

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03858

研究課題名(和文) 顎顔面形成不全を伴う未診断稀少疾患の遺伝的原因の究明

研究課題名(英文) Investigation of genetic etiology of rare diseases with craniofacial deformities

研究代表者

黒坂 寛 (Kurosaka, Hiroshi)

大阪大学・歯学部附属病院・講師

研究者番号：20509369

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：顎顔面形成不全は先天性疾患の3割以上に認められる事が知られている。また顎顔面形成不全には原因不明のまま(未診断)経緯する場合も多い事が知られている。今後の個別化医療の推進の為にこの様な未診断顎顔面形成不全の原因を解明する事は重要であり、本研究では特に遺伝的原因に着目して研究を推進した。結果としてこれまで未診断であった顎顔面形成不全5症例に関して原因遺伝子の同定を行った。またそれぞれの遺伝子について機能解析を行い、分子病態の解明を行っている。今後これらの知見を活かして診断方法等の開発を進めて行く予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、口唇口蓋裂等の顎顔面形成不全を伴う稀少疾患の多くは根本的な治療法が存在せず、それ以前に原因も解らない場合がほとんどである。また今までも多くの研究がこの様な未診断疾患の遺伝的原因の究明を試みているが全ての症例で原因遺伝子が同定されている訳ではない。本研究課題を推進する事により顎顔面領域を含んだ多臓器にわたる稀少疾患の遺伝的要因の解明が可能であり、その様な多様な症状を引き起こす分子基盤を解明する事が出来た。原因が解明されれば治療法の開発に繋がり社会的な意義が大きい。

研究成果の概要(英文)：Congenital craniofacial defects are one of the most frequent symptoms which could be detected among all congenital diseases. In the present research project, we investigated the genetic cause of undiagnosed diseases with broad craniofacial anomalies. Among the patients who are enrolled in this project, we identified 5 genetic loci which are associated with individual diseases and succeeded to make precise diagnoses such as Baraitser-Winter syndrome and Pseudohypoparathyroidism. We also established some cellular and animal models for these identified diseases in order to further investigate the molecular and cellular mechanisms for rare craniofacial disorders.

研究分野：矯正歯科

キーワード：顎顔面形成不全 稀少疾患 動物モデル ゲノム解析

1. 研究開始当初の背景

顎顔面領域の発生は様々な顔面突起の成長や癒合が繰り返し起こる事により成される。更に同部位は多臓器に渡る複雑で精密な発生過程が必要である事から、その過程でミスが生じやすく先天性顎顔面形成不全は全ての先天性奇形の約 1/3 に付随して起こる事が知られている。申請者が所属する大阪大学歯学部附属病院 矯正科にはこの様な顎顔面形成不全患者が多く来院しその中には他の全身的症状(先天性心疾患、手足の先天異常、骨形成異常等)を伴う未診断稀少疾患が一定数存在する。この事は顎顔面形成不全と全身的な臓器の先天性奇形の発生メカニズムに共通する分子基盤が存在する事を強く示唆している。また、稀少疾患の 80% には遺伝的要因が存在する事が知られており、患者と近親者の全エキソームシーケンスを行う事により約 30% の割合で原因遺伝子が特定可能となっている。ゲノムの網羅的なシーケンスは急速にその精度を上げており今までのマイクロアレイ検査等では解明不可能であった遺伝的原因が明らかになる事が多くなっていた。この様に飛躍的にゲノムシーケンス技術が改善されて未診断稀少疾患の遺伝的原因が同定可能な土壌が出来上がっていた。またこの様な稀少疾患の遺伝的原因の機能は不明な点が多く機能解析が必要となっていた。また稀少疾患のモデル動物の解析を行う事による病態メカニズムの解明も必要とされている。

2. 研究の目的

口唇口蓋裂を始めとする顎顔面形成不全症は不正咬合の原因となり歯科矯正治療の臨床現場において頻繁に遭遇する疾患である。近年の Genome wide association study (GWAS) 研究等により顎顔面形成不全症について多くの感受性遺伝子が同定されているが、未だに原因不明の稀少・未診断疾患が多く存在する事も事実である。本研究では大阪大学歯学部附属病院を受診した未診断顎顔面形成不全症の遺伝的原因を明らかにする事を目的とした。本研究では遺伝的要因が強く疑われる顎顔面形成不全症と全身症状が併発している症例 家族内に類似した症状を持つ症例 少なくとも発症者を含めた両親の解析が行える症例を中心にエキソーム解析を行う事とした。この事により従来と比較して効率的に遺伝的要因を同定する事が可能となる。本研究課題を推進する事により顎顔面領域を含んだ多臓器にわたる稀少疾患の遺伝的要因の解明が可能であり、様々な疾患モデルを用いる事により同定した遺伝子変異によって引き起こされる疾患の病態メカニズムの解明を行う事を目的とした。また稀少疾患である Frontonasal dysplasia や HDR (Hypoparathyroidism, Sensorineural Deafness) 症候群の発症メカニズムの解明の為にモデル動物を用いて解析を行う事とした。稀少疾患の病態解明にはチエアサイドとベンチサイドの融合が必要不可欠でありこの両方の達成を目的とした。

3. 研究の方法

大阪大学歯学部附属病院 矯正科を受診した顎顔面形成不全を伴う多臓器に渡る症状を有する患者、家族性に類似した症状をもつ患者を対象とし両親と共にエキソーム解析を行う。エキソーム解析は大阪大学に解析センターをおく未診断疾患イニシアチブ (IRUD) と協力して行った。

4. 研究成果

その結果本研究期間中に今まで未診断であった症例に対する遺伝子変異 (GNAS, ACTB) を同定する事によって偽性副甲状腺機能低下症や Baraitser-Winter 症候群の確定診断を行う事が出来た。唇口蓋裂を伴う未診断疾患患者から脱ユビキチン化酵素である USP9X や DNA 結合タンパクである SATB2 の変異を同定した。さらに新規 ACTB 変異の機能解析の実験系を上皮系細胞株 (MDCK 細胞) にて開発した。また GNAS 変異マウスをゲノム編集技術を用いて作製し偽性副甲状腺機能低下症のモデルマウスを作製した。全ての遺伝子については発生中のマウスにおける発現解析を行い、これまでは全身の組織に一樣に発現すると考えられていたこれらの遺伝子が組織、発生時期特異的な発現パターンを示す事を発見した。この事により疾患毎に組織特異的な表現型を示すメカニズムの一端を解明した。

また、動物モデルを用いた研究では稀少疾患である正中顔面裂を引き起こすレチノイン酸シグナルに異常を呈するマウスを作製して詳細な解析を行った。その結果、胎生期における顎顔面発生時にレチノイン酸シグナルの異常がソニックヘッジホッグシグナルの過剰発現を引き起こす事によって正中顔面裂を引き起こす事を突き止めて国際誌への発表を行った (Y Wu, H Kurosaka et al. Retinoic Acid Deficiency Underlies the Etiology of Midfacial Defects, Journal of dental research, 2022)。さらにはレチノイン酸シグナルと Gata3 の胎生顎顔面発生時における協奏的な役割を発見し、どち

らの機能を阻害しても希少疾患である後鼻孔閉鎖を引き起こす事を発見し国際誌への発表を行った (H Kurosaka et al. Synergistic role of retinoic acid signaling and Gata3 during primitive choanae formation. *Human Molecular Genetics* 30(24) 2383-2392 2021)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yamada Mamiko, Kubota Kazumi, Uchida Atsuro, Yagihashi Tatsuhiko, Kawasaki Masahito, Suzuki Hisato, Uehara Tomoko, Takenouchi Toshiki, Kurosaka Hiroshi, Kosaki Kenjiro	4. 巻 185
2. 論文標題 Fork shaped mandibular incisors as a novel phenotype of LRP5 associated disorder	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Medical Genetics Part A	6. 最初と最後の頁 1544 ~ 1549
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ajmg.a.62132	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 Uemura Yume, Oka Ayaka, Kurosaka Hiroshi, Yamashiro Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Comprehensive Orthodontic Treatment of a Patient With Prader-Willi Syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Cleft Palate-Craniofacial Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1055665620977375	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 Yamamoto Sayuri, Kurosaka Hiroshi, Miura Jiro, Aoyama Gozo, Sarper Safiye Esra, Oka Ayaka, Inubushi Toshihiro, Nakatsugawa Kohei, Usami Yu, Toyosawa Satoru, Yamashiro Takashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Observation of the Epithelial Cell Behavior in the Nasal Septum During Primary Palate Closure in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2020.538835	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 Nakatsugawa Kohei, Kurosaka Hiroshi, Yamashiro Takashi	4. 巻 79
2. 論文標題 Orthognathic treatment of patient with missing permanent first molars	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Orthodontic Waves	6. 最初と最後の頁 135 ~ 143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/13440241.2020.1822062	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 Oka Ayaka, Kurosaka Hiroshi, Nakatsugawa Kohei, Yamashiro Takashi	4. 巻 79
2. 論文標題 Surgical and orthodontic approach for a patient with a severely constricted maxillary arch caused by bilateral cleft lip and palate	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Orthodontic Waves	6. 最初と最後の頁 127 ~ 134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/13440241.2020.1751456	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 Inoue Sayuri, Kurosaka Hiroshi, Lee Donghoon, Yamashiro Takashi	4. 巻 57
2. 論文標題 Multidisciplinary Approach for Treating Malocclusion of Patient With Basal Cell Nevus Syndrome: A Case Report	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Cleft Palate-Craniofacial Journal	6. 最初と最後の頁 255 ~ 262
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1055665619866562	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 Sarper Safiye E., Inubushi Toshihiro, Kurosaka Hiroshi, Ono Minagi Hitomi, Murata Yuka, Kuremoto Koh-ichi, Sakai Takayoshi, Taniuchi Ichiro, Yamashiro Takashi	4. 巻 12
2. 論文標題 Anterior cleft palate due to Cbfb deficiency and its rescue by folic acid	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Disease Models & Mechanisms	6. 最初と最後の頁 038851 ~ 038851
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dmm.038851	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 Wang Qi, Kurosaka Hiroshi, Kikuchi Masataka, Nakaya Akihiro, Trainor Paul A., Yamashiro Takashi	4. 巻 12
2. 論文標題 Perturbed development of cranial neural crest cells in association with reduced sonic hedgehog signaling underlies the pathogenesis of retinoic-acid-induced cleft palate	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Disease Models & Mechanisms	6. 最初と最後の頁 040279 ~ 040279
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dmm.040279	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 該当する

1. 著者名 Aoyama Gozo, Kurosaka Hiroshi, Oka Ayaka, Nakatsugawa Kohei, Yamamoto Sayuri, Sarper Safiye Esra, Usami Yu, Toyosawa Satoru, Inubushi Toshihiro, Isogai Yukako, Yamashiro Takashi	4. 巻 10
2. 論文標題 Observation of Dynamic Cellular Migration of the Medial Edge Epithelium of the Palatal Shelf in vitro	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2019.00698	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 Nakatsugawa Kohei, Kurosaka Hiroshi, Inubushi Toshihiro, Aoyama Gozo, Isogai Yukako, Usami Yu, Toyosawa Satoru, Yamashiro Takashi	4. 巻 3
2. 論文標題 Stage- and tissue-specific effect of cyclophosphamide during tooth development	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Orthodontics	6. 最初と最後の頁 400-407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ejo/cjz002	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 Itoh Shinsuke, Kurosaka Hiroshi, Murata Yuka, Morita Chisato, Kagitani-Shimono Kuriko, Nabatame Shin, Ozono Keiichi, Yamashiro Takashi	4. 巻 78
2. 論文標題 Analysis of craniofacial character of glucose transporter type I deficiency syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Orthodontic Waves	6. 最初と最後の頁 151 ~ 159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.odw.2019.10.002	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 Oka Ayaka, Kurosaka Hiroshi, Nakatsugawa Kohei, Yamashiro Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Surgical and orthodontic approach for a patient with a severely constricted maxillary arch caused by bilateral cleft lip and palate	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Orthodontic Waves	6. 最初と最後の頁 1 ~ 8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/13440241.2020.1751456	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 4件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 黒坂 寛
2. 発表標題 顎顔面形成不全を伴う希少疾患研究の病態解明から診断法治療開発法への展開
3. 学会等名 第62回 歯科基礎医学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 黒坂 寛
2. 発表標題 レチノイン酸シグナルと顔面形成不全
3. 学会等名 第60回 日本先天異常学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 サハ・クマル, 黒坂 寛, 山城 隆
2. 発表標題 顎顔面発生におけるGATA-3の役割
3. 学会等名 日本口蓋裂学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 白石優季, 黒坂寛, 山城隆
2. 発表標題 両側性唇顎口蓋裂を伴うCHARGE症候群の一症例
3. 学会等名 日本口蓋裂学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 犬伏 俊博, 廣瀬 匠, 吉田 尚起, 黒坂 寛, 杉山 弘, 山城 隆
2. 発表標題 新規遺伝子抑制法を用いた口蓋形成の制御機構解明への新たな取り組み
3. 学会等名 歯科基礎医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 青山 剛三, 黒坂 寛, 岡 綾香, 中津川 昂平, 山本 沙優里, 宇佐美 悠, 豊澤 悟, 犬伏 俊博, 磯貝 由佳子, 山城 隆
2. 発表標題 マウス二次口蓋における口蓋突起癒合時のmedial edge epithelial cellの動態
3. 学会等名 日本矯正歯科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中津川 昂平, 黒坂 寛, 山城 隆
2. 発表標題 小児がん治療が顎顔面形態と永久歯歯胚形成に与える影響
3. 学会等名 日本矯正歯科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒坂 寛
2. 発表標題 The role of retinoic acid signaling for developing the face
3. 学会等名 The 59th Annual Meeting of The Japanese Teratology Society The 13th World Congress of The International Cleft Lip and Palate Foundation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒坂 寛
2. 発表標題 Synergistic Role of GATA3 and Retinoic Acid Signaling in Primitive Choanae Development
3. 学会等名 Gordon Research Conference Craniofacial Morphogenesis and Tissue Regeneration (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019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	犬伏 俊博 (Inubushi Toshihiro) (30550941)	大阪大学・歯学研究科・講師 (14401)	
研究分担者	中谷 明弘 (Nakaya Akihiro) (60301149)	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・特任教授 (12601)	
研究分担者	山城 隆 (Yamashiro Takashi) (70294428)	大阪大学・歯学研究科・教授 (14401)	
研究分担者	真下 知士 (Mashimo Tomoji) (80397554)	東京大学・医科学研究所・教授 (12601)	
研究分担者	沖 真弥 (Oki Shinya) (90452713)	京都大学・医学研究科・特定准教授 (14301)	

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			
米国	Stowers Institute for Medical Research	University of Louisville		