

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K10206

研究課題名(和文) ヒストンアセチル化酵素による顎顔面形態形成の制御機構の解明

研究課題名(英文) Regulation of maxillofacial morphogenesis by histone acetylases.

研究代表者

寺尾 文恵 (Terao, Fumie)

九州大学・歯学研究院・助教

研究者番号：10510018

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)：われわれは、これまで、胎生期における顎顔面のパターン形成制御機構の解明を試みてきた。顎顔面領域の発生におけるエピジェネティック制御機構に着目し、ヒストンアセチル化酵素(Histone acetyltransferase, HAT)による顎顔面形成の形態制御メカニズムの解明を目指すこととした。マウス胎生期下顎隆起由来細胞の細胞培養および下顎隆起器官培養において、HAT阻害剤であるC646を用いることにより、下顎隆起の発育およびメッケル軟骨の形成の抑制が認められた。このことから、マウス胎生期下顎隆起の形態形成におけるエピジェネティックな制御との密接なかわりを示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HATの一つであるp300は、マウス胎生期下顎隆起細胞の増殖・分化に深く関わり、下顎隆起の形態形成において、重要な役割を果たしていることが分かった。この結果は、エピジェネティック要因による顎顔面領域における形態形成の制御機構の解明と顎顔面領域における奇形・発育異常などの問題の解決に対して、基盤的知識の蓄積に貢献するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)： We have attempted to elucidate the regulatory mechanisms of maxillofacial patterning during embryonic development. Focusing on epigenetic control mechanisms in the development of the maxillofacial region, we aimed to elucidate the morphological control mechanisms of maxillofacial formation by histone acetyltransferases (HATs).

In cell cultures of cells derived from the embryonic mouse mandibular process and in mandibular process organ cultures, the use of the HAT inhibitor C646 inhibited the development of the mandibular ridge and Meckel's cartilage formation.

This suggests a close involvement of epigenetic regulation in the morphogenesis of the mouse embryonic mandibular process.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：歯学 発生・分化 ヒストンアセチル化

## 1. 研究開始当初の背景

顎顔面領域における奇形・発育異常および症候群などの疾患に起因する咬合異常に対して行う歯科矯正治療において、顎顔面骨格の成長発育の制御は長年の課題であり、上顎骨や下顎骨の形や大きさの異常や両者のアンバランスによって、咬合不正や顔の変形などの症状を呈する。顎顔面形態の異常は、遺伝的な要素が存在する場合もあるが、ほとんどは原因不明であるため、顎顔面の表現型を決定づける因子とその発現調節機構の解析が急がれる。

胎生期の顔面領域では、時間的・領域特異的に発現するサイトカインや転写因子などの塩基配列を介する遺伝子発現調節メカニズムによる顎顔面領域における形態形成の制御に関する研究は大きく進んでいるのに対し、塩基配列を介さない遺伝子発現調節メカニズムであるエピジェネティック要因による形態制御やエピジェネティック要因によって制御される遺伝子の変化による異常に関する研究はあまり進んでいないのが現状であり、エピジェネティックな変化によって引き起こされる顎顔面領域の形態異常発症メカニズムの解明が急がれる。

## 2. 研究の目的

ヒストンのアセチル化は、ヒストン構造に変化させることによりヒストンに巻きつく DNA を物理的に弛緩させ転写活性を増加させるため、エピジェネティクス機構のなかで重要な仕組みの一つと考えられている。

われわれは、以前、顎顔面領域の発生におけるエピジェネティック制御機構に着目し、ヒストン脱アセチル化酵素(Histone deacetylase, HDAC)の阻害は、下顎隆起細胞の増殖、下顎隆起のパターン形成を乱すことを示した。

本研究では、HDAC とは逆の働きを有するヒストンアセチル化酵素(Histone acetyltransferase, HAT)に着目し、HAT による顎顔面形態形成の制御機構を解明することにより、HAT/HDAC によるアセチル化バランス制御を介した、顎顔面領域の形態制御メカニズムの解明を目指して研究を行った。

## 3. 研究の方法

HAT の一つとして p300 に注目し、p300 選択的阻害剤である C646 を用いて下記の実験を行った。

- (1) マウス胎生期下顎隆起由来細胞の単層培養における p300 阻害  
C646 の添加条件下で単層培養を行い、経時的な細胞増殖の変化を観察した。
- (2) マウス胎生期下顎隆起の高密度培養における p300 阻害  
マウス下顎隆起を摘出、細胞を分散、高密度で培養することにより軟骨分化を促進する条件下で C646 を添加し、p300 の阻害を行った。アルシアンブルー染色を行い、軟骨ノジュール形成を観察した
- (3) マウス胎生期下顎隆起の器官培養における p300 阻害  
下顎隆起の器官培養に C646 を添加して培養を行った。ホールマウントアルシアンブルー染色にてメッケル軟骨の形成を確認した。また、培養した器官を固定、パラフィン包埋後、切片を作製し、H-E 染色にて組織学的変化を検討した。

## 4. 研究成果

- (1) マウス胎生期下顎隆起由来細胞の単層培養における p300 阻害  
C646の添加は、ヒストンH3のアセチル化を減少させることを確認した。また、細胞増殖の変化を観察したところ、下顎隆起由来細胞の細胞増殖が有意に低下することがわかった。

この結果から、胎生期下顎隆起由来細胞において、HATは細胞増殖を制御していることが示唆された。

- (2) マウス胎生期下顎隆起の高密度培養における p300 阻害

高密度培養後、アルシアンブルー染色を行い、軟骨ノジュール形成を観察したところ、C646の添加により軟骨ノジュールの形成が抑制された。このことから、胎生期下顎隆起由来細胞において、HATは間葉細胞の軟骨分化を制御していることが示唆された。

( 3 ) マウス胎生期下顎隆起の器官培養における p300 阻害

マウス下顎隆起の器官培養において、培地にC646を添加は下顎隆起の発育およびメッセル軟骨の形成を抑制することがわかった。

さらに、培養した器官を固定、パラフィン包埋後、切片を作製し、組織学的変化を検討したところ、軟骨組織形成の低下が認められた。

以上のことから、HATの一つであるp300によるマウス胎生期下顎隆起の形態形成制御メカニズムの存在が示唆された。

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 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tsuji K, Haruyama N, Nomura S, Murata N, Yoshizaki K, Mitsuyasu T, Nakano H, Nakamura S, Mori Y, Takahashi I	4. 巻 9
2. 論文標題 Characteristics of craniofacial morphology and factors affecting them in patients with isolated cleft palate	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PeerJ.	6. 最初と最後の頁 e11297
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7717/peerj.11297.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Haruyama N, Yamaza T, Suzuki S, Hall B, Cho A, Gibson CW, Kulkarni AB.	4. 巻 16
2. 論文標題 Leucine rich amelogenin peptide prevents ovariectomy-induced bone loss in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 e0259966
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0259966.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	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 寺尾 文恵, 春山 直人, 北原 亨, 森 悦秀, 高橋 一郎.
2. 発表標題 創外型骨延長装置を用いた上顎骨前方部の前下方への骨延長術を適用した両側性唇顎口蓋裂の1例
3. 学会等名 第80回日本矯正歯科学会学術大会&第5回国際会議
4. 発表年 2021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
研究 分 担 者	高橋 一郎  (Takahashi Ichiro)  (70241643)	九州大学・歯学研究院・教授    (17102)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	春山 直人  (Haruyama Naoto)  (70359529)	九州大学・歯学研究院・准教授     (17102)	

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