

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10376

研究課題名(和文)統合的オミックス解析による希少遺伝性疾患における歯数を規定する分子機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the molecular mechanism that regulates the number of teeth in rare genetic diseases by multi-omics data integration

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・准教授

研究者番号：50401360

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：非症候性oligodontia(NSO)日本人家系ならびに遺伝的に独立したNSO患者に対するゲノム解析により、光感受性Gタンパク質共役型受容体をコードするOpsin3が、NSO発症に関与する新規遺伝子であることが明らかとなった。また、歯根長に異常を認める希少遺伝性疾患oculo-facio-cardio-dental症候群において、ゲノム解析ならびに疾患生体試料の網羅的な解析から得られた情報を統合することで、責任遺伝子BCL6 corepressor(BCOR)が、BCL6を介してZFPM2の発現を調節していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

顎顔面領域に奇形が認められる場合、体の複数の場所にも先天的な異常、奇形を認めることが多く、さまざまな診療科において、遺伝性疾患の研究が進められている。しかしながら、大半は顎顔面にその表現型が現れるため、歯科が中心となってこのような研究を推進していく必要がある。希少遺伝性疾患はその数の少なさから、情報を蓄積していくことは非常に重要であり、本研究で得られた知見は希少遺伝性疾患研究における中心的な位置を占めると思われる。

研究成果の概要(英文)：Genome analysis of a Japanese family with non-syndromic oligodontia (NSO) and genetically unrelated NSO cases revealed that Opsin3, which encodes a light-sensitive G protein-coupled receptor, is involved in NSO. In oculofacio-cardio-dental syndrome, a rare genetic disease with abnormal root formation, by integrating information obtained from genome analysis and comprehensive analysis of disease biosamples, BCL6 corepressor (BCOR) regulates the expression of ZFPM2 via BCL6.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：希少性遺伝性疾患 先天性多数歯欠損 OFCD症候群

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、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

顎顔面に認められる希少遺伝性疾患である非症候性 oligodontia (NSO) や鎖骨頭蓋異形成症 (CCD) にみられる歯数異常に関して、同一家系内において同一の遺伝子変異を有するものでもその表現型が異なることが多く、また、同一の遺伝子に変異を有する別の家系においても、表現型に一貫性をみない。研究代表者は、現在まで疾患変異体の機能解析により、歯数異常を示す遺伝性疾患の発症メカニズムを明らかにしてきたが、遺伝型と表現型の関連性を明らかにするまでに至っていない。一次的なゲノムデータ解析によるゲノム配列情報だけでは、形質情報との因果関係を明らかにするのは極めて困難を要するのが現状である。

近年のゲノム配列解読技術の著しい発展により得られた大規模ヒト疾患ゲノムデータを、生物学・臨床情報と分野横断的に統合し、遺伝情報と形質情報の結びつきを統計的観点から評価する遺伝統計学が注目されてきている。しかしながら、歯科に関する疾患ゲノム情報はまだまだ不足しており、Variant of Uncertain Significance (VUS:重要度不明変異)を見落としている可能性も考えられ、歯科関連ヒト疾患ゲノム情報の蓄積は喫緊の課題である。また、次世代シーケンサー (NGS) の様々なオミックス解析への応用が可能となり、個々のオミックス解析を統合し、生体の表現型の解析を組み合わせることで、個体の生命現象を包括的に調べるといった統合的オミックス解析も注目されており、形質情報の有用性が叫ばれている。

### 2. 研究の目的

本研究では、歯数異常を有する希少遺伝性疾患患者から得られる大規模ヒト疾患ゲノムデータを、生物学・臨床情報と分野横断的に統合することで、歯数・部位を規定する分子機構を解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 非症候性 oligodontia (NSO) におけるゲノム解析: 研究に同意の得られた NSO 患者およびその親族から末梢血および唾液を採取し、NGS を用い、同一家系内の 2 名の NSO 患者および 1 名の非罹患者について全エクソーム解析を実施した。さらに 48 名の孤発例 NSO 患者に対し、サンガー法を用いてターゲットシーケンス解析を行った。

(2) oculo-facio-cardio-dental (OFCD) 症候群における歯根長異常発症メカニズムの解明: 責任遺伝子である BCOR にフレームシフト変異 (c.3668delC) を有する OFCD 症候群患者並びに歯根長に異常を認めない患者から矯正歯科治療のため便宜抜去された小白歯から得られた培養歯根膜細胞 (Mut PDL) を解析に用いた。それぞれの細胞より RNA を抽出し、マイクロアレイにより遺伝子の発現量の差を網羅的に比較検討した。遺伝子オントロジー解析により、Mut PDL において発現量の上昇が大きかった転写因子に着目し、human periodontal ligament fibroblasts (HPdLF) やならびに COS-7 細胞を用いた *in vitro* 解析を行った。各種細胞に BCOR を強制発現させ、遺伝子のプロモーター領域と BCL6 を介した BCOR との相互作用の有無をクロマチン免疫沈降により検討した。また、患者と同じ変異 (c.3668delC) を有する変異 BCOR においても同様の検討を行った。さらに、Mut PDL に、siRNA にてノックダウンさせ、MTT アッセイ並びにパスウェイ解析により抽出された遺伝子の発現量の変化を検討した。

#### 4 . 研究成果

(1) NSO におけるゲノム解析: 家系発症例 (NSO 患者 2 人と非罹患者 1 人) を対象に、全エクソーム解析を行ったところ、平均 35,729,559 リードが hg19 ヒト参照配列にマッピングされ、on target 比率とカバレッジはそれぞれ 88.57%と x105.2 であった。Torrent suite software v4.0 を用いて平均 51,488 変異が検出され、NSO 非罹患者で認められる変異を、NSO 罹患者から除外し、家系内で共通して認められる変異を 34 変異に絞り込み、その後サンガーシーケンシングにより、OPN3 に 1 つのミスセンス変異 (c.668C>T, p.Gly223Asp) を特定した。さらに 48 人の遺伝的に独立した NSO 患者に対しターゲットシーケンス解析を行った。解析の結果、48 人のうち 2 人 (4.1%) にミスセンス変異を認め、さらに公共データベースにおけるアジア人集団のマイナーアレル頻度 (Minor allele frequency : MAF) が 0.002%以下または登録無しの稀な変異 (c.768C>T, p.Met256Ile) を同定した。OPN3 の変異によるアミノ酸配列の変化 (Gly223Asp, Met256Ile) は、いずれも進化的に高い保存性を持ち、in silico の予測ツールにおいて、大きくタンパク質の機能に影響を与えると予想された (引用文献 )。

(2) OFCD 症候群における歯根長異常発症メカニズムの解明: Mut PDL を用い、マイクロアレイにより正常コントロールと比較検討したところ、zinc finger protein multitype 2 (ZFPM2) の発現の上昇を認めた。続いて、HPdLF ならびに COS-7 細胞に BCOR を強制発現させ、クロマチン免疫沈降を行ったところ、BCOR が ZFPM2 のプロモーター領域に BCL6 を介して結合するのが認められた。一方、患者と同じ変異 (c.3668delC) を有する変異タンパクでは相互作用を認めなかった。さらに、Mut PDL に siRNA にて ZFPM2 をノックダウンさせたところ、細胞増殖能ならびに ALP の mRNA の発現量を有意に減少させた。以上より、BCOR の変異による BCL6 を介した ZFPM2 の発現の上昇が、OFCD 症候群における歯根長異常発症を引き起こしている可能性が示唆された (引用文献 )。

#### <引用文献>

Identification of OPN3 as associated with non-syndromic oligodontia in a Japanese population. Inagaki Y, Ogawa T, Tabata MJ, Nagata Y, Watanabe R, Kawamoto T, Moriyama K, Tanaka T. J Hum Genet. 66(8):769-775, 2021.

Molecular mechanism of hyperactive tooth root formation in oculo-facio-cardio-dental syndrome. Min Soe K, Ogawa T, Moriyama K. Front Physiol. 13:946282, 2022.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Sagawa Yuki, Ogawa Takuya, Matsuyama Yusuke, Nakagawa Kang Junka, Yoshizawa Araki Miyu, Unnai Yasuda Yuko, Tumurkhuu Tsasan, Ganburged Ganjargal, Bazar Amarsaikhan, Tanaka Toshihiro, Fujiwara Takeo, Moriyama Keiji	4. 巻 18
2. 論文標題 Association between Smoking during Pregnancy and Short Root Anomaly in Offspring	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Environmental Research and Public Health	6. 最初と最後の頁 11662 ~ 11662
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijerph182111662	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 Inagaki Yumi, Ogawa Takuya, Tabata Makoto J., Nagata Yuki, Watanabe Ryo, Kawamoto Tatsuo, Moriyama Keiji, Tanaka Toshihiro	4. 巻 66
2. 論文標題 Identification of OPN3 as associated with non-syndromic oligodontia in a Japanese population	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 769-775
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s10038-021-00903-3	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 Nakagawa Kang Junka, Unnai Yasuda Yuko, Ogawa Takuya, Sato Miri, Yamagata Zentarou, Fujiwara Takeo, Moriyama Keiji	4. 巻 16
2. 論文標題 Association between Maternal Smoking during Pregnancy and Missing Teeth in Adolescents	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Environmental Research and Public Health	6. 最初と最後の頁 4536 ~ 4536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijerph16224536	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 Min Soe Kyaw, Ogawa Takuya, Moriyama Keiji	4. 巻 13
2. 論文標題 Molecular mechanism of hyperactive tooth root formation in oculo-facio-cardio-dental syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 946282-946282
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2022.946282	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 Kirino Shizuka, Suzuki Mitsuyoshi, Ogawa Takuya, Takasawa Kei, Adachi Eriko, Gau Maki, Takahashi Ken, Ikeno Mitsuru, Yamada Mamiko, Suzuki Hisato, Kosaki Kenjiro, Moriyama Keiji, Yoshida Masayuki, Morio Tomohiro, Kashimada Kenichi	4. 巻 65
2. 論文標題 Clinical report: Chronic liver dysfunction in an individual with an AMOTL1 variant	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Medical Genetics	6. 最初と最後の頁 104623 ~ 104623
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejmg.2022.104623	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 有村恵, 吉澤(荒木)美祐, 雲内(保田)裕子, Ganburged Ganjargal, Tumurkhuu Tsasan, Bazar Amarsaikhan, 小川卓也, 森山啓司	4. 巻 81
2. 論文標題 モンゴル人児童における歯の異常に関する疫学調査	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical and investigative orthodontics (Japanese edition)	6. 最初と最後の頁 69-77
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 該当する

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 Soe KM, Ogawa T, Moriyama K
2. 発表標題 BCOR mediated regulation of ZFPM2 via BCL6 involved in hyperactive root formation of OFCD syndrome
3. 学会等名 第69回国際歯科研究学会日本部会 (JADR) 学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sagawa Y, Ogawa T, Nakagawa Kang J, Yoshizawa Araki M, Unnai Yasuda Y, Tumurkhuu T, Ganburged G, Bazar A, Matsuyama Y, Fujiwara T, Moriyama K
2. 発表標題 Association between maternal smoking and short root anomaly in offspring
3. 学会等名 The 99th General Session of the IADR, the 50th Meeting of the AADR and the 45th Meeting of the CADR (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yumi Inagaki, Takuya Ogawa, Tatsuo Kawamoto, Keiji Moriyama, Toshihiro Tanaka
2. 発表標題 OPN3 mutations underlie non-syndromic oligodontia in Japanese
3. 学会等名 EOS 2021 Annual Virtual Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 姜順花、小川卓也、横内里帆、船橋健太、上園将慶、森山啓司
2. 発表標題 非症候性口蓋裂患者における永久歯先天性欠如発現様相に与える性差の影響について
3. 学会等名 第45回日本口蓋裂学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 稲垣有美、小川卓也、田畑純、永田有希、渡邊亮、川元龍夫、森山啓司、田中敏博.
2. 発表標題 日本人非症候性部分無歯症のエクソーム解析
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第65回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakagawa Kang J, Unnai Yasuda Y, Ogawa T, Sato M, Yamagata Z, Fujiwara T, Moriyama K.
2. 発表標題 ASSOCIATION BETWEEN MATERNAL SMOKING DURING PREGNANCY AND MISSING TEETH IN OFFSPRING.
3. 学会等名 The 9th International Orthodontic Congress, The 12th Asian Pacific Orthodontic Conference, The 79th Annual Meeting of the Japanese Orthodontic Society (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 有村恵、荒木美祐、雲内（保田）裕子、トムルホーツァサン、ガンブルゲドガンジャルガル、バザルアマルサイハン、小川卓也、森山啓司
2. 発表標題 モンゴル人思春期児童における歯の異常に関する疫学調査
3. 学会等名 第78回日本矯正歯科学会学術大会（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ogawa T
2. 発表標題 Oculofaciocardiodental syndrome: abnormal root formation in rare inherited disorder
3. 学会等名 4th Meeting of the International Association for Dental Research Asia Pacific Region 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小川卓也、Kyaw Min Soe、森山啓司
2. 発表標題 Oculo- facio- cardio- dental 症候群における歯根形態異常発症に関する分子メカニズムについて
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第67回大会
4. 発表年 2022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	田中 敏博  (Tanaka Toshihiro)  (50292850)	東京医科歯科大学・統合研究機構・教授    (12602)	

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
---------	---------