

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	森 明弘
論文審査 委員氏名	主査	夏目 長門	副査	前田 初彦 池田 やよい
論文題名	非症候性口唇口蓋裂患者における <i>MEOX2</i> 遺伝子解析			

インターネットの利用による公表用

口唇口蓋裂は、我が国では、500~600の出生に対して1人の割合で生じるとされている先天異常で、その原因は、遺伝的要因・環境的要因が相互に影響し、一定のしきいを超すと発生するとした、多因子しきい説が有力視されている。すなわち、口唇口蓋裂は口唇や口蓋発生の過程が、遺伝的要因と環境的要因によって阻害されることによって発生すると考えられている。口蓋裂の発生に関する遺伝的要因について、遺伝子操作マウスを用いた様々な研究が報告されている。この中で、mesenchyme homeobox 2 (Meox2) mutant mouse は、口蓋裂が発生すると報告されており、この Meox2 mutant mouse では口蓋が一旦形成された後に癒合部が離開して口蓋裂が発生するという従来とは異なるメカニズムでの口蓋裂発生が報告されている。この報告は、*MEOX2* が口蓋裂の発生機序に関連していることを強く示唆している。しかし、ヒトを対象として *MEOX2* の遺伝子解析を行った報告はない。本研究は、口唇口蓋裂における遺伝的要因究明の一助とすることを目的に、遺伝子操作マウスで口蓋裂の発生が報告されている *MEOX2* に対して2つの解析を行っていた。1、非症候性口蓋裂患者を対象とした DNA シークエンスを行い、新規遺伝子変異の検索と遺伝子多型 (rs2237493, rs113582077) に対する対立遺伝子頻度解析と各遺伝子型モデル (Dominant model, Heterozygotes model, Recessive model) に対する Genotypic Odds Ratios (GOR) による解析を行っていた。2、DNA シークエンスによって有意差の認められた遺伝子多型 (rs2237493) を対象に、口唇口蓋裂全般 (CL/P 群 :

All cleft) とその3つのサブタイプ (CLO 群、CLP 群、CPO 群) に対し、Taqman assay による遺伝子多型解析を行っていた。

対象として用いたサンプルは、DNA シークエンス・Taqman assay 共に、科学研究費 基盤研究 A「口腔先天異常疾患関連遺伝子共同研究機構」により管理されている遺伝子資料のうち、口唇口蓋裂センターにおいて経験豊富な4名の口腔外科医によって診断され、舌小帯短縮症、ピエール・ロバン症候群、22q11.2欠失症候群、歌舞伎メーキャップ症候群やその他の症候群と粘膜下口蓋裂 (SMCP) を除外した日本人非症候性口唇口蓋裂患者であった。DNA シークエンスでは、非症候性口蓋裂単独患者 (CPO 群) 91名 (男性31名、女性60名) を対象としていた。また、Taqman assay による遺伝子多型解析では、日本人非症候性口唇口蓋裂患者 (NSCL/P) 592名 (男性306名、女性286名) を対象としていた。このうち、裂型は口唇裂単独 (CLO 群) 142名 (男性72名、女性70名)、口唇口蓋裂 (CLP 群) 342名 (男性195名、女性147名)、口蓋裂 (CPO 群) 108名 (男性38名、女性70名) であった。*MEOX2* 遺伝子配列の照合には、Human BLAT Search Web サイト (<https://genome.ucsc.edu/index.html>) を使用しており、健康な日本人の SNP 頻度情報は、dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>) における *MEOX2* SNP データ (170 サンプル) を参照していた (control:dbSNP 群)。本研究対象 SNPs のうち、rs113582077 については、dbSNP にデータがなかったため、健常日本人 100名 (control:自験群) で、同領域の DNA シ

ークエンス解析を行っていた。本研究は、愛知学院大学倫理委員会承認番号00004によって承認され行われていた。すべての Genomic DNA は、QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, USA) を用いて静脈血試料から抽出されていた。

統計解析では、ハーディ・ワインベルグ平衡(HWE)、CPO 群と Control:dbSNP 及び自験群との対立遺伝子頻度を評価するため、自由度 (DF) を 1 とした standard χ^2 test または Fisher' s exact test を使用していた。各遺伝子型のデータ分析のため、遺伝子型モデル (Dominant model, Heterozygotes model, Recessive model) を採用し、Genotypic Odds Ratios (GOR) と 95%信頼区間 (95%CI) を使用して評価した。対立遺伝子頻度、ハーディ・ワインベルグ平衡および SNPs の GOR は JMP[®] プログラム (SAS) を使用して計算し、 $p < 0.05$ をもって、有意差有りとしていた。

その結果、以下の結論が得られていた。

- ①DNA シークエンスにおいて、非症候性口蓋裂患者の DNA サンプルに *MEOX2* の新規遺伝子変異は認めなかった。
- ②DNA シークエンスによる遺伝子多型解析では、rs2237493 の Dominant model において、GOR 1.82 (95%CI: 1.05-3.15)、 p value 0.032 であり、有意な結果が得られていた。
- ③rs2237493 に対する CL/P 群とその3つのサブタイプ (CLO 群, CLP 群, CPO 群) による多型解析において、CL/P 群, CLO 群, CLP 群では *MEOX2* と関連が認められず、CPO 群のみで関連を認めた。

これらの結果から、以下の知見を得ていた。

- 1) rs2237493 の Dominant model において、遺伝子型 TT は、他の遺伝子型と比較して、最大 1.82 倍統計学的有意に口蓋裂を発症するリスクが高く、日本人においてこの Genotype が、口蓋裂発生の遺伝的要因の一つである可能性が示唆された。
- 2) 口唇口蓋裂全般を CLO 群, CLP 群, CPO 群に細分し行った遺伝子多型解析では、*MEOX2* と関連があるのは口蓋裂単独 (CPO 群) のみであることが明らかとなり、この結果は、口蓋裂単独と口唇裂単独・口唇口蓋裂の遺伝的要因は異なるという説の新たな裏付けとなる可能性が示唆された。

本研究は、口唇口蓋裂の遺伝的要因究明のため詳細に統計解析し、様々な視点から検討されていた。よって、口腔病理学、解剖学、口腔外科学、および関連諸学科に寄与するところが大きく、本論文は博士（歯学）に値するものと判定した。