

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23792450

研究課題名(和文) コンソミックマウスを用いた下顎角の大きさを規定する遺伝要因の検討

研究課題名(英文) Molecular genetic investigation of size of mandibular angle in consomic mice

研究代表者

小川 京(ogawa, kei)

日本大学・松戸歯学部・助教

研究者番号：20453889

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円、(間接経費) 450,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は下顎角の大きさの異なるマウスを用いて、下顎角の大きさを規定する遺伝子が存在する染色体領域について検討することを目的として行った。マウスのDNAを抽出し、B6、C3H系統間で多型のあるDNAマーカーを設定し分析したところ、D13Mit76の近傍に大きさを規定する遺伝子の存在する可能性が示唆された。コンソミックマウスの下顎角の大きさを測定した結果、13番染色体が関わっている可能性が示唆された。環境要因が与える影響について検討するため、ラット上顎臼歯を5週齢で抜歯し粉末飼料で飼育し、マイクロCTで経時的に下顎角の大きさを計測した。抜歯群は7～20週齢までコントロール群よりも有意に大きかった。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to identify the chromosomes harboring candidate causative genes for size of mandibular angle using DNA from mice with different size of mandibular angle. Using DNA markers with polymorphisms in the C3H and B6 strains, linkage analysis and quantitative trait locus analysis were conducted. This suggests that the candidate chromosomes harboring causative genes for mandibular angle are linked with D13Mit76. Furthermore consomic mice mandibular angle were measured, it was suggested that the No.13 chromosome is concerned with regulation. Furthermore the objective of this study was to elucidate the influence by an environmental factor on the jawbone over time. Micro-CT was used to scan the heads of rats that underwent extraction of all maxillary molars at age 5 weeks and were reared on a powdered diet, and changes in jawbone morphology up to 20 weeks were investigated. In the extraction group, mandibular angle was significantly larger from 7 weeks to 20 weeks.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児歯科学

キーワード：下顎角の大きさ マウス ラット 遺伝子 micro-CT

## 1. 研究開始当初の背景

小児期から成人期に向かって健康な咀嚼器官を完成させることは重要な小児歯科臨床の一分野である。小児期の顎顔面形態から同一個人の成人期の顎顔面形態を予測できるか、親の不正咬合は子どもに遺伝するのか、あるいは両親どちらの顎顔面形質が強く発現するのかなど、顎顔面領域の成長予測は小児歯科学において興味深いテーマであるが、その解明は極めて難しい。しかし、その一端を明らかにすることは重要である。臨床において反対咬合児の下顎角の大きさを測定して成人期での反対咬合状態を予想している。これまでに下顎骨の大きさあるいは歯の大きさを決定する遺伝子を探る報告はされているが、マウス下顎角の大きさを決定する遺伝子について言及した報告はみられない。そこで当教室において下顎角の大きさに遺伝要因が関与しているか否かについて着目した。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究は、下顎角の角度を規定する遺伝子が存在する染色体領域の探索を目的として、C57BL/6 および C3H 系統マウス、これらマウスを交雑することで得られた F2 マウスを用いて、下顎角の大きさを測定し、量的形質遺伝解析 (QTL 解析) 法を行うことにより下顎角の大きさを規定する遺伝子が存在する染色体領域について検討する。さらに下顎角の角度を規定する遺伝子が存在すると考えられる染色体のみ MSM に置き換わった B6 MSM コンソミックマウスと C57BL/6 系統マウスの下顎角の大きさを比較することにより、その染色体が下顎角の大きさにどのような影響を与えているかについて検討する。

(2) 環境要因が顎骨の形態に与える影響について検討することを目的として、ラットの咀嚼機能を低下させ、マイクロ CT を用いて、

経時的に下顎骨の計測を行った。

またこのラットの下顎頭における下顎頭の軟骨細胞への影響を観察するため、骨形態計測を行った。

## 3. 研究の方法

(1) 2 系統の近交系マウスを用いた QTL 解析によるアプローチ実験動物

### 下顎角の測定

生後 21 日齢の C57BL/6 系統及び MSM 系統マウスを購入する。本学動物実験センターで C57BL/6 系統及び C3H 系統マウスを交配し、F1 マウスを得て、さらに F1 マウス同士を交配させ F2 マウスを得る。これらマウスの下顎角の角度を測定する。

### 下顎角の QTL 解析

これらマウスの DNA を抽出し、第 1 ~ 19 番染色体にそれぞれに複数の DNA マーカーを設定し、PCR-電気泳動法にて各 F2 マウスの遺伝子型を分析する。QTL 解析に必要な Strain Distribution Pattern はすでに報告されている 789 の多型マーカーの情報を利用する。これらのマーカーは約 5 cM の間隔で染色体上に位置している。QTL 解析法の 1 つである Interval mapping は QTL 解析ソフト Map Manager QTb 28 を用いて行う。

(2) コンソミックマウスを用いたアプローチ

下顎角の角度を規定する遺伝子が存在すると考えられる染色体のみ MSM に置き換わった B6 MSM コンソミックマウスと C57BL/6 系統マウスの下顎角の大きさを比較する。

(3) 咀嚼機能低下ラットにおける下顎骨の形態分析

Wistar 系ラットを購入し、以下の 2 群 (各 6 匹) に分けた。抜歯群: 5 週齢に全身麻酔下にて上顎両側臼歯をすべて抜歯し、粉状試料にて飼育した。コントロール群: 固形

標準食にて飼育した。すべてのラットに対して 5~20 週齢に至るまで経時的に頭部を *in vivo* マイクロ CT で撮影した。得られた画像を 3 次元構築し、下顎骨の計測を行った。計測項目（下顎角，下顎長径，下顎高径）さらに 20 週齢における下顎骨の体積，下顎骨の骨密度を解析ソフト 3D-BON を用いて測定した。これらの平均および標準偏差を算出し，Student's T-test により有意差検定を行った。

#### (4) 下顎頭部の骨形態計測

(3) のラットの下顎骨を 20 週齢で摘出し，アルコール固定し，非脱灰薄切標本を作製し下顎頭部の骨形態計測を行った。

### 4. 研究成果

(1) 2 系統の近交系マウスを用いた QTL 解析によるアプローチ実験動物

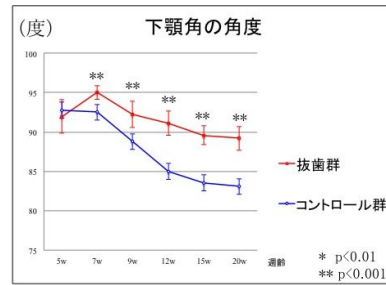
3 か月齢の F2 マウスの下顎角の大きさを測定した結果，85~99 度に分布した。また F2 マウス QTL 解析したところ，D13Mit76 の近傍に下顎角の大きさを規定する遺伝子の存在する可能性が示唆された。

(2) コンソミックマウスを用いたアプローチ

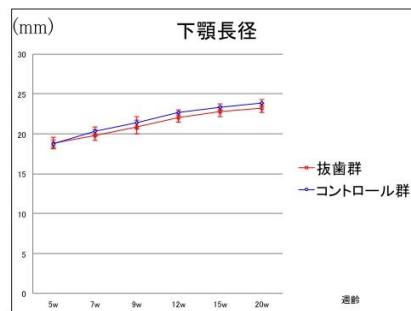
B6-Chr13MSM コンソミックマウスの下顎角の大きさを 3 か月齢にて測定した結果，B6 系統よりも小さかったことから，13 番染色体が下顎角の大きさの規定に関わっている可能性が示唆された。

(3) 咀嚼機能低下ラットにおける下顎骨の形態分析

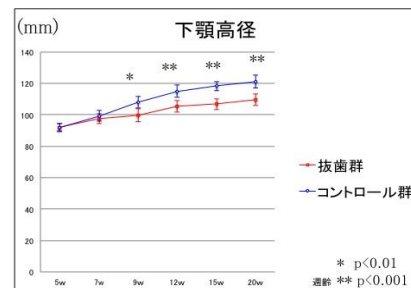
下顎角の大きさ：抜歯群とコントロール群ともに経時的に下顎角は小さくなるが，7 週齢以降 20 週齢まで抜歯群はコントロール群に比べ有意に大きく，経時的にその差は大きくなる傾向にあった。



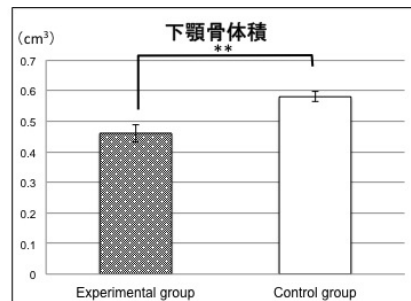
下顎長径：抜歯群とコントロール群ともに経時的に下顎長径は大きくなるが，5，7，9，12，15，20 週において群間に有意差を認めなかった。



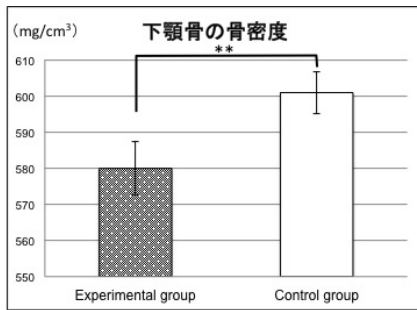
下顎高径：抜歯群とコントロール群ともに経時的に下顎高径は大きくなるが，9 週齢以降 20 週齢まで抜歯群はコントロール群に比べ有意に小さかった。



下顎骨体積：20 週齢において抜歯群はコントロール群に比べ有意に小さかった。



下顎骨の骨密度：20 週齢において抜歯群はコントロール群に比べ有意に小さかった。



(4) 下顎頭部の骨形態計測

下顎頭の軟骨細胞の配列のみだれや静止，増殖，肥大細胞の比率の変化が認められた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Norioki Abo, Kei Ogawa, Kunihiko Shimizu : Craniofacial development in rats fed on powdered diet following extraction of all

upper molars, International Journal of Oral-Medical Sciences vol.12 No3,2014, 査読あり

Hisayoshi Muramatsu, Xi Zhang and Kei ogawa : Jawbone morphology in rats with extracted maxillary molars reared on powdered diet, Pediatric Dental Journal Vol.22, No1, 2012, 8-15, 査読あり

〔学会発表〕(計 3 件)

上顎臼歯抜歯および粉状飼料下にて継代飼育したラットにおける顎骨への影響  
小川京, 柴崎兼次, 山本晴子, 清水武彦, 前田隆秀 第 51 回 日本小児歯科学会大会 2013 年 5 月 24 日

上顎臼歯抜歯および粉状飼料がラット顎骨に及ぼす影響の検討 小川京, 張溪, 阿保憲興, 前田隆秀第 50 回 日本小児歯科学会大会 2012 年 5 月 12 日

Effects of mastication dysfunction in parental rats and progeny X. ZHANG, K. OGAWA and T. MAEDA 41st Annual Meeting & Exhibition of the AADR 36th Annual Meeting of the CADR Tampa, Fla., USA, 2012, March 21-24

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小川 京 (OGAWA, Kei)  
日本大学・松戸歯学部・助教  
研究者番号：20453889

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：