

令和 2 年 5 月 12 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11689

研究課題名(和文) 遺伝子間相互作用解析を活用した口唇口蓋裂疾患感受性遺伝子の解明

研究課題名(英文) Elucidation candidate genes of cleft lip and palate using gene-gene interaction analysis

研究代表者

新井 伸作 (Arai, Shinsaku)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：40529806

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)：口唇口蓋裂は、多因子疾患である。個々の要因の特定は非常に困難であり、環境因子や遺伝的要因など、様々な方法で口唇口蓋裂発症要因の同定が進められている。本研究は遺伝的要因に着目し、口唇口蓋裂の発症要因の検証を目的とした。

口蓋裂発症遺伝子の検索として、発生期のマウス口蓋を用い、マイクロアレイ法を行った。発生期口蓋に強く発現する2866個の遺伝子をgene ontology解析したところ、硬口蓋ではcell adhesionおよびregulation of cell proliferationなどの遺伝子群が上昇していた。口蓋の癒合には細胞増殖および上皮細胞による細胞接着が重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歴史的に口唇裂口蓋裂患者やその家族は社会から不平等な扱いを受けてきた事情がある。本研究の結果は、口唇裂口蓋裂の発症メカニズム解明へ重要な情報をもたらし、社会における口唇裂口蓋裂患者への正しい認識ならびに患者本人の疾患の受容に役立つことにより、口唇裂口蓋裂患者のQuality of lifeの向上へつなげるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Cleft lip and palate is a multifactorial disease. Identification of individual factors is extremely difficult, and various factors such as environmental factors and genetic factors are using to identify the factors causing cleft lip and palate. This study focused on genetic factors and aimed to verify the causative factors of cleft lip and palate.

As a search for cleft palate genes, a microarray method was performed using the mouse palate in the nascent stage. Gene ontology analysis of 2866 genes strongly expressed in the developing palate revealed that gene groups such as cell adhesion and regulation of cell proliferation were elevated in the hard palate. It was suggested that cell proliferation and cell adhesion by epithelial cells are important for fusion of the palate.

研究分野：口腔外科

キーワード：口唇口蓋裂 遺伝的要因 マイクロアレイ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口唇口蓋裂の発生頻度は、モンゴロイドである日本人では出生児約500人に1人と、コーカソイド(白人、約1/800)やネグロイド(黒人、約1/1500)に比べて高い。この疾患の記録は古代インカ帝国の遺跡にも残されており、唇裂の仮面像を家の守り神としていた。現代の諸外国の中には、産前検査時に口唇口蓋裂が発覚した段階で多くが中絶を選択するところもあるが、その発生がなくなることはなく、人類が今後も付き合っていく病気のひとつと言える。

現在では外科的治療法の進歩によりほぼ満足すべき治療効果が得られるようになったものの、患者や家族にとっての精神的苦痛と長期間における治療の身体的負担は大きい。発症のメカニズムを明らかにすることは、妊娠初期の予防的措置や新たな治療法の開発につながることで期待される。本疾患の発症には、環境的要因と遺伝的要因の双方が関与しているとされているが、同胞での発症率が約10倍に上昇するなど遺伝的関与が強く示唆される。

口唇口蓋裂の疾患感受性遺伝子に関しては、連鎖解析で *MSX1*、*TGF 3*、*PAX9* など、関連解析で *IRF*、*MAFB*、*ARHGAP29* などの関与を疑う報告はなされているが (In Vitro Cell Dev Biol Anim 34:831-5, 1998; J Human Genet 51:38-46, 2006; Nat Genet 44:968-71, 2012)、配列変化の特定まではされておらず、その生理学的意義のほとんどが未だ明らかにされていないのが現状である。また、口蓋裂発生ノックアウトマウスでは *Msx1*、*Tgf 3*、*Fgfr2*、*Tbx22*、*Shh*、*Gli3* などが報告されている (Proc Natl Acad Sci U S A 94:11451-5, 1997; Neurosci Lett 240:81-4, 1998; Plast Reconstr Surg 108:938-48, 2001; Dev Dyn 235:2353-75, 2006; Birth Defects Res A Clin Mol Teratol 79:688-95, 2007)。

多因子疾患においては、複数の遺伝的要因が存在すると考えられているが、これまでの報告はそれぞれ単独の遺伝子と口唇口蓋裂発症との関連解析である。本研究の特色としては、MDR法を用いることにより、遺伝子間相互作用を明らかにすることにある。MDR法は遺伝子間相互作用や遺伝的要因と環境要因の相互作用を検討する上で有用な方法であり、これまで様々な関連解析においても有意な相互作用を検出している (Am J Hum Genet 69:138-47, 2001; Eur Psychiatry 20:45-9, 2005)。これにより、発症に関わる比較的弱い効果を持つ遺伝子も同定できる。口唇口蓋裂疾患感受性遺伝子の同定は、その発症メカニズムを解明する重要な手がかりとなり、予防措置や新たな治療法へと結びつくことが期待される。

また、口唇裂口蓋裂患者やその家族は歴史的に社会から不平等な扱いを受けてきた事情がある。本研究の結果は、これまで疾患感受性遺伝子が同定されてきた2型糖尿病や肥満などの多因子疾患と同様に、口唇裂口蓋裂の発症メカニズムが解明されることにより、社会における口唇裂口蓋裂患者への正しい認識ならびに患者本人の疾患の受容に役立つことにより、口唇裂口蓋裂患者の Quality of life の向上へつながるものと期待される。

2. 研究の目的

本研究では遺伝的要因に焦点を当て、原因となる遺伝子およびその配列変化を明らかにすることを目的とする。

また、口蓋発生期での口唇口蓋裂の遺伝的発症要因の検証を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

口唇口蓋裂の候補遺伝子を設定し、患者および健常児から得られた血液サンプルより DNA を抽出し、伝達不平衡テスト、患者-対照群を用いた関連解析を行い、日本人口唇口蓋裂発症の疾患感受性遺伝子の同定を目指す。さらに Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) 法を用い、これら候補遺伝子間の相互作用も明らかにする。

発生期のマウス口蓋を用いて、マイクロアレイ法を行い、口蓋形成期に強く発現する遺伝子群を同定し、gene ontology 解析を行うことで機能解析を行う。

4. 研究成果

口唇口蓋裂は、口唇、歯槽骨および口蓋などに裂を生じる先天性疾患であり、現在の治療は出生後の外科的手術が一般的である。口唇口蓋裂は頻度の高い先天異常の一つとして知られているが、多くの要因が複雑に関与して発症する多因子疾患である。そのため、個々の要因の特定は非常に困難であり、環境因子や遺伝的要因など、様々な方法で口唇口蓋裂発症要因の同定が進められている。発生期のマウス口蓋を用いて、マイクロアレイ法を行った。口蓋は顔面発生初期には、もともと左右に分かれて舌の側方に位置しており、口蓋が舌を乗り越えて挙上することで癒合が開始される。そのため、口蓋裂の発生機序としては、口蓋挙上の不全および上皮細胞の癒合不全の2つの機序が考えられる。口蓋挙上は主に間葉細胞の増殖および移動によるものであり、癒合は左右口蓋突起が接する上皮細胞の癒合不全によるものと考えられる。マイクロアレイ法により口蓋発生時期には約4万個の遺伝子が働いていることが判明した。その中で発生期口蓋に強く発現する2866個の遺伝子に着目した。口蓋前方部の口蓋骨が裏打ちする硬口蓋と後方部の軟口蓋とにわけ gene ontology 解析を行ったところ、硬口蓋では cell adhesion および regulation of cell proliferation などの遺伝子群が上昇しており、口蓋の

癒合には細胞増殖および上皮細胞による細胞接着が重要であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Ami FUNADA, Shinsaku ARAI, Kaori MATSUMURA, Takeshi MITSUYASU, Tomomi TUJIGUCHI and Seiji NAKAMURA
2. 発表標題 Clinicostatistical investigation of cleft Lip and/or palate patients in the Kyushu University Hospital
3. 学会等名 KAOMS2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ami MAENO, Shinsaku ARAI, Sachiyo HASEGAWA, Kaori MATSUMURA, Takeshi MITSUYASU, Masaaki SASAGURI, Nobuhiro SATO, Toshiro UMEZAKI, Seiji NAKAMURA
2. 発表標題 An infant with cleft lip and palate successfully acquiring normal speech and language functions regardless of a long-term tracheal cannulation because of laryngotracheal stenosis
3. 学会等名 KAOMS2018 (国際学会)
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	柴田 弘紀 (Shibata Hiorki) (80315093)	九州大学・生体防御医学研究所・准教授 (17102)	