

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K17157

研究課題名（和文）中顔面形成におけるmicroRNAの機能解析

研究課題名（英文）Study for investigating the role of microRNAs in midface formation

研究代表者

大澤 知朗（Osawa, Kazuaki）

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号：10882277

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：中顔面の陥凹は、外科的矯正治療などを必要とする大きな異常であり、家族性の症候群の症状の一つとして認められる。その一方、非家族性としても多く見られ、これはゲノムの異常が原因ではないことを意味する。本研究は、エピジェネティクス因子の一つであるmicroRNAが欠損したマウスで認められる中顔面の陥凹の発症機序を検索した。本研究の結果より、正常な顔面形成中の神経堤由来細胞では、microRNAの発現によりDNA損傷が回避されていることが示唆された。非家族性の中顔面陥凹は、通常はmicroRNAを介して回避されているはずのDNA損傷が回避されず、老化シグナルが惹起された結果引き起こされた可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

審美的な要求度の高い顔面における異常は、患者のquality of lifeに大きな影響を与える。中顔面陥凹は外科的矯正治療などを必要とする大きな顔面異常である。その多くは非家族性として認められるが、発症機序は謎のままである。本研究結果は、顔面形成に、ゲノムではないエピジェネティクス因子の一つであるmicroRNAが関与していることを示した。その本研究成果の意義は極めて大きい。今後、正常な顔面形成を促すための出生前治療の確立に大きく貢献できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Midface deficiency is a major anomaly that requires surgical orthodontic treatments. Midface deficiency is observed in syndrome patients, while it is also found as a non-familial condition. Non-familial midface defects are not caused by genomic abnormalities. This study investigated pathogenesis of midface deficiency observed in mice with defect of microRNA, one of the epigenetic factors. The results suggest that DNA damage is avoided by microRNA expression in neural crest-derived cells during normal facial development. It is possible that non-familial midface deficiencies are caused by the induction of senescence signals due to presence of DNA damage which is induced by changes in microRNA expression.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：microRNA

## 1. 研究開始当初の背景

中顔面の陥凹は、外科的矯正治療などを必要とする大きな異常である。中顔面の陥凹は、家族性の症候群の症状の一つとして認められることがある一方、非家族性としても多く見られる。非家族性中顔面陥凹は、非家族性であるためゲノムの異常が原因ではない。

## 2. 研究の目的

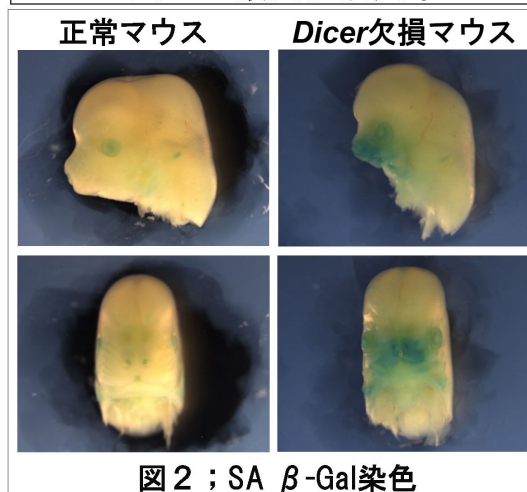
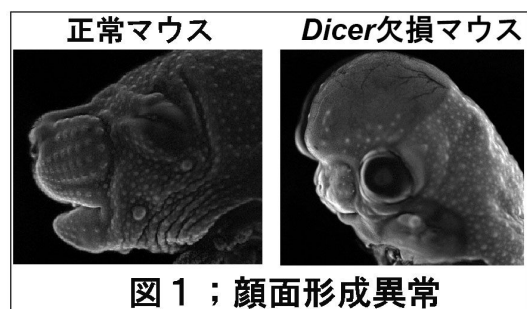
ゲノム以外の分子制御機構には、エピジェネティクスが知られており、複数あるエピジェネティクス因子の一つに microRNA がある。microRNA は、ターゲットのメッセンジャーRNA と結合することで、分子の発現量の調整を行う。1つの microRNA は複数～数百の遺伝子をターゲットにするため、1つの microRNA の変化でもその分子変動は広範囲に渡る。顔面領域を形成する神経堤由来細胞のみで microRNA が欠損したマウス ( $Dicer^{fl/fl}; Wnt1Cre$ ) では、中顔面の陥凹が認められることが報告されており、microRNA が中顔面領域の形成に必須であることを示している。しかし、 $Dicer^{fl/fl}; Wnt1Cre$  マウスの中顔面陥凹の発症メカニズムについての詳細な解析は報告されていない。そこで、本研究では、 $Dicer^{fl/fl}; Wnt1Cre$  マウスで、どのような分子変化によって中顔面陥凹が引き起こされるかを検索することを目的とする。

## 3. 研究の方法

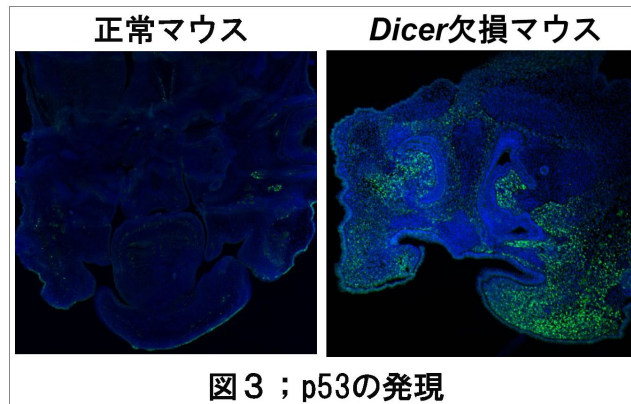
顔面領域を形成する神経堤由来細胞のみで microRNA が欠損したマウス ( $Dicer^{fl/fl}; Wnt1Cre$ ) に引き起こっている中顔面の陥凹の解析から、中顔面形成の発生メカニズムを把握する。

## 4. 研究成果

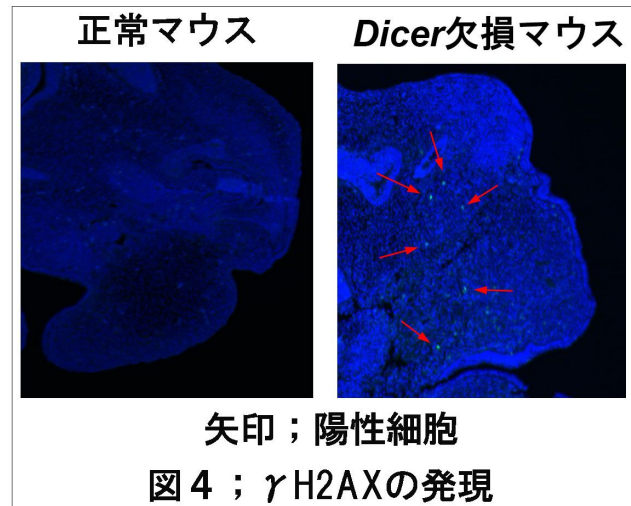
神経堤由来細胞のみで microRNA が欠損したマウス ( $Dicer^{fl/fl}; Wnt1Cre$ ) では、中顔面の陥凹が認められる (図 1)。この  $Dicer^{fl/fl}; Wnt1Cre$  マウスの中顔面に、老化が活性化していた。老化の活性は、ガラクトシダーゼ (senescence-associated galactosidase; SA-β-Gal) の染色によって検索したが、個体によるばらつきが大きかった。そこで、様々な条件設定を試した結果、pH6.0 で 8 時間の染色を行うことで、安定した結果が得られるようになった (図 2)。老化関連分子である p53 を免疫染色で確認したところ、野生型マウスでは陽性細胞はあまり観察できなかったが、 $Dicer^{fl/fl}; Wnt1Cre$  マウスでは多くの陽性細胞が認められた (図 3)。老化シグナルの誘導原因の一つに DNA



損傷が知られている。そこで、DNAの損傷の有無を確認するために、DNA 損傷マーカーである H2AX の免疫染色を行った。その結果、野生型マウスでは H2AX の陽性細胞は全く観察できなかったが、*Dicer<sup>flf</sup>;Wnt1Cre* マウスでは複数の H2AX 陽性細胞が認められた(図4)。



これらの結果は、正常な顔面形成中の神経堤由来細胞では、microRNA の発現により DNA 損傷が回避されていることを示している。そのため、microRNA の欠損は DNA 損傷を引き起こし、それによって老化シグナルが活性化すること、活性化された老化シグナルは、p53 シグナルを惹起することで細胞増殖の停止を誘導する。細胞増殖が停止したために、中顔面の形成が抑制されたことを示している。非家族性の中顔面陥凹は、microRNA の発現の不具合によって、通常は回避されているはずの DNA 損傷が回避されないことで、老化シグナルが惹起された結果であるか可能性がある。



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 Osawa Kazuaki, Nihara Jun, Nishiyama Hideyoshi, Takahashi Kojiro, Honda Ayako, Atarashi Chihiro, Takagi Ritsuo, Kobayashi Tadaharu, Saito Isao	4. 巻 45
2. 論文標題 A three-dimensional investigation of mandibular deviation in patients with mandibular prognathism	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery	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） 10.1186/s40902-023-00372-y	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
---------	---------