

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2017～2019

課題番号：17H06278

研究課題名（和文）「生体完結型再生療法」開発への挑戦

研究課題名（英文）Challenges to development of "bioregenerative therapy"

研究代表者

大峽 淳（Ohazama, Atsushi）

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：40266169

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 19,900,000 円

研究成果の概要（和文）：近年、成体内、つまり成熟した様々な組織に幹細胞が発見されている。顎顔面部にも多くの幹細胞の存在が報告されている。本研究は、成体の頭部における幹細胞を歯に誘導することを目指す。口蓋皺壁に存在する幹細胞の分子制御メカニズムを明らかにした。さらに、口蓋皺壁の幹細胞を利用して、歯の形成シグナルの誘導に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

再生療法の確立は、医療における喫緊の課題である。再生療法には幹細胞が使用するが、この幹細胞の特性を理解しなければ、再生療法へ利用していくことはできない。本研究成果は、幹細胞の機能解析であり、再生療法の確立に大きく貢献するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In recent years, stem cells have been discovered in many adult tissues. The presence of stem cells has also been reported in many adult craniofacial region. The aim of this study is to induce tooth using these adult stem cells. We identified the molecular mechanism of controlling stem cells presented in the paratal rugae. Furthermore, we succeeded in inducing signals of tooth formation using stem cells of the palatal rugae.

研究分野：発生生物学

キーワード：再生 幹細胞 歯

## 1. 研究開始当初の背景

胎児期における器官形成は、様々な幹細胞の多様かつ正確な分化の繰り返しによる達成される。発生期間中、全ての器官は、遺伝子の厳密なコントロールにより、特定の定められた場所に正確に形成される。これらの現象がいかなる発生分子制御メカニズムによりコントロールされているのか様々な角度から研究されている。その研究の中で、遺伝子の改変により、ある器官が他の器官に転換することが報告されている。このことは、器官発生において、器官間に共通の分子機構が存在する事を示唆している。それらを制御するキーとなる遺伝子が発見できれば、分岐ポイントを意図的に改変させ、別の器官を形成することが可能であると考えられる。近年、成体内、つまり成熟組織に様々な幹細胞が発見されている。成体の毛、口蓋、舌乳頭には、幹細胞が発見されている。糸状乳頭は舌背に、毛包は皮膚に無数に存在するため、幹細胞の数も無数となる。また舌乳頭、口蓋皺壁、毛包、いずれの組織も表層にあるため、アクセスが容易である。一方、器官の発生には数年を要するが、再生にも同様の年月が必要となれば、再生療法は一般化しない。口腔粘膜、毛包、舌粘膜は、抗がん剤の副作用の主なる場となるほど、増殖のスピードが成体内で最も早い器官である。そのため、口腔粘膜、毛包、舌粘膜の幹細胞の把握は、再生療法がかかえる期間の長期化という問題も解決できる可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究は、成体の頭部における幹細胞を歯に誘導することを目指す。

## 3. 研究の方法

本研究では、口蓋、毛包、舌に着目し、それらに存在する幹細胞の機能解析を通して、歯への誘導を試みた。

## 4. 研究成果

歯は、上皮と間葉の2つの組織間の相互作用により形成されるが、この相互作用を担う分子機構の完全な把握には、至っていない。歯は、上皮組織または間葉組織から単独で形成されることはないため、この相互作用を担う分子が、どのような役割を有しているのかを知ることは、幹細胞による歯の再生には必須のものとなる。我々は、以前 *Lrp4* と *Wise* という2つの分子が相互作用を担うのではないかと報告した。*Lrp4* は膜タンパクであり、*Wise* はリガンドとして知られていた。この2つが結合すること、*Lrp4* が歯胚の上皮に、*Wise* が歯胚の間葉に発現すること、それぞれの欠損マウスで引き起こる歯の異常が酷似していることから、*Lrp4* と *Wise* が歯の発生において、相互作用を担う分子なのではないかと報告した。そこで、*Lrp4* と *Wise* の器官形成に対する機能を検索するために、*Lrp4* と *Wise* の両方が発現する口蓋皺壁に着目した。ヒト以外の哺乳類の口蓋皺壁は、規則的な配列を示すため、その形成過程における強い遺伝子制御がうかがえる。はじめに *Lrp4* と *Wise* が口蓋皺壁形成に必須の分子であるかを確認するために、それぞれの遺伝子の欠損マウスにおける口蓋皺壁を確認したところ、口蓋皺壁の配列が著しく乱れていた(図1)。過剰歯や癒合歯などの表現型と同様に、口蓋皺壁の乱れも、過剰なシワの形成

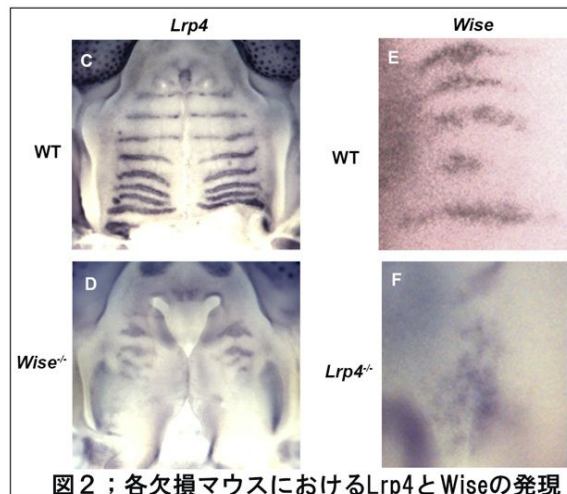
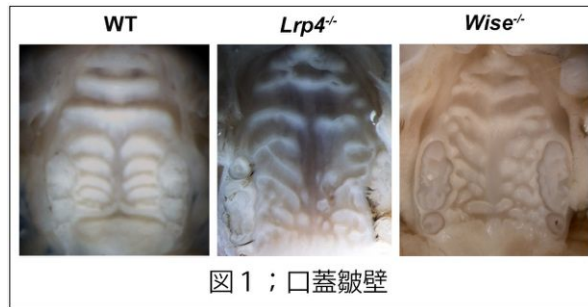




図3；各欠損マウスにおけるShhの発現

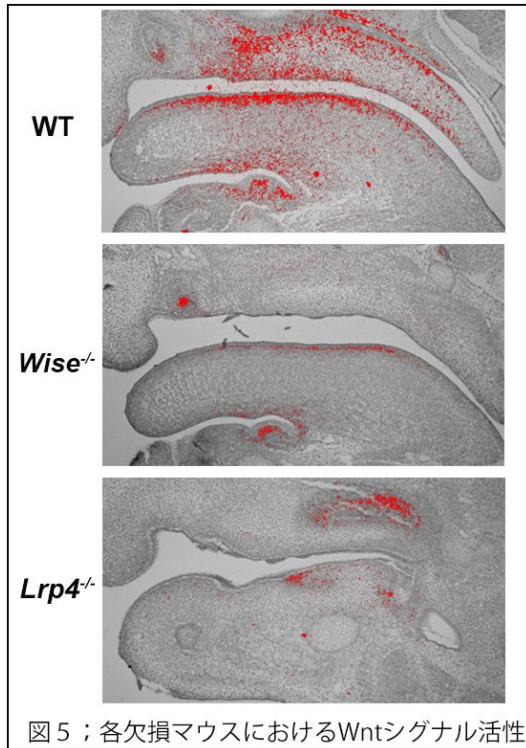


図5；各欠損マウスにおけるWntシグナル活性

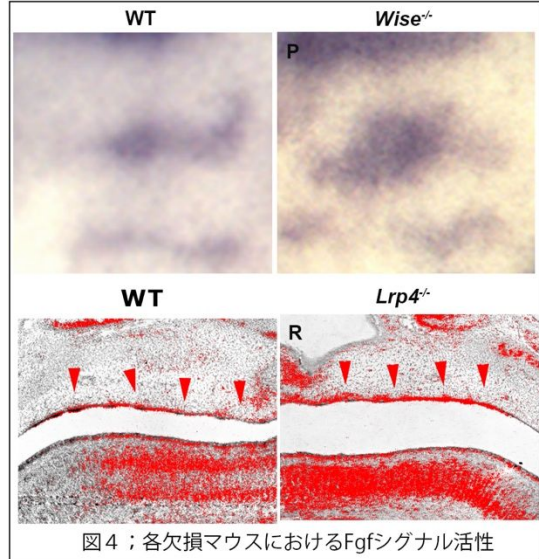


図4；各欠損マウスにおけるFgfシグナル活性

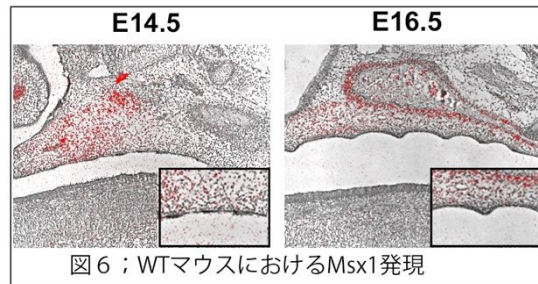


図6；WTマウスにおけるMsx1発現

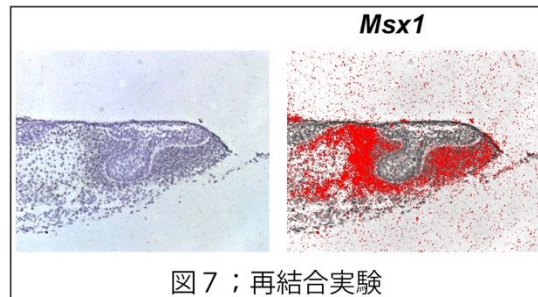


図7；再結合実験

や、シワの癒合によるものであった。このことから、歯と同様に、Lrp4 と Wise は口蓋皺壁の形成に必須であること、両者の関係や機能は、歯と口蓋皺壁で類似している可能性が示された。この Lrp4 と Wise 相互作用を確認するために、Lrp4 欠損マウスにおける Wise の発現、Wise 欠損マウスにおける Lrp4 発現を検索したところ、どちらも減少しており、相互作用が確認された(図2)。この Lrp4 と Wise の相互作用に制御されるシグナルがいかなるものであるかを知るために、歯の形成に重要なシグナルである Bmp、Wnt、Fgf、Shh シグナルと、口蓋皺壁における Lrp4 と Wise との関連性を検索した。その結果、Shh、Fgf、Wnt シグナルとの関連性が示された(図3、図4、図5)。この様に、口蓋皺壁と歯は、Lrp4 と Wise を通して類似した分子メカニズムで形成されていることが示された。

口蓋皺壁における間葉幹細胞を、歯に誘導することを目的に、歯の上皮組織と成体の口蓋皺壁の間葉細胞との再結合実験を行った。正常な口蓋皺壁には、胎生期から生体まで、歯の間葉のマーカーである Msx1 は発現しない(図6)。歯の上皮は蕾状の形態を示し、歯の上皮と結合した口蓋皺壁の間葉には、Msx1 の発現が確認された(図7)。一方で、同様の実験を舌乳頭や毛包から採取した幹細胞で行っても、歯のシグナルは誘導されなかった。この様に、Lrp4 や Wise を通して、口蓋皺壁に存在する幹細胞の機能解析が有用であることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kawasaki Maiko, Kawasaki Katsushige, Meguro Fumiya, Yamada Akane, Ishikawa Ryuichi, Porntaveetus Thantrira, Blackburn James, Otsuka-Tanaka Yoko, Saito Naoaki, Ota Masato S., Sharpe Paul T., Kessler John A., Herz Joachim, Cobourne Martyn T., Maeda Takeyasu, Ohazama Atsushi	4. 巻 13
2. 論文標題 Lrp4/Wise regulates palatal rugae development through Turing-type reaction-diffusion mechanisms	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0204126
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0204126	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Ohazama A.
2. 発表標題 Stem cells in rodent incisors
3. 学会等名 International Collaborative symposium on development of human resources in practical oral health and treatment (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ohazama A.
2. 発表標題 New findings in organogenesis.
3. 学会等名 International collaborative symposium on development of human resources in practical oral health and treatment (国際学会)
4. 発表年 2019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
研究分担者	佐伯 万騎男  (Saeki Makio)  (30273692)	新潟大学・医歯学系・教授    (13101)	
研究分担者	前田 健康  (Maeda Takeyasu)  (40183941)	新潟大学・医歯学系・教授    (13101)	
研究分担者	川崎 勝盛  (Kawasaki Katsushige)  (40529640)	新潟大学・医歯学系・助教    (13101)	
研究分担者	川崎 真依子  (Kawasaki Maiko)  (40584587)	新潟大学・医歯学系・准教授    (13101)	
研究分担者	泉 健次  (Izumi Kenji)  (80242436)	新潟大学・医歯学系・教授    (13101)	
研究分担者	齊藤 一誠  (Saito Issei)  (90404540)	新潟大学・医歯学系・准教授    (13101)	