

2016～2020 年度のユニットにおける研究実績（概要）

本ユニットにおける実績は

- (1) 臨床情報データベースの構築
- (2) 遺伝学的要因を持つ先天異常の病態メカニズムの解明と診断、治療法の開発
- (3) 環境要因による頭蓋顎顔面形態形成への影響のメカニズム
- (4) 硬組織修復・再生のコントロール

に区別される。

(1) 臨床情報データベースの構築

学部長裁量経費によって、1973 年以降に歯学部附属病院に登録された患者のうち、顎口腔変形疾患を有する患者の基本情報約 11,000 人分を臨床情報データベースに登録した。なお、本データベースについては、今後歯学部附属病院のデータベースとして管理されることとなった。また、口唇口蓋裂、顎変形症やその他の頭蓋顎顔面の先天疾患に関する臨床研究において、およそ毎月開催されるカンファレンスを通じて互いの持つ臨床情報・基礎的情報につき交換を行う基盤の形成ができた。詳細な臨床情報が付随するバイオバンクと歯学部附属病院との連携の必要性和問題点を考慮した上で、学部長裁量経費による支援により患者の臨床情報を情報管理上安全に蓄積しつつ閲覧できる臨床情報データベースの整備をすすめている。今後はデータベース登録運用システムの改善などが課題となる。

(2) 遺伝学的要因を持つ先天異常の病態メカニズムの解明と診断、治療法の開発

数種類の遺伝学的要因が理解されつつある疾患の病態メカニズムの解明のための検体収集、モデルマウス作製とその解析、および遺伝子機能の解明のための研究が行われた。

頭蓋縫合早期癒合症患者の検体収集をし、骨芽細胞については、現在までに 3 カ所の研究協力施設から 29 検体入手し、骨芽細胞を分離した。内訳は頭蓋縫合早期癒合症が 25 例（その内、症候群性 5 例）と非頭蓋縫合早期癒合症の 4 例である。また、これらの骨芽細胞から患者由来の iPS 細胞を樹立して分化度を統一させて再び骨芽細胞へと分化させた際の分化状態や遺伝子発現についても併せて解析を行う予定である。複数の検体由来の骨芽細胞から iPS 細胞作製の系を樹立した。また、ムンケ（Muenke）症候群由来の骨芽細胞は、iPS 細胞化の後、再び骨芽細胞へと分化させる系を確立した。

Nager 症候群は、スプライソソームを構成する 1 因子である Sf3b4 の機能欠失変異が原因で引き起こされる頭蓋顎顔面の形態形成異常があるため、ゲノム編集によって Sf3b4 欠失マウスを作製し、解析を行った。表現型がヒト疾患とは完全には一致しなかったが、骨格異常や脳の低成長が観察され、論文発表を行った（下記 3 の項参照）。ゲノム編集による遺伝子改変マウスについては、本学難治疾患研究所の未来ゲノム研究開発支援室との共同研究によって作製した。

共に頭蓋顎顔面に形態異常を示す **Axenfeld-Rieger 症候群**と**睫毛重生症**リンパ浮腫症候群の原因遺伝子は、それぞれフォークヘッド転写因子 Foxc1 と Foxc2 である。両遺伝子は

発生過程において発現パターンが近似しており、相補的に機能していることが示唆されている。そこで、両遺伝子の頭蓋顎顔面の骨格形成における機能を明らかにするため、胚発生中に *Foxc2* を発現した細胞を標識できる遺伝子改変マウスの解析とマウス *Foxc1/2* の時空間的発現パターンの比較を行った。*Foxc1/2* は鰓弓発生初期より将来の頭蓋底や耳小骨を形成する細胞に共発現し、協調的に働いてそれらの形態アイデンティティの決定に関与していることが示唆された。*Foxc2* は、体節由来の筋芽細胞に発現した後、舌の形成過程で舌中の神経堤細胞に発現しているが、神経堤細胞特異的に欠失させると、オトガイ舌筋の起始がオトガイ棘でなくメッケル軟骨となり、腱の形成に機能している可能性が示唆された。

遺伝学的要因は現時点で不明であるが、強く示唆される頭蓋顎顔面の先天異常について

また、**Oculoauriculovertebral spectrum (OAVS)**は第一・第二鰓弓由来の組織形成異常に起因した下顎骨、外耳の形成不全を主徴とする先天性疾患であり、その表現型は多様であり、顎顔面以外にも全身に種々の随伴症状を認めるが、現在 OAVS の発症に遺伝要因の関与が示唆されているものの、明らかにされていないのが現状である。ブラジルのサンパウロ大学との国際共同研究を通して、全身にみられる種々の随伴症状の中でも特に橈骨の異常を伴う OAVS 患者の 11 家系 28 サンプルの臨床情報ならびにゲノム DNA 検体の収集を行い、遺伝原因について現在解析中である。

6 歯以上の先天性欠如を伴う**非症候性部分無歯症(oligodontia)**の家系発症例を用いた全エクソーム解析により、G-protein-coupled receptor(GPCR)をコードする遺伝子にミスセンス変異を同定し、さらに孤発例 48 名を対象にターゲットシーケンスを行い、うち 2 名に同遺伝子に有害と予測される変異を同定した。*Gpcr* のマウス歯胚での発現を認め、歯の発生に必要な遺伝子である可能性が示唆されている。今後、機能解析を行い、疾患発症メカニズムおよび歯の発生における役割について検討する予定である。

(3) 環境要因による頭蓋顎顔面形態形成への影響のメカニズム

環境要因の形態形成への影響については、出生前と出生後に分けて考えられるが、過去 5 年間では後者と考えられる**矯正治療の歯根および歯槽骨への影響**と、前者において、頭部間葉細胞の分化と分化能の変化について遺伝子改変マウスを用いて明らかにした（下記 3 の項参照）。

矯正治療時の矯正力に対する歯槽骨のリモデリングや歯根形成に対する影響について検討されている。矯正力に応答して歯槽骨のリモデリングが起きる際、**RANKL** を産生するのは骨細胞で、歯の矯正学的移動に重要な役割を担うことを明らかにし、その分子機構を解析した（下記 3 の項参照）。発育中の歯根に対する機械的矯正力の影響については解析が遅れている。そこで歯根形成中の幼若ラットの臼歯に矯正力を付与すると、比較的短期の矯正力付与では付与している間の組織学変化が可逆的であり、明確な悪影響は認められなかった。他方、比較的長期の矯正力を付与すると歯根尖形態が変化し、矯正力付与を中止しても正常組織へと戻らないことを観察した（下記 3 の項参照）。

幼弱動物での実験的外傷性脱臼・歯根破折が顎の成長に与える影響について、実験的外傷性歯牙脱臼を規格化し、脱臼後に合併する歯槽内歯根破折の治癒経過を組織学的に解析し、論文発表を行った。

(4) 硬組織修復・再生のコントロール

硬組織修復の促進のため、BMP-2 タンパク使用の代替法として BMP-2 遺伝子導入に着目し、RANKL 結合ペプチドを併用した新規骨形成法の開発を行った。これまでに、BMP-2 発現プラスミドベクターとエレクトロポレーションを用いた遺伝子導入により、マウス下肢筋肉内に異所性骨誘導を行った。RANKL 結合ペプチド投与群では異所性骨の形成促進と吸収抑制が生じ、遺伝子導入により宿主の細胞が産生した BMP-2 タンパクに RANKL 結合ペプチドが効率的に作用することが明らかとなった。また、RANKL 結合ペプチド投与群では、新生骨の骨質に改善が認められた。これらの研究成果をまとめ、論文発表を行った。

頭蓋縫合癒合症の本質は骨芽細胞の分化促進であると考えられており、骨芽細胞分化抑制が治療法となると仮定した。分子可動性を調節することのできる生体材料ポリロタキサンを用いると骨芽細胞の分化を調節できることが示された。

若手育成および国際化の取り組み

2020年2月23-28日 ゴードンリサーチ会議Craniofacial Morphogenesis and Tissue Regeneration、イタリアIl Ciocco, Luccaに大学院生2名を派遣

2018年3月25-30日 ゴードンリサーチ会議Fibroblast Growth Factors in Development and Diseases、米国Ventura, California に大学院生1名を派遣

2018年3月11日形づくりユニット第3回研究情報交換会

講演：浜松医科大学・教授 才津浩智先生

若手研究者4名の研究発表

2018年3月5-7日 2nd International APOS residents forum 2018 に大学院生1名を派遣

2017年11月22日形づくりユニット第2回情報交換会

講演：Helsinki 大学・教授 Irma Thesleff 先生

岩手医科大学・教授 原田英光先生

若手研究者4名の研究発表

2017年3月22日形づくりユニット第1回情報交換会

講演：徳島大学人類遺伝学分野教授・井本逸勢先生

若手研究者4名の研究発表

若手研究者受賞

1)下記3の項の業績1：96th General Session & Exhibition of International Association for Dental Researchにて Hatton awards 最終候補者、第61回歯科基礎医学会学術大会・先端歯学シンポジウム「次世代歯学研究者のゆくえ」シンポジスト（分子情報伝達-咬合機能矯正）

2)生体材料の状態変化と骨再生効果との関係について検討し、第37回日本炎症再生学会において優秀演題賞を受賞した（分子細胞機能-分子発生）。

3)片側性唇顎口蓋裂患者の矯正治療において下鼻甲介の位置と二次的顎裂部骨移植術後の骨架橋形態ならびに顎裂幅の相関についての解析を発表し、第40回日本口蓋裂学会総会にて優秀発表賞を受賞した（顎顔面矯正-顎顔面外科）。

4) 上顎骨延長を施行した口唇口蓋裂症例において、術後の上咽頭体積の増加に伴う言語機能に著明な変化を認めず、咽頭周囲軟組織に何らかの補償機構が働いていることが示唆された。得られた知見を本研究に携わった若手研究が第 42 回日本口蓋裂学会学術集会にて発表し、優秀ポスター賞を受賞した。(顎顔面矯正-顎顔面外科)。

国際交流協定を締結している英国 King's College London、で頭蓋顎顔面の形態形成の研究を精力的に行っている研究室との共同研究を行う体制を構築した。

国際交流協定を締結しているブラジルのサンパウロ大学と共同研究を開始した