



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	う蝕と遺伝子解析
Author(s)	松田, 康裕
Citation	北海道歯学雑誌, 33(2), 50-52
Issue Date	2013-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/52443
Type	journal article
File Information	00-matsuda.pdf



特 集

う蝕と遺伝子解析 Dental caries and Genetic analysis

北海道学歯学研究科 口腔健康科学講座

松 田 康 裕

昨年の大きなニュースの一つに、京都大学の山中教授によるノーベル生理学・医学賞の受賞があげられるだろう。山中教授の研究の主要点は体細胞から幹細胞を作成する画期的な手法を生み出したことで、再生医療への応用が大きく期待される。同研究は2007年のScience誌の選んだtop 10 breakthroughs of the yearの第2位に選ばれていた。では第1位は？というところ、ヒトゲノムにおけるHaplotype Mapに関する研究(HapMap Project)であった。HapMap Projectではヒトゲノムの網羅的探索をおこない、3億以上にわたるSingle Nucleotide Polymorphisms (SNP's)を特定し、ヒトゲノムのバリエーションについて報告している。実はこのヒトゲノムの遺伝子のバリエーションは個体差の指標の一つとして考えられており、これを利用したテーラーメイド医療への発展が期待されて、すでに一部では実際に臨床に応用されてきている。

ハプロタイプ（遺伝子多型）と臨床

セントラルドグマの考えは、遺伝子の塩基配列は転写、翻訳というプロセスを経てタンパク質の構造決定に関与し、それによって生物機能をコントロールするというものである。そのため、遺伝子には正常機能をうむ野生型(wild type)と、機能異常をもたらすような変異型(mutatant)の二者が存在するという考えが生まれ、それが血友病など単一遺伝子病の病因遺伝子解明(変異遺伝子の探索)の出発点になった。しかしヒトゲノムプロジェクトやHapMapプロジェクトなどの網羅的研究によって、野生型といわれてきた遺伝子も、同一の配列をもつのではなく、その中に多くの生物機能に関与する、もしくは無関係のバリエーション(遺伝子多型)が存在することが明らかになった。

SNP(single nucleotide polymorphism)とは一塩基だけが異なる遺伝子多型(例えばA→T)のことで、ヒトでは、全ゲノムに散在しておりその数は数億と推定されている(この場合複数形をとりSNP'sと表現される)。ハプロタイプとはこのSNP'sの(一定の)組み合わせ(多型)のことでのことで、このハプロタイプをマーカーとした症例研究により、現在、薬剤の有効性や副作用、また特定の疾患の易罹性(例えば糖尿病)¹⁾などに関連した多数のハプロタイプが次第に明らかにされてきている。遺伝子薬理学では、すでに特定のSNP'sと薬の有効性との関連性、また

薬剤の副作用との関連性について様々な研究がされており、副作用に関してはFDAのホームページで、すでに118の医薬品に関するリストが報告されている*。このリストには特定の医薬品の効果や副作用に関連のある遺伝子型が提示されている。例えば、HIVウイルス薬であるAbacavirの重篤な副作用と関連している遺伝子多型として、HLA-B*57:01が広く知られていて(Odds値960)、この多型をもつ患者はそうでない患者と比較して、960倍の確率で重篤な副作用が起きる²⁻⁴⁾。したがって投薬前のスクリーニングも推奨されており、また迅速で、経済的な分析方法も開発されている。

*(<http://www.fda.gov/drugs/scienceresearch/researchareas/pharmacogenetics/>)

遺伝子多型の迅速な診断方法

遺伝子検査とは、基本的には、特定の遺伝子の塩基配列を解析する検査である。最も信頼性が高く一般的な検査方法はDNAシーケンス解析機器を用いて塩基配列を読み取る方法であるが、時間とコストがかかる難点がある。一方、(確認手技が必要ではあるが)特定の多型検出を短時間で、低コストで行う手法としてPCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) 法、PCR-Single Strand Conformation Polymorphism (PCR-SSCP) 法、PCR-Sequence Specific Primer (PCR-SSP) 法、またはPCR-Sequence Specific Oligonucleotide (PCR-SSO) 法などが開発されてきた⁵⁾。現在、これらは、疾患の易罹性や薬の副作用、有効性と関連している、特定のSNP'sや塩基配列に特化して、分析する方法として広く使われようになってきた。

最近、特定のSNP'sを迅速に検出する手法として、High-Resolution Melting Curve Analysis分析方法が開発され、実際に応用されている。この方法の特徴は、特定の多型であるかどうかの検出にプライマーの配列が依存しないことにある。したがってSSP等では検出できなかった多型についても検出できること、またリアルタイムPCRの装置を用いるので、定量も迅速に行えるなどの利点があり、どの多型がどのような比率で存在するかを分析することが可能である。この手法はH1N1⁶⁾やBKウイルスのgenotype^{7,8)}の迅速診断などにも用いられており、今後、口腔内領域で

の遺伝子多型の検索においても広く応用されていくと思われる。

う蝕と遺伝子解析

口蓋裂などの先天的形態異常については、疾患に関連する遺伝子群についての研究がかなり以前から行われてきていた。しかし、う蝕や歯周病のように環境因子が大きく影響する疾患については、遺伝の関与を疑う論及はあったものの、推定の域に止まり、現実的に、疾患の易罹患性と宿主遺伝因子との関係を対象とする研究は、最近までほとんどみることにはなかった。2008年、DMFTを表現型として、う蝕リスクに関連した遺伝子座を検索したVieraらの研究報告⁹⁾を皮切りに、様々なデータベースや手法を応用した、口腔内領域疾患での遺伝子解析研究が近年相次いで報告がされてきた。

上に述べたように2007年のHapMapプロジェクトなど、ヒトゲノム多様性に関する大規模プロジェクトの成果により、ヒトゲノム中に存在する膨大な多型データが蓄積され、多くのSNP'sにはID番号がつけられ、現在、NCBIのデータベースに保存されている。したがって、唾液タンパクの等との関連性が推定される遺伝子のSNP'sについても、このデータベースにアクセスするだけで容易に調べることが可能である。

最近、特定の遺伝子のSNP'sを対象としたケースコントロールスタディによるう蝕に関連した遺伝子多型の研究も進み、遺伝子多型の違いが永久歯、また乳歯のDMFと関連していることや、また唾液の緩衝能、唾液の流量とも関連していることが報告され¹⁰⁻¹³⁾、う蝕リスクの高い群に見出される特定のSNP's、またはハプロタイプが明らかにされてきている。

さらにこれまで述べてきた一定の遺伝子多型に特化した検索法とは別に、多くの遺伝子群を網羅的に探索する手法としてGenome-Wide Association Study (GWAS) といわれる手法が開発され、様々な研究領域で利用されるようになった。これは、GWASマイクロアレイやビーズアレイに接着されているオリゴと相補的に反応させることにより多くのSNP'sを対象として、網羅的に研究する手法である。この手法を用いれば、研究対象について、遺伝子多型との関連性を広範囲に効率よく解析することが可能になるので、新たに関連性が疑われるSNP'sや遺伝子多型を数多く見いだすことが可能になる。これまでに、永久歯う蝕や乳歯う蝕を対象としたGWASの研究がいくつか報告されている^{14, 15)}。

今年、Shafferらはいくつのう蝕の有無だけでなく、臼歯や前歯などう蝕の部位を対象としたGWASの研究を行い、う蝕に関連した新たな遺伝子を同定し、これらの遺伝子多型が特定のう蝕タイプと高い関連性をもつことを報告している¹⁶⁾。また、Menezes-Silvaらは、根尖病巣を伴う深いう蝕、伴

わない深いう蝕について、MMP2とMMP3の遺伝子多型との関連性について分析し、特定のSNPsが根尖病巣の形成と関連していることを報告している¹⁷⁾。

このようにHapMapプロジェクトなどの大規模プロジェクトの成果により、ヒトゲノムの多様性が明らかとなったことで、歯科の領域においても、これらの研究成果を踏まえて、う蝕の遺伝的要因の解明が進んでいるのが現状である。さらにう蝕のリスクや有無だけでなく、う蝕の部位、重症度とも関連についても明らかにされてきており、今後、う蝕発生、進行の予測に大いに役立つものと期待される。

その他にも歯周病や、根尖性歯周炎の病巣と関連する遺伝子多型の解明をすすんでおり、今後、iPS細胞による再生医療と共に、遺伝子多型に基づいたテーラーメイド口腔内医療への展開が期待される。

- 1) Eldred, J. A., Hodgkinson, L. M., Dawes, L. J., Reddan, J. R., Edwards, D. R. and Wormstone, I. M., *Investigative ophthalmology & visual science* : 4085-98, 2012.
- 2) Mallal, S., Nolan, D., Witt, C., Masel, G., Martin, A. M., Moore, C., Sayer, D., Castley, A., Mamotte, C., Maxwell, D., James, I. and Christiansen, F. T., *Lancet* : 727-32, 2002.
- 3) Martin, A. M., Nolan, D., Gaudieri, S., Almeida, C. A., Nolan, R., James, I., Carvalho, F., Phillips, E., Christiansen, F. T., Purcell, A. W., McCluskey, J. and Mallal, S., *Proc Natl Acad Sci U S A* : 4180-5, 2004.
- 4) 鹿庭なほ子, 長谷川隆一, 国立衛研報 : 第127号, 1-14, 2009.
- 5) 遺伝子分析化学認定士制度委員会, : 遺伝子分析化学, 35-65, 宇宙堂八木書店, 2011
- 6) Lee, H. K., Lee, C. K., Loh, T. P., Tang, J. W., Tambyah, P. A. and Koay, E. S., *J Clin Microbiol* : 3555-9, 2011.
- 7) Iwaki, K. K., Qazi, S. H., Garcia-Gomez, J., Zeng, D., Matsuda, Y., Matsuda, K., Martinez, M. E., Toyoda, M., Kore, A., Stevens, W. T., Smogorzewski, M., Iwaki, D. D., Qazi, Y. and Iwaki, Y., *Viro J* : 295, 2010.
- 8) Matsuda, Y., Qazi, Y. and Iwaki, Y., *J Med Virol* : 2128-34, 2011.
- 9) Vieira, A. R., Marazita, M. L. and Goldstein-McHenry, T., *Journal of dental research* : 435-9, 2008.
- 10) Azevedo, L. F., Pecharki, G. D., Brancher, J. A., Cordeiro, C. A., Jr., Medeiros, K. G., Antunes, A. A., Arruda, E. S., Werneck, R. I., de Azevedo, L. R., Mazur, R. F., Moyses, S. J., Moyses, S. T., Faucz, F. R. and Trevilatto, P. C., *J Appl Oral Sci* : 166-70, 2010.
- 11) Wendell, S., Wang, X., Brown, M., Cooper, M. E., DeSensi, R. S., Weyant, R. J., Crout, R., McNeil, D. W.

- and Marazita, M. L., J Dent Res : 1198-202, 2010.
- 12) Ozturk, A., Famili, P. and Vieira, A. R., J Dent Res : 631-6, 2010.
- 13) Peres, R. C., Camargo, G., Mofatto, L. S., Cortellazzi, K. L., Santos, M. C., Nobre-dos-Santos, M., Bergamaschi, C. C. and Line, S. R., Pharmacogenomics J: 114-9, 2010.
- 14) Wang, X., Shaffer, J. R., Zeng, Z., Begum, F., Vieira, A. R., Noel, J., Anjomshoa, I., Cuenco, K. T., Lee, M. K., Beck, J., Boerwinkle, E., Cornelis, M. C., Hu, F. B., Crosslin, D. R., Laurie, C. C., Nelson, S. C., Doheny, K. F., Pugh, E. W., Polk, D. E., Weyant, R. J., Crout, R., McNeil, D. W., Weeks, D. E., Feingold, E. and Marazita, M. L., BMC Oral Health : 57, 2012.
- 15) Shaffer, J. R., Wang, X., Feingold, E., Lee, M., Begum, F., Weeks, D. E., Cuenco, K. T., Barmada, M. M., Wendell, S. K., Crosslin, D. R., Laurie, C. C., Doheny, K. F., Pugh, E. W., Zhang, Q., Feenstra, B., Geller, F., Boyd, H. A., Zhang, H., Melbye, M., Murray, J. C., Weyant, R. J., Crout, R., McNeil, D. W., Levy, S. M., Slayton, R. L., Willing, M. C., Broffitt, B., Vieira, A. R. and Marazita, M. L., J Dent Res : 1457-62, 2011.
- 16) Shaffer, J. R., Feingold, E., Wang, X., Lee, M., Tcuenco, K., Weeks, D. E., Weyant, R. J., Crout, R., McNeil, D. W. and Marazita, M. L., J Dent Res : 38-44, 2013.
- 17) Menezes-Silva, R., Khaliq, S., Deeley, K., Letra, A. and Vieira, A. R., Journal of endodontics : 604-7, 2012.