

令和元年6月13日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17169

研究課題名（和文）エピジェネティクス的変化を利用した新しい骨量維持型骨造成技術の開発

研究課題名（英文）Development of new bone mass maintenance type bone formation technology using epigenetic change

研究代表者

吉岡 裕也 (Yoshioka, Yuya)

岡山大学・大学病院・医員

研究者番号：20782014

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：次世代シーケンサーを用いてメチル化パターン解析を行い，DNMT3A過剰発現させて骨芽細胞分化誘導を掛けた際にメチル化が促進される転写因子Xと抑制される転写因子Yを特定した。しかし転写因子X，Yについてin vitroにて骨芽細胞分化に与える影響を検討したが予想した結果は得られなかった。

そのため着眼点を変えて未分化維持に関与する因子である遺伝子A，遺伝子Bに着目し，DNMT3Aがin vitroにて遺伝子A，遺伝子Bに与える影響を検討した。その結果in vitroにてDNMT3Aは遺伝子A，遺伝子Bのプロモーター領域のメチル化を促進し，その遺伝子発現を抑制することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果によりDNMT3Aは未分化維持関連因子の遺伝子A，遺伝子Bのプロモーター領域の遺伝子Bのプロモーター領域のメチル化を促進し，その遺伝子発現を抑制することが明らかとなった。このことによりin vitroにおいてDNMT3Aは上記のメカニズムを通じて骨芽細胞分化をさらに促進する可能性が示唆された。本研究成果は今後，骨量を維持できる全く新しい骨造成技術の開発に精通する可能性が示唆される。

研究成果の概要（英文）：We analyzed methylation patterns using a next-generation sequencer, and identified transcription factor X, which is promoted by methylation when induced to induce osteoblast differentiation, and transcription factor Y, which is suppressed when DNMT3A is overexpressed.

However, we examined the effects of transcription factors X and Y on osteoblast differentiation in vitro, but we did not obtain expected results.

Therefore, we focused on the genes A and B, which are factors involved in undifferentiated maintenance, by changing the focus point, and examined the influence of DNMT3A on the genes A and B in vitro. As a result, it was clarified that DNMT3A promotes the methylation of the promoter region of genetic day A and gene B in vitro and suppresses the gene expression.

研究分野：骨・軟骨代謝

キーワード：DNMT3A 遺伝子A，遺伝子B

様式 C - 19, F - 19 - 1, Z - 19, CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔インプラント治療においては、上部構造を支える上で理想的な場所に人工歯根を埋入する必要があるが、その場所に十分な歯槽骨が不足している場合も多い。したがって、各種合成材料、他家骨や自家骨により歯槽骨の造成が行われるが、造成された骨組織の長期安定維持に関しては十分な方策がないのが現状である。特に、自家骨移植は、骨誘導能が高い、感染のリスクが低いなどの理由から、骨造成術のゴールドスタンダードと考えられてきた。しかし、術式が煩雑な上、造成した骨の長期維持が難しいことが良く知られている。チタン製インプラント自体には歯槽骨を維持する力が弱いいため、インプラント周囲の骨吸収が生じると、インプラント周囲組織の著しい審美的な問題が生じることがあり、口腔インプラントの審美ゾーンの適応を狭める原因となっている。つまり、口腔インプラント治療において、長期的に安定した予後を獲得するには造成した骨を長期的に維持することが重要である。それゆえ、自家骨移植に取って代わる、長期的に造成した骨を維持できる新しい骨造成技術を開発する必要性が高まっている。

一方、近年、様々な分野においてエピジェネティクス研究が注目を集めており、ポストゲノム時代の重要な研究テーマとして認識されている。エピジェネティクスとは、生体に存在するDNAの配列変化によらない遺伝子発現制御システムのことであり、エピジェネティクスには、DNAのメチル化が大きく関わっていることが知られている。DNA配列には、シトシンの次にグアニンが現れる2塩基配列が高頻度に出現するCpGアイランドと呼ばれる領域が存在する。DNAのメチル化とはDNAメチル基転移酵素(DNA Methyl Transferase; DNMT)の働きにより、CpGアイランドなどでシトシンにメチル基が付加されることをいう。CpGアイランドはほとんどがプロモーター領域に存在し、メチル化された部位の遺伝子発現は抑制されることが知られている。つまり、転写因子の発現を制御し、細胞分化にも影響を与えることが推測される。

2. 研究の目的

欠損部に造成した骨の吸収を防ぎ、安定した骨量を維持することは難しい。申請者らは、ヒト骨髄由来間葉系間質細胞(Human Bone Marrow Stromal Cells; hBMSCs)の骨芽細胞分化を誘導すると、DNMT3Aの遺伝子発現が上昇すること、また、hBMSCsにDNMT3Aを強制発現させると、骨芽細胞分化が著しく促進されることを発見した。DNMT3Aにより生じるDNAのメチル化は細胞分裂後も維持されるため、骨形成や造成した骨の維持に強く関するとの予測から、本研究では、DNMT3Aの遺伝子発現を促進する低分子化合物の探索、*in vivo*骨再生モデルを用いた本分子の機能解析、DNMT3A誘導型DNAメチル化のエピゲノム解析等を行い、新しい骨量維持型骨造成技術の基盤を確立する。

3. 研究の方法

次世代シーケンサーを用いてメチル化パターン解析を行い、DNMT3A過剰発現させて骨芽細胞分化誘導を掛けた際にメチル化が促進される転写因子の検索を行う。また、着眼点を変えて未分化維持に関与する因子である遺伝子A、遺伝子Bに着目し、DNMT3Aが*in vitro*にて遺伝子A、遺伝子Bに与える影響を検討する。

4. 研究成果

DNMT3A過剰発現させて骨芽細胞分化誘導を掛けた際にメチル化が促進される転写因子Xと抑制される転写因子Yを特定した。

しかし転写因子X、Yについて*in vitro*にて骨芽細胞分化に与える影響を検討したが予想した結果は得られなかった。

一方で*in vitro*にてDNMT3Aは遺伝子A、遺伝子Bのプロモーター領域のメチル化を促進し、その遺伝子発現を抑制することが明らかとなった。

本研究成果によりDNMT3Aは未分化維持関連因子の遺伝子A、遺伝子Bのプロモーター領域の遺伝子Bのプロモーター領域のメチル化を促進し、その遺伝子発現を抑制することが明らかとなった。このことにより*in vitro*においてDNMT3Aは上記のメカニズムを通じて骨芽細胞分化をさらに促進する可能性が示唆された。本研究成果は今後、骨量を維持できる全く新しい骨造成技術の開発に精通する可能性が示唆される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

野村 優, 吉岡裕也, Há Thi Nguyen, 納所秋二, 小盛大志, 大橋俊孝, 大野充昭, 窪木拓男

DNMTによる軟骨細胞分化 制御メカニズムの解明

平成30年度公益社団法人日本口腔インプラント学会 中国・四国支部学術大会
2018年

野村 優, 吉岡裕也, 大野充昭, 國友由理, 小盛大志, 大橋俊孝, 窪木拓男

DNMT3Aの過剰発現はhBMSCsの軟骨細胞分化を促進する

平成29年度公益社団法人日本補綴歯科学会 中国・四国支部学術大会
2017年

〔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:

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

該当なし

(2)研究協力者

該当なし

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。