

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21013

研究課題名（和文）多因子疾患である口蓋裂発症における環境因子と遺伝因子の相互作用メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the interaction mechanism between environmental and genetic factors in the development of cleft palate, a multifactorial disease.

研究代表者

廣瀬 匠（HIROSE, TAKUMI）

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：60965276

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：口蓋裂は複数の遺伝因子と環境因子との相互作用により閾値を越えることで発症する多因子疾患であると考えられているにもかかわらず、そのメカニズムは明らかになっていない。本研究では口蓋裂の環境因子であるデキサメタゾン（DEX）と遺伝因子であるp63に着目し、相互作用の解明を目的とした。野生型マウスへDEXを投与した場合に対してp63ノックアウトマウスへDEXを投与した場合は口蓋裂の発症率が有意に低いことが明らかとなった。また、葉酸の添加によりDEXによる口蓋突起癒合不全が回復することが明らかとなり、そのメカニズムは葉酸がDEXによるp63の消失抑制を阻害することによる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口蓋裂は多因子疾患であると考えられているにもかかわらず、実際に環境因子と遺伝因子の相互作用のメカニズムは明らかになっていない。このことに焦点を当てるという点で学術的意義がある。環境因子と遺伝因子の相互作用のメカニズムが解明されることで今後の多因子疾患に対する新たな診断方法の確立や予防・治療法の開発の糸口となることが期待できるという点で社会的意義を有している。

研究成果の概要（英文）：Despite the fact that cleft palate is considered to be a multifactorial disease caused by the interaction of multiple genetic and environmental factors that cross a threshold, the mechanism of cleft palate remains unclear. In this study, we focused on dexamethasone (DEX), an environmental factor in cleft palate, and p63, a genetic factor, to elucidate their interaction. We found that the incidence of cleft palate was significantly lower when DEX was administered to p63 knockout mice than when DEX was administered to wild-type mice. In addition, folic acid treatment restored DEX-induced cleft palate fusion defects, suggesting that the mechanism may be that folic acid inhibits DEX-induced inhibition of p63 loss.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：口蓋裂 多因子疾患 環境因子

1. 研究開始当初の背景

口唇口蓋裂はヒトの顎顔面領域において最も一般的な先天性疾患であり、全世界で500～1000人に1人の割合で見られる。患者は咀嚼、嚥下、構音、聴覚障害や顔面形態の異常を伴うことにより、口腔外科や整形外科、歯列矯正、言語訓練、耳鼻科、心理カウンセリングなど多科にわたる集約的治療が必要となる。また治療に要する期間や費用、そして心理的影響も患者自身や家族に負担を与える。しかし、口蓋裂は様々な遺伝因子、環境因子が組み合わさり発症する多因子疾患と推察されているように単一遺伝子モデルでの解析には限界があり、発症メカニズムは未だに不明な点が多い。そのため発症メカニズムの解明を行うことで、治療や診断、予防のさらなる発展が望まれている。

上顎突起から発生した左右の口蓋突起が伸長し、舌の側方において下方向に成長した後、舌の上方の水平位置に挙上し、やがて正中で互いに接触することで正中上皮索 (medial epithelial seam : MES) が形成され癒合が開始する。そしてMESが完全に消失することで癒合は完了し、二次口蓋が完成する。このいずれかの過程での障害や舌および下顎など口蓋突起周囲組織の構造異常が口蓋裂発症の原因であると考えられている。臨床的に最も使用されている合成副腎皮質ホルモンの一つであるDEXは口蓋裂発症の原因となる環境因子として知られており (Carmichael SL, *et al.* 2007, Am J Obstet Gynecol, PMID: 18060943)、妊娠マウスへのDEXの腹腔内投与が胎仔の口蓋裂を誘発すること (Zhou J, *et al.* 2011, J Biomed Biotechnol, PMID: 20814536) が分かっている。申請者は野生型マウスにDEXの腹腔内投与を行い口蓋の観察を行うことで、DEXの腹腔内投与による口蓋裂の発症頻度は濃度依存性があること、DEXによる口蓋裂発症の原因が口蓋突起の挙上不全や伸長不全ではないこと、DEXが口蓋突起癒合予定領域上皮におけるStat3のリン酸化を抑制することを明らかにした。また、両側の口蓋突起内側縁上皮同士を接触させた状態 (口蓋突起上皮接触モデル) で培養を行うことで、DEXが口蓋突起の癒合不全を引き起こしていること、MESの運命決定因子であるp63の消失、増殖能の減少、アポトーシスを抑制していることを明らかにした。p63を減少させることでTgfb β ノックアウト (KO) マウスにおいて口蓋裂を回復することができることが報告されている (Richardson R, *et al.* 2017, PLoS Genet, PMID: 28604778)。このようにDEXは遺伝因子であるp63と相互作用がある可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究では研究代表者が明らかにした DEX の投与で口蓋突起上皮の癒合不全が起こること、MES の運命決定因子である p63 の消失が抑制されることから、口蓋裂の環境因子である DEX と遺伝因子である p63 の相互作用の解明を目的とした。

3. 研究の方法

実験 p63 KO マウスへの DEX 投与による口蓋裂発症率の検討

口蓋突起上皮接触モデルを用いて胎生 13.5 日の p63 KO マウスへ DEX 投与を行い、48 時間培養後に回収し、凍結切片を作製した。その凍結切片を用いてヘマトキシリン・エオジン染色及び、免疫組織化学染色を行った。

実験 DEX による MES の消失阻害を正常化する化合物の探索および p63 への影響の解析

口蓋突起上皮接触モデルを用いて胎生 13.5 日の野生型マウスへ DEX に加えて葉酸 (FA) 投与を行い、48 時間培養後に回収し、凍結切片を作製した。その凍結切片を用いてヘマトキシリン・エオジン染色及び、免疫組織化学染色を行った。

4 . 研究成果

実験

口蓋突起上皮接触モデルを用いて胎生 13.5 日の *p63* KO マウスへ DEX 投与を行い、48 時間培養後に回収し、凍結切片を作製した。その凍結切片を用いてヘマトキシリン・エオジン染色及び、K-17 の免疫組織化学染色を行った。その結果、野生型のマウスでは 12 サンプル中 11 サンプル (91.7%) が MES の残存を認めたのに対して *p63* KO マウスでは MES の残存を認めたのは 7 サンプル中 28.6% であった (図 1)。

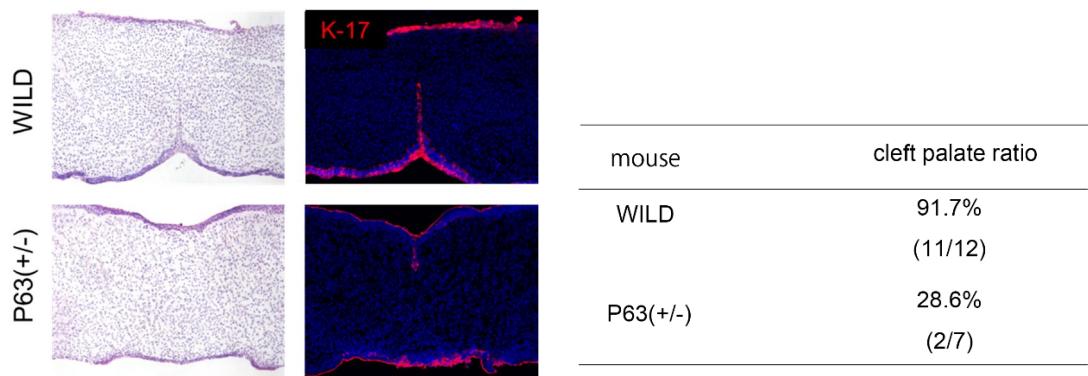


図 1:野生型マウスと *P63* KO マウスへの DEX 投与による影響の比較

実験

口蓋突起上皮接触モデルを用いて胎生 13.5 日の野生型マウスへ DEX に加えて葉酸 (FA) 投与を行い、48 時間培養後に回収し、凍結切片を作製した。その凍結切片を用いてヘマトキシリン・エオジン染色及び、*p63* と E-cadherin の免疫組織化学染色を行った。その結果、DEX 投与群では 91.7% に MES の残存を認めたのに対し、DEX+FA 投与群では MES の残存を認めたのは 20% であった。また、DEX+FA 投与群では *p63* 及び E-cadherin の消失を認めた。

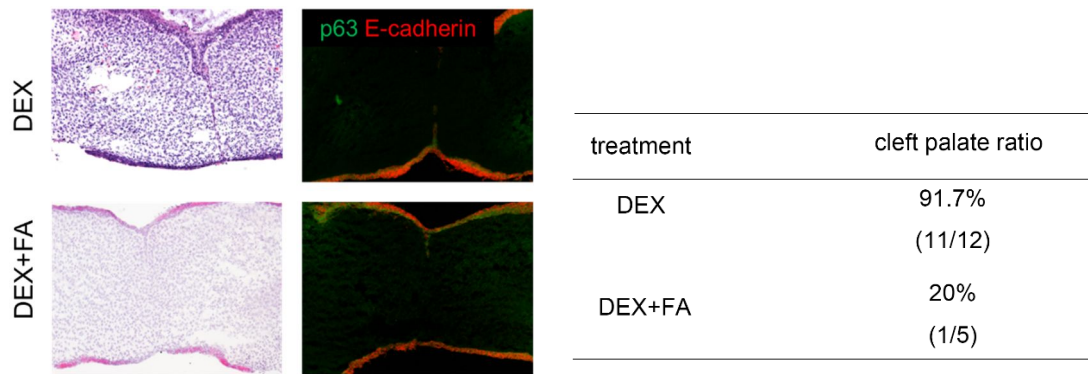


図 2:葉酸による DEX 投与群の口蓋突起癒合不全の回復

本結果により、口蓋裂の遺伝因子である *p63* と環境因子である DEX には相互作用があることが示唆された。また、DEX により誘発される口蓋裂に対して葉酸による回復が見込めることが明らかとなった。これは葉酸が DEX による *p63* の消失抑制を阻害することによる可能性が見出された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 廣瀬 匠
2 . 発表標題 口蓋突起癒合におけるデキサメタゾン（DEX）投与の影響について
3 . 学会等名 第48回日本口蓋裂学会総会・学術集会
4 . 発表年 2024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
---------	---------