

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙	第 号	論文提出者名	立松 忠
論文審査 委員氏名	主査	下郷 和雄	副査	栗田 賢一 松原 達昭 池田 やよい
論文題名	ヒト先天性永久歯部分無歯症の分子遺伝学的 解析			

インターネットの利用による公表用

先天性永久歯部分無歯症は永久歯の先天性欠如を認める、発生頻度の高い先天異常である。本疾患の発症要因は多因子性であり、歯胚発生期の環境要因と、遺伝要因が関与していると考えられている。ヒトにおいては、これまでに*muscle segment homeobox 1 (MSX1)*、*paired box 9 (PAX9)* 遺伝子、*axis inhibition protein2 (AXIN2)* 遺伝子、*wingless-type MMTV integration site family member 10A (WNT10A)* 遺伝子などの変異により発症することが報告されている。本疾患に対し、既知遺伝子のエクソン領域を中心に変異検索がなされてきたが、この範囲では、原因が特定されていない症例が多く存在している。そこで、申請者は全エクソーム解析を導入した新規の病因遺伝子変異の検索とその遺伝産物の機能解析を行っている。

症例は、これまでに既知の病因遺伝子である*MSX1*、*PAX9*、*AXIN2*、*WNT10A* の変異検索では、エクソン領域内の変異を検出せず病因が明らかに出来なかった症例の中でも、特に歯数欠損を多く認めた15症例（家族性症例8家系、孤発性症例7家系）である。全エクソーム解析の結果、1家系から既知の病因遺伝子である*MSX1*のイントロン領域に新規遺伝子変異c.452-9 G>Aを同定した。この同定した変異の領域はイントロン領域ではあるが、哺乳類間で保存性が高く、生物学的に重要性が高い。さらに、申請者は、罹患者由来のRNAを解析してこの変異によりスプライス異常が生じる事を確認し、本変異によるスプライス異常により*MSX1*の機能領域であるホメオ

ドメインが完全に欠失することを予測している。これまでに、MSX1のホメオドメインは核移行性及びDNAの結合性に関与していることが明らかにされている。また、ホメオドメイン内に変異が生じたミスセンス変異や、ホメオドメイン全長が欠失するナンセンス変異により、本疾患が生じる事が報告されている。

次に申請者は、本変異による分子生物学的な影響を検討するため、タンパク発現ベクターを作製し、本変異により生成されるタンパク(R151fsX20)の機能解析を行っている。機能解析は、核局在性の解析と、ウェスタンブロットリング解析を行い、野生型MSX1タンパクと比較している。

核局在性の解析では、野生型MSX1タンパクは核内に局在を認めた一方で、R151fsX20変異型タンパクは核内への移行障害が認められている。さらに、ウェスタンブロットリング解析では、正常型MSX1タンパクは核内にタンパク発現を認めたが、R151fsX20変異型タンパクは核内にタンパク発現が認められず、また細胞質タンパクでは、相対分子量が低い変異タンパクが検出されている事から、MSX1のホメオドメインは核移行性に関与することを改めて支持している。

これらの結果から、申請者は本家系における永久歯欠損は、MSX1 遺伝子の R151fsX20 変異によるホメオドメインの欠失が、MSX1 タンパクの核内への移行性を障害し、本疾患を引き起こしたと考えている。

一方、この家系内では、罹患者世代間及び一卵性双生児間における表現型の大きな差の原因を明らかにする事はできず、この結果から環境因子やエピジェネティックな影響が示唆されている。また、エクソーム解析を行ったにも関わらず、他の14家系からは病因遺伝子を同定するに至らなかった。この結果から、病因遺伝子の解析において、より広範囲な解析の必要性が示唆されている。

本論文において、全エクソーム解析を導入して、先天性永久歯部分無歯症を有する1家系よりスプライス異常を生じる新規のMSX1遺伝子変異を同定し、さらに分子生物学的な発症機序を解明した事は、本疾患における病因遺伝子の検索における新たな方法を提示すると共に、本疾患の病因解明及び歯胚形成過程に関与する分子作用機序の解明に重要であると考えられる。この為、口腔外科学のみならず、解剖学、内科学ならびに関連諸学科に寄与する事が大きいと考え、博士(歯学)の学位授与に値するものと判断した。