

令和 4 年 5 月 19 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K18754

研究課題名（和文）レチノイン酸過剰摂取による顎顔面筋の発育と口蓋裂発症の関連を解明する

研究課題名（英文）Investigating the effect of exaggerated retinoid signaling for embryonic cranial muscle development

研究代表者

上村 夢（Uemura, Yume）

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：90848251

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：顎顔面形成異常は多種多様な機能不全や審美障害を伴い、患者のQOLを著しく低下させる。口唇口蓋裂は中でも頻度の高い先天性異常であり、多様な表現型を示し、それぞれの症状のメカニズムは完全には理解されていない。過去の研究や代表者の所属する研究室のこれまでの研究結果から胎生時におけるレチノイン酸（RA）シグナルの異常が上記病態に關与することが証明されている。本研究ではRAを過剰摂取させ口蓋裂を発症したマウスにおいて舌骨筋を含む顎顔面の筋肉の欠損や変性がみられることを確認し国際誌に発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

顎顔面筋の胎生期における発生メカニズムは体幹筋のそれに比較すると未解明な部分が多い。ヒト疾患においても先天的に顔面筋が欠損する場面がある事が知られているが細胞生物学的なメカニズムは不明である。今回の我々の解析から適切なレチノイン酸シグナルが胎生期における顔面筋の前駆細胞の発生に必要な不可欠であることを解明した。本研究の成果は顎顔面筋の異常を伴う先天性疾患の新たな分子生物学的、細胞生物学的なメカニズムを解明したものであり将来的に新たな診断方法や治療方法の開発の基盤となる結果である。

研究成果の概要（英文）：Congenital craniofacial defects are one of the most frequent symptoms which could be detected among all congenital diseases. Craniofacial defects could also be associated with craniofacial muscle malformation. However, the mechanism underlies cranial muscle deformities is largely unknown. In the present research project, we investigated the effect of exaggerated embryonic retinoid signaling and found severe defects in cranial muscle development. This is a new molecular mechanism to explain congenital cranial muscle defects which was published in an international journal.

研究分野：矯正歯科

キーワード：顎顔面筋 顎顔面形成不全 レチノイン酸シグナル 胎児発生

1. 研究開始当初の背景

顎顔面形成異常は多種多様な機能不全や審美障害を伴い、患者の QOL を著しく低下させる。口唇口蓋裂はその中でも頻度の高い先天性異常であり、多様な表現型を示し、それぞれの症状のメカニズムは完全には理解されていない。過去の研究や代表者の所属する研究室のこれまでの研究結果から胎生時におけるレチノイン酸 (RA) シグナルの異常が上記病態に関与することが証明されている。また、過去の研究では二次口蓋癒合時期の舌の動態と口蓋裂の発生の関連についての報告がある。代表者の研究室では RA を過剰摂取させ口蓋裂を発症したマウスにおいて舌骨筋を含む顎顔面の筋肉の欠損や変性がみられることを既に確認している。本研究では母体に RA を投与し口蓋裂を発症したマウスの顎顔面、特に舌運動に関連する筋肉の形態および組織学的表現型、筋肉の機能を詳細に解析し、口蓋裂の発症に関連する RA シグナルの機能解明を行う。本研究の遂行により上記疾患等に対する基礎的な理解が深まり、RA シグナル異常により誘発される顎顔面形成異常の予防法や治療法の確立に貢献することが期待できる。

2. 研究の目的

顎顔面の発生には様々な顔面突起の適切な成長及び癒合が必要不可欠である。また、その過程において顎顔面を形成する骨も同時に分化発生し生命維持に不可欠な多くの顎顔面の臓器を保護し、咀嚼や発音等多くの生命機能を発揮するのに重要な役割を果たす。異常な顔面突起の成長や癒合、骨形成の異常は顎顔面形成不全の原因となり、その中でも口唇口蓋裂は日本での発生率が 1/500 と非常に高く、高頻度で発生する疾患である。口唇口蓋裂は国内外問わず多くの研究者が様々な分子メカニズムと同疾患の関連性についての研究を行っており、矯正歯科医療の分野との関連も非常に強い。特に口蓋裂発症の部位となる二次口蓋の発生は、胎生期に左右の口蓋突起がまずは下方に成長し、水平方向に翻転、伸長し、最後に口蓋突起の先端部の上皮組織が取り除かれ、間葉組織が連続することで癒合し、形成が終了する。この形態変化および形成は、時間的・空間的に厳密に制御されており、この過程のいずれかが障害されると口蓋裂が生じる。ヒトの場合、RA の過剰摂取によって、小耳症・小顎症・口蓋裂といった頭蓋顔面構造の異常や、心疾患、胸腺の異常、網膜や視神経の異常といった中枢神経系の構造異常などの胎児の催奇形性を惹起することがこれまでも報告されている (Lammer EJ et al. (1985) 313:837-41)。また、筆者の研究室では、母体に RA を過剰摂取させたマウスにおいて、胎児に口蓋裂が生じる割合が上昇することを明らかにしている。さらに同マウスにおいて、顎顔面の筋肉の欠損や変性がみられることを既に確認している。口蓋裂の発症には顎顔面の筋肉の発達不全に伴う下顎の位置や動きの異常が関連する場合があると考えられている。例えばピエールロバン症候群のマウスにおいて、下顎が過小であることにより二次口蓋癒合時に舌が口蓋突起の間に入り込み口蓋裂が生じるという報告 (Giudice et al., 2018) や、さらには二次口蓋癒合時期の舌の動きと口蓋裂の発生の関連も報告されている (Regina M. Friedl., Disease Models & Mechanisms (2019) 12, dmm039073)。このことから、舌運動に関連する筋肉の変性もしくは神経伝達の障害が口蓋裂を誘発している可能性が推察される。この現象の分子的要因を明らかにすることが本研究での目的であった。

3. 研究の方法

妊娠マウスを用いて、口蓋裂の発生率が高いと既に明らかになっている胎生 8.5 週のステージにおいて、RA を経口摂取させ、胎児の二次口蓋の癒合時期前後にみられる顎顔面の筋肉の解剖学的及び組織学的な変化を解析した。顎顔面筋の前駆細胞のマーカーとしては Pitx2, Tbx1, MyoD 等の染色を行った。またこれらのマーカーと共に細胞死、細胞増殖を解析し胎生期における過剰な RA シグナルが顎顔面筋の前駆細胞発生に与える影響やその後の顎顔面筋の成熟の過程においてどのように作用するのかを解析した。

4. 研究成果

マウス胎性発生時の頭部における発生過剰な RA シグナルを発現するマウスモデル実験系を確立し、同モデルマウスにおいて顎顔面筋の部位特異的な欠損が引き起こされる事を発見した。また上下顎骨が癒合する事も明らかとし詳細なメカニズムの解明を継続していた。最終年度である本年度の研究において頭部発生時の過剰な RA シグナルは顎顔面筋の前駆細胞である頭部間葉細胞の過剰な細胞死を誘導する事が明らかとなった。また分子病態として頭部間葉細胞の運命決定や維持に重要な Pitx2, Tbx1, MyoD, Islet1 の発現が低下する事を解明し国際誌に発表した (Wang Q, Xu L, Miura J, Saha MK, Uemura Y et al. Front Cell Dev Biol. 2021 Jul 9;9:596838)。現在は更に RA シグナルを低下させた実験系を確立し、RA シグナルと顎顔面筋の発生との関連を探索している。興味深い事に RA シグナルを低下さ

せた胎児においての顎顔面筋は過剰な RA シグナルを示す個体と比較して表現型が軽度であることを解明した。この事は胎生発生時には組織特異的な RA シグナルに対する反応性が存在する事を示唆するものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yume Uemura, Tahsinul Haque, Fumihiko Sato, Yumi Tsutsumi, Haruka Ohara, Ayaka Oka, Takahiro Furuta, Yong Chul Bae, Takashi Yamashiro, Yoshihisa Tachibana, Atsushi Yoshida	4. 巻 225
2. 論文標題 Proprioceptive thalamus receiving forelimb and neck muscle spindle inputs via the external cuneate nucleus in the rat	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain Structure and Function	6. 最初と最後の頁 2177-2192
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00429-020-02118-2	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 該当する

1. 著者名 Wang Qi, Xu Lin, Miura Jiro, Saha Mithun Kumar, Uemura Yume, Sandell Lisa L., Trainor Paul A., Yamashiro Takashi, Kurosaka Hiroshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Branchiomic Muscle Development Requires Proper Retinoic Acid Signaling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcell.2021.596838	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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔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		
米国	Stowers Institute for Medical Research	University of Louisville	
サウジアラビア	King Saud University		
韓国	Kyungpook National University		