



|                  |                                                                                   |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Title            | ゲノムワイド解析による下顎前突症疾患感受性遺伝子の探索と同定                                                    |
| Author(s)        | 星（沼端），麻里絵；梶井，貴史；中西（木村），徳子 他                                                       |
| Citation         | 北海道歯学雑誌，45，12-15                                                                  |
| Issue Date       | 2024-09-15                                                                        |
| Doc URL          | <a href="https://hdl.handle.net/2115/93118">https://hdl.handle.net/2115/93118</a> |
| Type             | journal article                                                                   |
| File Information | 45_04.pdf                                                                         |



## 総 説

# ゲノムワイド解析による下顎前突症疾患感受性遺伝子の探索と同定

## Exploration and identification of susceptible genes for mandibular prognathism by genome-wide analysis

<sup>1)</sup> 北海道大学大学院歯学研究院 薬理学教室

<sup>2)</sup> 北海道大学大学院歯学研究院 歯科矯正学教室

<sup>3)</sup> 社会医療法人恵佑会札幌病院 矯正歯科

<sup>4)</sup> 北海道大学大学院歯学研究院 小児・障害者歯科学教室

<sup>5)</sup> 北海道大学大学院歯学研究院 口腔診断内科学教室

星(沼端)麻里絵<sup>1,2)</sup> 梶井 貴史<sup>3)</sup> 中西(木村)徳子<sup>1,2)</sup>

渡辺 陽久<sup>1)</sup> 西浦 まい<sup>1,4)</sup> 上野 楓実<sup>1,2)</sup> 西本慎之介<sup>1,2)</sup>

孝口 里侑<sup>1,5)</sup> 佐藤 嘉晃<sup>2)</sup> 飯村 忠浩<sup>1)</sup>

### はじめに

下顎前突症 (Mandibular Prognathism : Online Mendelian Inheritance in Man number 176700) は、下顎骨の過剰な前方成長や上顎骨の劣成長、あるいはその両方によって、上下顎骨の前後的位置関係のバランスが崩れることにより引き起こされる不正咬合の一種である。この不正咬合を有する患者は世界各地の集団において見られるが、白人における有病率は1%未満である<sup>1)</sup>との報告に対し、アジア人では発生率が高いことが報告されており、日本人での有病率は10%にも達する<sup>2)</sup>。下顎前突症は遺伝的要因が深く関わることが分かっており、古くはスペインとオーストリアの王家であるハプスブルグ家において、この不正咬合が複数世代にわたって遺伝 (常染色体優性遺伝) していたことが知られている。二十世紀からは、単一遺伝子疾患か多因子疾患か、あるいは常染色体優性遺伝か常染色体劣性遺伝か、などと、複数の遺伝モデルを仮説とした研究が行われてきた。その結果、現在では、下顎前突症の大半が多因子遺伝に基づく表現型であることが明らかになっている<sup>3,4)</sup>。すなわち、下顎前突症の発症には、単独で病気の発症につながることはないものの、特定の病気のリスクを高める影響力を持った遺伝子 (疾患感受性遺伝子) が存在すると考えられる。本総説では、下顎前突症の原因となる疾患感受性遺伝子の同定に関する研究についての知見をご紹介させて頂く。

### 下顎前突症の分類

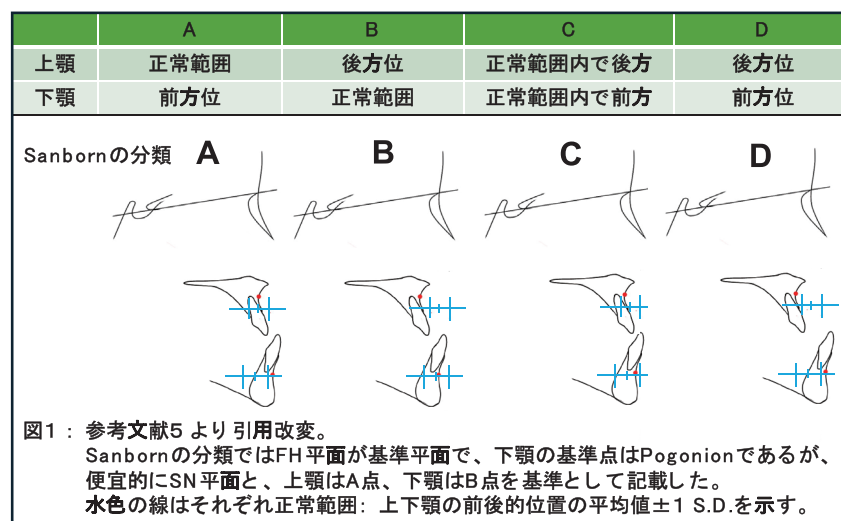
下顎前突症は、一般的にまず歯槽性と骨格性に分けられ

るが、本稿では骨格性の下顎前突症に焦点を当てて記述したい。骨格性下顎前突症の分類には、Sanbornの分類<sup>5)</sup>、花田の分類<sup>6)</sup> (これはSanbornの分類に、他の顎変形症の症型を加えたものである)、Jakobsoneの分類<sup>7)</sup> などがあるが、ここではSanbornの分類を紹介する。

Sanbornは骨格性下顎前突症の成人患者42名を、平均値と比較した上下顎骨の前後的位置に基づいて4グループに分類した (図1)。Group Aは、上顎は正常の範囲内だが下顎が前突しているもの、Group Bは、上顎が後退しており下顎が正常範囲内のもの、Group Cは、上下顎とも正常範囲内だが相対的に下顎前突を示すもの、Group Dは、上顎が後退しており下顎は前突しているものと定義されている。このように下顎前突症の表現型には、下顎の過成長が原因となるもの、上顎の劣成長が原因となるもの、そして両方の因子が関与するものが存在している。従って、下顎前突症疾患感受性遺伝子の探索には、対象患者群がどのタイプに当てはまるかを分類し理解することが非常に重要となる。

### 下顎前突症におけるゲノムワイド連鎖解析

ゲノムワイド連鎖解析 (Genome-wide linkage analysis) とは、1980年代後半から行われるようになった遺伝子解析方法で、ヒトゲノム全体にわたって疾患感受性遺伝子の位置を特定するための手法である。下顎前突症においても、様々な人種集団においてこの解析が行われてきた。山口らは、日本人と韓国人の下顎前突症家系のゲノムワイド連鎖解析の結果から、染色体の1p36, 6q25, 19p13.2が関連遺伝子座であると示唆されたことを報告した<sup>8)</sup>。1q36には *MATN1* (マトリリン1, 軟骨マトリックス蛋白), *HSPG2*



(ヘパラン硫酸プロテオグリカン2), *ALPL* (アルカリホスファターゼ) などの、軟骨や骨の機能に重要な遺伝子が含まれ、注目すべき候補遺伝子が存在している。しかし一方で、ブラジル人家系での連鎖解析では、1p36, 6q25, 19p13.2は下顎前突症との関連を示さなかったとの報告もある<sup>9)</sup>。これらの2つの報告の違いは、アジア人とブラジル人における人類学的なルーツの差異や、下顎前突症が多因子遺伝に基づくことによる結果とも考えることが出来る。他にも、コロンビアのヒスパニック家系を対象としたゲノムワイド連鎖解析により、1p22.1, 3q26.2, 11q22, 12q13.13, 12q23の5つの遺伝子座が下顎前突症と示唆的な連鎖を示したと報告されている<sup>10)</sup>。12q13と12q23の遺伝子座は、頭蓋顔面の成長に重要と考えられている*HOXC* (ホメオボックス型転写因子*HOXC*)<sup>11)</sup>、下顎頭部軟骨の増殖活性に関与する*IGF-1* (インスリン様成長因子1)<sup>12)</sup>、軟骨細胞の細胞外基質を形成する主要な構成タンパク質である2型コラーゲンを生成し、頭蓋顔面の成長に重要とされる*COL2A1* (コラーゲン  $\alpha$ -1(II)鎖) 遺伝子<sup>13)</sup> など、やはり骨・関節において機能している遺伝子群が存在しており、これらが、下顎前突症疾患感受性遺伝子となり得る可能性を示している<sup>3)</sup>。なお、この調査は、前述の山口らは対象に含めなかった上顎の劣成長を伴う相対的な下顎前突症についても調査対象に含めているという点で違いがある。この様に、下顎前突症について様々な人種の集団において解析が行われたが、その原因候補となる遺伝子座は一貫していないということが示される結果となった。

### 代替戦略とされたゲノムワイド関連研究：GWAS

2000年代後半からは前述の、多数の小家系の試料によるゲノムワイド連鎖解析に替わって、多数の疾患集団と多数の対照群の試料によるゲノムワイド関連研究 (Genome-wide association study: GWAS) が行われるようになった。

GWASは、疾患と関連する一塩基多型 (Single nucleotide polymorphism: SNP)、あるいはDNAの短い反復領域であるマイクロサテライトを網羅的に検出する手法である。これは、従来のゲノムワイド連鎖解析に比べ、検出される陽性領域が狭いことが利点である。SNPは突然変異率が低く、ヘテロ接合度が低くバイアレルであり、連鎖不平衡の長さが短いため、遺伝的に安定していると考えられている。一方で、マイクロサテライトは、多型性が高く、ヘテロ接合度も平均約70%と高い値を示し、連鎖不平衡の長さも長い。マイクロサテライトはゲノム上に均等に分布しているわけではなく、カバーされていない、あるいはほとんどカバーされていない領域もある<sup>14)</sup>。

それまで下顎前突症のGWASに関する報告はなかったが、生野らは、日本人の下顎前突症患者240人と健常者360人を対象に、マイクロサテライトを用いた最初のGWASを実施した。過去の報告<sup>8,9)</sup> から1番染色体における感受性遺伝子の存在が示唆されていたことから、1番染色体を予備的に確認した。その結果、1p22.3, 1q32.2に関連が示され、*PLXNA2* (プレキシニンA2) と*SSX2IP* (滑膜肉腫、X breakpoint 2 interacting protein) が候補遺伝子であることが示唆された<sup>15)</sup>。一連の研究として次に斉藤らは、1番染色体から全ゲノムへこのGWASを拡張した結果を報告した。その結果、先に報告した1番染色体の2箇所に加えて新規の4箇所の遺伝子座 (3q23, 6q23.2, 7q11.22, 15q22.22)、すなわち計6箇所の遺伝子座が下顎前突症の感受性領域であることが示唆された。1p22.3遺伝子座は過去の連鎖解析でも支持されていたが、他の5箇所の遺伝子座は新規に候補とされた遺伝子座であった。この結果から、*SSX2IP*, *PLXNA2*, *RASA2* (Ras p21 protein activator 2), *TCF21* (転写因子21), *CALN1* (カルニューロン1), *RORA* (RAR [レチノイン酸受容体] 関連オーファン受容体  $\alpha$ ) が候補遺伝子として示唆された<sup>16)</sup>。

下顎前突症の候補遺伝子: *PLXNA2*と*BEST3*の同定

*PLXNA2*は、骨保護作用を示すことで知られているセマフォリン3A (sema3A) の受容体である。梶井らは、ヒト軟骨細胞において高濃度の外因性sema3Aが副甲状腺ホルモン1型受容体(以下、PTH1R)の発現を減少させることを明らかにした。PTH1Rは、内在性のリガンドである副甲状腺ホルモン(PTH)および副甲状腺ホルモン関連ペプチド(PTHrP)に結合して、それぞれ骨や軟骨の成長に重要である<sup>17)</sup>。このことから、*PLXNA2*変異が起こるとsema3AによるPTH1R発現抑制が十分に生じず、下顎頭軟骨の過成長を生じる可能性が考えられた。したがって、*PLXNA2*変異は下顎前突症の疾患感受性遺伝子の候補となりうることが示唆された<sup>18)</sup>。さらに、梶井らは、下顎前突症の疾患感受性遺伝子の候補を探索するために、罹患者を含む日本人家系のエクソーム解析を行った。被験者の家系は、4世代15人で構成されており、2世代にわたる4人の下顎前突症患者と5人の非罹患者が解析対象に選ばれた。これらの患者群は、上記下顎前突症の分類のGroup Aに相当すると診断された。その結果、5つの遺伝子(*UBASH3B*, *OR6M1*, *OR8D4*, *OR8B4*, および*BEST3*)の一塩基バリエーション(Single nucleotide variant: SNV)が、4人の罹患者全員から検出された。*UBASH3B*のSNVはどのような人種でも保有しているとの報告があることから、他の人種に比べて日本人集団で下顎前突症が多いことに矛盾しており、候補として除外された。また、*OR6M1*, *OR8D4*, *OR8B4*は、嗅覚受容体のタンパク質ファミリーに類似の遺伝子であるが、機能的なタンパク質をコードしていない遺伝子が多い、あるいは遺伝子が巨大なためSNVが検出されやすいなどの理由から疾患感受性遺伝子の候補として除外される傾向にある遺伝子群であった<sup>19)</sup>。*BEST3*は染色体12q15に位置し、Ca<sup>2+</sup>依存性塩素イオンチャネルであるベストロフィンファミリーの一つであるベストロフィン3をコードしている<sup>20)</sup>。上記の理由から、*BEST3*が日本人集団における下顎前突症の疾患感受性遺伝子として最も可能性が高い候補であると考えられた<sup>21)</sup>。*BEST3*は血管平滑筋に発現し、血管の緊張すなわち血圧の調節に関与するとの報告がいくつかあるが、下顎頭の病態生理にどのように関与するのかは不明である<sup>20)</sup>。

下顎前突症の疾患感受性遺伝子の探索については、海外からも同一家系を対象としたエクソーム解析結果がいくつか報告されている<sup>22, 23, 24)</sup>。これらの結果では、既存の報告と一貫性のない遺伝子も示されており、下顎前突症という同じ表現型に対する遺伝子型の違いは、人種や下顎前突症の表現型の違い(上顎の劣成長を伴うのかどうかや、下顎の成長方向、あるいは下顎前突の程度の違い)に起因しているのかもしれない。

下顎骨の成長は骨膜性成長と、下顎頭の軟骨性成長によ

り起こる。下顎骨の活発な成長は下顎頭部で起こるとされており、これは成長ホルモンとインスリン成長因子-1による調節を受けることが知られている。さらに、PTHrP、インディアンヘッジホッグ、Sox9も軟骨細胞の分化を制御することが分かっているが、今回同定された*BEST3*遺伝子が下顎頭部の成長にどのように関連しているかはまだ十分に明らかになってはおらず、今後の課題である。

## 結語 - 矯正治療における遺伝的情報の有用性

発育段階の患者に対する矯正治療は第一期治療と呼ばれ、将来の正常咬合獲得のため、必要に応じて歯列や上下顎骨の成長のコントロールを行う。患者の成長は予測不可能な要素も多いため、例えば上顎前方牽引装置の終了時期も、患者それぞれの状態を診て見極めなければならない。テストの回答のような明確な正解は存在しない。しかし、今後、下顎前突症の遺伝的な因子が特定され、容易に調べることが可能であれば、臨床的な予知性がかなり高くなると考えられる。また、第一期治療の開始が遅れて上顎骨の成長の余地が残っていない症例においては、下顎前突症の遺伝的要因が明らかになれば、無理な治療を行わず早期から外科的矯正治療を踏まえた計画を準備することが出来る。今後、歯科矯正学の領域においても、不正咬合の関連遺伝子が特定されることで、患者個人の遺伝的プロファイルに基づいた最適な治療を選択する、オーダーメイド医療が実現する未来もそう遠くはないかもしれない。

## 参 考 文 献

- 1) Tschill P, Bacon W, Sonko A : Malocclusion in the deciduous dentition of Caucasian children. *European Journal of Orthodontics* 19 : 361-367, 1997.
- 2) Nakasima A, Ichinose M, Nakata S : Genetic and environmental factors in the development of so-called pseudo- and true mesiocclusions. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 90:106-116, 1986.
- 3) Xue F, Wong RWK, Rabie ABM : Genes, genetics, and Class III malocclusion. *Orthodontics & Craniofacial Research* 13:69-74, 2010.
- 4) Moreno Uribe LM, Miller SF : Genetics of the dentofacial variation in human malocclusion. *Orthod Craniofac Res* 18 Suppl 1:91-99, 2015.
- 5) Sanborn RT : Differences between the facial skeletal patterns of Class III malocclusion and normal occlusion. *The Angle Orthodontist* 25:208-222, 1955.
- 6) 花田晃治 : Skeletal Class 3 malocclusions (構造的な下顎前突) の外科的矯正治療について. *日本矯正歯科学*

- 会雑誌 34 : p96-115, 1975.
- 7) Jakobsone G, Stenvik A, Espeland L : Importance of the vertical incisor relationship in the prediction of the soft tissue profile after Class III bimaxillary surgery. *The Angle Orthodontist* 82:441-447, 2012.
- 8) Yamaguchi T, Park SB, Narita A, Maki K, Inoue I : Genome-wide Linkage Analysis of Mandibular Prognathism in Korean and Japanese Patients. *Journal of Dental Research* 84:255-259, 2016.
- 9) Cruz RM, Hartsfield JK, Falcão-Alencar G, Koller DL, Pereira RW, Mah J, Ferrari I, Oliveira SF : Exclusion of Class III Malocclusion Candidate Loci in Brazilian Families. *Journal of Dental Research* 90:1202-1205, 2011.
- 10) Frazier-Bowers S, Rincon-Rodriguez R, Zhou J, Alexander K, Lange E : Evidence of Linkage in a Hispanic Cohort with a Class III Dentofacial Phenotype. *Journal of Dental Research* 88:56-60, 2009.
- 11) Vieille-Grosjean I, Hunt P, Gulisano M, Boncinelli E, Thorogood P : Branchial HOX gene expression and human craniofacial development. *Dev Biol* 183:49-60, 1997.
- 12) Hajjar D, Santos MF, Kimura ET : Propulsive appliance stimulates the synthesis of insulin-like growth factors I and II in the mandibular condylar cartilage of young rats. *Arch Oral Biol* 48:635-642, 2003.
- 13) Garofalo S, Vuorio E, Metsaranta M, Rosati R, Toman D, Vaughan J, Lozano G, Mayne R, Ellard J, Horton W, et al. : Reduced amounts of cartilage collagen fibrils and growth plate anomalies in transgenic mice harboring a glycine-to-cysteine mutation in the mouse type II procollagen alpha 1-chain gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:9648-9652, 1991.
- 14) Jorgenson E, Witte JS : Genome-wide association studies of cancer. *Future Oncology* 3 : 419-427, 2007.
- 15) Ikuno K, Kajii TS, Oka A, Inoko H, Ishikawa H, Iida J : Microsatellite genome-wide association study for mandibular prognathism. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 145:757-762, 2014.
- 16) Saito F, Kajii TS, Oka A, Ikuno K, Iida J : Genome-wide association study for mandibular prognathism using microsatellite and pooled DNA method. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 152:382-388, 2017.
- 17) Wang R, Qiao H, Qian Y, Zhen G, Zhao Z, Li Y : Abaloparatide and teriparatide enhance mandibular growth in adolescent rats with site-specific and mechano-related effects. *Eur J Orthod* 45:224-234, 2023.
- 18) Kajii T, Oka A, Hatta M, Yamazaki J, Yamashita J, Iida J : PLXNA2 identified as a candidate gene by genome-wide association analysis for mandibular prognathism in human chondrocytes. *Biomedical Reports* 9:253-258, 2018.
- 19) Malnic B, Godfrey PA, Buck LB : The human olfactory receptor gene family. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101:2584-2589, 2004.
- 20) Owji AP, Kittredge A, Zhang Y, Yang T : Structure and Function of the Bestrophin family of calcium-activated chloride channels. *Channels* 15:604-623, 2021.
- 21) Kajii TS, Oka A, Saito F, Mitsui J, Iida J : Whole-exome sequencing in a Japanese pedigree implicates a rare non-synonymous single-nucleotide variant in BEST3 as a candidate for mandibular prognathism. *Bone* 122:193-198, 2019.
- 22) Nikopensius T, Saag M, Jagomägi T, Annilo T, Kals M, Kivistik P, Milani L, Metspalu A : A missense mutation in DUSP6 is associated with Class III malocclusion. *Journal of dental research* 92:893-898, 2013.
- 23) Chen F, Li Q, Gu M, Li X, Yu J, Zhang YB : Identification of a Mutation in FGF23 Involved in Mandibular Prognathism. *Sci Rep* 5:11250, 2015.
- 24) Perillo L, Monsurro A, Bonci E, Torella A, Mutarelli M, Nigro V : Genetic association of ARHGAP21 gene variant with mandibular prognathism. *J Dent Res* 94:569-576, 2015.