

令和 3 年 5 月 17 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09762

研究課題名(和文)顎関節形成の包括的分子機構の解明

研究課題名(英文)analysis of the comprehensive molecular mechanism of temporomandibular joint formation

研究代表者

川崎 勝盛(kawasaki, katsushige)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：40529640

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：顎関節は遺伝子改変マウスで異常が現れにくく、発生メカニズムが解明されていない器官である。本研究では一次繊毛関連タンパクであるIft88に着目し、間葉組織特異的Ift88欠損マウスを作成したところ、顎関節の異常を認めた。検索の結果、間葉組織特異的Ift88欠損マウスにおける顎関節の異常は、顎骨の異常が起因であり、その顎骨の異常はShhシグナルの低下によるものであ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

顎関節症は、歯科において齲蝕や歯周病につぐ主要な疾患であるが、その原因は未だ不明な場合が多い。発生時に正確に形成されることが求められるが、顎関節の分子レベルでの形成メカニズムは全く明らかになっていない。分子レベルでの本研究成果は、今まで分子生物学的知見がほとんどなかった顎関節研究に新たな展開をもたらし、顎関節症の新たな治療法や再生療法の基盤的知見となりうる。

研究成果の概要(英文)：Abnormalities of temporomandibular joint are seldom occurred in mice with targeted gene mutation. Therefore, the molecular mechanisms of temporomandibular joint formation remain unclear. We generated mice with mesenchymal deletions of the ciliary protein, Ift88 (Ift88^{fl/fl};Wnt1Cre), and found aberrant temporomandibular joint. The abnormal temporomandibular joint was found to be caused by aberrant mandibular formation. In Ift88^{fl/fl};Wnt1Cre mice, downregulation of Hh signaling led to the abnormal mandibular formation, which induced aberrant temporomandibular joint formation.

研究分野：口腔解剖学

キーワード：顎関節 一次繊毛

1. 研究開始当初の背景

顎関節は咀嚼・顎運動を規定する重要な構造体の一つであり、その機能不全は齲蝕、歯周病に次ぐ、主要な歯科領域疾患である顎関節症を引き起こす。顎関節症の患者数は、人口の高齢化にともない年々増加しており、顎関節の健全な機能の維持は、高齢社会における QOL 向上のためにも欠かせない。しかし、現在の顎関節症に対する治療は対症療法にとどまっており、抜本的な治療法は確立していない。さらに臨床において、顎関節は顎関節症のみならず、癌に対する外科手術や、顎変形症への手術後の顎関節吸収など、顎関節そのものを失うケースも多くみられる。正常な機能には、正常な器官の形成が要求される。特に、顎関節は、構造や発生形式が、全身の他の関節と異なるという特殊性を有する器官であるため、その形成メカニズムも複雑と予想される。器官形成の分子レベルでのメカニズムは、遺伝子改変マウスにおける異常から検索することが近年用いられる方法である。しかし顎関節は、これまで報告のある遺伝子改変マウスでは、変化がほとんど引き起こらず、分子レベルでの発生メカニズムが明らかにされていない。

2. 研究の目的

一次繊毛 (primary cilia) は脊椎動物のほぼ全ての細胞に認められるものの、長い間、その存在意義の不明な細胞小器官であった。しかし、近年の分子生物学の急速な発展により、一次繊毛が細胞運動、外液移動、化学受容、光受容、機械受容、シグナル伝達などの多くの機能を有することが明らかにされている。一次線毛の顎関節形成における役割は明らかにされていない。一次繊毛内に存在するタンパクである Ift88 は、一次線毛の形成に必須の分子であることが知られている。そこで本研究では、顎関節を形成する細胞である神経堤由来細胞特異的に Ift88 を欠損させたマウス作成し、その解析から Ift88 の顎関節形成における機能を解析した。

3. 研究の方法

(1) Ift88 神経堤由来細胞特異的欠損マウスの組織学的解析

Ift88 の神経堤由来細胞特異的欠損マウス頭部の骨格標本を作成した。また組織切片を作製しヘマトキリン-エオジン染色を行い、組織学的解析を行った。

(2) Ift88 神経堤由来細胞特異的欠損マウスにおける変動分子解析

Ift88 欠損マウスにおける分子レベルでの変化を Whole-mount in situ hybridization 並びに Radioactive in situ hybridization で行った。

(3) 神経堤由来細胞特異的 Smo 欠損マウスの解析

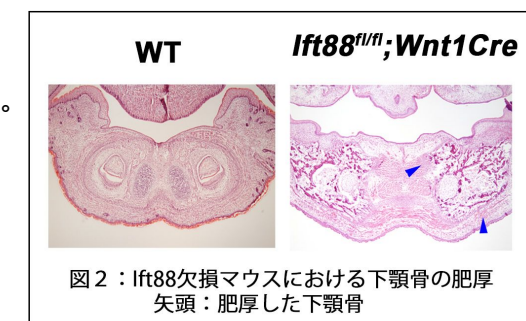
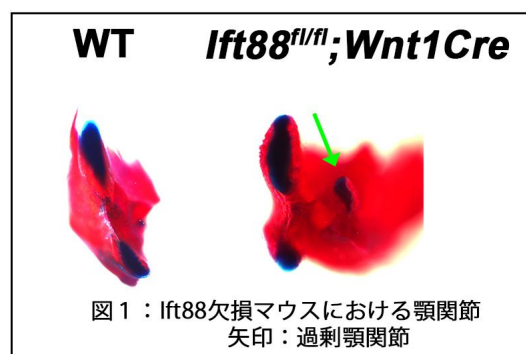
Shh シグナルの解析のため、Shh シグナルに必須の分子である Smo の神経堤由来細胞特異的欠損マウスを作成し、(1) (2) と同様の解析を行なった。

4. 研究成果

(1) Ift88 神経堤由来細胞特異的欠損マウスにおける顎関節の形態学的解析

骨格標本の解析から Ift88 欠損マウスでは顎関節が過剰に形成されているのが明らかになった(図1)。顎関節は、顎関節原基が顎骨とは独立して形成し、その後顎骨と癒合する説と、顎骨から延伸して形成されるとする説がある。Ift88 欠損マウスでは、野生型と比較して下顎骨が肥厚していた(図2)。組織学的に骨形成の認められる以前での骨形成関連分子である Runx2 の発現パターンから(図3) Ift88 欠損神経堤由来細胞特異的マウスにおける過剰の顎関節は、肥厚した顎骨からの延伸によって形成されていることが明らかとなった。そこで、過剰の顎関節の原因となる肥厚した顎骨形成の原因を追求することとした。

(2) Ift88 神経堤由来細胞特異的欠損マウスにおける分子変化の解析



一次繊毛は Shh シグナル経路に関与することが知られている。Shh シグナルの活性を検索するために、Shh シグナルのマーカースとして Ptch1、Gli1 の発現の解析を、Runx2 の発現の拡大が認められた時期の Runx2 発現拡大領域で検索した。その結果、Ift88 欠損マウスでは、間葉において Ptch1、Gli1 の分子の発現が減弱していた。その一方、上皮では Ptch1、Gli1 の両遺伝子の発現が亢進していた(図4、5)。



図3：Ift88欠損マウスにおけるRunx2の発現

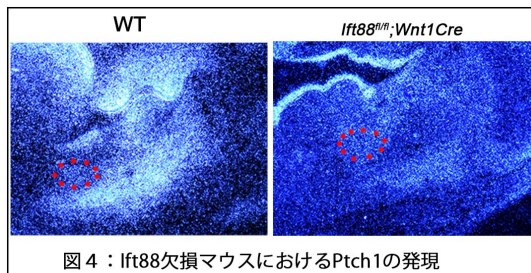


図4：Ift88欠損マウスにおけるPtch1の発現

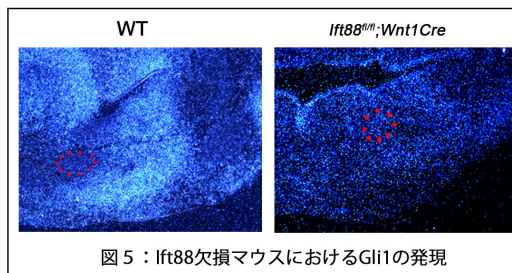


図5：Ift88欠損マウスにおけるGli1の発現

(3) 神経堤由来細胞特異的 Smo 欠損マウスの解析

Ift88 欠損マウスにおける下顎骨の肥厚の原因が、間葉における Shh シグナルの減弱によるものであるか検索するために、神経堤由来細胞特異的に Smo が欠損したマウスを作成し、その解析を行った。その結果、Smo 欠損マウスでも過剰な顎関節が認められた

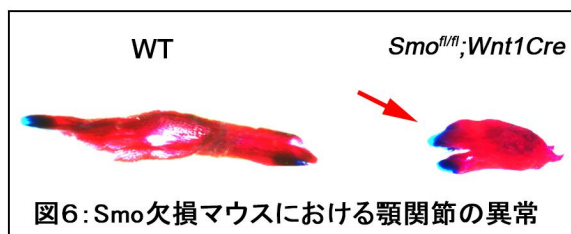


図6：Smo欠損マウスにおける顎関節の異常

(図6)。下顎骨の肥厚が Smo 欠損マウスにも観察された(図7)。発生初期における骨形成関連分子である Runx2 の発現も、Ift88 欠損マウスで認められたパターンと類似していた(図8)。

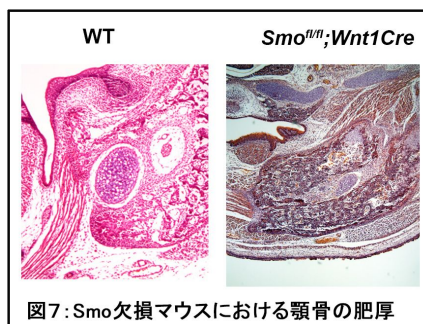


図7：Smo欠損マウスにおける顎骨の肥厚

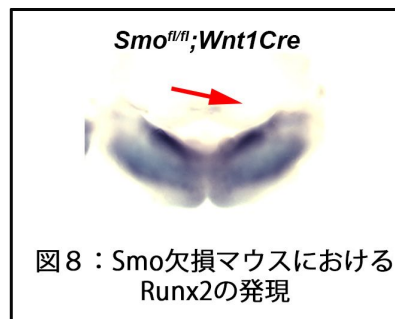


図8：Smo欠損マウスにおけるRunx2の発現

Ift88 欠損マウスと同様に、Smo 欠損マウスでも、上皮での Ptch1 および Gli1 の発現が上昇していた(図9)。

以上のことから、Ift88 欠損マウスでは、下顎突起間葉での Shh シグナルの減弱により下顎骨が肥厚し、それにより過剰な顎関節が形成されたことが示唆された。

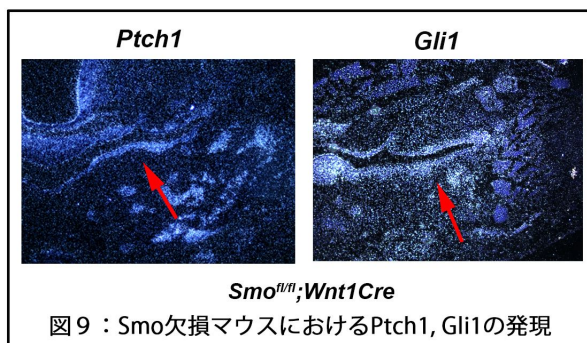


図9：Smo欠損マウスにおけるPtch1, Gli1の発現

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Atsushi Kitamura Maiko Kawasaki Katsushige Kawasaki Fumiya Meguro Akane Yamada Takahiro Nagai Yasumitsu Kodama Supaluk Trakanant Paul T. Sharpe Takeyasu Maeda Ritsuo Takagi Atsushi Ohazama	4. 巻 236
2. 論文標題 lft88 is involved in mandibular development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of anatomy	6. 最初と最後の頁 317-324
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/joa.13096.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kawasaki K, Kawasaki M, Maeda M, Ohazama A
2. 発表標題 The role of primary cilia in ossicles development
3. 学会等名 International Niigata-Taiwan Universitues collaborative dental research symposium（国際学会）
4. 発表年 2019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
研究 分担者	前田 健康 (maeda takeyasu) (40183941)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	
研究 分担者	大峽 淳 (ohazama atsushi) (40266169)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	川崎 真依子 (kawasaki maiko) (40584587)	新潟大学・医歯学系・准教授 (13101)	

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