

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670882

研究課題名(和文)細胞特異的エストロゲン受容体欠損マウスを用いた進行性下顎頭吸収の分子標的治療開発

研究課題名(英文)Development of molecular targeted therapy for progressive condylar resorption using cell specific estrogen receptor knockout mice

研究代表者

森山 啓司(Moriyama, Keiji)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：20262206

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：進行性下顎頭吸収(Progressive Condylar Resorption; PCR)は、下顎後退・前歯部開咬を呈し、QOLの低下をもたらすが、病態は不明な点が多い。本研究では、エストロゲンを欠乏させたPCRモデルマウスの作成を試み、PCR病態成立機序の検討を行った。モデルマウスに他の外的刺激を加えたところ、若齢成獣マウスにおいて下顎頭海綿骨領域における骨代謝回転の変化が生じる事を見出した。よって、エストロゲンは他の外的因子と相互作用し、下顎頭形態維持に重要な役割を担う事が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Progressive Condylar Resorption (PCR) exhibits progressive mandibular retrusion and anterior open bite, which leads to decrease in quality of life. However, pathology and etiology of PCR are unclear. We investigated the effect of estrogen and other external factors on the mandibular condyle using new model mice to determine the mechanism of PCR pathogenesis. We found that turnover of bone metabolism was changed in the condyle of the young adult mice. Therefore, it is suggested that estrogen interacts with other external factors and plays an important role in maintaining condylar morphology.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：下顎頭吸収 エストロゲン 軟骨細胞 破骨細胞 骨芽細胞

### 1. 研究開始当初の背景

進行性下顎頭吸収(Progressive Condylar Resorption; PCR)とは、下顎頭がほぼ無症状の状態数年をかけて短小化し、下顎後退、下顎の時計回りの回転による前歯部開咬などを呈するものである。近年、PCRを伴う不正咬合患者の報告が散見されるが、短小化した下顎頭へのアプローチは行わず、大臼歯の圧下によるカモフラージュ治療や外科的矯正治療、人工顎関節置換術といった対症的矯正治療でしか対応できていないのが現状である。特にPCRが進行中、予後の予測は困難であり、矯正歯科治療・補綴治療の開始が行えない。さらには一度緩解したPCRが再発する症例も存在し、対応に苦慮する。このような難治症例にも関わらず、PCRの進行を抑制、もしくは喪失した下顎頭を再生する治療法は未だ存在しない。PCRは女性に多く(男女比=1:10)、PCRとエストロゲン欠乏症の併発が多い事、また本邦においては閉経後にも頻発する事が研究代表者らにより報告され、性ホルモンであるエストロゲンの関与が強く示唆されている。しかしながら、下顎頭内でのエストロゲンの標的細胞やその細胞の機能的変化の検討は不十分なままであった。

### 2. 研究の目的

PCRについては現在様々な要因(ホルモン・メカニカルストレス等)が関連する事が示唆されているものの、未解明な部分が多い。本研究では、PCRの要因と示唆されるエストロゲンに着目し、下顎頭を構成する軟骨細胞・骨芽細胞・破骨細胞におけるPCR病態成因に関わる機能解析を行う。PCRモデル動物の作製(Cre-loxP systemを用いた細胞特異的エストロゲンノックアウトマウス、卵巣摘出モデルを用いたエストロゲン欠乏モデルマウス)および解析を行い、臨床応用への展開を見据え、その病態および病因を分子生物学的観点から明らかにすることを目的とする。動物を用いた基礎的知見に加え、臨床的知見を得るため、PCRを呈する患者情報の蓄積ならびにデータベース化を行い、本研究結果を臨床へフィードバックする事を目指す。PCR発症に対しエストロゲン作用による各細胞単独の動態を検討する全く新しい試みであり、歯科矯正学領域でのPCR病態解明および治療の礎となる事が期待できる。

### 3. 研究の方法

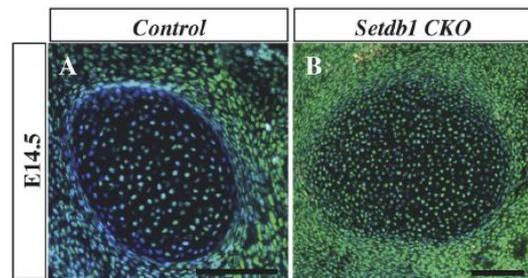
(1)PCR新規モデルマウスの作製とその下顎頭の解剖学的・組織化学的・免疫組織学的解析を主として施行するとともに、エストロゲン標的細胞の検討を行う。

(2)成長発生段階での下顎骨および頭蓋顎顔面領域における遺伝子発現およびタンパク発現の解析を行い、下顎骨形態に関与する候補遺伝子の探索を行う。

### 4. 研究成果

(1)まず、エストロゲン欠乏モデルマウスを作成し、エストロゲンとその他の外的因子が下顎頭に及ぼす影響、ならびにPCR病態成立機序の検討を行った。結果、若齢成獣マウスにおいて下顎頭における骨代謝回転の変化が生じる事を見出した。よって、エストロゲンは他の外的因子と相互作用し、下顎頭形態維持に重要な役割を担う事が示唆された。

(2)我々はCre/Loxpシステムを用い、神経堤細胞由来細胞特異的にヒストンメチル化酵素の一つであるSETDB1をノックアウトしたマウス(Setdb1 cKO)を作成した。cKOは小下顎ならびに口蓋裂を発現した。成長に伴い消失するメッケル軟骨の晩期残存を認め、前頭骨低形成ならびに歯胚形成過程異常を呈した。Setdb1 cKOのメッケル軟骨およびsiRNAを用いてSetdb1をノックダウンした軟骨細胞株ATDC5は、ともに細胞増殖能の上方制御を示した。また、Setdb1 cKOのメッケル軟骨における蛍光免疫染色から、SMAD1/5/8依存性BMPシグナルの亢進を認めた(下図 緑色に染色された部分)。



以上の結果から、遺伝子発現のエピジェネティック制御因子であるSETDB1が顎顔面発生過程において、重要な役割を担う可能性が示唆された。また、マウス胎児の下顎骨・上顎骨を含む頭蓋顔面領域ヒストンメチル化酵素であるWHSC1が発現する事を見出した。特に口蓋においてはRAの過剰投与によりWHSC1の発現が抑制され、口蓋裂の発生との関与が示唆された。さらに、ペプチドホルモンであるRLNが骨芽細胞と破骨細胞の分化マーカーの発現に関与し、RLNの受容体であるRxfp2を介して骨芽細胞のコラーゲン生成を促進する事を明らかにした。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計9件)

(1) 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. 査読有.  
2017 Mar 28(2):406-412.

doi: 10.1097/SCS.0000000000003327.

( 2 ) Lin W, Izu Y, Smriti A, Kawasaki M, Pawaputanon C, Böttcher RT, Costell M, Moriyama K, Noda M, Ezura Y. Profilin1 is expressed in osteocytes and regulates cell shape and migration. J Cell Physiol. 査読有. 2017 Feb 24. doi: 10.1002/jcp.25872.

( 3 )Yahiro K, Higashihori N, Moriyama K. Histone methyltransferase Setdb1 is indispensable for Meckel's cartilage development. Biochem Biophys Res Commun. 査読有 . 2017 Jan 482(4); 883-888. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.11.128.

( 4 )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. 査読有. 2016.11; 6(11). doi: 10.1136/bmjopen-2016-012283.

( 5 ) Duarte C, Kobayashi Y, Morita J, Kawamoto T, Moriyama K. A preliminary investigation of the effect of relaxin on bone remodeling in suture expansion. The European Journal of Orthodontics. 査読有. 2016.05;Dec 2016, Pages 7-14.

doi: 10.1093/ejo/cjw037.

( 6 ) Lin W, Ezura Y, Izu Y, Smriti A, Kawasaki M, Pawaputanon C, Moriyama K, Noda M. Profilin Expression Is Regulated by Bone Morphogenetic Protein (BMP) in Osteoblastic Cells. J Cell Biochem. 査読有. 2016 Mar 117(3) 621-8. doi: 10.1002/jcb.25310.

( 7 ) Ogura K, Iimura T, Makino Y, Sugie-Oya A, Takakura A, Takao-Kawabata R, Ishizuya T, Moriyama

K, Yamaguchi A. Short-term intermittent administration of parathyroid hormone facilitates osteogenesis by different mechanisms in cancellous and cortical bone. Bone Rep. 査読有 . 2016 Jan 16;5:7-14. doi: 10.1016/j.bonr.2016.01.002.

( 8 ) Liu S, Higashihori N, Yahiro K, Moriyama K. Retinoic acid inhibits histone methyltransferase Whsc1 during palatogenesis. Biochem Biophys Res Commun. 査読有 . 2015 Mar 13;458(3):525-30.

doi:10.1016/j.bbrc.2015.01.148.

( 9 )Duarte C, Kobayashi Y, Kawamoto T, Moriyama K. RELAXIN enhances differentiation and matrix mineralization through Relaxin/insulin-like family peptide receptor 2 (Rxfp2) in MC3T3-E1 cells in vitro. Bone. 査読有 . 2014 Aug 65:92-101.

doi: 10.1016/j.bone.2014.05.005.

〔学会発表〕(計 25 件)

( 1 )小倉健司、飯村忠浩、山口朗、森山啓司. 副甲状腺ホルモンの間欠投与による骨形成促進作用について. 第 75 回日本矯正歯科学会大会 2016 年 11 月 7-9 日、アステイ徳島(徳島県徳島市)

( 2 )八尋浩平、東堀紀尚、森山啓司. 顎顔面発生過程におけるヒストンメチル化酵素 Setdb1 の役割. 第 75 回日本矯正歯科学会大会 2016 年 11 月 7-9 日、アステイ徳島(徳島県徳島市)

( 3 )小林起穂、辻美千子、疋田理奈、小倉健司、森山啓司. 頭蓋縫合早期癒合症 (Craniosynostosis) 患者の顎顔面形態の解析—アペール症候群とクルーゾン症候群の比較. 第 75 回日本矯正歯科学会大会 2016 年 11 月 7-9 日、アステイ徳島(徳島県徳島市)

( 4 )高橋由記、東堀紀尚、森山啓司. 矯正用インプラントアンカー(仮称)を併用し治療を行った下顎頭変形症を伴うハイアングルII 級症例. 第75 回日本矯正歯科学会大会 2016 年 11 月 7-9 日、アステイ徳島(徳島県徳島市)

( 5 )小林起穂、森山啓司. 頭蓋縫合早期癒合症発症および頭蓋骨縫合部発生に關与する micro RNA の同定. 第 75 回日本矯正歯科学会大会 2016 年 11 月 7-9 日、アステイ

徳島（徳島県徳島市）

（ 6 ）浅見拓也、伊藤洋介、秋山秀平、平林恭子、小笠原毅、黒原一人、森山啓司。骨格性下顎前突症を伴う一卵性双生児の外科学的矯正治療例。第 75 回日本矯正歯科学会大会 2016 年 11 月 7-9 日、アステイ徳島（徳島県徳島市）

（ 7 ）Moriyama K. Dental Equilibrium Revisited : Soft Tissue Considerations in Treatment of Dentofacial Deformity. The 10th Asia Pacific orthodontic Conference and 11th Annual Meeting of the Indonesian Association of Orthodontists 2016.09.03. Bali (Indonesia)

（ 8 ）Ito Y, Takahashi Y, Hikita R, Watanabe C., Akiyama S, Higashihori N., Moriyama K. Long-term changes in clinical crown height after surgical orthodontic treatment for mandibular prognathism. The 10th Asia Pacific Orthodontic Conference and 11th Annual Meeting of the Indonesian Association of Orthodontists. 2016.09.03. Bali (Indonesia)

（ 9 ）Higashihori N., Hikita R, Moriyama K. Surgical-orthodontic treatment for facial asymmetry patient whose occlusal plane canted opposite to the mandibular deviation. The 10th Asia Pacific Orthodontic Conference and 11th Annual Meeting of the Indonesian Association of Orthodontists 2016.09.03. Bali (Indonesia)

（ 10 ）小倉健司、飯村忠浩、牧野祐司、杉江綾乃、高倉綾、高尾亮子、石津谷俊則、森山啓司、山口朗。短期間の副甲状腺ホルモンの間欠投与は海綿骨と皮質骨で異なるメカニズムにより骨形成を促進する。第 34 回日本骨代謝学会学術大会 2016 年 7 月 20-23 日、大阪国際会議場（大阪府大阪市）

（ 11 ）小笠原毅、伊藤洋介、浅見拓也、東堀紀尚、鈴木聖一、樺沢勇司、原田浩之、森山啓司。硬軟組織シミュレーションを導入して外科的矯正治療を施行した顔面非対称症例の術後硬軟組織の三次元的検討。第 75 回東京矯正歯科学会学術大会 2016 年 7 月 14 日、有楽町朝日ホール（東京都千代田区）

（ 12 ）秋山咲子、東堀紀尚、疋田理奈、渡辺千穂、高橋由記、伊藤洋介、森山啓司。上下顎移動術を施行した顔面非対称を伴う顎変形症患者の鼻形態に対する三次元解析。第 26 回日本顎変形症学会総会・学術大会 2016 年 6 月 25 日、学術総合センター・一ツ橋講堂（東京都千代田区）

（ 13 ）伊藤洋介、高橋由記、疋田理奈、渡辺千穂、秋山咲子、東堀紀尚、森山啓司。長期術後経過からみた骨格性下顎前突症例の臨床的歯冠長変化-下顎枝矢状分割術単独と上下顎移動術の比較。第 26 回日本顎変形症学会総会・学術大会 2016 年 6 月 24 日、学術総合センター・一ツ橋講堂（東京都千代田区）

（ 14 ）石川心介、山崎安晴、杉本孝之、池本繁弘、山下理絵、宮本順、森山啓司、稲毛滋白、武田啓。顎変形患者に対して下顎枝矢状分割術に下顎骨体部骨切りを併用した 2 症例。第 26 回日本顎変形症学会総会・学術大会 2016 年 6 月 24 日、学術総合センター・一ツ橋講堂（東京都千代田区）

（ 15 ）Lin W, Ezura Y, Izu Y, Moriyama K., Noda M. Role of Profilin1 in BMP-induced Activities in Skeletal Cells. 94th General Session & Exhibition of International Association for Dental Research. 2016.06.22. Seoul (Korea)

（ 16 ）Hikita R, Matsuno S, Asami T, Ogawa T., Baba Y, Tsuji M, Moriyama K. Systemic and craniofacial characteristics of patients with Williams syndrome. International Congress of Human Genetics 2016. 2016.04.03 Kyoto (Japan)

（ 17 ）Tsuji M, Ogura K, Hikita R, Kobayashi Y., Moriyama K. Maxillofacial morphological characteristics of two Japanese patients with chromosome 18p deletion syndrome. International Congress of Human Genetics. 2016. 2016.04.03 Kyoto (Japan)

（ 18 ）小川卓也、スラポンサワッド タンヤボン、森山啓司。Oculofaciocardiodental syndrome における変異 BCOR の機能解析による核移行シグナルの同定。第 60 回日本人類遺伝学会、2015 年 10 月 14-17 日、京王プラザホテル（東京都新宿区）

（ 19 ）八尋浩平、東堀紀尚、森山啓司。ヒストンメチル化酵素 SETDB1 が顎顔面発生過程に及ぼす影響。第 80 回口腔病学会学術大会。2015 年 12 月 25-26 日。東京医科歯科大学（東京都文京区）

（ 20 ）Ogura K, Ishizuya T, Moriyama K., Yamaguchi A. PTH Facilitates Osteogenesis by Different Mechanisms between Cancellous- and Cortical-bones. 第 63 回国際歯科研究学会日本部会。2015 年 10 月 30-31 日、福岡国際会議場（福岡県福岡市）

（ 21 ）Ogura K, Ishizuya T, Moriyama K., Yamaguchi A. Intermittent administration of Parathyroid hormone facilitates osteogenesis by different mechanisms in cancellous and cortical bone. ASBMR Annual Meeting. Oct 9-12, 2015 Seattle (USA)

（ 22 ）東堀紀尚、劉世穎、八尋浩平、森山啓司。ヒストンメチル化酵素 Whsc1 はレチノイン酸による口蓋裂発症に関与する。第 55 回日本先天異常学会 2015 年 7 月 25-27 日、パシフィコ横浜会議センター（神奈川県横浜市）

（ 23 ）林婉婷 伊豆弥生 江面陽一 森山啓司 野田政樹。Pfn1 の骨芽細胞分化におけ

る意義の検討．日本骨代謝学会．2015年7月23日．京王プラザホテル（東京都新宿区）（24）Lin W, Ezura Y, Izu Y, Moriyama K, Noda M. Deletion of Pfn1 have an effect on bone formation. 13<sup>th</sup> Congress of the international Society of Bone Morphometry. 2015年4月27-29日、東京ガーデンパレスホテル（東京都文京区）（25）森山啓司. 顎顔面成長発育疾患の新たな治療戦略の開発を目指して．平成26年度第8回硬組織疾患ゲノムセンターシンポジウム、2014年12月18日、東京医科歯科大学M&Dタワー（東京都文京区）

〔図書〕（計1件）

（1）森山啓司 他(分担執筆)、羊土社、骨ペディア（Bonepedia, 骨疾患・骨代謝キーワード事典）2015, 328

〔産業財産権〕  
該当無し

出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等  
<http://www.tmd.ac.jp/grad/mort/mort-J.htm>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

森山 啓司（MORIYAMA Keiji）  
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授  
研究者番号：20262206

### (2)連携研究者

野田 政樹（NODA Masaki）  
東京医科歯科大学・医学部・非常勤講師  
研究者番号：50231725

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・講師

研究者番号：50401360

東堀 紀尚（HIGASHIHORI Norihisa）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：50585221

小林 起穂（KOBAYASHI Yukiho）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：20596233

### (3)研究協力者

門田(渡辺) 千穂（KADOTA-WATANABE Chiho）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・日本学術振興会特別研究員 PD

研究者番号：30736658