

令和 4 年 5 月 4 日現在

機関番号：37114

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K23068

研究課題名(和文) 脱落乳歯の象牙質解析を用いた胎生期および出生後早期の栄養環境評価の試み

研究課題名(英文) Development of evaluation of nutritional status during fetal and early postnatal using dentin analysis of primary teeth

研究代表者

大木 調(OHKI, SHIRABE)

福岡歯科大学・口腔歯学部・助教

研究者番号：60878255

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：歯胚形成期である胎生13.5日齢から生後32日齢までの正常マウス歯胚における Tenascin C の発現を免疫組織化学染色にて観察したところ、発生期の胎生13.5日齢から胎生15.5日齢の歯乳頭、象牙芽細胞層には強く発現が観察され、その後発現が弱くなっていた。生後10日齢のマウスでは、象牙前質に Tenascin C の発現が観察され、石灰化象牙質では明らかな発現を認めなかった。ヒト組織においては、脱落乳歯の象牙質における Tenascin C の発現の確認を行ったが、マウスに観察されたような象牙基質に染色される像は確認できず、象牙細管に沿った染色が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎児期および出生後早期の低栄養環境が、成人期・老年期における生活習慣病のリスク要因となり得るという DOHaD 説は、ヒトを対象とした出生コホート研究により実証されてきた。これまでの栄養評価は、主に出生時体重によってなされてきたが、出生時低体重の要因は早産、多胎、母体喫煙など様々であり、栄養状態の評価として体重だけでは不十分である。近年盛んに行われているゲノム解析に加え、過去の栄養状態を現時点で知るツールがあれば、DOHaD 説の検証研究は飛躍的に進歩する。本研究により、胎児期、小児期に将来の健康寿命を予測できるようになれば、成人病予防を推進することに大きく寄与すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The expression of Tenascin C in normal mouse tooth germs from 13.5 days of embryonic age to 32 days of age, which is the stage of tooth germ formation, was observed by immunohistochemical staining. From embryonic 13.5 days to embryonic 15.5 days, Tenascin C was strongly expressed in the dental papilla and odontoblast layer. Expression was weak after 15.5 days of embryonic development. At 10 days of age, expression of Tenascin C was observed in the pre-dentin, but no clear expression was observed in the calcified dentin. In the dentin of human shed deciduous teeth, the expression of Tenascin C as observed in mice was not observed, but the expression along the dentin tubules was observed.

研究分野：小児歯科学

キーワード：低栄養 乳歯 DOHaD 説

## 1. 研究開始当初の背景

胎児期および出生後早期の環境、特に低栄養環境が、成人期・老年期における生活習慣病のリスク要因となり得るという仮説が Barker らによって発表された。この Baker 仮説に対して、疫学研究さらには動物実験による基礎的検証が重ねられ、DOHaD 説【成人病（生活習慣病）胎児期発症起源説】と呼ばれる概念が確立した。本邦の低出生体重児は近年増加傾向にあるため、DOHaD 説に基づけば、将来の成人日本人の生活習慣病罹患率は上昇していく予測となる。DOHaD 説に対するエビデンスの蓄積は、将来の健康寿命を予測し成人病予防を推進することに大きく寄与するものである。しかしながら、ヒトの過去の栄養状態を現時点で知る客観的ツールは存在しない。

## 2. 研究の目的

胎生期および乳幼児期に形成される乳歯の特性を活かし、脱落乳歯解析をその個体の「過去の栄養状態の指標」として応用できないかと着想した。本研究では、DOHaD 説をヒトで検証するための有益なツールとして、胎生期および乳幼児期に形成される乳歯解析の実用性を示し、その個体の将来の疾病発症リスクが予測可能となることを目指す。

## 3. 研究の方法

### ①通常栄養のマウス歯胚における Tenascin C の組織学的発現パターン解析

胎生 13.5 日齢から生後 32 日齢までのマウス頭部を採取後、パラフィンに包埋し、冠状断で組織切片を作成し、1 次抗体として Rat anti-TNC monoclonal antibody (R&D Systems)、2 次抗体として Biotin-conjugated goat anti-rat IgG H&L (Abcam)を用い、Tenascin C 蛋白の発現パターンを解析した。

### ②ヒト脱落乳歯における Tenascin C の組織学的発現パターン解析

交換期にあるう蝕のないヒト乳歯を採取後、パラフィンに包埋し、組織切片を作成後、1 次抗体として Rat anti-TNC monoclonal antibody (R&D Systems)、2 次抗体として Biotin-conjugated goat anti-rat IgG H&L (Abcam)を用い、Tenascin C 蛋白の発現パターンを解析した。

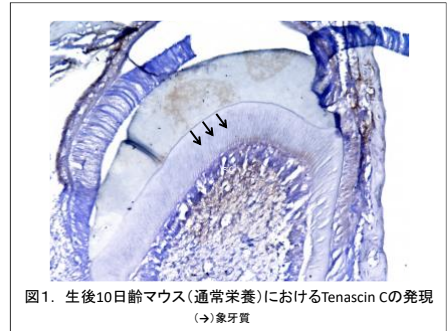
### ③胎生期および出生後早期の栄養環境の情報収集

保護者に対して、妊娠・出産の状況に関するアンケートおよび母子手帳などを利用して妊娠中、出生時・1.6 歳児・3.0 歳児検診時の対象者の全身状態に関する情報を収集した。

#### 4. 研究成果

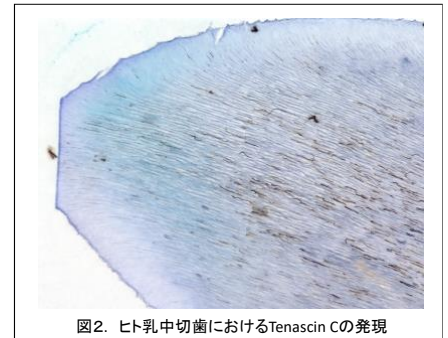
##### ①通常栄養のマウス歯胚における Tenascin C の組織学的発現パターン解析

胎生 13.5 日齢から生後 32 日齢までを対象に免疫組織化学染色を行ったところ、歯乳頭、象牙芽細胞層には発現が観察され、また、象牙前質にも発現が観察された（図 1. 矢印）正常マウスの石灰化象牙質では Tenascin C の明らかな発現を観察できなかった。



##### ②ヒト脱落乳歯における Tenascin C の組織学的発現パターン解析

ヒト脱落乳歯では、マウス歯胚に観察されたような象牙基質に染色される像は確認できず、象牙細管に沿った染色が認められた（図 2）。



##### ③胎生期および出生後早期の栄養環境の情報収集

アンケート調査を行ったが、現在、統計学的解析が可能なサンプル数に達していない。

以上の研究成果によって、通常栄養のマウス歯胚では、歯乳頭、象牙芽細胞層に Tenascin C の発現が観察されるが、石灰化象牙質では Tenascin C の発現が観察されないことがわかった。ヒト脱落乳歯では、マウス歯胚に観察されたような象牙基質に染色される像は確認できなかった。非脱灰硬組織切片作成（川本法）による染色の検討を行う必要性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------