



Title	変形性顎関節症の発症に関与する遺伝因子の検討
Author(s)	大野, 恵美
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105339
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (大野 恵美)

論文題名

変形性顎関節症の発症に関与する遺伝因子の検討

論文内容の要旨

変形性顎関節症 (temporomandibular joint osteoarthritis: TMJOA) は、顎関節軟骨および骨の退行性変化を特徴とし、関節雑音、顎関節痛、開口障害などにより患者のQOLを著しく低下させる。変形性関節症 (OA) のリスク因子として膝関節や股関節を対象としたゲノム解析から多数の一塩基多型 (SNP) が報告されている一方、顎関節を対象としたゲノム研究は極めて限られている。また、TMJOAおよびOAにおける従来の研究の多くは、患者群と非患者群の遺伝子型を比較した統計学的関連の同定にとどまり、病態形成におけるSNPの分子機構を実験的に検証していない。本研究では、四肢OAや関連疾患で報告されているSNPがTMJOAにも共通の遺伝学的背景を形成しうるとの仮説のもと、多変量解析によりTMJOA関連SNPを探索し、さらにprime editingを用いてその機能的意義を細胞レベルで検証することを目的とした。

大阪大学歯学部附属病院口腔補綴科を受診した顎関節症患者のうち、関節リウマチや全身性疾患を有する症例を除外し、顎関節MRIにより関節円板の位置・動態および下顎頭骨変化を評価した。下顎頭にosteophyte, erosion, atrophy, subchondral cystのいずれかを有する症例をTMJOA群、それ以外をnon-TMJOA群とし、最終的にTMJOA群158例、non-TMJOA群196例 (計354例) を解析対象とした。顎関節内障の診断は2名の歯科医師によりブラインドで行い、高い検者間一致度が得られた。頬粘膜から採取したDNAを用いてMassARRAYにより既報のOA関連SNP16種類のジェノタイプピングを行い、年齢、性別、円板動態異常および各SNPを説明変数とした一般化ロジスティック混合効果モデルをベイズモデリングにより構築した。

その結果、円板動態異常に加え、*FILIP1*と*SENP6*の遺伝子間領域に位置するrs9350591および*FTO*遺伝子内のイントロン領域に位置するrs8044769が、TMJOAと有意に相関するSNPとして同定された。rs9350591について、日本人集団のjMorpデータベースを用いて連鎖不平衡解析を行ったところ、*FILIP1*イントロンおよび*FILIP1-SENP6*間に34か所の共起変異が抽出された。さらに、RegulomeDBおよびSNP2TFBSを用いた*in silico*解析では、*FILIP1*イントロンに位置する共起変異rs9343292がCACATGからCACGTGへの塩基置換によりE-box配列を新規に形成し、bHLH型転写因子BHLHE40およびARNT2の結合モチーフを提供する可能性が示唆された。また、共起変異rs202138851およびrs141600029は強い転写調節部位候補として分類され、これらを含む6q14.1領域が近傍遺伝子群の発現制御に関与する可能性が考えられた。一方、*FTO*領域ではrs8044769と連鎖不平衡にある9個のイントロン変異が抽出され、特にrs8047395がスプライシングシグナルの低下および発現量的形質遺伝子座効果が予測されたことから、共起変異が*FTO* mRNAの成熟過程に影響しうると示唆された。

rs9343292の機能を直接検証するため、prime editingを用いてHEK293T細胞に同変異を導入したクローンを作製した。変異導入株と野生型の比較により、rs9343292近傍1 Mbp以内に位置する*COL12A1*, *COX7A2*, *TMEM30A*, *FILIP1*, *SENP6*, *MYO6*の6遺伝子でmRNA発現量が有意に上昇し、*FILIP1*および*SENP6*ではタンパク質量の増加も確認された。RNA-seq解析では、変異導入株で289遺伝子の発現上昇と198遺伝子の発現低下が認められた。パスウェイエンリッチメント解析の結果、protein localization to CENP-A containing chromatinやnucleosome assembly, mucosal innate immune responseなどの経路が上昇し、extracellular matrix organizationをはじめとする細胞外マトリックス関連の経路は低下していた。特に、脱SUMO化酵素*SENP6*はセントロメアにおけるクロマチン構造維持に必須であり、protein localization to CENP-A containing chromatin経路の亢進は、rs9343292による*SENP6*発現の上昇により生じたものと示唆された。

さらに, rs9343292が転写因子結合およびクロマチン構造に及ぼす影響を評価するため, EMSA, ChIPアッセイ, ATAC-seqを行った. EMSAでは, 変異配列プローブに対して野生型配列よりも強い核タンパク質結合が観察されたことに加え, 抗BHLHE40抗体添加によりsuper shiftが確認されたことから, BHLHE40を含むタンパク質複合体がrs9343292変異により生じたE-box配列に結合することが示された. 一方, HEK293T rs9343292および野生型を用いたChIPアッセイでは, 同座位へのBHLHE40の占有量に差は認められなかった. 以上から, *in vivo*においてBHLHE40は, MYC/MAXネットワークやUSF1/2, CLOCK/BMAL1, HIF-1など, 他のbHLH型転写因子と協調した複合体として作用している可能性が考えられた.

ATAC-seqでは, 全ゲノムで159,087ピークが検出され, このうち1,382ピークが変異導入株で有意に変動していた. rs9343292近傍1 Mbpには有意ピークは認められず, 多くの変化が遠位のゲノム領域で生じていた. ATAC-seqとRNA-seqを統合した解析から, クロマチンアクセシビリティと遺伝子発現が共に上昇したATAC_up/RNA_up遺伝子群および共に低下したATAC_down/RNA_down遺伝子群が同定され, 後者に属する遺伝子群ではスフィンゴ脂質シグナル経路の有意なエンリッチメントが認められた. OA関節組織ではスフィンゴ脂質やセラミドを含む脂質バランス異常が報告されていることから, 変異がクロマチン構造を変化させ, スフィンゴ脂質シグナルが低下することで顎関節組織の疾患感受性に影響する可能性を示した.

以上の結果から, TMJOA関連SNPとして同定されたrs9350591自体ではなく, その共起変異であるrs9343292がTMJOAの疾患感受性に寄与している可能性が示唆された. 変異rs9343292は新規E-box形成を介してbHLH型転写因子複合体の結合特性を変化させ, *SENP6*をはじめとする近傍遺伝子群の発現上昇 (シス効果), および*SENP6*の関与が示唆されるクロマチン構造変化を伴うゲノムワイドな発現再編成 (トランス効果) を引き起こす. その結果, 細胞外マトリックス関連経路を含む複数のパスウェイが変動し, TMJOAの発症に関与すると考えられる. また, *FTO*深部イントロン変異群は, スプライシング制御異常を介して関節組織における*FTO*機能低下とOA進展に関与しうることが予測された. 本研究は, 6q14.1領域および*FTO*領域におけるSNPがTMJOA発症リスクに及ぼす分子メカニズムの一端を初めて提示したものであり, 顎関節に特化した術前リスク診断マーカーおよび新規治療標的の開発に向けた重要な基盤知見を提供する.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (大 野 恵 美)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	西村 正宏
	副 査	教 授	大庭 伸介
	副 査	准教授	高畑 佳史
	副 査	講 師	岩山 智明
論文審査の結果の要旨 多変量解析により変形性顎関節症関連変異を探索し、プライム編集で変異を導入した細胞を用いて細胞生物学的検討を行った結果、rs9343292 が TMJOA の発症に関与する可能性が示唆された。 本研究は、変形性顎関節症の疾患リスク診断マーカーおよび新規治療標的開発に資する重要な知見を提供する。よって、博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。			