

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861794

研究課題名(和文) ヒストン修飾が胎生期下顎隆起の形態形成制御機構に果たす役割

研究課題名(英文) The role of histone deacetylase during early mandibular development in rat.

研究代表者

寺尾 文恵 (Terao, Fumie)

九州大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：10510018

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)のラット胎生期下顎隆起における形態形成制御機構を明らかにすることを目的とした。Hdac1ノックダウンにより、エンドセリンレセプター・タイプA(Ednra)、転写因子であるHoxa2遺伝子の増加が認められた。Ednraは第一鰓弓の頭部神経堤細胞由来の間葉細胞に発現し、パターン形成に重要な役割を果たすことが知られている。Hoxa2は、第二鰓弓化をコードする転写因子で、第一鰓弓の第二鰓弓化が誘導された可能性が考えられる。以上のことより、Hdac1は胎生期下顎隆起において形態形成における重要な役割を果たす遺伝子の発現を制御する役割を持っていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to elucidate the mechanism of pattern formation regulated by histone deacetylase (Hdac) during rat embryonic mandibular development. Knockdown of Hdac1 in rat mandibular organ culture up-regulated the gene expression of endothelin receptor type A (Ednra) and Hoxa2. It is well known that Ednra is expressed by the neural crest-derived ectomesenchymal cells of mandibular arch, and plays an important role during mandibular pattern formation. Hoxa2 is a marker for the second branchial arch. Up-regulation of Hoxa2 gene expression in the first arch indicates that Hdac1 knockdown leads to a transformation of second arch. These data suggests that Hdac1 plays an important role during rat embryonic mandibular development by regulating key gene expression.

研究分野：医歯薬学

キーワード：歯学 発生・分化 ヒストン脱アセチル化

1. 研究開始当初の背景

矯正歯科治療において、重度の骨格的異常は顎変形症として形態学的に診断され、外科的矯正治療の対象とされる。しかしながら、この形態診断は成長を終了した個体に対する表現型の診断であり、その原因や発生メカニズムに対しては関心があまり払われていないが、早い時期に診断を可能とするためには、顎変形症の表現型を決定づける因子とその発現調節機構の解析が急がれる。顎顔面領域における遺伝的要因による形態形成の制御に関する研究は進みつつあるのに対し(図1) 環境要因、特にエピジェネティック要因による形態制御やエピジェネティック要因によって制御される遺伝子の変化による異常に関する研究はあまり進んでいないのが現状であった。

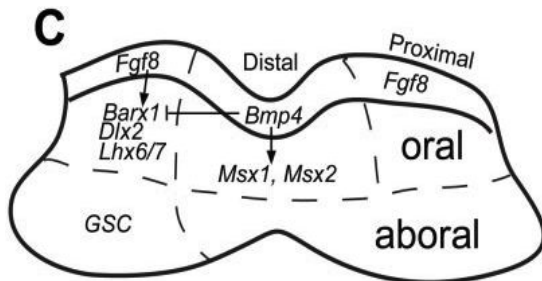


図1：胎生期下顎隆起におけるパターン制御因子 (Chai and Maxson, 2006.)

コアヒストンの修飾は、遺伝子発現の制御を決定する役割を有している。ヒストンのアセチル化は、遺伝子の転写に關与する主要な修飾であり、ヒストン脱アセチル化酵素はヒストンの過剰アセチル化を解除し、遺伝子転写を抑制する働きがあることがわかっている(図2)。

そこで、形態形成におけるエピジェネティック要因の一つとして、ヒストンの脱アセチル化を行う酵素であり、遺伝子の転写制御や様々な細胞への分化を制御するという報告が存在する、ヒストン脱アセチル化酵素

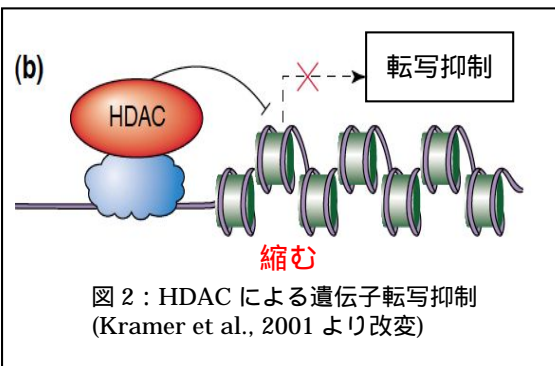


図2：HDACによる遺伝子転写抑制 (Kramer et al., 2001より改変)

(HDAC)1に注目することとした。

我々は、以前の研究から、HDAC阻害剤であるTSAを添加、およびHdac1のノックダウンにより、ラット胎生期下顎隆起におけるメッケル軟骨形成が阻害されるという結果を得ている。これは、ラット胎生期下顎隆起において、Hdac1はメッケル軟骨の形態形成制御に関わることを示唆している。しかし、どのような形態形成制御機構が働いているかについては不明のままであった。

2. 研究の目的

ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)1に注目し、HDACの下顎隆起における形態形成が時間的空間的にどのような遺伝子の転写制御によりコントロールされているかについて、明らかにすることにより、将来的には、遺伝子変異によって引き起こされる顎顔面領域における表現型をエピジェネティックにコントロールすることにより、エピゲノム創薬によるヒトの顔面形態の形成メカニズムを踏まえた矯正歯科治療法の確立を目指す。

3. 研究の方法

(1) Hdac1 siRNAによるHdac1選択的ノックダウン

胎齢14日のラットより下顎隆起を摘出し、ミリポアメンブレン上で器官培養を行った。開始3時間後にHdac1のsiRNAをエレクトロポレーション法にて導入した。トランスフ

エクシオン 1 および 2 日目に Total RNA を抽出し、逆転写後、RT-PCR 解析を行った

Hdac1 siRNA 導入による解析を行うために、ラットゲノム DNA マイクロアレイを実施した。サンプルには Hdac1 siRNA 導入 1 および 2 日目の RNA を用い、対照群では negative control siRNA を導入した。

4 . 研究成果

(1) 培養開始 2 日目のサンプルにおいて対照群と比べ Hdac1 siRNA 導入群で有意に II 型コラーゲン遺伝子の減少が認められた。これは、以前、ホールマウントアルシアンブルー染色により得られた、Hdac1 ノックダウンによりメッケル軟骨形成が阻害される結果を遺伝子レベルで裏付ける結果であった。

(2) Hdac1 siRNA 導入により、1 日目ではエンドセリンレセプター・タイプ A (Ednra) 遺伝子、2 日目では転写因子である Hoxa2 遺伝子や Pitx3 遺伝子の増加が認められた。Ednra は 下顎隆起を含む第一鰓弓において頭部神経堤細胞由来の間葉細胞に発現し、第一鰓弓におけるパターン形成に重要な役割を果たすことが知られている。Hoxa2 は、ホメオティック遺伝子の一つで、第一鰓弓では発現せずに第二鰓弓化をコードする転写因子であり、Hdac1 siRNA 導入により第一鰓弓の第二鰓弓化が誘導された可能性が考えられる。

以上のことより、Hdac1 は胎生期下顎隆起の軟骨分化を制御するだけでなく、形態形成における重要な役割を果たす遺伝子の発現を制御する役割を持っていることが示唆された。

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 2 件)

Umeda M, Terao F, Miyazaki K, Yoshizaki K, Takahashi I.: MicroRNA-200a Regulates the Development of Mandibular Condylar Cartilage. J Dent Res. 94: 795-802, 2015 June

Deguchi T, Terao F, Aonuma T, Kataoka T, Sugawara Y, Yamashiro T, Takano-Yamamoto T.: Outcome assessment of lingual and labial appliances compared with cephalometric analysis, peer assessment rating, and objective grading system in Angle Class II extraction cases. Angle Orthod. 85(3): 400-407, 2015 May.

[学会発表](計 3 件)

寺尾文恵、森悦秀、高橋一郎 安静空隙が著しく大きい骨格性 Ⅱ 級症例に対する外科的矯正治療 第 11 回九州矯正歯科学会学会術大会、ポスター、2016 年 2 月 6-7 日、福岡

寺尾文恵 九州大学病院矯正歯科における顎変形症の治療に対する考え方 - 垂直的問題に注目して - 第 11 回九州矯正歯科学会学会術大会 日台ジョイントセミナー「外科的矯正治療」 Surgical Orthodontics、口演 2016 年 2 月 6-7 日、福岡

寺尾文恵、春山直人、高橋一郎 骨格性下顎前突患者における最大かみしめ開始から最大咬合力に達するまでの時間と顎顔面形態の関係について 第 73 回日本矯正歯科学会 2014 年 10 月 20 22 日

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

寺尾 文恵 (TERAO, Fumie)
九州大学・歯学研究院・助教
研究者番号：10510018