

氏名	河野 加奈		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	歯学		
学位授与番号	博甲第5127号		
学位授与の日付	平成27年3月25日		
学位授与の要件	医歯薬学総合学研究科機能再生・再建科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	食餌性状の違いは <i>Myh</i> 遺伝子群の発現を変化させマウス咬筋の筋線維の種類と下顎骨形態に影響を及ぼす		
論文審査委員	山本 敏男 教授	西田 崇 准教授	上岡 寛 教授

### 学位論文内容の要旨

【緒言】 歯科疾患実態調査の結果から、過去 20 年間で不正咬合を有する患児の割合は増加している。しかし不正咬合の成立要因は、原因遺伝子が明らかでないいくつかの先天疾患以外ほとんど明らかになっていない。不正咬合の原因を説明できない理由としては、先天的要因だけでなく後天的要因が顎骨の形態変化に影響を及ぼしていることが挙げられる。現代社会では食生活の変化に伴い咀嚼機能が低下し、顎骨が退化縮小した結果、不正咬合が増加したと言われている。しかし、食生活のような後天的要因が、どのような機序で骨格形態に影響を及ぼすのかという点に関しては不明な部分が多い。そのため本研究ではまず、マウスを用いて食餌性状という後天的な影響によって顎骨形態が変化するモデルを作成した。また、食餌性状を変化させた時のマウス下顎骨の形態変化を、歯科矯正学的な分析手法であるセファログラム分析法を応用し、詳細に分析出来るか試みた。さらに、食餌性状の変化が咬筋の筋線維の種類に与える影響を調査するとともに、咬筋の筋線維の種類に影響を及ぼすことが知られている *Myosin heavy chain (Myh)* 遺伝子群の発現の違いを調査することで、食餌性状の変化と下顎骨形態の変化及び咬筋の特性変化の三者の相互的な関連性を調査した。

【材料ならびに方法】 生後 3 週齢で離乳させた ICR マウスを、粉末餌群、固形餌群の 2 群に分け、生後 9 週齢まで飼育した。生後 9 週齢の段階で各群のマウスを屠殺して頭部を採取し、実験動物用 X 線 CT 装置にて撮影して、マウス下顎骨の全骨密度、皮質骨密度、海綿骨密度を調査した。さらに、3D 解析ソフトを用いて立体構築したマウス下顎骨の筋突起、下顎頭、下顎角部の形態変化を観察した。下顎骨全体の形態変化についてはセファログラム分析法を応用して比較検討した。また、食餌性状が咬筋の筋線維の種類に及ぼす影響を調査するため、9 週齢で屠殺したマウスから咬筋を取り出し切片を作製して NADH-TR 染色を行った。さらに、組織染色で得られた結果を遺伝子発現でも確認するために、咬筋から回収した Total RNA を用いて、定量的 PCR 法にて *Myh* 遺伝子群の発現量を比較検討した。

【結果および考察】 食餌性状の違いによって生じる下顎骨の形態変化を解析した結果、粉末餌

群では筋突起の厚みが薄くなり、下顎頭、下顎角部においては固形餌群と比較して、形状、大きさ、厚みに変化が生じていた。これは食餌性状を変えることでメカニカルストレスが変化し、直接的もしくは間接的に骨のリモデリングを調節したためと考えられる。また、下顎骨全体の形態変化として、粉末餌群では下顎切歯が下方に傾くような形状に変化しており、下顎枝高が低く、歯槽骨高が高く変化した。このような特徴は、ヒトにおけるいわゆる骨格性ハイアングル、オープンバイトの傾向と一致していた。ヒトにおけるハイアングル、オープンバイト症例では、一般に咬合力が減少することで歯の挺出が亢進し、歯槽骨高の増加と、これに伴う下顎骨の後方回転が生じている。この特徴は、筋ジストロフィーのような筋力が低下する疾患でも認められ、一般に後天的で間接的な影響によるものと考えられている。そのため、今回の結果から筋ジストロフィーのような筋肉の疾患の2次的な影響として、顎骨の形態変化に伴う骨格性の不正咬合が生じる可能性が示唆された。そこでNADH-TR染色を行った結果、粉末餌群の咬筋の特性は、より速筋に近い性質を示すようになった。また、遺伝子発現においては、粉末餌群では速筋の中でもより速筋の性質が強い *Myh4* の発現量が増加し、速筋の中では遅筋の性質に傾いてきている *Myh1*, *Myh2* の発現量が減少した。このことから、食餌性状を変化させることで *Myh* 遺伝子群が応答し、咬筋の筋線維の種類を変化させていることが示唆された。また、下顎骨の骨密度に関しては、粉末餌群で有意に低下することが分かった。近年、後天的な顎骨形態変化をもたらすメカニズムにおいてもエピジェネティクス制御の関与が示唆されているが、今回の研究では後天的に食餌性状を変化させることで *Myh* 遺伝子群の発現が変化した。よって、食餌性状の変化に伴う何らかのシグナルが *Myh* 遺伝子群の発現を変化させている可能性が考えられる。つまり、*Myh* 遺伝子群が直接的または間接的にエピジェネティクス制御のターゲットとなっている可能性がある。そのため、今後はこれらの現象がどのような機序で起こっているのかを解析していく必要がある。また、顎骨と咬筋の発育過程での相互作用がどのように働いているのかを解明していく必要がある。

**【結論】** 今回の実験から、食餌性状の違いがマウス咬筋における *Myh* 遺伝子群の発現を変化させ、筋線維の種類と下顎骨形態に影響を及ぼすということが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

現代社会では食生活の変化に伴い咀嚼機能が低下し、顎骨が退化縮小した結果、不正咬合が増加したと言われている。しかし、食生活のような後天的要因が、どのような機序で顎骨形態に影響を及ぼすのかという点に関しては不明な点が多い。

本研究では成長期のマウスを用い（生後3週齢から生後9週齢）、食餌性状を変化させたことによる下顎骨の形態変化を、歯科矯正学的な分析手法であるセファログラム分析法を応用し、詳細に分析した。さらに、食餌性状の変化が咬筋の筋線維の種類の変化に対する影響を調べるために、咬筋線維の種類に影響を及ぼすことが知られている *Myh* 遺伝子群の発現の違いを調べた。

食餌性状の違いによって生じる下顎骨の形態変化を解析した結果、粉末餌群では筋突起の厚さが減少し、下顎頭は小さくなった。また、下顎角部の突起は鋭角になった。下顎骨の骨密度に関しては、粉末の餌を与えたマウスで有意に低下することが明らかとなった。これは食餌性状を変えることで下顎骨に加わるメカニカルストレスが変化し、直接的もしくは間接的に骨のリモデリングに影響を及ぼしたためと考えられた。また下顎骨全体の形態変化として、粉末餌群では下顎切歯が下方に傾いて挺出しており、また下顎枝高が低く且つ歯槽骨部が高くなっていた。このような変化はヒトにおけるいわゆる骨格性ハイアングル、オープンバイトの特徴、すなわち咬合力の減少による歯の挺出の亢進、歯槽骨高の増加とこれに伴う下顎骨の後方回転と類似していた。この特徴は、筋ジストロフィーのような筋力が低下する疾患でも認められることが知られている。したがって、本研究で認められた粉末餌群における顎骨の形態変化は筋力低下による影響として、骨格性の不正咬合が生じる可能性が示唆された。そこで、食餌性状の変化に伴う下顎骨の形態変化と咬筋の筋線維の種類に関連性を確認するために Nicotinamide adenine dinucleotide - tetrazolium reductase (NADH-TR) 染色を行った結果、粉末餌群の咬筋は瞬発力が高く、持久力が低い速筋線維が有意に増加していた。さらに、*Myh4* の発現量が増加し、*Myh1*、*Myh2* の発現量が減少した。これらのことから、食餌性状を変化させることで *Myh* 遺伝子群が応答し、咬筋の筋線維の種類を変化させているものと考えられた。

これらの研究結果は、後天的に食餌性状を変化させることにより下顎骨の形態、骨密度が変化すること、さらに咬筋の *Myh* 遺伝子群の発現が変化し、筋線維の性質が変化することを示したものである。本研究は食餌性状と下顎骨、咬筋の関係について新規性の高い有意義な知見を示している。

よって、審査委員会は本論文に博士（歯学）の学位論文としての価値を認める。