

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21008

研究課題名（和文）von Willebrand factor D and EGF domain の歯の発生段階における役割解明

研究課題名（英文）Analysis of the role of von Willebrand factor D and EGF domains during tooth development

研究代表者

岩田 ころこ（Iwata, Kokoro）

東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・医員

研究者番号：30963962

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）：人体で最も硬い硬組織であるエナメル質はエナメル芽細胞により形成される。エナメル芽細胞は、歯原性上皮細胞が内エナメル上皮細胞という細胞小器官の発達、極性や接着などの細胞行動が活発な細胞を経て、分化した細胞であるが、歯の発生に重要な役割を担う内エナメル上皮細胞の分子メカニズムはまだ不明な点が多くある。そこで我々は歯の発生段階に発現する遺伝子の網羅的解析を行い、歯の発生のうち、内エナメル上皮細胞に特異的かつ、強く発現し、エナメル質の形成に関与するVwdeを同定した。本研究では、Vwdeの更なる分子機能を解明し、内エナメル上皮細胞の分化運命の決定や、エナメル質形成法の開発を目指して解析を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯の破折は歯を失う主要な原因の一つであり、歯の発生過程における異常を明らかにすることは重要であるが、未だ不明な点が多い。われわれは歯の発生段階に特異的に発現するVwdeを遺伝子欠損させたマウスを作成し、解析を行ってきた。Vwde遺伝子欠損マウスが呈するエナメル質形成異常は、明らかな色調の変化はないが、表面構造や石灰化が乏しい形成不全を呈しており、歯の破折を多く認めた。これは歯は機能することで破折を生じることから、生まれながらにして歯質の強度に違いがあることを証明する一助になる可能性がある。個人の遺伝子検査が主流になった場合には、予防的な医療の提供が可能となり、新規治療にも発展が期待される。

研究成果の概要（英文）：Enamel, the hardest tissue in the human body, is formed by ameloblasts. Ameloblasts are differentiated from dental epithelial cells through the development of inner epithelial cells, which have active cellular behaviors such as organelle development, polarity, and adhesion. Therefore we analyzed genes expressed during tooth development and identified Vwde, which is expressed specifically and strongly in inner epithelial cells and is involved in enamel formation. In this study, we are further analyzing the molecular functions of Vwde to determine the differentiation fate of inner epithelium cells and to develop a method for enamel formation.

研究分野：医歯薬学

キーワード：Vwde 歯の発生 内エナメル上皮細胞 エナメル質形成 細胞外マトリックス

1. 研究開始当初の背景

われわれは、人体の骨格となる骨を含む硬組織が間葉細胞由来であるのに対し、人体で最も硬い組織である歯のエナメル質は上皮細胞から形成されるというユニークな特徴に着目した。エナメル芽細胞の分化・成熟過程を解明することは歯の発生分子機構の理解だけではなく、生物学的意義も高いと考えられる。これまでにわれわれは、細胞外マトリックスタンパク質である von Willebrand factor D and EGF domains (Vwde) が歯に特異的に発現し、マウスやヒトにおいてこれまでに解析されていない新規遺伝子であることを見出した。さらに、Vwde がエナメル芽細胞の分化とエナメル質形成に必須の遺伝子であることを初めて明らかとした (Journal of Cellular Physiology 投稿)。Vwde の発現パターンは非常に興味深く、実際には歯原性上皮幹細胞が凝集し一段階分化した TA 細胞となることから発現し始め、基底膜に沿って細胞が配列する内エナメル上皮細胞においても継続して発現を認める。さらに臼歯では咬頭形成領域であるエナメルノットの周囲に発現を認めることから形態形成に最も重要な発生の初期段階において役割を持つことが示唆された。人為的に形態を形づくることは現段階では難しく、細胞間及び細胞外マトリックスによる細胞の増殖分化のメカニズムを解明することで、形態を制御できる可能性がある。また Vwde は歯に特異的に発現することから上皮細胞由来の硬組織形成に不可欠な分子であることが示唆される。以上より、Vwde を応用することにより、人体で最も硬い硬組織新規の上皮細胞制御機構の解明と上皮細胞由来硬組織を利用した治療法の開発につながるものと強く期待している。

2. 研究の目的

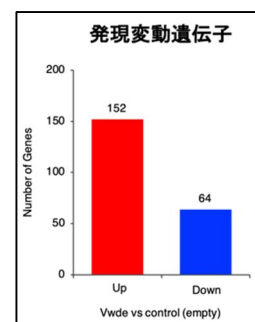
歯の破折は歯を失う主要な原因の一つである。その先天的な要因である歯の発生過程における異常を明らかにすることは極めて重要であるが、遺伝子情報が解明されてきたにもかかわらず未だ不明な点が多い。われわれは歯の発生段階に特異的に発現する Vwde を遺伝子欠損させたマウスを作成し、解析を行ってきた。Vwde 遺伝子欠損マウスが呈するエナメル質形成異常は、明らかな色調の変化はないものの、表面構造や石灰化が乏しい形成不全を呈しており、歯の破折を多く認めた。このような表現型は見過ごされることが多いが、歯は機能することで破折を生じることから、生まれながらにして歯質の強度に違いがあることを証明する一助になる可能性があり、人における異常を明らかにすることで人における新規病態メカニズムを解明へと発展させよう。これは今後、個人の遺伝子検査が主流になった場合には、予防的な医療の提供が可能となり、さらに新規治療にも発展が期待される。

3. 研究の方法

Vwde の歯の発生段階での分子機構を明らかにするために歯原性上皮細胞 M3H1 に Vwde を過剰発現させた細胞における RNAseq を行い、Vwde の発現により動く分子の網羅的検索を行った。次に、Vwde のリコンビナントタンパクを精製し、受容体の探索、上流及び下流分子の探索、細胞内シグナル伝達経路の解明を検討した。また、von Willebrand factor (vWF) を有するタンパク質ドメインは A から D が存在する。血液凝固に関するドメインとしては A ドメインが大きく関与しているが、vWA 含有タンパク質は多くの生物学的事象 (例えば、細胞接着、移動、ホーミング、パターン形成、シグナル伝達など) に関与していることが知られており、歯の発生においても発現していることが報告されている。今回 Vwde の遺伝子欠損マウスにおける表現型は比較的マイルドであり、D ドメイン以外の分子が代償的に働いた可能性がある。よって vWF を有するドメインで文献の少ない、Vwde の発現解析を RT-PCR 法、In situ hybridization 法、Immunostaining 法を用いて解析する。

4. 研究成果

われわれは Vwde が、エナメル芽細胞の分化とエナメル質形成に重要であり、その過程において Ncadherin の制御に関与していることを in vivo 実験系及び遺伝子欠損モデルマウスを作成し、in vivo の実験によって明らかにしてきた。このことから細胞接着や極性に関わることが示唆された。そこでさらなる分子機構を明らかにするために、Vwde を過剰発現させた細胞における RNAseq を行い、Vwde の発現により動く分子の網羅的解析を行ったところ、細胞細胞間、細胞細胞外環境間に関する分子を多く変動させることが明らかとなった。これらの分子との相互作用について解析し、歯原性上皮細胞からエナメル細胞へと分化する間の細胞極性の変化やシグナルの切り替えなどに必要な役割があることが示唆された。さらに von Willebrand factor (vWF) を有するタンパク質ドメインはサブタイプが存在する。血液凝固に関するドメインとしては A ドメインが大きく関与しているが、vWA 含有タンパク質は多くの生物学的事象 (例えば、細胞接着、移動、ホーミングパターン形成、シグナル伝達など) に関与していることが知られており、歯の発生においても発現していることが報告され



ているが、C ドメインについては文献が少ない。今回 Vwde の遺伝子欠損マウスにおいての表現型は比較的マイルドであり、D ドメイン以外の分子が代償的に働いた可能性がある。そこで vWC 含有タンパクについて歯の発生段階で発現解析を進めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 岩田こころ 岩本 勉
2. 発表標題 歯の発生過程におけるtwist basic helix-loop-helix transcription factor2の発現
3. 学会等名 第60回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩田こころ 岩本 勉
2. 発表標題 von Willebrand factor D and EGF domains (Vwde)の異常は歯冠破折をもたらす
3. 学会等名 第87回口腔病学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩田こころ 岩本 勉
2. 発表標題 エナメル芽細胞の分化初期に発現するVwdeによる細胞-細胞間、細胞-細胞外基質間接着の発現制御機構
3. 学会等名 第61回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kokoro Iwata, Rika Kurogoushi, Tsutomu Iwamoto
2. 発表標題 von Willebrand factor D and EGF domains regulates ameloblast differentiation, abnormalities of which result in enamel cracks
3. 学会等名 The International Association of Paediatric Dentistry (IAPD) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔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1件

国際研究集会 International Association of Pediatric Dentistry	開催年 2023年～2023年
--	--------------------

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
---------	---------