

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23792406

研究課題名(和文) 口腔遺伝性疾患ならびに非症候性多数歯欠損症例の網羅的解析

研究課題名(英文) Exhaustive analysis of oral genetic disease and oligodontia

研究代表者

貴田 みゆき (KIDA, MIYUKI)

北海道大学・医学(系)生殖・発達医学研究科(研究院)・客員研究員

研究者番号：80507442

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：一般歯科臨床においても遺伝性を疑う症例に遭遇することは稀ではないものの口腔内の遺伝性疾患についての情報不足から原因不明の全身的・局所的要因によるものとして対処されることが非常に多い。今回研究対象とする遺伝性の口腔疾患は、審美的・機能的障害を伴うため患者のQOL維持を目的とした早期の診断・治療方針の決定が重要である。本研究では遺伝性多数歯欠損症を主とした遺伝子解析を行った。

研究成果の概要(英文)：General dentists often experience the suspected case caused by genetical disorder. Because of the lack of knowledge about genetical disorder, many patients with oral genetical diseases are treated for unknown reasons. The early diagnosis and decision on courses of treatment are very important for patients with oral genetic diseases to maintain their quality of life. The aim of the present study was to identify the mutations responsible for oligodontia. Oligodontia designates the congenital absence of 6 or more permanent teeth, excluding the third molar.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：矯正・小児系歯学

キーワード：口腔遺伝性疾患 遺伝性多数歯欠損症 遺伝子解析 診断

1. 研究開始当初の背景

近年のヒトゲノム研究の急激な発展により、遺伝病の原因遺伝子が次々と同定されつつある。一般歯科臨床においても遺伝性を疑う症例に遭遇することは稀ではないものの口腔内の遺伝性疾患についての情報不足から原因不明の全身的・局所的要因によるものとして対処されることが非常に多い。今回研究対象とする遺伝性多数歯欠損症は、審美的・機能的障害を伴うため患者のQOL維持を目的とした早期の診断・治療方針の決定が重要である。しかしながら、歯科領域においては、遺伝子学的な研究・病態の解明はまだ端緒を開いたばかりである。また、遺伝的要因を疑う症例であっても、設備不足や遺伝子解析可能な施設との連携がとれず、確定診断に至らないケースが多かった。

永久歯先天欠如と遺伝学的関連として、2001年のオックスフォード出版の頭頸部疾患に関する教科書には「6歯以上の欠損が認められた場合、遺伝学的なバックグラウンドがある可能性が高い」と記載されている。本邦における永久歯多数歯欠損に関する大規模な疫学調査が日本小児歯科学会学術委員会を中心として行われ、小児歯科学雑誌(第48巻・第1号 平成22年3月25日発行)で報告された。それによると、調査人数15,544人の10.09%に永久歯の先天欠如が確認されている。その中で5歯以上の先天欠如が0.87%に確認され、本邦においても遺伝性多数歯欠損症例を疑う例は少なからず存在することが視された。

2. 研究の目的

本邦においても5歯以上の先天欠如が0.87%に確認されているが、本邦では疫学調査にとどまり遺伝学的検索は行われていないのが現状である。歯数調整遺伝子として現在まで14番染色体上PAX9と4番染色体上

MSX1の解析が世界的にすすめられており、歯の欠損様式により、小臼歯部が主たる欠損部位である場合MSX1解析を行い、大臼歯部が主たる欠損部位である場合PAX9解析が行われている。本邦における遺伝性多数歯欠損家系を検出し、病因遺伝子変異を検索することを目的とした。さらには、その情報を公開することで一般開業歯科医師への口腔遺伝学の知識向上に向けた啓蒙活動を行い、症例に応じた早期の診断・治療が可能になることを期待している。

3. 研究の方法

本研究に先立ち、北海道大学大学院医学研究科倫理委員会の承認を得た(「口腔遺伝性疾患(遺伝性多数歯欠損症・遺伝性歯牙形成不全症)の原因遺伝子同定および解析に関する臨床研究」)。

全国から症例を集積させ、インフォームドコンセントののち口腔内写真撮影及びレントゲン写真等から臨床診断を行った。罹患家系から約5ccの採血を行い、有核細胞よりDNAを抽出し候補遺伝子に対する遺伝子解析を行う。

解析対象遺伝子は14番染色体上PAX9と4番染色体上MSX1とし遺伝子のゲノム配列から各エクソンを挟むようにprimer設計を独自に行った。そして被験者のDNAを鋳型としてPCR法により目的の遺伝子の各エクソンを含むフラグメントを増幅し、PCR-SSCP法による遺伝子変異のスクリーニング及びシーケンズ解析を行って変異の同定を行った。患者において同定された変異が病因変異であることを確認するため、正常人コントロールを100人以上にわたり上記同様の方法でサンプル収集し、検出した塩基の変化がポリモルフィズムではないことの検討も行った。

4. 研究成果

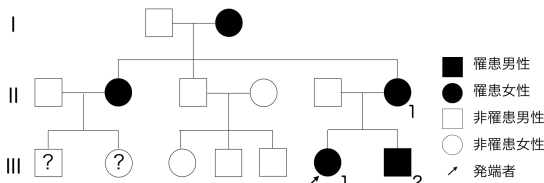
以下に本研究で解析を行った症例を示す。

<<症例 1>>

患児 初診時年齢 16歳 11ヶ月 女児
近医にて永久歯の多数歯欠損が確認され北海道大学病院歯科診療センター小児歯科外来を紹介受診。全身精査ならびに遺伝学的検索依頼にて北海道大学病院小児科を紹介受診

既往歴 なし

家族歴 患児の母と弟にも永久歯多数歯欠損あり

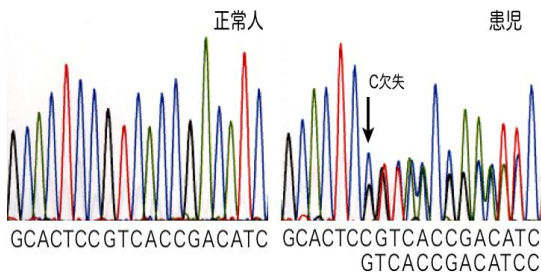


<本症例家系図>

| | 18 | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
|-------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | 48 | 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 |
| 父 | X | X | | X | X | X | X | | | | | | X | X | X | X |
| 母 | X | X | X | X | | | | | | | | | X | X | X | X |
| 患児 | X | | | X | X | X | X | | | | | X | X | X | X | X |
| III:1 | X | X | X | X | X | | | | | | | | X | X | X | X |
| III:2 | X | X | X | | X | X | p | X | X | X | p | X | X | X | X | X |
| III:3 | X | X | | | | | | f | f | | | | X | X | X | X |

<口腔内所見 (x: 欠損歯, p: 円錐歯, f: 癒合歯)>

同一家系内の発症者 / 非発症者を対象とした *PAX9* ならびに *MSX1* に関して遺伝子解析を行ったところ発症者のみに共通して *PAX9* 遺伝子エクソン2に一塩基欠失を検出し (c.591delC, A197fsX211) 100人の正常コントロールでも検出されなかったため病変変異と判定した。



<PAX9 遺伝子のシーケンス解析>

本症例は *PAX9* 遺伝子変異による多数歯欠損症と診断された。日本国内において非症候

性多数歯欠損における病因遺伝子同定の報告は一例もない。また本症例は今までに報告のない変異であった。

<<症例 2>>

患児 初診時年齢 11歳 4ヶ月 女児
多数の永久歯欠損にて近医より日本大学歯学部付属病院小児歯科を紹介受診

既往歴 なし

家族歴 患児の父親に永久歯多数歯欠損あり



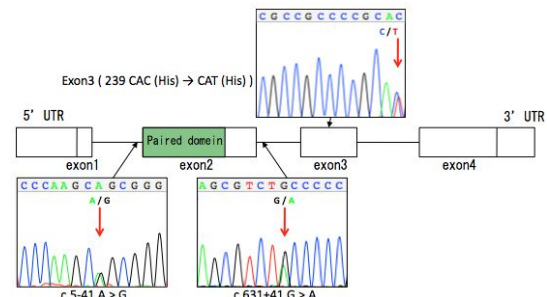
<本症例家系図>

<患児パノラマエックス線写真>

| | 18 | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
|-------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | 48 | 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 |
| 父 | X | X | | X | X | X | X | | | | | X | X | X | | X |
| 母 | X | X | X | X | | | | X | X | X | | | | | X | X |
| 患児 | X | | | X | X | X | X | | | | X | X | X | X | | X |
| III:1 | X | X | | X | X | X | X | | | | X | X | X | X | X | X |

<口腔内所見 (x: 欠損歯)>

同一家系内の発症者 / 非発症者を対象とした *PAX9* ならびに *MSX1* 解析から、病因との関連を疑う変異は検出されなかった。しかしながら、*PAX9* に発症者のみに共通して下図に示すような Exon2 を挟む両 Intron に (-41A G, +41G A)、Exon3 に (239CAC(His) CAT(His)) の塩基置換を検出した。



<PAX9 遺伝子のシーケンス解析>

本症例に検出された塩基置換は本研究症例 1 で検出された *PAX9* (c.591delC,

S197fsX211)を有する血縁関係のない遺伝性多数歯欠損家系内の発症者にも共通して検出された。PAX9 Exon3(239CAC(His)CAT(His))は報告のあるSNPであったが、Exon2(-41A G, +41G A)の報告はなく、100人のコントロールでも検出されなかった。この塩基置換によるDNA転写時の影響の有無に関し、現在データベースから検証を行っている。血縁関係のない発症者に共通して検出されたことは興味深く、疾患との関連を疑う塩基置換であることが示唆された。

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2件)

Sook-Kyung Lee, Kyung-Eun Lee, Yun-Hee Hwang, Miyuki Kida, Tomonori Tsutsumi, Tadashi Ariga, Joo-Cheol Park, Jung-Wook Kim

“Identification of the DSPP mutation in a new kindred and phenotype-genotype correlation”

Oral Diseases 2011(17) p314-319 (査読有)

Yuka Okura, Masafumi Yamada, Shunichiro Takezaki, Mitsuru Nawate, Yutaka Takahashi, Miyuki Kida, Nobuaki Kawamura, and Tadashi Ariga

“Novel compound heterozygous mutations in the C3 gene: hereditary C3 deficiency”
Pediatrics International 2011 Volume 53(2), p16-19 (査読有)

[学会発表](計2件)

関みゆき, 片倉麻里子, 白川哲夫
遺伝性を疑う非症候性多数歯欠損症例におけるPAX9/MSX1解析 (Sequence analysis of PAX9 and MSX1 in a family with nonsyndromic oligodontia)

第52回日本小児歯科学会大会 東京
2014年5月16-17日

Miyuki Kida, Takashi Kikui, Tadashi Ariga

“A novel PAX9 mutation caused oligodontia in a Japanese family”

The 12th International Congress of Human Genetics

Montreal Canada 11-15, October 2011

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者

貴田 みゆき (KIDA MIYUKI)

北海道大学・大学院医学研究科・客員研究員

研究者番号: 80577442

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号: