

〔別紙1〕

論文の内容の要旨

題目 日本人口唇口蓋裂における感受性候補遺伝子の解析

指導教官 高戸 毅 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成12年4月入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名 渡邊 宏伊

1. 緒言

非症候群性の口唇口蓋裂は、頭蓋顎顔面領域においてもっとも発生頻度の高い先天異常であり、日本人では500人に1人の割合で発症するとされる。その表現型は口唇（顎）裂、口蓋裂、前者の2つを合わせた口唇口蓋裂に分けられる。また、口唇（顎）部分には左右どちらかに裂が生じる片側性の裂と、左右両方に裂が生じる両側性の裂が生じうる。治療面では出生直後の口唇形成術から成人に至る歯科矯正治療終了まで長い年月を要する。そのため患者やその家族にとって身体的、精神的、経済的に負担が大きく、早期の原因究明、予防法の確立が望まれている。

口唇口蓋裂は遺伝要因と環境要因の相互作用により発症する多因子疾患とされる。原因となる遺伝子は複数あり、その一つ一つが疾患に対して少しずつ感受性をもち、ある一定のしきい値を越えたときに発症するためこれらの遺伝子は感受性候補遺伝子といわれる。

ノックアウトマウスの解析や家系解析などの先行研究から、いくつかの感受性候補遺伝子が同定されている。白人集団においてはTGFB3とMSX1は口蓋裂の発症と関連ありと報告されている。TGFB3は成長因子として、MSX1は転写調節因子として働く遺伝子であるが、とくにMSX1は、胎生期において頭蓋顎顔面の骨格形成を司る形態形成遺伝子として注目されている。日本人集団でも、MSX1のイントロンに存在する(CA)_nマーカーを用いてCL/P、CPとの関連を調べた先行研究は行われているが、その因果関係を証明するには至っていない。

一方DLX1,2は、上皮-間葉組織相互作用の認められる組織に発現し、胎生期の上

顎弓と下顎原基に発現する形態形成遺伝子である。Dlx1 と Dlx2 をダブルノックアウトしたマウスでは口唇裂、口蓋裂が発生することが分かっている。

そこで、本研究では形態形成遺伝子のうち、ヒトの胎生期において口唇、一次口蓋、二次口蓋の形成に関与すると推測される MSX1,DLX1,DLX2 遺伝子についてその多型を検出し、その相関を検討することにより各候補遺伝子が口唇口蓋裂の発症に関与するか否かを確かめることを目的とし、日本人を対象に翻訳領域の多型解析を行った。

2. 対象

インフォームドコンセントをを行い了承の得られた非血縁の日本人口唇口蓋裂患者(142 検体)と、日本人健常者(99 検体)を用いて疾患—対象研究による関連解析を行った。本研究では遺伝子関与の有無をより詳細に検討するため患者群を以下のように3つの観点からグループ分けした。

- (1) 先行研究の患者群は CL/P と CP 群に分けられてきたが、CL/P は口唇、一次口蓋、二次口蓋がオーバーラップしたサブクラスとなっているため発生の観点からこの分類は適切でないと思われる。そこで今回は口唇・一次口蓋に裂を有する CL(A)、二次口蓋に裂を有する CP、口唇・一次・二次口蓋にオーバーラップして裂が発現する CLP の3つのサブクラスに分け、さらに従来通りの CL/P を加えた計4群間の差異を検討した。
- (2) 口唇口蓋裂は人種を問わず左側:右側:両側=5:3:2 の割合で出現することから、発現側を決定する遺伝的要因が働く可能性が考えられる。そこで CL(A),CLP を発現側により左側、右側、両側に分類し3群間の差異を検討した。
- (3) 完全裂を典型的な表現型にとらえ、裂型別の特徴をより明らかにするために裂型別に完全裂のみの群を検討した。

3.方法

MSX1,DLX1,DLX2 それぞれの翻訳領域について、疾患群と対照群のスクリーニングにより変異を検出し、多型(10%以上の出現頻度のある変異)について遺伝子型を決定するタイピングを行った。タイピング法として DLX2 の SNP には PCR-SSCP 法を、AGC 繰り返し配列には GENESCAN を、MSX1 の各多型には PCR-ダイレクトシーケンス法を用いた。各多型ごとに得られた遺伝子型の頻度から算出されたアリル頻度にかイ二乗検定を行い、有意差の得られたアリルに対して連鎖不平衡の検定とハプロタイプ頻度の推定の検定を行った。

4.結果および考察

(1) MSX1: 3'UTR に存在する*71C>T に有意差みられ、左側 CL(A)発症との関連(P=0.035)が示唆された。

(2) DLX1: 多型が検出されなかった。

(3) DLX2: エクソン1 に存在する AGC 繰り返し配列で有意差が見られ完全裂 CLP、CL/P の発症との関連(P=0.0093,P=0.0092)が示唆された。

以上の結果に示したとおり、グループ分けを行ったことによって新たな知見が得られたが、いずれもサンプルサイズが小さいため疾患との関連性を確実にするためにはより多数の症例について検討を加える必要があると考えられた。