

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K19267

研究課題名(和文)顎骨の形態決定におよぼすエピジェネティック制御の関与を探る

研究課題名(英文) Investigate the role of epigenetic regulation on jawbone morphology

研究代表者

河野 加奈 (Kono, Kana)

岡山大学・医歯薬学域・助教

研究者番号：40780862

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：後天的因子が顎骨の形態形成に及ぼす影響を詳細に把握するため、同成分の粉末餌と固形餌を与えることで生じるマウス顎骨の形態変化を、マイクロ3DCTを用いた独自の形態比較手法の開発によって検出し、食餌の違いがマウス下顎骨の形態におよぼす影響を論文として発表した。2020年度は、食餌の違いがマウス上顎骨の形態におよぼす影響を論文として報告した。2022年度は、主成分分析を使用してサンプル全体のトポロジー変化を分析し、粉末餌サンプルと固形餌サンプルの形態学的差異を説明する要因を特定するとともに、分析結果に基づき正準判別分析を用いて、粉末餌サンプルと固形餌サンプルの違いを説明する形態学的特徴を特定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、環境要因がエピジェネティック制御に影響を与え、その結果、形態形成異常が生じるという全く新しい概念を提案するものであり、学術的独創性が高い。その知識基盤が確立されれば、不正咬合患者の診断において、特定の遺伝子のエピジェネティック変異があるかどうかを調べることにより、成長予測や治療効果の予測が行えるようになるかもしれない。さらに薬剤の投与によってそれをコントロールすることができれば将来の矯正歯科治療における治療の一つのありかたに大きな変化をもたらすことができる。このように、本研究がもたらす研究結果は学術的意義、社会的意義が非常に高いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In order to understand in detail the effects of acquired factors on jawbone morphogenesis, we developed a unique morphological comparison method using micro 3DCT to examine the morphological changes in mouse jawbone caused by feeding powdered and solid diets with the same ingredients, and published a paper on the effects of dietary differences on the morphology of the mandibular bones of mice.

In 2020, we reported the effects of dietary differences on the morphology of the maxilla in mice.

In 2022, we used principal component analysis to analyze topological changes across samples to identify factors that explain morphological differences between powdered and chow samples. In addition, based on the analytical results, canonical variate analysis was used to identify morphological features that account for differences between powdered and solid food samples.

研究分野：矯正歯科学

キーワード：エピジェネティクス 形態変化 軟食 3D CT マウス

1. 研究開始当初の背景

柔らかい食物を摂取するようになり、顎骨は小さくなったとされている。萌出スペースの不足に伴う不正咬合の増加は、歯科疾患実態調査の結果からも明らかである。一方で、近年生活習慣や環境因子が後天的に遺伝子制御に影響を与えるエピジェネティックな制御システムが注目されている。すでに内分泌系では後天的なエピジェネティック制御によって組織が影響を受けることが明らかにされている。そこで、食生活のような後天的因子が生後の顔面骨格形態にも影響を及ぼすのではないかと、つまり形態決定に関わるメカニズムもエピジェネティック制御の影響を受けるのではないかと、という問いを立てた。

2. 研究の目的

後天的因子が顎骨の形態形成に及ぼす影響を詳細に把握するため、同成分の粉末餌と固形餌を与えることによって生じるマウス顎骨の形態変化を明らかにする。

その後、塩基配列の変化を伴わない遺伝子発現の変化であるエピジェネティクスという概念に基づき、顎骨形態決定に関わる遺伝情報のエピジェネティックな制御システムを明らかにし、その下流に存在すると思われる顎骨形態形成の鍵になる遺伝子を同定する。

3. 研究の方法

まず、実験的不正咬合モデルマウスを作製する。その後、後天的因子が顎骨の形態形成に及ぼす影響を詳細に把握するため、同成分の粉末餌と固形餌を与えることによって生じるマウス顎骨の形態変化を、マイクロ 3DCT を用いた独自の形態比較手法の開発により明らかにする。

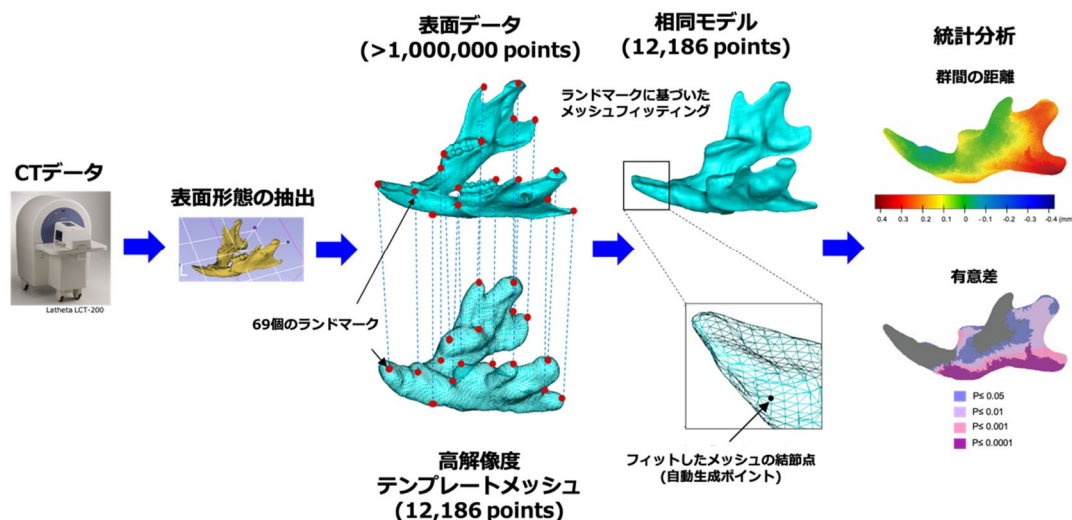
またこれまでに、マウス咬筋組織の性質が粉末餌では遅筋の性質が増し、*Myh* 遺伝子群の発現状態に変化が生じることを見出しているため、粉末餌を与えたマウスと固形餌を与えたマウスの咬筋のRNAを用いてマイクロアレイを行い、これらの刺激に応答する遺伝子の同定を行う。さらに、これらの制御がエピジェネティックなシステムを介しているかどうか検証する。

1. 研究成果

(1) 同成分の粉末餌と固形餌を与えることによって生じるマウス顎骨の形態変化を、マイクロ 3DCT を用いた独自の形態比較手法の開発により明らかにした(図1、文献1)。

解析方法としては、マイクロ 3DCT データからマウス顎骨の表面形態画像を抽出し、各顎骨モデルについて、表面形態を表現する際に必要と考えられるランドマークを決定する。さらに手動により設定されたこれらのランドマークに基づいてソフトウェアを用いて高解像度のテンプレートメッシュのフィッティングを実施する。この方法は、マイクロ 3DCT にて得られる表面形状の数万点以上の点群データに対して、数十点の解剖学的な特徴点位置データを手がかりとして、テンプレートとなるポリゴンモデルをフィットさせることで、相同モデルを自動的に構成し、各々のワイヤメッシュからなる相同モデルを自動的に作製する。相同モデルを作製することにより、顎骨の形状データには解剖学的情報が付加される。そして、それぞれの座標値ワイヤメッシュ上の対応する点を使用して、粉末餌群と固形餌群の平均像の重ね合わせを行い、実際の変位と有意差を表現、視覚化する。

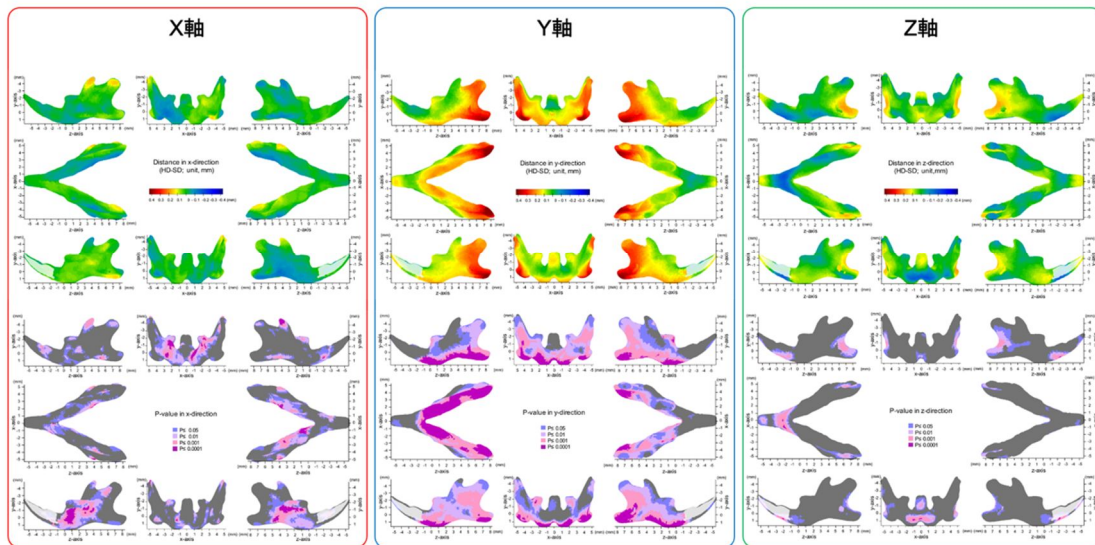
図1. 解析方法の概略



(2)後天的因子が顎骨の形態形成に及ぼす影響を詳細に把握するため、同成分の粉末餌と固形餌を与えることによって生じるマウス顎骨の形態変化を、マイクロ 3DCT を用いた独自の形態比較手法の開発によって検出し、食餌の違いがマウス下顎骨の形態におよぼす影響を明らかにし、論文として発表した(図 2、文献 1)。

結果、X 軸(水平)方向の変化としては、粉末餌群では、筋突起の外側表面が内側に変位し、左右の筋突起間の幅径が減少した。また、左右下顎頭の幅径、歯槽骨の幅径も減少した。Y 軸(垂直)方向の変化としては、粉末餌群では下顎枝高が減少し、下顎下縁平面角が急峻となった。さらに、前方切痕の浅い顎頭となった。Z 軸(前後)方向の変化としては、粉末餌群では下顎角部と下顎枝が前方へ変位した。

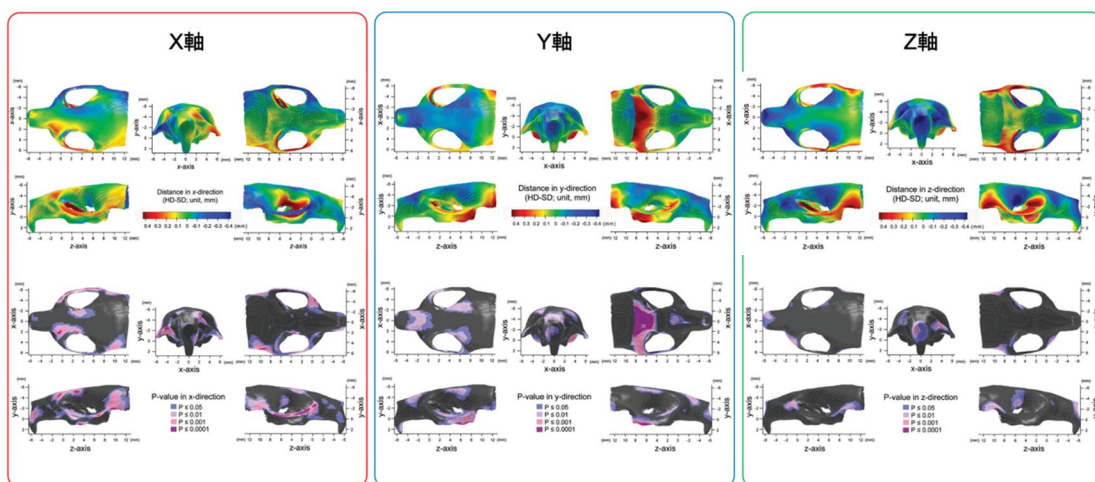
図2. 下顎骨の形態変化



(3)食餌の違いがマウス上顎骨の形態におよぼす影響を明らかにし、論文として報告した(図 3、文献 2)。結果、X 軸(水平)方向の変化として、粉末餌群では頬骨弓、側頭骨の幅径が減少した。Y 軸(垂直)方向の変化として、粉末餌群では頬骨弓、上顎切歯、前上顎骨領域が上方に変位した。Z 軸(前後)方向の変化として、粉末餌群では上顎骨の前面が後方に変位し、頬骨弓と側頭骨領域の後部が前方に変位した。

これらの知見より、後天的因子に伴う咀嚼活性の違いが骨表面上の部位特異的応答にどのように影響し、マウス顎骨の 3 次元的な成長にどのように影響するのかという定量的所見が明らかとなった。

図3. 上顎骨の形態変化



(Kono et. al., Three-dimensional changes in the craniofacial complex associated with soft-diet feeding. *European Journal of Orthodontics*, 2020.)

(4)マイクロ 3DCT を用いた 3 次元幾何学的形態計測アプローチによって、成長する頭蓋底の形態に対する咀嚼活動の影響を調査するために、主成分分析を使用して、サンプル全体のトポロジー変化を分析し、粉末餌群と固形餌群の形態学的差異を説明する要因を特定した。これらの分析結果に基づき、正準判別分析を用いて、粉末餌群と固形餌群の違いを説明する形態学的特徴を特定した(論文投稿中)。

(5)さらに、粉末餌を与えたマウスと固形餌を与えたマウスの咬筋の RNA を用いてマイクロアレイを行い、これらの刺激に应答する遺伝子の同定と、同遺伝子のクローニングならびにリコンビナントタンパク質の精製に成功しており(図 4,5)、これらの遺伝子群の発現領域は、7番染色体の 320000 ~ 350000 の領域に集中していることが分かった (図 6)。しかし、マウス遺伝子のこの部位の領域から転写される mRNA の情報は未だ無く、そこからクローニングしてきた遺伝子は未知のものであった。また、同部のゲノムをクロマチン解析の手法の一つである FAIRE 法で解析したところ、近接領域のゲノムがクロマチンから遊離していることが確認された。これはエピジェネティクスに特徴的な現象であるため、エピジェネティックなメカニズムで制御されている可能性は高いと考えられる。より安定した結果を得るため ATAC-sequence 法を用いて解析し、これらの制御がエピジェネティックなシステムを介しているかどうか検証している。

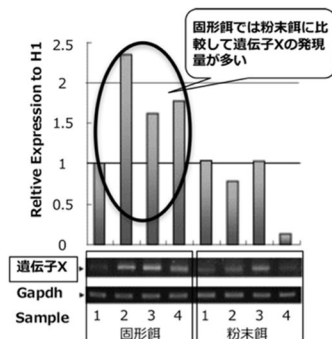


図4.遺伝子の同定

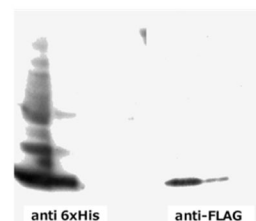
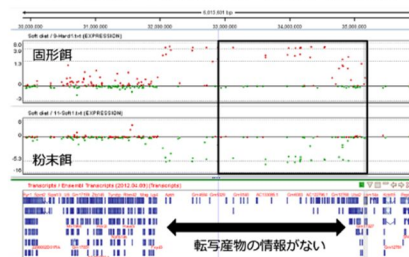


図5.リコンビナントタンパク質の精製に成功

図6.遺伝子の発現に差を認めた領域



7番染色体のqB1領域にはGene Bank上での転写産物の情報がない

< 引用文献 >

Kono K, Tanikawa C, Yanagita T, Kamioka H, Yamashiro T. A Novel Method to Detect 3D Mandibular Changes Related to Soft-Diet Feeding. *Front Physiol*, 8, 2017, 567.

Kono K, Tanikawa C, Murata Y, Yanagita T, Kamioka H, Yamashiro T. Three-dimensional changes in the craniofacial complex associated with soft-diet feeding. *Eur J Orthod*, 42(5), 2020, 509-516.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kana Kono, Chihiro Tanikawa, Takeshi Yanagita, Yuka Murata, Hiroshi Kamioka, and Takashi Yamashiro	4. 巻 42
2. 論文標題 Three-dimensional changes in the craniofacial complex associated with soft-diet feeding	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Orthodontics	6. 最初と最後の頁 509-516
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/ejo/cjaa007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 河野加奈、谷川千尋、上岡寛、山城隆
2. 発表標題 Wire mesh fitting解析を用いたマウス顎骨表面の3次元定量的解析－食餌の硬さの影響－
3. 学会等名 公益社団法人日本顕微鏡学会第63回シンポジウム
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------