

令和 5 年 5 月 9 日現在

機関番号：27102  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2020～2022  
課題番号：20K10233  
研究課題名(和文) ヒストンアセチル化に着目した歯と顎顔面形成のエピジェネティック制御機構の解明

研究課題名(英文) Clarification of Epigenetic Control Mechanism on Teeth and Maxillofacial Formation Focusing on Histone Acetylation

研究代表者  
渡辺 幸嗣 (Watanabe, Koji)  
九州歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：30570650  
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)：エピジェネティクスとは“DNA配列の変化を伴わず、ヒストンのメチル化やアセチル化などによる遺伝子発現の遺伝的变化”と定義される。過剰歯の発生には遺伝的要因が関与していると考えられているものの不明な点も多い。本研究ではSNPアレイで過剰歯発生に關するエピジェネティックな要因を検索するために、現在過剰歯を有する患者とそうでない患者からDNAをサンプリングすると同時に、その疫学(形態、順生・逆生の別、合併症)について検索した。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

小児歯科の臨床において、歯数の異常である過剰歯は発生頻度が高いものであり、歯数の異常や歯列不正、咬合に影響を与えることは少なくないため、小児歯科臨床で、重要な疾患であるといえる。本研究では、過剰歯発生に關するエピジェネティックな要因を検索し過剰歯発生のメカニズムの解明に寄与することに意義がある。また、過剰歯の疫学的な調査を行い過去の文献と比較することにより、世界の地域により多くみられる過剰歯の種類に違いがあることが示唆され、過剰歯発生の遺伝的要因を探るうえで興味深い結果が得られた。

研究成果の概要(英文)：Epigenetics is defined as “inherited alteration of gene expression without methylation or acetylation of histones”. Although genetic factors are thought to play a role in the development of supernumerary tooth, they have not been clarified yet. DNA has been collected from people with and without supernumerary tooth for SNP array analysis. Epidemiological survey was also conducted to understand the relationship between epidemiology of supernumerary tooth and the patients' genetic background.

研究分野：過剰歯

キーワード：過剰歯 エピジェネティクス

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

研究開始前に、我々は、ヒストンの脱アセチル化を担う HDAC を誘導することでヒストンの脱アセチル化を行い遺伝子発現を制御する転写コリプレッサーである TLE3 が骨芽細胞分化を抑制するメカニズムを報告した。さらに予備的研究から、マウスの顎顔面発生過程における口蓋癒合部や歯胚に TLE3 が強く発現し、軟骨細胞の内在性 TLE3 をノックダウンすると細胞増殖能が低下することを明らかにした。

一方で、小児歯科臨床においてしばしば遭遇する歯数の異常である過剰歯は歯列や咬合に影響を与えることが多い。その発生原因は不明な点が多く、歯胚の分離説、先祖がえり説、組織誘導説、歯堤・歯胚の過剰形成説など複数の説が存在し、ひとつの説で説明をすることは難しい。過剰歯の発生には遺伝的要因が関連すると言われている。親に過剰歯がある場合、その子どもに過剰歯が現れる確率は 77.8% であり、逆に親に過剰歯がなく子どもにのみ現れる頻度は 42.1% であるとの報告がある【文献 1】。一方で、過剰歯や欠如歯の出現は一卵性双生児内で一致しないことが多いとの報告もある【文献 2】ことから、過剰歯にはエピジェネティクス（非遺伝的）な要因が関与する可能性があることが考えられた。

（参考文献）【1】青柳陽子ら，小児歯科学雑誌，41：459，2003．【2】Townsend, G. C. et al., Australian Dental Journal. 50 :95-100, 2005.

### 2. 研究の目的

研究開始当初は TLE3 のノックアウトマウスや HDAC 阻害剤を投与したマウスの顎顔面の発生を口蓋癒合部と歯胚を中心に解析し、歯・顎顔面の形成におけるヒストンのアセチル化、特に TLE3 を介したアセチル化制御機構の解明を行うこととしていた。

しかしながら、発生に遺伝的要因が関連するとされながらエピジェネティクス（非遺伝的）な要因も関与する可能性がある過剰歯について遺伝的および非遺伝的検索を行うため、当初の計画から方向修正を加え、SNP アレイで遺伝的背景を探るとともにまずは日本人における過剰歯発生の特徴を確認するため疫学調査を行うこととした。計画した研究項目は、

- 1) SNP アレイによる過剰歯の遺伝的要因の探索
  - 2) 日本人における過剰歯の疫学の特徴
- とした。

### 3. 研究の方法

#### （1）SNP アレイによる過剰歯の遺伝的要因の探索

過剰歯を有する患児から唾液を検体として DNA を採取し、日本人の SNP 情報を基にジェノタイプピングを行うこととした。

研究デザインを研究対象者の DNA ゲノムを用いる、侵襲を伴わない横断研究とし、九州歯科大学附属病院小児歯科外来を受診した患児のうち、下の選択基準のいずれかに該当し、除外基準に該当しないものを対象とした。

選択基準：意思疎通が可能であること、過剰歯の診断が下りているまたは過剰歯の既往歴があること。

除外基準：意思疎通が不可能である場合、遺伝子の異常による疾患に罹患している場合。

九州歯科大学附属病院小児歯科外来を受診する該当患児は年間 25 人ほどであるが、SNP アレイを行うため目標症例数は 200 人とした。患児は未成年のため、患児の保護者へのインフォームド Consent と患児へのインフォームドアセントを取ることにした。主要評価項目は、既存の日本人の SNP 情報と患児の有する SNP を比較することとした。

#### （2）日本人における過剰歯の疫学調査

過剰歯を有する患児の術前のエックス線写真を用いて、過剰歯の疫学（形態、過剰歯の姿勢、合併症）調査を行うこととした。

研究デザインを研究対象者の術前のエックス線写真を用いる、後ろ向きコホート研究とし、研究者が 2017 年 11 月から 2022 年 3 月までの期間に九州歯科大学小児歯科外来で診療を行った患児

のうち、下の選択基準のいずれかに該当し、除外基準に該当しないものを対象とした。  
 選択基準：意思疎通が可能であること、過剰歯の診断が下りているまたは過剰歯の既往歴があること。  
 除外基準：意思疎通が不可能である場合、遺伝子の異常による疾患に罹患している場合、先天欠如歯がある場合。  
 該当患児は128人であった。「オプトアウトに関わる書類」を九州歯科大学附属病院小児歯科外来に掲示した。

#### 4. 研究成果

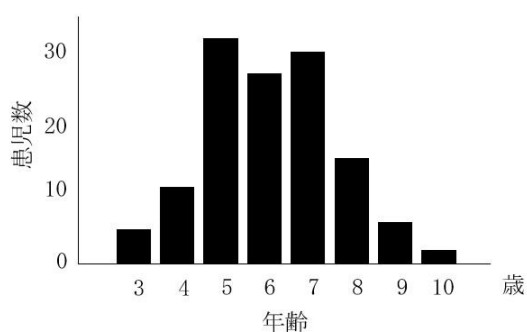
##### 【研究の主な成果】

##### (1) SNP アレイによる過剰歯の遺伝的要因の探索

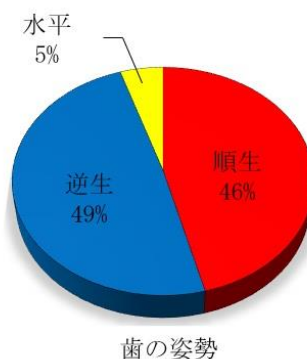
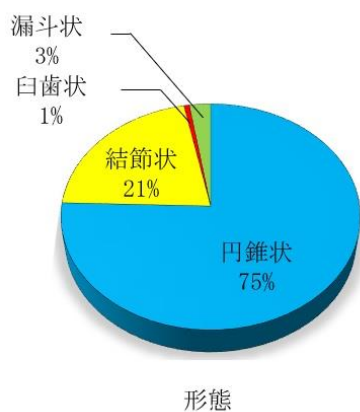
現在、過剰歯を有する患児から唾液を採取している状況である。SNP アレイを効果的かつ効率的に行うには、200の試料を収集することが求められており、未だ十分な試料数が収集されていない。そのため、引き続き唾液試料を収集しジェノタイピングを行うことにより過剰歯を有する患児の遺伝的背景を検索する予定である。

##### (2) 日本人における過剰歯の疫学調査

疫学調査において、患児の年齢は3歳から10歳に渡っており、男女構成は男児が76%で女児が24%であった。



過剰歯の形態は円錐状が75%、結節状が21%であった。過剰歯の姿勢は順生が46%で逆生が49%であった。

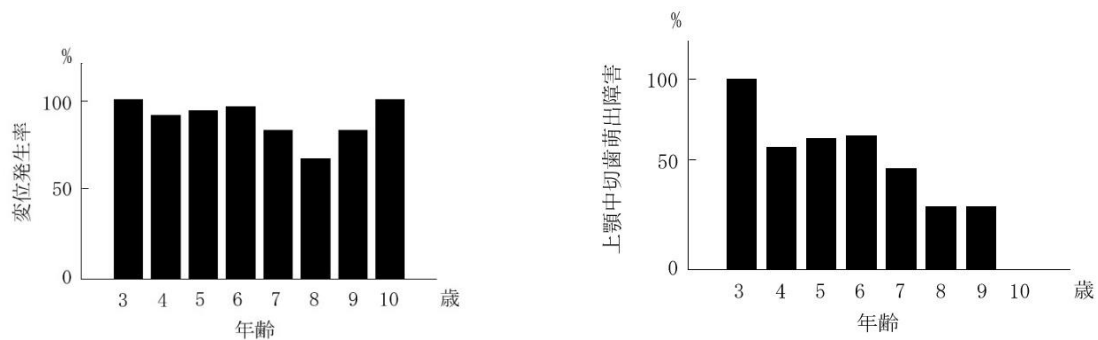


過剰歯の姿勢については、過去の世界の報告を検索した結果、東アジアでは逆生が多く、黒海周辺では順生が多いという傾向がみられた【文献3-7】。

最も多くみられる過剰歯の姿勢	逆生	順生
国、地域	日本 韓国 中国	トルコ 黒海地域

(参考文献) 【3】 Kim, Y. et al., International Journal of Paediatric Dentistry. 28: 161-169, 2017. 【4】 Nam, O.H., et al., Pediatric Dentistry. 37: E105-E109, 2015. 【5】 Zhao, L., et al., Oral Radiology. 37: 218-223, 2021. 【6】 Gündüz, K., et al., Journal of Oral Science. 50: 287-291, 2008. 【7】 Altan, H., et al., Journal of Investigative and Clinical Dentistry. 10: e12377, 2019.

変位は全ての年齢において6割以上の患児にみられ、上顎中切歯の萌出障害（歯胚低位を含む）は低年齢児において多く見られる傾向にあった。



#### 【今後の展望】

これらの結果は、過剰歯発生の遺伝的要因とエピジェネティクス（非遺伝的）な要因のいずれを検索するうえでも重要な基礎データとなると考えられた。今後、これらの結果を基に研究対象の決定（過剰歯の形態や姿勢等による群分け、人種間の比較、等）を検討し、研究を継続していくこととしている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Yukiko Yamada, Koji Watanabe, Shiika Hara, Katsura Saeki, Kenshi Maki	4. 巻 12
2. 論文標題 Effects of Zinc, Iron, and Copper on Bovine Enamel Erosion Evaluated Using Transverse Microradiography	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 HEALTH	6. 最初と最後の頁 1132-1142
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4236/health.2020.129083	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 -
1. 著者名 原野望, 渡辺幸嗣, 佐伯桂, 牧憲司	4. 巻 58
2. 論文標題 歯科診療が困難な患者における亜酸化窒素吸入鎮静法の実態調査	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 小児歯科学雑誌	6. 最初と最後の頁 82-89
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shiika Hara, Yoshie Nagai-Yoshioka, Ryota Yamasaki, Yoshiyuki Adachi, Yuko Fujita, Kouji Watanabe, Kenshi Maki, Tatsuji Nishihara, Wataru Ariyoshi	4. 巻 236
2. 論文標題 Dectin-1-mediated suppression of RANKL-induced osteoclastogenesis by glucan from baker's yeast	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Cell Physiol	6. 最初と最後の頁 5098-5107
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jcp.30217	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 -
1. 著者名 Teppei Sago, Koji Watanabe, Kazune Kawabata, Shunji Shiiba, Kenshi Maki, Seiji Watanabe,	4. 巻 79
2. 論文標題 A nasal high-flow system prevents upper airway obstruction and hypoxia in pediatric dental patients under intravenous sedation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Oral and Maxillofacial Surgery	6. 最初と最後の頁 539-545
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.joms.2020.10.018.	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 -

1. 著者名 Koji Watanabe, Daigo Yoshiga, Teppei Sago, Masafumi Oda, Izumi Yoshioka, Seiji Watanabe, Yasuhiro Morimoto	4. 巻 14
2. 論文標題 Retrospective Survey on Mesiodens and Corresponding Odontoparallax in Japanese Children	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Health	6. 最初と最後の頁 939-948
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4236/health.2022.149067	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 -

〔学会発表〕 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 山田由希子, 渡辺幸嗣, 田窪二郎, 牧憲司
2. 発表標題 Zn, Feがエナメル質酸蝕症に及ぼす影響について
3. 学会等名 第58回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡辺幸嗣, 牧憲司
2. 発表標題 九州歯科大学附属病院小児歯科における全身麻酔下歯科治療の集計
3. 学会等名 第32回日本小児口腔外科学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroka Kawaue, Takuma Matsubara, William N. Addison, Yuko Fujita, Katsura Saeki, Koji Watanabe, Ikuko Nishida, Shoichiro Kokabu
2. 発表標題 KIF22, the gene responsible for SEMDJL2, is Essential for Cell Proliferation and Differentiation in ATDC5 Chondrocytes like cells
3. 学会等名 Asia-Pacific Conference in Fukuoka 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022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	中富 満城  (Nakatomi Mitsushiro)  (10571771)	産業医科大学・産業保健学部・准教授   (37116)	
研究 分担者	古株 彰一郎  (Kokabu Shoichiro)  (30448899)	九州歯科大学・歯学部・教授   (27102)	
研究 分担者	牧 憲司  (Maki Kenshi)  (60209400)	九州歯科大学・歯学部・教授   (27102)	

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
---------	---------