

令和元年6月10日現在

機関番号：27102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15842

研究課題名(和文)非症候群性多数歯無歯症における新規原因遺伝子の同定

研究課題名(英文)Identification of a novel causative gene in nonsyndromic tooth agenesis

研究代表者

川元 龍夫(KAWAMOTO, tatsuo)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：50323704

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：歯の数が不足すると食事をすることや発音に支障を生じる場合があるが、非症候群性の永久歯の先天欠如の発症原因について詳細は解明されていない。過去に我々が発見した新規原因遺伝子候補の歯の発生への関与および機能を検索するため、まず九州歯科大学付属病院に来院する患者の実態調査を行った。新規患者492名中、6歯以上の欠如は2名であった。先天欠如の原因遺伝子が遺伝子Xであるのか調べるため分析は外部受託を検討していたが、東京医科歯科大学顎顔面矯正学分野と共同研究するに至り、現在まで6歯以上の欠如者9人の唾液を採取しDNAを精製した。遺伝子Xに関して先天欠如の原因遺伝子に関して詳細な検討を行う予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯の数や形、歯列に何らかの問題がある場合、かみ合わせに影響を与え、食事をすることや発音に支障をきたす場合がある。過去に我々が非症候群性の永久歯の先天欠如の新規原因遺伝子候補とした遺伝子Xの歯の発生への関与および機能を検索することで永久歯先天欠如の遺伝子学的な病態解明が行われると、発症機序の解明や新しい診断システムの開発が可能となり、将来的には予防的治療や遺伝子治療に応用できる可能性があり社会的意義が期待される。また非症候群性の永久歯の先天欠如患者について既に分かっている遺伝子X以外の原因遺伝子を検索することで過去の報告と照合し歯の欠損部位など詳細なデータを得ることができ学術的意義も期待される。

研究成果の概要(英文)：Insufficient number of teeth may cause problems with eating and pronunciation, but the cause of nonsyndromic tooth agenesis has not been clarified in detail. In order to search for involvement and function in tooth development of novel causative gene candidates that we discovered in the past, first we surveyed patients visiting Kyushu Dental University Hospital. Two out of 492 new patients had tooth agenesis more than six teeth. The analysis to determine whether the gene causing tooth agenesis was Gene X was to be examined by an external company, but it was decided that the gene will be analyzed at Department of Maxillofacial Orthognathics, Graduate School of Tokyo Medical and Dental University as a joint research. To date, saliva was collected from nine patients who had tooth agenesis more than six teeth and their DNA was purified. Detailed studies will be conducted to identify mutations that cause tooth agenesis in gene X.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：永久歯先天欠如 統計的調査

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

永久歯の先天性欠如(Tooth agenesis: TA)は高頻度に生じる口腔領域の発育異常の一つであり、第三大臼歯を除外した TA の発生頻度は 1.6-11.3 %と報告されている。その発症部位や欠如歯数によって様々な咬合異常を誘発するため、健全な永久歯咬合の育成を目標とした継続的な口腔管理を行う上で大きな問題となる。TA は、外胚葉異形成症などの疾患の一症状として生じる症候群性のもので、それ以外の非症候群性のもので分類される。非症候群性の TA の原因遺伝子として、PAX9、EDA、MSX1、AXIN2、EDARADD、NEMO、KRT17、WNT10A、IRF6 などが知られている (Pekka Nieminen. J Exp Zool. 312B:320-342. 2009.) が、未知の原因遺伝子の存在が予想される。我々は既知の TA の原因遺伝子群に変異を認めない非症候群性 TA 罹患者を含むベルギー人家系において、次世代シーケンサーによるエクソームシーケンスを併用した遺伝子解析を行った。その結果、罹患者のみに共通する X 染色体上のある遺伝子 (遺伝子 X とする) の第 5 エクソンにミスセンス変異が認められた。この遺伝子 X の転写産物の機能は現在のところ不明な点が多く、発見された変異による機能への影響や、TA への関与は分かっていない。

### 2. 研究の目的

本研究は、既知の原因遺伝子に変異を認めない非症候群性の永久歯の先天欠如を発症したベルギー人家系において、X 染色体上に存在する遺伝子に変異が認められたことから、この遺伝子の歯の発生への関与および機能を、臨床研究および実験動物を用いた基礎研究により検索することを目的とした。計画していた研究項目は、

- 1) 永久歯の先天性欠如を伴う患者における当該遺伝子の解析
- 2) マウスにおける歯胚形成時の当該遺伝子の発現様相の解明
- 3) 遺伝子組換えマウスを用いた当該遺伝子の機能検索の 3 つであった。

### 3. 研究の方法

#### (1) 九州歯科大学附属病院に来院する患者の統計的調査

まず九州歯科大学附属病院に来院する患者集団の永久歯先天性欠如に関する特徴を把握することを目的に統計的調査を行った。

資料は 2011 年から 2015 年の 5 年間に九州歯科大学附属病院矯正歯科外来を受診し、資料採得を行った初診時年齢 5 歳以上の患者 492 名 (男性 156 名、女性 336 名、初診時年齢中央値 16.8 歳) から得られた、診療記録、パノラマ X 線写真、口腔内写真、顎態模型を用い、第三大臼歯を除く永久歯先天性欠如を判定した。なお、唇顎口蓋裂患者は除外した。検討項目は、性別、初診時年齢、歯種別欠如歯数、欠如歯数別発現頻度とした。

統計学的解析に関して、性別については x 二乗検定、初診時年齢については MannWhitney 検定を用いた。

#### (2) 永久歯先天性欠如の遺伝学的要因の探索

上記調査にて、遺伝的なバックグラウンドがある可能性が高いとされる 6 歯以上の多数歯無歯症の割合は、永久歯先天欠如者 492 名中、0.4% (2 名) であった。DNA を採取する研究協力者は 6 歯以上の欠如者から選定を行うことを目標としており、学内のみでは研究協力者数が十分に確保できないことが予想された。そこで学外施設からも研究協力者を募ることとし、さらに東京医科歯科大学顎顔面矯正学分野と共同研究するに至り、遺伝子 X やその他の永久歯の先天欠如の疾患関連遺伝子やその遺伝子機能を明らかにすることを試みることにした。

研究デザインを研究対象者のゲノム DNA を用いる、侵襲を伴わないケースコントロールスタディとし、九州歯科大学附属病院矯正歯科外来もしくは共同研究期間を受診した患者 (未成年者も含む) およびその家族 (第 1 度近親血族や第 2 度近親血族) のうち、下の選択基準のいずれかに該当し、除外基準に該当しないものを対象者とした。

選択基準: 永久歯の数に異常を認める患者、およびその家族

除外基準: 本研究に対して同意が得られなかった患者およびその家族

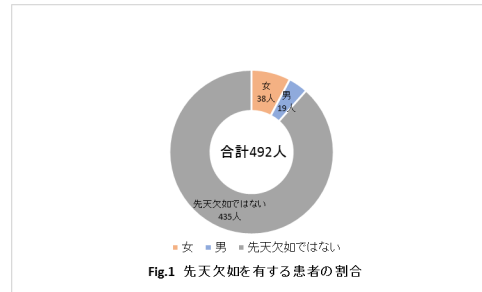
九州歯科大学附属病院矯正歯科外来および協力施設を受診する該当患者は年間およそ 20 人である。すべての患者から同意を得るのは困難であると考えられるため、目標とする症例数は年間 10 症例とした。本研究では、未成年者を対象とした試料採得を行う場合がある。遺伝情報が前世代から伝達された可能性を鑑み、研究対象者が未成年の場合は代諾者としての両親を含め説明を行うこととした。主要評価項目は遺伝子 X を含む原因遺伝子と思われる遺伝子変異の有無とし、評価方法は唾液より精製した DNA を用いて次世代シーケンサーによる網羅的ゲノム DNA 配列の解析、およびサンガー法による変異遺伝子配列の特定とした。副次評価項目は診療を目的に得られた問診内容、エックス線写真、歯列模型から得られる患者情報とした。

## 4. 研究成果

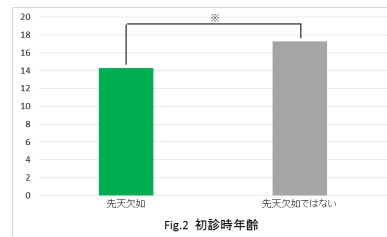
### (1)

九州歯科大学附属病院に来院する患者集団の永久歯先天性欠如に関する特徴を把握することを目的で行った統計的調査の結果

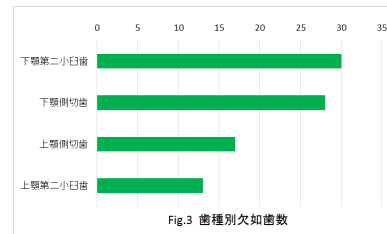
永久歯先天性欠如を発現した患者は、57名(女性38名、男性19名)、11.6%(女性7.7%、男性3.9%)であり、有意な性別差は認めず、矯正歯科からの過去の報告(9.0~10.2%)と比較し若干頻度が高かった(Fig.1)。



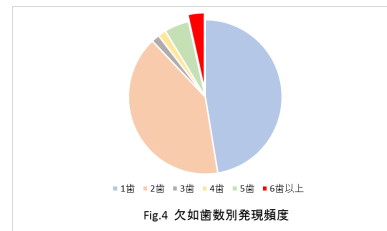
永久歯先天性欠如を発現した患者の初診時年齢(中央値 14.3 歳)は、該当しない患者の初診時年齢(中央値 17.3 歳)と比較し、有意に低年齢であった( $P=0.039$ )(Fig.2)。



歯種別欠如歯数は、臼歯が 30 歯と最も多く、次いで下顎側切歯(28 歯)、上顎側切歯(17 歯)、上顎第二小臼歯(13 歯)の順であった(Fig.3)。



欠如歯数別発現頻度は 1 歯欠如が 5.5%、2 歯欠如が 4.7%、3 歯、4 歯、5 歯、および 6 歯以上欠如はいずれも 1%以下で、それぞれ 0.2%、0.2%、0.6%、0.4%であった(Fig.4)。



以上より、地域中核病院の矯正歯科において永久歯先天性欠如を発現する患者は比較的低年齢で受診し、6 歯以上欠如は 0.4%であることがわかった。

DNA を採取する研究協力者は 6 歯以上の欠如者から選定を行うことを目標としており、学内のみでは研究協力者数が十分に確保できないことが予想された。そこで学外施設からも研究協力者を募ることとし、さらに東京医科歯科大学顎顔面矯正学分野と共同研究するに至り、遺伝子 X やその他の永久歯の先天欠如の疾患関連遺伝子やその遺伝子機能を明らかにすることを試みることとした。

### (2)

現在 9 人の患者から同意を得て DNA を精製済みである。今後も唾液の採取を続け、さらに東京医科歯科大学顎顔面矯正学分野との共同研究により遺伝子 X を含む原因遺伝子と思われる遺伝子変異の有無を検索し、永久歯の先天欠如の疾患関連遺伝子やその遺伝子機能を明らかにすることとしている。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

Kojiro Yamaji Jumpei Morita Tsukasa Watanabe Kaori Gunjigake Mitsushiro Nakatomi Momotoshi Shiga Kentaro Ono Keiji Moriyama Tatsuo Kawamoto  
Maldevelopment of the submandibular gland in a mouse model of apert syndrome  
Developmental Dynamics 247:1175-1185, 2018.  
doi: 10.1002/dvdy.24673.

査読有

〔学会発表〕(計5件)

森田淳平 九州歯科大学附属病院矯正歯科外来における永久歯先天性欠如に関する検討  
第75回日本矯正歯科学会学術大会 2016年11月07-10日

山地晃二郎 顎下腺における Apert 症候群モデルマウスの病態解析  
第12回九州矯正歯科学会学術大会 2017年3月18-19日

山地晃二郎 Apert 症候群疾患遺伝子に着目した顎下腺発生における上皮間葉相互作用の  
解明 第1報顎下腺形態変化の解析  
第77回九州歯科学会総会学術大会 2017年5月20-21日

山地晃二郎 顎下腺における Apert 症候群モデルマウスの病態解析  
第76回日本矯正歯科学会学術大会 2017年10月18-20日

山地晃二郎 顎下腺における Apert 症候群モデルマウスの形態的・機能的解析  
第13回九州矯正歯科学会学術大会 学術口演 2018年2月17-18日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

九州歯科大学 顎口腔機能矯正学分野 主な実績

[https://www.kyu-dent.ac.jp/research/lecture/oral\\_correction](https://www.kyu-dent.ac.jp/research/lecture/oral_correction)

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：瀧口 玲子

ローマ字氏名：TAKIGUCHI, reiko

所属研究機関名：九州歯科大学

部局名：歯学部

職名：助教

研究者番号(8桁)：80128800

研究分担者氏名：郡司掛 香織

ローマ字氏名：GUNJIGAKE, kaori

所属研究機関名：九州歯科大学

部局名：歯学部

職名：助教

研究者番号(8桁)：90448811

研究分担者氏名：黒石 加代子

ローマ字氏名：KUROISHI, kayoko

所属研究機関名：九州歯科大学

部局名：歯学部

職名：助教

研究者番号(8桁)：60468303

(2)研究協力者

研究協力者氏名：森山 啓司

ローマ字氏名：MORIYAMA,keiji

研究協力者氏名：伊東 隆三

ローマ字氏名：ITO,ryuzo

研究協力者氏名：竹内 啓人

ローマ字氏名：TAKEUCHI,keito

研究協力者氏名：吉本 紘美

ローマ字氏名：YOSHIMOTO,hiromi

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。