

## 唇裂・口蓋裂の発症に関与する遺伝的素因の探索

●松原 洋一<sup>1)</sup> ◆山田 敦<sup>2)</sup>

1) 東北大学大学院医学系研究科 発生・発達医学講座 遺伝病学分野 2) 同 外科病態学講座 形成外科学分野

### 〈研究の目的と進め方〉

唇裂・口蓋裂の発症には、複数の遺伝的要因と環境因子が関与していると考えられているが、その分子遺伝学的レベルにおける遺伝的素因の解明はまだ端緒に終わったばかりである。本症は新生児に認められる多因子疾患の中で最も頻度が高いもののひとつであり、わが国における発症頻度は約600人に1人と、欧米に比して高い。唇裂・口蓋裂は様々な先天奇形症候群の部分症状としても認められるが、その大半（～70%）は他の症候を伴わない。現在では形成外科手術法の進歩などによってほぼ満足すべき治療効果が得られるものの、患児家族にとっての精神的な打撃と、長期にわたる治療の心理的負担はきわめて大きい。また、次子における再発危険率などから、遺伝カウンセリングの対象としても相談件数が多い代表的な疾患である。

本研究の目的は、唇裂・口蓋裂患者を持つ日本人家系を対象として、候補遺伝子の遺伝子多型を用いた伝達不均衡テスト（transmission disequilibrium test: TDT）と相関研究を行い、疾患発症に関連する遺伝子を同定することにある。候補遺伝子としては、ノックアウトマウスなどの表現型から本疾患との関わりが深いと考えられるものを選択して解析を行う。

### 〈研究開始時の研究計画〉

(1) 唇裂・口蓋裂をもつ多数の家系（患者およびその家族）から、血液検体採取とDNA抽出をおこなう。これらの家系において、すでに疾患発症との関連が報告されているレチノイン酸受容体 $\alpha$ 鎖遺伝子およびメチレンヒドロ葉酸還元酵素（MTHFR）遺伝子の相関研究およびTDTを再検討する。

(2) 疾患発症に関連する候補遺伝子として、GABAグルタミン酸脱炭酸酵素遺伝子（GAD67）におけるSNPを同定する。同定したSNPを用いて、TDTおよび症例対照研究をおこなう。

(3) 疾患発症に関連する候補遺伝子として、ダイオキシンの代謝に関係するaryl hydrocarbon receptor（AHR）、aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator（ARNT）、cytochrome P450 1A1（CYP1A1）の遺伝子におけるSNPを同定する。これらのSNPについて、TDTおよび症例対照研究をおこなう。

(4) 症候性唇裂・口蓋裂であるVan der Woude症候群の原因となるinterferon regulatory factor 6（IRF6）遺伝子を、疾患発症に関連する候補遺伝子として検索する。

(5) 唇裂・口蓋裂をとまなう症候性類縁疾患症例において、遺伝子解析をおこなう。

### 〈研究期間の成果〉

(1) 唇裂・口蓋裂をもつ患者およびその家族からインフォームドコンセントを得た上で、血液検体採取をおこなった。180家系におけるDNA抽出を終えた。これらの家系において、レチノイン酸受容体 $\alpha$ 鎖遺伝子における3種の多型マーカーを用いた伝達不均衡テスト（TDT）お

びメチレンヒドロ葉酸還元酵素（MTHFR）遺伝子のC677T変異との相関研究およびTDTを行ったが、疾患発症との相関は認められなかった。

(2) GABAグルタミン酸脱炭酸酵素遺伝子（GAD67）において7つのSNPを同定し、それを用いてTDTを行ったところ、1つのハプロタイプの有意な伝達不均衡を認めた。症例対照研究では、ハプロタイプの頻度分布が症例と対象群で有意に異なることが判明した（Kanno et al, 2004）。

(3) AHR、ARNT、CYP1A1の遺伝子について検索をおこなった。AHRとCYP1A1については、既知のSNP、ARNTについては、プロモーターを含んだSNPの検索を行い3つのSNPを同定した。これらのSNPについて、TDTを行ったところ、ARNT遺伝子の2SNPの伝達不均衡がみられた。（Kayano et al, 2004）

(4) Van der Woude症候群が疑われた3家系の患者にIRF6の2つの新しい点変異と1つの複数エクソンの欠失を同定した。（Kayano et al, 2003）一方、非症候性の家系では変異は認められなかった

(5) 顔面形成の異常を伴う類縁疾患であるcherubism症例において新規の遺伝子変異を同定した（Imai et al., 2003）

### 〈国内外での成果の位置づけ〉

GAD67、AHR、ARNT、CYP1A1遺伝子との相関は、国内外を問わずこれまでに報告されていない新しい知見である。国外では、米国の研究グループを中心に様々な候補遺伝子を対象とした相関研究が行われているが、これらの候補遺伝子の関与には人種差が多いことが指摘されており、日本人集団を対象とした系統的な研究として、本研究の意義は大きいと考えられる。

### 〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

当初の計画に沿って順調に研究が進行した。

### 〈今後の課題〉

今後さらに多くの候補遺伝子について相関研究をおこなう必要がある。また、相関が確認された遺伝子については、患者DNAの全エクソンと遺伝子上流の調節領域の塩基配列決定をおこない、直接病因となる可能性のある遺伝子変異の検索をおこなうとともに、最も強い相関がみられるSNPまたはハプロタイプに対して、当該遺伝子機能のアッセイ、あるいはレポーター遺伝子を用いたプロモーター機能のアッセイをする必要があると考えられる。

### 〈研究期間の全成果公表リスト〉

1) 論文/プロシーディング

(1) Kanno K, Suzuki Y, Yamada A, Aoki Y, Kure S, Matsubara Y. Association between nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate and the glutamic acid decarboxylase 67 gene in the Japanese population. Am J Med Genet 127A:11-16, 2004.

(2) Kayano S, Suzuki Y, Kanno K, Aoki Y, Kure S, Yamada A, Matsubara Y.: A significant association between nonsyndromic oral clefts and arylhydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT). *Am J Med Genet* 130A:40-44, 2004.

(3) Kayano S, Kure S, Suzuki Y, Kanno K, Aoki Y, Kondo S, Schutte BC, Murray JC, Yamada A, Matsubara Y.: Novel IRF6 mutations in Japanese patients with van der Woude syndrome: two missense mutations (R45Q and P396S) and a 17-kb deletion. *J Hum Genet* 48: 622-628, 2003.

(4) Imai Y, Kanno K, Moriya T, Kayano S, Seino H, Matsubara Y, Yamada A.: A missense mutation in the SH3BP2 gene on chromosome 4p16.3 found in a case of non-familial cherubism. *Cleft Palate-Craniofacial Journal* 40:632-638, 2003.

(5) Kudo T, Kure S, Ikeda K, Xia AP, Katori Y, Suzuki M, Kojima K, Ichinohe A, Suzuki Y, Aoki Y, Kobayashi T, Matsubara Y.: Transgenic expression of a dominant-negative connexin26 causes degeneration of the organ of Corti and non-syndromic deafness. *Hum Mol Genet* 12:995-1004, 2003.

2) データベース/ソフトウェア なし

3) 特許など なし

4) その他顕著なもの