

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：37114

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462861

研究課題名(和文) 口腔粘膜上皮におけるメカノセンサー Piezoの発現と機能調節

研究課題名(英文) Expression profiles of Piezo mechanosensor genes in oral mucosa

研究代表者

畠山 純子 (Hatakeyama, Junko)

福岡歯科大学・口腔歯学部・助教

研究者番号：50374947

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)： 口腔は多様な刺激に晒されている。常に咀嚼、嚥下や会話等により物理的機械的な力がかかり、粘膜の構築はそれに対応して口腔内で頬、口蓋や舌などの部位による多様性を示していると考えられる。本研究は、Piezo が口腔粘膜においても機械刺激のレセプターとして働くのではないかと仮説をたて研究を行った。その結果、Piezo1が5週齢および8週齢のマウス歯肉上皮および頬粘膜上皮の顆粒細胞層、有棘細胞層に発現することが認められた。頬粘膜におけるPiezo1の発現は皮膚に比較して高い発現をしていることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)： In tooth development, the tooth germ is under continuous mechanical stress as it increases in size. The role of PIEZO1 and PIEZO2 are activated by mechanical stimulation and function as nonselective mechanical channels in mice. We investigated the gene expression profiles of Piezo1 and Piezo2 to elucidate their roles in response to mechanical stimulation during tooth development.

Quantitative PCR revealed that Piezo1 and Piezo2 were expressed at all tooth development stages (E15.5, E18.5 and P0 mice). The expression of Piezo2 was remarkably increased at E18.5. In contrast, the expression of Piezo1 at P0 was higher than that at E18.5. The gene expression profiles of Piezo1 and Piezo2 were different in the tooth germ. Although both PIEZO1 and PIEZO2 are known as mechanical stimulation sensors, PIEZO1 and PIEZO2 may possess distinct functions as receptors for mechanical stimulation at each stage of tooth development.

研究分野：歯科保存学

キーワード：機械刺激センサー 歯の発生

「口腔粘膜上皮におけるメカノセンサー Piezo の発現と機能調節について」

1. 研究開始当初の背景

口腔は多様な刺激に晒されている。常に咀嚼・嚥下・会話等により物理的機械的な力がかかり、粘膜の構築はそれに対応して口腔内で頬・口蓋・舌などの部位による多様性を示していると考えられる。

生体の多くの組織が、機械力を感知し応答していると考えられている。この機械感受性は接触、痛み、聴覚喪失、高血圧などの多くの生物学的過程や疾患にダイナミックに関わっている。機械シグナル伝達には、特殊化されたカチオンチャネルが関与すると考えられてきたが、長くにわたって不明であった。近年、動物から植物、原生動物の間で保存されている大型の膜貫通タンパク質である Piezo ファミリーが、長年探されてきた機械力によって活性化されるイオンチャネルであることが明らかとなった。

Anoikis は細胞接着不全に起因する細胞死として知られる。上皮細胞はインテグリンを介する細胞外マトリックス(ECM)からのシグナルにより、増殖、分化などの制御を受けている。ECMの接着が欠如すると、上皮細胞はそのシグナルをたたれることになり、足場に依存した Apoptosis である Anoikis をおこす。(Geiger et al., Cancer Res., 65:7033-7036, 2005)

さて、上皮は保護的障壁となるため、分裂する細胞の数と死滅する細胞の数とを合わせることで細胞数を恒常的に維持している。上皮は細胞の遊走と過密化が生細胞の押し出しを誘導し、押し出された細胞は足場を失い、細胞死(Apoptosis)を起こすことで上皮細胞数が制御されている。最近、伸展活性化チャネル Piezo1 を欠損させると押し出しが起こらなくなり、上皮細胞塊が形成されることが明らかにされた。(Eisenhoffer et al., 2012, Nature 484, 546-549)

また anoikis は、生体内において細胞が、本来の存在環境以外の場所で生存、増殖することを防ぐ重要な機構である。上皮由来がん細胞では、この Anoikis が損なわれており、転移に関わると考えられる。培養系におけるがん細胞の性質のなかで、足場非依存性増殖は造腫瘍性と最も相関が高いことが知られ、がん細胞が生体内で anoikis を免れ、本来の存在環境以外で増殖できる能力を反映しているものと考えられる。慢性的な機械刺激により、がんが発症することはよく知られているが、機械刺激により活性化される Piezo を欠失させると Anoikis を起こさず、上皮細胞塊が形成されること(Eisenhoffer et al., 2012, Nature 484, 546-549)からも、Piezo とがんの関係が示唆

される。足場非依存性増殖阻害を指標に探索を行うことで、Piezo を介した anoikis の誘導をあきらかにすれば、がん治療の新たなアプローチとして期待できる。

以上より、我々は、Piezo が口腔粘膜においても機械刺激のレセプターとして働くのではないかと、また機械刺激を常に受ける口腔内において Piezo が口腔粘膜上皮の Anoikis に関わり、結果として皮膚に比べ数倍速い口腔粘膜上皮のターンオーバーがおこるのではないかと、さらにはがんの転移と Anoikis における Piezo の働きとの関係性を明らかにしたいと考え、口腔粘膜において Piezo の発現局在とその機能、とくに Anoikis における機能を解析することを着想した。

2. 研究の目的

「口腔粘膜上皮におけるメカノセンサー Piezo の発現と機能調節について」 Piezo は機械刺激チャネルであるが、機械刺激下で細胞接着不全に起因する細胞死として知られる Anoikis にも関わることが報告されている。がん細胞の転移には、Anoikis を回避するシステムが働くことが報告されていることから、

1) 口腔粘膜上皮における Piezo の発現と機能について明らかにした。

2) 口腔粘膜上皮の Anoikis における細胞数の維持と Piezo の役割を解明した。

以上より、口腔粘膜上皮における機械受容と上皮の恒常性維持の関係を明らかにするために、機械受容チャネル Piezo の発現と機能を明らかにした。

3. 研究の方法

1) 口腔粘膜上皮における Piezo の発現局在を免疫組織学的に明らかにした。

2) 口腔粘膜上皮における Piezo の発現局在を免疫組織学的に明らかにする。口腔内における Piezo の発現局在は全くわかっていない。皮膚で発現が見られることから、口腔粘膜上皮においても同様に発現が見られる可能性が高い。そこで、5週齢のマウス上顎の歯肉上皮、および頬粘膜上皮を対象に、免疫組織学的手法を用い、検討をした。

<用いる抗体> Piezo1、Piezo2

3) Piezo の発現解析

5週齢のマウスの皮膚、三叉神経節、口蓋、頬粘膜から RNA を抽出し、定量的 PCR を行った。

4) 口腔粘膜上皮における Piezo の発現量

を定量的 PCR 法にて明らかにした。

4. 研究成果

口腔は多様な刺激に晒されている。常に咀嚼、嚥下や会話等により物理的機械的な力がかかり、粘膜の構築はそれに対応して口腔内で頬、口蓋や舌などの部位による多様性を示していると考えられる。本研究は、Piezo が口腔粘膜においても機械刺激のレセプターとして働くのではないかと仮説をたて研究を行った。

その結果、Piezo1 が5週齢および8週齢のマウス歯肉上皮および頬粘膜上皮の顆粒細胞層、有棘細胞層に発現することが認められた。頬粘膜における Piezo1 の発現は皮膚に比較して約 1.6 倍高い発現をしていることが明らかとなった。

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 3 件)

Milk basic protein supplementation enhances fracture healing in mice.

Yoneme H, Hatakeyama J, Danjo A, Oida H, Yoshinari M, Aijima R, Murata N, Watanabe T, Oki Y, Kido MA. Nutrition. 2015;31(2):399-405.

The thermosensitive TRPV3 channel contributes to rapid wound healing in oral epithelia. Aijima R, Wang B, Takao T, Mihara H, Kashio M, Ohsaki Y, Zhang JQ, Mizuno A, Suzuki M, Yamashita Y, Masuko S, Goto M, Tominaga M, Kido MA. FASEB J. 2015;29(1):182-192.

Defective adipose tissue development associated with hepatomegaly in cathepsin E-deficient mice fed a high-fat diet.

Kadowaki T, Kido MA, Hatakeyama J, Okamoto K, Tsukuba T, Yamamoto K. Biochem Biophys Res Commun. 2014; 28;446(1):212-217.

[学会発表](計 6 件)

沖雄二, 合島怜央奈, 皇山純子, 大崎康吉, 張旌旗, 村田直久, 木附智子, 城戸瑞穂. 骨折治癒過程における TRPV4 チャンネルの関与. 55 歯科基礎医学会, 2013 年 9 月 20 日-22 日. (岡山市)

木附智子, 合島怜央奈, 皇山純子, 大崎康吉, 張旌旗, 城戸瑞穂.

歯肉上皮バリア機能への TRPV4 の関与. 第 56 回歯科基礎医学会, 2014 年 9 月 25 日-27 日. (福岡市)

沖雄二, 米女博司, 合島怜央奈, 皇山純子, 木附智子, 張旌旗, 城戸瑞穂.

骨折治癒過程への TRPV4 欠損の影響. 第 56 回歯科基礎医学会, 2014 年 9 月 25 日-27 日. (福岡市)

皇山純子, 木附智子, 合島怜央奈, 村田直久, 皇山雄次, 阿南壽, 城戸瑞穂.

口腔粘膜におけるメカノセンサー Piezo の発現. 第 56 回歯科基礎医学会, 2014 年 9 月 25 日-27 日. (福岡市)

木附智子, 合島怜央奈, 皇山純子, 大崎康吉, 張旌旗, 城戸瑞穂.

TRPV4 遺伝子欠失が歯肉付着上皮における物質透過性に与える影響. 第 57 回歯科基礎医学会大会・総会, 2015 年 9 月 11 日-13 日. (新潟)

皇山純子, 木附智子, 合島怜央奈, 村田直久, 皇山雄次, 城戸瑞穂, 阿南壽.

口腔粘膜上皮における機械刺激センサー Piezo の発現解析. 第 23 回日本歯科医学会総会, 2016 年 10 月 21-23 日. (福岡市)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

皇山純子 (Junko Hatakeyama)

福岡歯科大学・口腔歯学部・助教

研究者番号: 50374947

(2) 研究分担者

なし

()

研究者番号：

(3)連携研究者

城戸瑞穂 (Mizuho Kido)

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：60253457

(4)研究協力者

なし()