	0.465	0.000422	0.007	0.65 (0.51-0.83)
D1S1028i	1p34.3	0.058	0.086	0.084	0.318	0.65 (0.40-1.05)
D1S0337i	1p34.1	0.119	0.082	0.043	0.077	1.51 (1.02-2.23)

2つの関連が示唆されたマーカーに近接する遺伝子の候補として *PLXNA2* 遺伝子と *SSX2IP* 遺伝子が挙げられ、D1S1358iは *PLXNA2* 遺伝子のイントロンに存在し、D1S0411iは *SSX2IP* 遺伝子の約23kb上流に存在していた。

MS Markers	Cytobands	Physical position of amplicon*		Nearest gene
		From	To	
D1S0411i	1p22.3	85179329	85179616	SSX2IP (synovial sarcoma, X breakpoint 2 interacting)
D1S1358i	1q32.2	208365606	208365706	PLXNA2 (plexin A2)

* Physical position of amplicon and gene location refer to the GRCh build 37/hg19.

PLXNA2 遺伝子はセマフォリンの共受容体をコードする遺伝子でセマフォリン 3Aは骨代謝への関係が報告されており、*SSX2IP* 遺伝子は滑膜肉腫と関係する遺伝子である。下顎の成長にも滑膜が存在する顎関節が関係しており、何らかの関係が推測される。結論として、第一染色体において2つの遺伝子座

(1p32.2, 1p22.3) が骨格性下顎前突症の新規感受性領域として示唆された。

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0件)

〔学会発表〕(計1件)

生野啓一郎、梶井貴史、岡晃、斉藤文男、猪子英俊、石川博之、飯田順一郎：下顎前突症(mandibular prognathism)のゲノムワイド関連解析、日本人類遺伝学会第57回大会、0-96、2012年10月24-27日、京王プラザホテル(東京都)、(一般口演)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

斉藤 文男 (SAITO FUMIO)
北海道大学・北海道大学病院・医員
研究者番号：00612889

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし