

令和元年6月10日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15835

研究課題名(和文)個別化医療を目指した歯根形態異常予防因子の解明

研究課題名(英文)To elucidate preventive factors of dental root anomalies aiming at personalized medicine

研究代表者

小川 卓也(OGAWA, TAKUYA)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・准教授

研究者番号：50401360

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：歯根吸収予防のための歯根形態異常に関わる因子の同定は、矯正歯科臨床において喫緊の課題である。本課題では、当科における歯根短小を示す患者の実態を明らかにするとともに、歯根長の異常を認める希少遺伝性疾患であるoculofaciocardiodental (OFCD) 症候群の原因遺伝子であるencoding BCL-6-interacting corepressor (BCOR)と核細胞質間輸送因子であるkaryopherin alpha (KPNA) familyとの相互作用を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

矯正歯科治療や歯の再植・移植といった治療や炎症により、歯根吸収が惹起され、動揺や脱落といった転帰をたどる症例は少なくない。本研究課題で得られた歯根長の異常を認める希少遺伝性疾患であるOFCD症候群の原因遺伝子であるBCORと核細胞質間輸送因子であるKPNAの相互作用に関する知見は、BCORにおける核移行の制御により、一旦歯根吸収を起こした歯根の再生や歯根吸収の抑制に向けた治療法の開発という基盤研究につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：To elucidate factors involved in dental root anomalies for prevention of root resorption is a pressing issue in orthodontic treatment. Mutations in the gene encoding BCL-6 corepressor (BCOR) are responsible for oculofaciocardiodental (OFCD) syndrome, which is a rare X-linked dominant disorder characterized by radiculomegaly of permanent teeth as the most typical symptom. In this study, we clarified the interaction between BCOR and the karyopherin alpha (KPNA) family comprises unclear import proteins involved in the transport of molecules from the cytoplasm into nucleus. In addition, we investigated the actual conditions of patients showing short root in our department.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：歯根形成 OFCD症候群

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

矯正歯科治療や歯の再植・移植といった治療や炎症により、歯根吸収が惹起され、動揺や脱落といった転帰をたどるケースは少なくない。そのため、歯根吸収のリスクを高めるバイオマーカーの解明は、予知性の高い治療が行えるといった点や、一旦吸収が進んだ歯根の再生や歯根吸収の抑制に働く治療法の開発につながると思われるテーマである。しかしながら、現時点では、過度な矯正力、歯根吸収を起こしやすい体質の存在や、歯根の形態や長さによっても発症のリスクや吸収の程度は異なり、その原因やメカニズムはいまだ明確になっていないのが現状である。

人類遺伝学の発展に伴い、医科の領域では個々のゲノム情報を利用した個別化医療により、個々の体質にあった治療が可能となってきている。矯正歯科領域でも、個々の患者のゲノム情報を分析し、予め歯根吸収を起こすリスクが高い患者をスクリーニングすることができれば、より確実性の高い治療が行うことができると考えられる。

2. 研究の目的

本課題では、疫学的・遺伝学的研究から得られた情報を統合し、個別化医療を目指した歯根形態異常の予防因子の解明を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 歯根形態に関するデータの蓄積

当分野に来院した初診時患者の臨床症状の蓄積ならびにデータベースの構築を行っている。このデータベースから、パノラマ X 線を用い歯根長の計測を行い、著明な短根を示す患者の抽出を行った。

(2) 希少遺伝性疾患 oculofaciocardiodental (OFCD) 症候群における責任遺伝子 encoding BCL-6-interacting corepressor (BCOR) の機能解析

OFCD 症候群は X 連鎖性優性遺伝形式の女性のみ発症する稀な疾患で、特異的顔貌、心臓および眼の異常、ならびに長い歯根といった臨床的特徴を認める。責任遺伝子である BCOR は転写抑制因子とされているが、その機能には不明な点が多い。矯正歯科治療のために便宜抜歯された形態異常を認めない乳歯ならびに永久歯から得られた培養歯根膜細胞において、核-細胞質輸送因子である karyopherin α (KPNA) の発現を reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) により検討した。その後、ヒト培養歯根膜細胞に発現していた KPNA と、OFCD 症候群において既に報告されている変異を有する BCOR を、COS7 細胞に強制発現させ、細胞内における変異 BCOR の局在の変化を免疫染色により検討した。さらに、核移行シグナル (NLS) プログラム解析 (NLS mapper ならびに PSORT II) によって同定された NLS 内のアミノ酸配列に変異を加えた BCOR においても同様の検討を行った。また、患者由来の培養歯根膜細胞において、歯根形成に関連の深い *SMADA*、*GLI1* および nuclear factor 1-C (*NF1C*) の mRNA の発現量を、正常コントロールと比較検討した。

4. 研究成果

(1) 当科を受診した患者の歯根長に関するデータベースを構築し、438 名における初診時のパノラマ X 線写真より著明な単根を示すものが 10 名に認められ、歯根の短小化以外にも、さまざまな歯に関する異常を認めた。

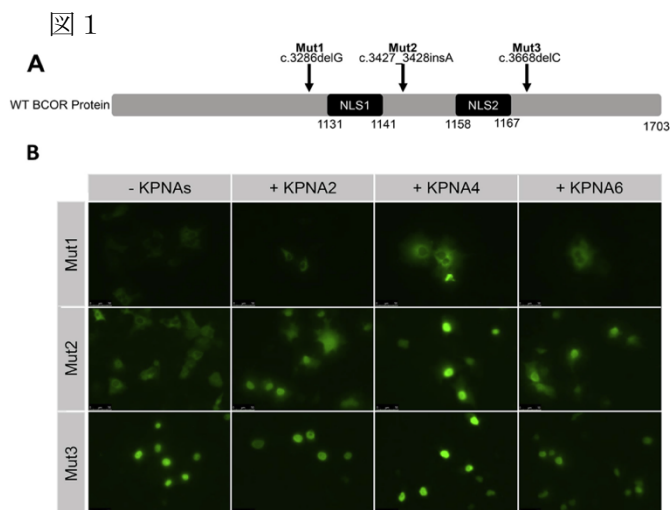
(2) 希少遺伝性疾患 OFCD 症候群における BCOR の機能解明

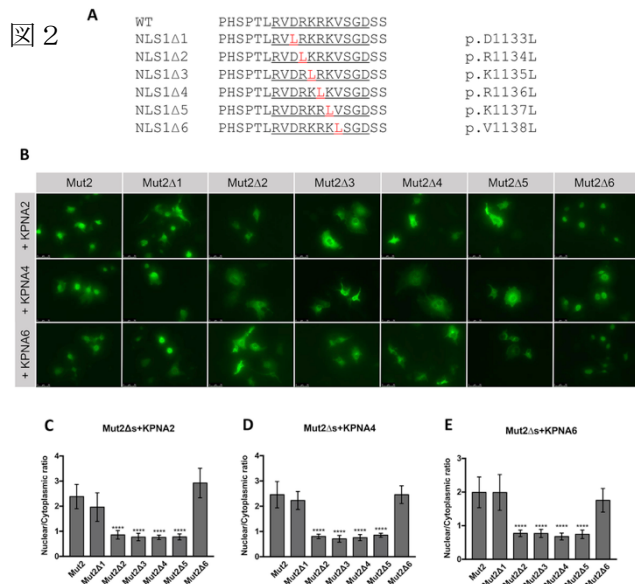
① 形態異常を認めない乳歯ならびに永久歯から得られた培養ヒト歯根膜細胞において、*KPNA2*、*KPNA4* ならびに *KPNA6* が発現し、免疫沈降によりそれぞれのタンパク質は BCOR と結合していた。

② 変異 BCOR は NLS を有しており、発現させると核内だけでなく細胞質にも局在を認めた。そこに *KPNA2*、*KPNA4* ならびに *KPNA6* をそれぞれ共発現させたところ、核内での局在を有意に増加させた (図 1)。しかしながら、karyopherin β 1 (*KPNB1*) との共発現では、その細胞質での局在に変化はなかった。

③ *KPNA2*、*KPNA4* ならびに *KPNA6* との共発現により核内に局在を認めた変異 BCOR は、NLS 内のアミノ酸配列を変異させると局在が有意に細胞質へと変化した (図 2)。

④ 患者由来の培養歯根膜細胞における *SMADA*、*GLI1* および *NF1C* の mRNA の発現量が、正常コン





コントロールと比較して有意に減少していた。

以上の結果より、BCOR の核移行に、古典的核移行シグナルである KPNA2、KPNA4 ならびに KPNA6 が関与していることが示唆された。また、患者由来の培養歯根膜細胞における *SMAD4*、*GLI1* および *NFIC* の mRNA の発現量が、正常コントロールと比較して有意に減少しており、BCOR の変異による SMAD4-Hedgehog-NFIC 経路の障害が、OFCD syndrome における歯根長に異常を生じる原因となっている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 8 件)

- ① Myat AB, Ogawa T, Kadota-Watanabe C, Moriyama K. Nuclear import of transcriptional corepressor BCOR occurs through interaction with karyopherin α expressed in human periodontal ligament. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 507(1-4):67-73, 2018. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.10.158. 査読有
- ② Wu Y, Kadota-Watanabe C, Ogawa T, Moriyama K. Combination of estrogen deficiency and excessive mechanical stress aggravates temporomandibular joint osteoarthritis in vivo. *Arch Oral Biol*. 102:39-46, 2019. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.03.012. 査読有
- ③ Funahashi K, Shiba T, Watanabe T, Muramoto K, Takeuchi Y, Ogawa T, Izumi Y, Sekizaki T, Nakagawa I, Moriyama K. Functional dysbiosis within dental plaque microbiota in cleft lip and palate patients. *Prog Orthod*. 25;20(1):11, 2019. doi: 10.1186/s40510-019-0265-1. 査読有
- ④ Araki M, Yasuda Y, Ogawa T, Tumurkhuu T, Ganburged G, Bazar A, Fujiwara T, Moriyama K. Associations between malocclusion and Oral Health-Related Quality of Life among Mongolian adolescents. *Int J Environ Res Public Health*. 10;14(8). Pii:E902, 2017. doi: 10.3390/ijerph14080902. 査読有
- ⑤ Orthodontic treatment and long-term management of a patient with Marfan syndrome. Shiga M, Ogawa T, Ekprachayakoon I, Moriyama K. *Cleft Palate-Craniofacial J*. 54(3):358-367, 2017. doi: 10.1597/15-068. 査読有
- ⑥ Sawada H, Ogawa T, Kataoka K, Baba Y, Moriyama K. Measurement of distraction force in maxillary distraction osteogenesis for cleft lip and palate. *Journal of Craniofacial Surgery*. 28(2):406-412, 2017. doi: 10.1097/SCS.0000000000003327. 査読有
- ⑦ Tumurkhuu T, Fujiwara T, Komazaki Y, Kawaguchi Y, Tanaka T, Inazawa J, Ganburged G, Bazar A, Ogawa T, Moriyama K. Association between maternal education and malocclusion in Mongolian adolescents: a cross-sectional study. *BMJ Open*. 1;6(11):e012283, 2016. doi: 10.1136/bmjopen-2016-012283. 査読有
- ⑧ Sato C, Ogawa T, Tsuge R, Shiga M, Tsuji M, Baba Y, Kosaki K, Moriyama K. Systemic and maxillofacial characteristics of eleven Japanese children with Russell-Silver syndrome. *Congenit Anom*. 56(5):217-225, 2016. doi: 10.1111/cga.12162. 査読有

[学会発表] (計 22 件)

- ① Myat AB, Ogawa T, Kadota-Watanabe C, Moriyama K. Nuclear-cytoplasmic transportation of BCOR through interaction with KPNA5. 第 77 回日本矯正歯科学会学術大会, 2018
- ② Wu Y, Kadota-Watanabe C, Ogawa T, Moriyama K. Combination of estrogen deficiency and excessive mechanical stress exacerbates TMJ-OA in mice. 第 77 回日本矯正歯科学会学術大会, 2018
- ③ 小川卓也. 指定難病ならびに小児慢性特定疾病医療における矯正歯科の役割～マルファン症候群を中心に～. 第 77 回日本矯正歯科学会学術大会, 2018

- ④ 秋山秀平、荒木美祐、保田裕子、東堀紀尚、辻美千子、小川卓也、森山啓司. 当分野における過去 10 年間の初診患者の実態調査. 第 77 回日本矯正歯科学会学術大会, 2018
- ⑤ 小川卓也、呉郁イン、森山啓司. 当分野において長期管理を行った口蓋裂を伴う先天性多発性関節拘縮症の 1 例. 第 42 回日本口蓋裂学会学術集会, 2018
- ⑥ 馬場優里、小川卓也、上園将慶、壬生美智子、隅田由香、三島木節、佐藤豊、森田圭一、森山啓司. 片側性口唇口蓋裂 2 例における上顎骨延長前後の上咽頭形態の三次元的変化と言語機能に関する検討. 第 42 回日本口蓋裂学会学術集会, 2018
- ⑦ Araki M, Yasuda Y, Ogawa T, Tumurkhuu T, Ganburged G, Bazar A, Fujiwara T, Moriyama K. Association of malocclusion on oral health-related quality of life in Mongolian adolescents. The 65th Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2017
- ⑧ 小川卓也、伴田みさと、上園将慶、駒崎裕子、辻美千子、森山啓司. 口唇裂・口蓋裂を伴う希少遺伝性疾患患者の矯正歯科治療に関する実態調査. 第 41 回日本口蓋裂学会学術大会, 2017
- ⑨ 森田圭一、壬生美智子、乙丸貴史、島崎一夫、小川卓也、立川敬子、宮新美智世、小野卓史、森山啓司、谷口尚、原田浩之. 東京医科歯科大学歯学部附属病院顎口腔変形疾患外来の取り組み. 第 41 回日本口蓋裂学会学術大会, 2017
- ⑩ Ogawa T. Maxillary distraction osteogenesis in CLP patients with severe maxillary deficiency: Methodology, timing and long term follow up. 13th International Cleft Congress. Chennai, India, 2017
- ⑪ Hikita R, Matsuno S, Asami T, Ogawa T, Baba Y, Tsuji M, Moriyama K. Systemic and craniomaxillofacial characteristics of patients with Williams syndrome. International Congress of Human Genetics, 2016.

〔図書〕(計 1 件)

- ① 森山啓司、小川卓也. 言語聴覚士のための基礎知識 臨床歯科医学・口腔外科学 第 2 版. 歯の発生と萌出, 医学書院, 32-33, 2016.

〔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：
 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：
 国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：
 ローマ字氏名：
 所属研究機関名：
 部局名：
 職名：
 研究者番号 (8 桁)：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：田中敏博

ローマ字氏名：(TANAKA, toshihiro)

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。