

平成21年 5月20日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19592344
 研究課題名（和文） 歯の萌出における転写因子活性制御の分子生物学的解析
 研究課題名（英文） Analysis of the tooth eruption via regulation of transcription factor
 研究代表者
 菊入 崇（KIKUJIRI TAKASHI）
 北海道大学・大学院歯学研究科・助教
 研究者番号：10322819

研究成果の概要： 本研究は、歯の発生の仕組みを明らかにするために、転写調節因子のひとつであるカルシニューリンについて着目し、歯胚形成期におけるカルシニューリンの発現について検索を行った。歯胚の分化期である蕾状期から鐘状期ではカルシニューリンは、歯性上皮由来の細胞、外胚葉性間葉由来の細胞両方において発現が確認された。以上のことからカルシニューリンは、歯の発生・分化過程において必要なシグナル分子として作用していることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：矯正・小児系歯学

キーワード：カルシニューリン 歯胚 形態発生

1. 研究開始当初の背景

(1) すべての器官は、上皮組織と間葉組織から発生し、形態発生の初期段階を通して、多くの器官は、基本的な発生制御メカニズムを共有している。制御機能は、転写調節因子、細胞増殖因子、細胞表面や細胞外マトリックス成分、およびマトリックス分解酵素といったシグナルが複雑に関与していることが知られている。しかし、歯牙の発生は、エナメル質および象牙質という硬組織を誘導することから、他の器官とは別の発生制御因子が関与している可能性が考えられる。

(2) シグナル伝達分子の中にはカルシウム

の結合によって機能を調節されるものがある。カルシウム結合タンパク質の一つであるカルシニューリンはカルシウム活性化セリン/トレオニンホスファターゼであり、様々な転写因子の制御を行い、細胞内情報伝達機構に関わる重要な分子であることが報告さる。カルシニューリンによって調節活性を受ける転写因子として nuclear factor of activated T cells (NF-AT) がある。骨芽細胞においてカルシニューリン/NF-ATシグナル伝達は骨量を制御していることが報告されている。このことからカルシニューリン/NF-ATシグナルが歯胚における硬組織形成にも関与している

可能性が考えられる。また、カルシニューリン/NF-AT シグナルは、初期発生において、腹と背を分ける体軸の形成に重要な役割を果たしていることが判明している。つまり、複雑な形態を有する歯牙においても、形態決定に関わっている可能性は十分考えられる。

2. 研究の目的

本研究ではカルシニューリンが歯の発生・形成過程のどの時期に、また、どの細胞に発現しているかを組織学的に解析することにより、歯の発生・分化過程におけるカルシニューリンの役割を解明することある。

3. 研究の方法

硬組織が形成される歯胚の発生段階のマウスから歯胚領域を含む顎体部を摘出し、得られた試料について作成した切片を用いて免疫組織化学法を行い、カルシニューリンの各subunitの発現解析を行った。

4. 研究成果

免疫染色によるカルシニューリンの発現に関して、歯胚領での帽状期および鐘状期におけるカルシニューリン A alpha (CNA α)、カルシニューリン A beta (CNA β)、カルシニューリン A gamma (CNA γ) の免疫染色の結果を示す。

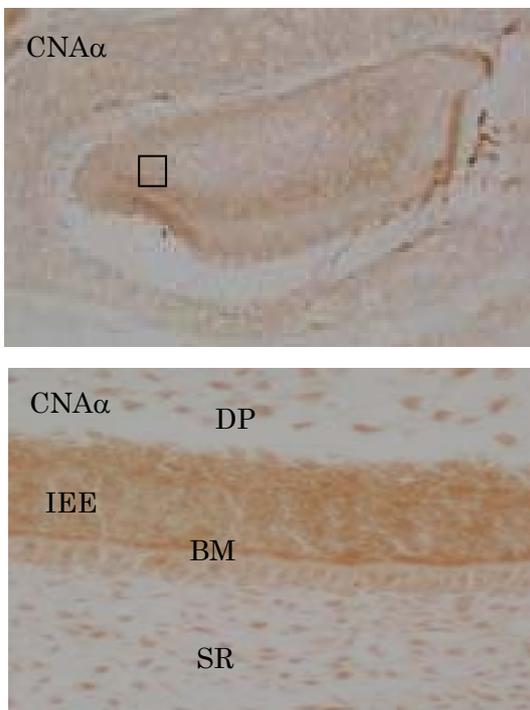


図1 帽状期における CNA α の発現
DP：歯乳頭、BM：基底膜、
IEE：内エナメル上皮、SR：星状網

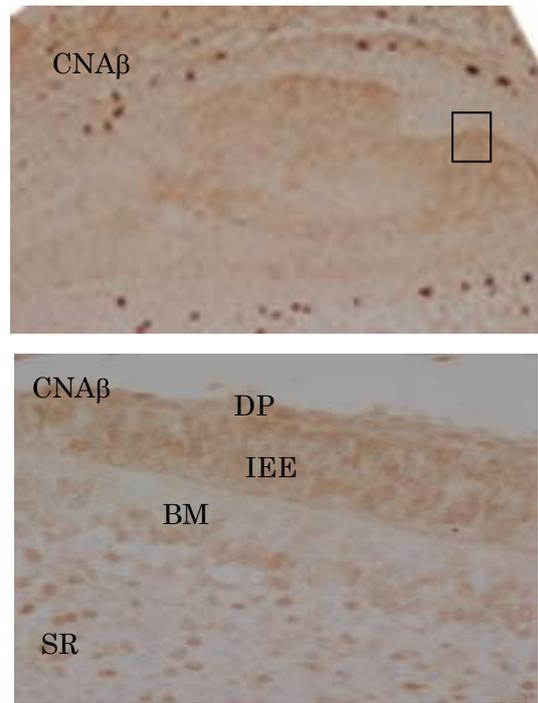


図2 帽状期における CNA β の発現

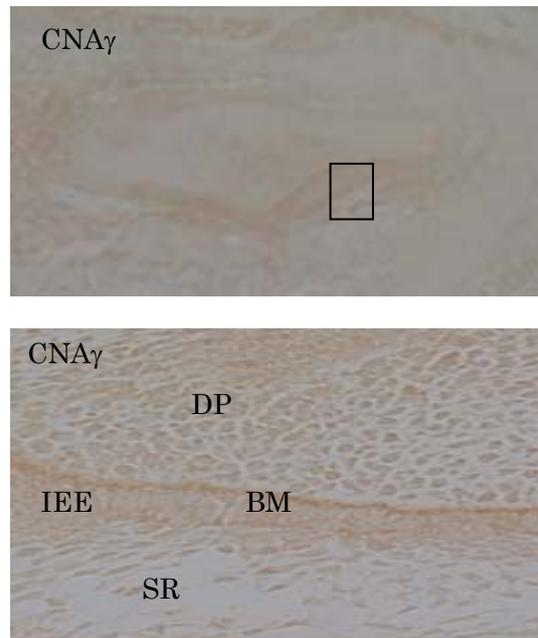


図3 帽状期における CNA γ の発現

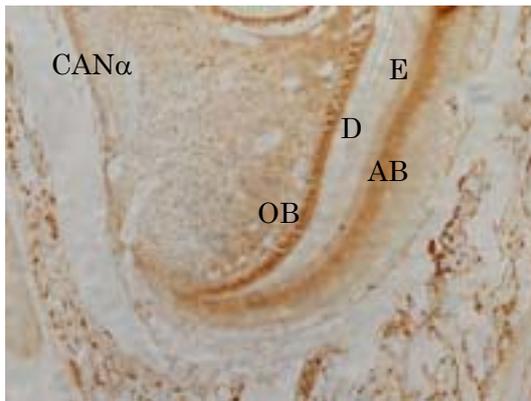
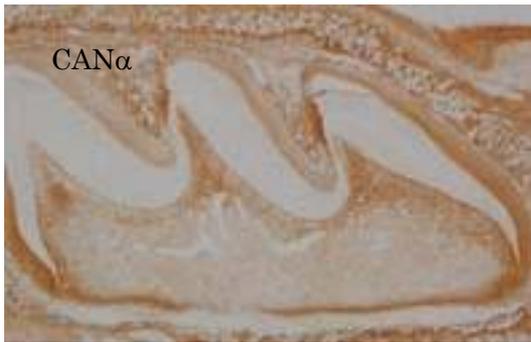


図4 鐘状期における CNA α の発現
 AB: エナメル芽細胞、E: エナメル質、
 OB: 象牙芽細胞、D: 象牙質

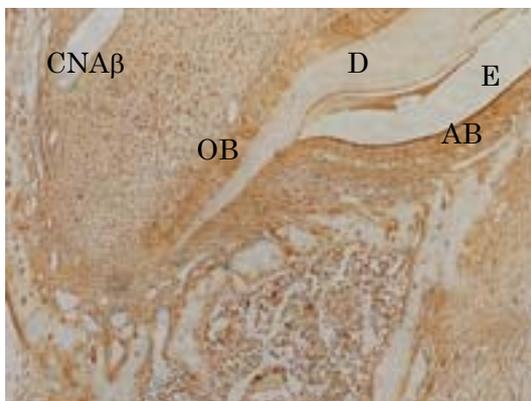


図5 鐘状期における CNA β の発現

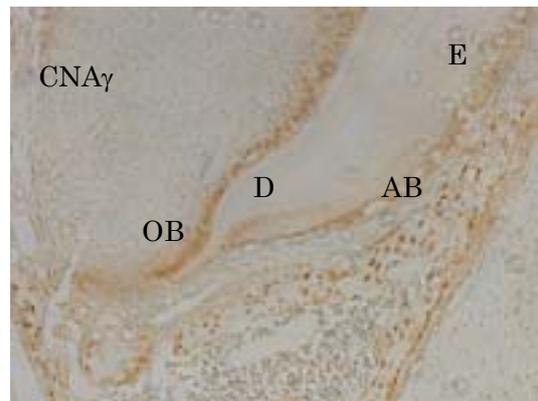


図6 鐘状期における CNA γ の発現

発現領域については、細胞や組織の分化期である蕾状期から鐘状期の歯胚ではCNA α 、CNA β は、歯性上皮由来の細胞、外胚葉性間葉由来の細胞両方において発現がみられた。硬組織形成期においてはエナメル芽細胞、中間層細胞、象牙芽細胞、歯髓細胞に発現がみられた。それぞれのsubunitは、同じ細胞に発現していたが、発現している細胞での局在位置は異なっていた。

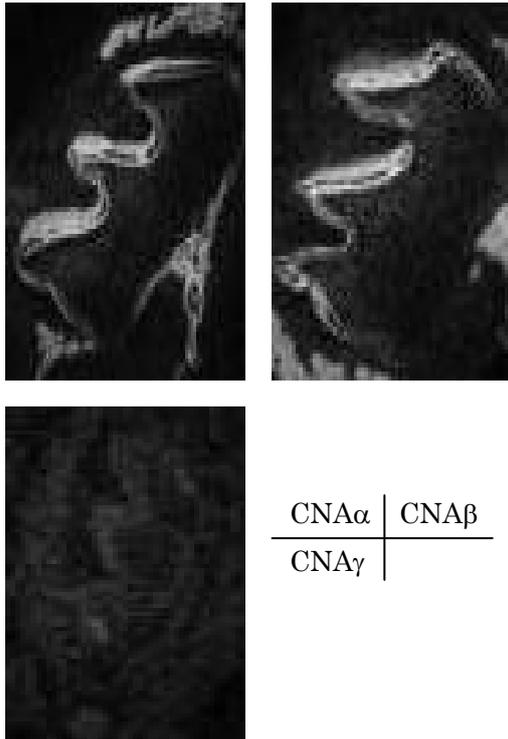


図7 鐘状期におけるカルシニューリン mRNAの発現

CNA α 、CNA β に関してはすべての発育段階において歯胚領域を含む広い領域で発現が認められたが、CNA γ は発現を確認することができなかった。CNA γ に関して脱灰パラフィン切片を用いたアイソトープ (P³³) による in situ hybridization 法を行ったが、特異的な発現は認められなかった。免疫染色の解析と合わせて、CNA γ は歯胚には発現していないという結論に達した。調節 subunit であるカルシニューリン A b1 は歯胚領域に発現がみられたが、カルシニューリン A b2 に関しては歯胚には発現が認められなかった。

表1 発生時期によるカルシニューリンの発現強度

	蕾状期	帽状期	鐘状期
CNA α	+	++	+++
CNA β	-	+	++
CNA γ	-	-	-

以上の結果から、カルシニューリンは、歯の発生・分化過程において必要なシグナル分子として作用し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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菊入 崇 (KIKUIRI TAKASHI)

北海道大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：10322819

(2) 研究分担者

大島 昇平 (OSHIMA SHOHEI)

北海道大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：00374546

吉村 善隆 (YOSHIMURA YOSHITAKA)

北海道大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：30230816

(3) 連携研究者

なし