

令和元年6月25日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17320

研究課題名(和文) 口唇口蓋裂におけるRdh10の変異遺伝子とアルコールの相互作用

研究課題名(英文) Interaction between Rdh10 mutation and alcohol in craniofacial development

研究代表者

岡 綾香 (OKA, AYAKA)

大阪大学・歯学研究科・助教

研究者番号：20635403

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)：顎顔面の発生には様々な顔面突起の適切な成長及び癒合が必要不可欠である。異常な顔面突起の成長や癒合、骨形成の異常は、口唇口蓋裂の原因となる。近年、多くの骨形成に関する遺伝子変異が同患者群において同定され、また遺伝的要因と共にアルコールや喫煙等の環境的要因も影響することがわかっている。しかし、これらの因子の相互作用について不明な点が多い。

本研究では、口唇口蓋裂の遺伝的要因の一つであるRdh10の変異と環境的要因であるアルコールの相互作用による顎顔面形成や骨形成における役割の解明した。結果、Rdh10を欠損させた妊娠マウスにアルコールを作用させることにより口蓋裂の発生率が上がることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

異常な顔面骨の形成は、口唇口蓋裂のみならず様々な顎顔面形成不全との関連が報告されている。顔面骨の形成の詳細なメカニズムを解明する事は多くの疾患の診断や治療法に繋がる可能性があり重要なテーマである。

本研究によって初めて Rdh10 とアルコールの顎顔面形成における相互作用を明らかとなった。この結果は、Rdh10の変異がアルコール摂取に対して高いリスクがある事を意味している。本研究を推進することにより、多因子疾患としての口唇口蓋裂の病態解明に向けた新たな研究戦略が生まれ、発展していくことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Craniofacial development comprises multiple facial processes of growth and fusion. Given its complexity, failure of any step can result in variety of craniofacial defects. Clefts of the lip and/or palate (CLP) are one of the congenital craniofacial defects with complex etiology. Although there has been marked progress in identifying genetic and environmental triggers for CLP, the interaction between distinct genetic and environmental risk factors on the etiology of CLP are still unclear.

In this study, we clarified the interaction between Rdh10 mutation and ethanol exposure in craniofacial development. As a result, we demonstrated prenatal ethanol exposure in the pregnant mouse of Rdh 10^{-/-} that lack retinoid acid (RA) activity increase the CLP expression. These findings suggested there is the interaction between Rdh10 mutation and ethanol exposure on the pathogenesis of craniofacial defect such as CLP.

研究分野：矯正歯科、発生

キーワード：顎顔面形成不全 口唇口蓋裂 レチノイン酸シグナル アルコール

1. 研究開始当初の背景

顎顔面の発生には様々な顔面突起の適切な成長及び癒合が必要不可欠である。また、その過程において顎顔面を形成する骨も同時に分化発生し、生命維持に不可欠な多くの顎顔面の臓器を保護し、咀嚼や発音等多くの生命機能を発揮するのに重要な役割を果たす。異常な顔面突起の成長や癒合、骨形成の異常は顎顔面形成不全の原因となる。その中でも口唇口蓋裂は比較的高頻度で発生する疾患である。口唇口蓋裂の原因の一つとして顎顔面発生時の骨形成異常が挙げられ、近年のヒトゲノム研究やスクリーニング等より多くの骨形成に関する遺伝子変異が同患者群において同定されている。また、口唇口蓋裂は遺伝的要因と共にアルコールや喫煙等の環境的要因も影響する多因子疾患である事も証明されている。しかし多くの研究はそれぞれの要因を個別に解析しているものが多く、多因子疾患の特徴である各因子の相互作用については未だ不明な部分が多く存在する。また、実際には特定の環境要因に対して感受性の高い(リスクの高い)遺伝的要因の存在も示唆されておりパーソナル医療を達成する為にはこのような遺伝的要因と環境的要因の相互作用を理解する事が重要である。

2. 研究の目的

本研究は口唇口蓋裂の遺伝的要因である Rdh10 の変異と環境的要因であるアルコールの相互作用に着目しその相互作用の役割を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

口唇口蓋裂の遺伝的要因である Rdh10 の変異と環境的要因であるアルコールの相互作用に着目しその相互作用の役割を解明する為に レチノイン酸(Retinoic acid; RA)シグナルに必要不可欠な Rdh10 を欠損させた妊娠マウスにアルコールの腹腔内注射を行い口蓋裂の発症頻度を解析した。また、RA シグナルに必要不可欠な Rdh10 を欠損させた妊娠マウスにアルコールの腹腔内注射を行い口蓋裂の発症頻度を解析した。また、妊娠マウスに対してレチノイン酸(RA) (25mg/kg)を胎生 8.5 日から胎生 10.5 日まで異なるスケジュールで投与を行った。胎生 15.5 日において胎児を回収し、口蓋裂の発症率をそれぞれのタイムコースにおいて算出した。口蓋裂が高頻度に発生したグループにおいては骨格標本の作製を行った。更に口蓋発生時における遺伝子発現解析を In situ hybridization を用いて行った。

4. 研究成果

Rdh10 欠損マウスを用いた実験では同マウスにアルコールを投与するとそれぞれ単独(Rdh10 欠損のみ、アルコール投与のみ)で作用させた場合に比べて口蓋裂の発症率が高くなる事を見出した(図 100)

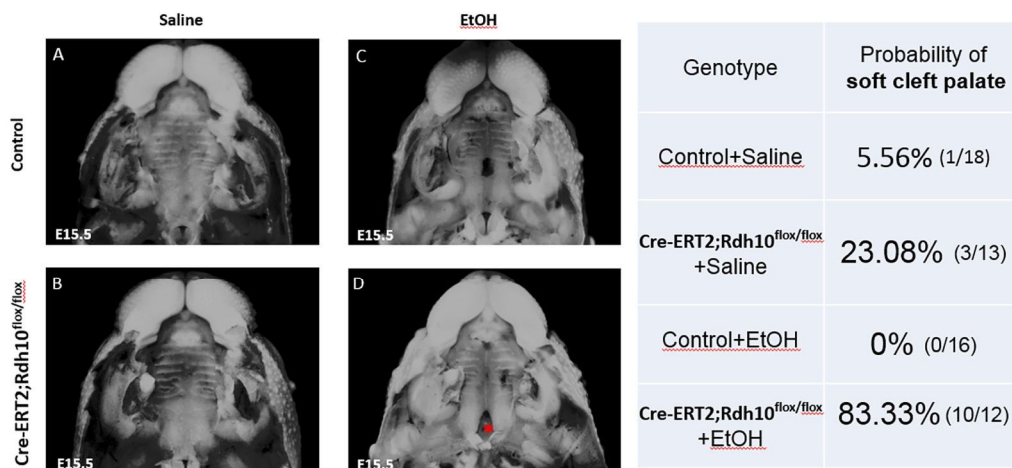


図 1 Rdh10ノックアウトマウスのエタノール投与による表現型変化

様々なタイムコースを用いた RA 投与を検討した結果、胎生 8.5 日に投与を行ったグループにおいて著しく口蓋裂や上下顎骨癒合発症のリスクが上昇する事を見出した (図 2)。

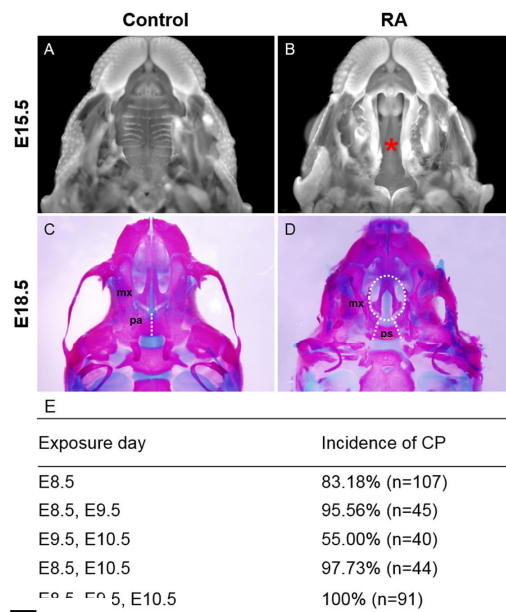


図 2

胎生時期特異的な RA 投与

また網羅的な遺伝子発現解析より、同グループでは口蓋発生時におけるソニックヘッジホッグ (Shh) シグナルの低下を認めた。また、発生中の二次口蓋においても *In situ hybridization* を用いて Shh 及びその下流に位置する *Ptch1* の発現低下も認めた (図 3)。更に Shh のアゴニストである SAG を投与したところ表現形の軽減が認められた。

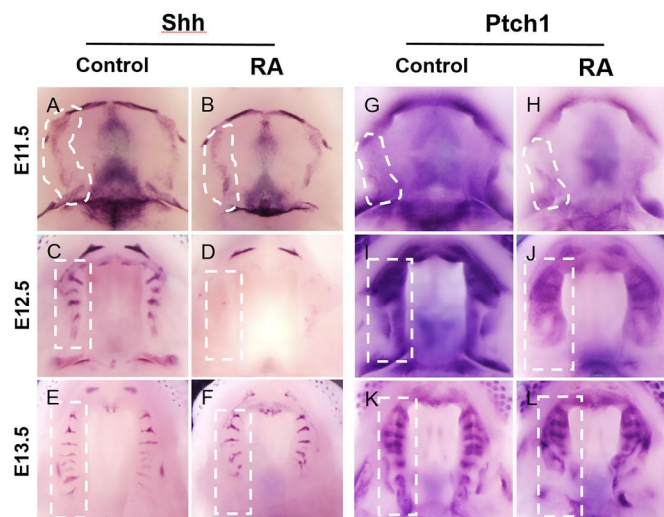


図 3 RAシグナル異常におけるShhシグナルの変化

本研究結果から RA 投与は胎生時期依存的に顎顔面形成に影響を及ぼす事が示唆された。更にマウスにおいては胎生 8.5 日においての過剰な RA シグナルは口蓋裂を誘発する強い要因となる事が明らかとなった。胎生 8.5 日時には頭部神経堤細胞の形成を始めとして顎顔面発生における重要な生物学的なイベントが多数起こる事が知られている。

これらの事から胎生初期における RA シグナルの異常は頭部神経堤細胞の形成不全等を引き起こす事により顎顔面形成を引き起こす可能性が示唆された。今後は胎生 8.5 日における RA シグナルが頭部神経堤細胞発生にどのような影響を及ぼすかを細胞増殖や細胞死のマーカーを用いる事により明らかにしていく予定である。また、今回の研究から胎生初期の過剰な RA シグナルは Shh シグナルを低下させる事も発見し、Shh シグナルのアゴニストを用いる事により表現型を軽減させる事に成功した。これらの事は将来 RA シグナルの異常が認められる患者に対する一つの治療ストラテジーの開発に寄与する事が考えられる。また本研究によって初めて Rdh10 とアルコールの顎顔面形成における相互作用を明らかとした。これらの結果は将来的な口蓋裂予防方法の開発に寄与するものと考えられる。今後はこれらの相互作用が顎顔面頭蓋骨発生においてどのような役割を果たすのかも詳細に解析していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Oka A, Kurosaka H*, Yashiro, K, Haraguchi, S, Lee, D, Aikawa, T, Kogo, M, Yamashiro T: Skeletal Class II open-bite malocclusion with idiopathic condylar resorption: A case report, Australasian Orthodontic Journal 34: 85-93, 2018. 査読有

Oka A, Tanikawa C*, Kurosaka H, Yamashiro T: Adult patient with bilateral cleft lip and palate treated using bone graft followed by lateral distraction: A case report, Orthodontic Waves 77:232-239, 2018. 査読有

Murata Y*, Oka A, Haraguchi S, Yamashiro T: The use of temporary anchorage devices for orthodontic treatment of high-angle Class III malocclusion in a patient with impacted upper canine teeth: Orthodontic Waves 77:189-195, 2018. 査読有

〔学会発表〕(計 2 件)

磯貝由佳子, 岡 綾香、中津川昂平、黒坂 寛、山城 隆 歯根吸収に配慮して全顎的矯正治療を行った Turner 症候群患者の一治療例 第 77 回日本矯正歯科学会学術大会 2018 年 10 月 30 日-11 月 1 日、神奈川

岡 綾香、黒坂 寛、中津川昂平、三原聖美、田中 晋、古郷幹彦、山城 隆 著しい骨格性下顎前突および開咬を呈し、Opitz 症候群の疑いのある両側性唇顎口蓋裂の一症例 第 77 回日本矯正歯科学会学術大会 2018 年 10 月 30 日-11 月 1 日 神奈川

谷川千尋, 犬伏俊博, 相川友直, 新宅優子, 町博之, 野崎一徳, 南部恵理子, 中本将嗣, 岡綾香, 古郷幹彦, 山城隆: 大阪大学歯学部附属歯科技工士学校における 3D デジタルサージェリー実習の取り組み. 第 28 回日本顎変形症学会総会・学術大会、2018 年 6 月 14 - 15 日、大阪

磯貝由佳子, 岡 綾香、中津川昂平、黒坂 寛、山城 隆 歯根吸収に配慮して全顎的矯正治療を行った Turner 症候群患者の一治療例 第 77 回日本矯正歯科学会学術大会、2018 年 10 月 30 日-11 月 1 日、神奈川

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕
なし