

研究種目：基盤研究（B）
研究期間：2007～2010
課題番号：19390481
研究課題名（和文） Notchシグナルの歯髄細胞分化におけるメカニズムの解明とその臨床的展開
研究課題名（英文） Effects of Notch Signaling on the Pulpal Cell Differentiation and the Horizon of Pulpal Regeneration by Regulation of Notch Signaling
研究代表者
川島 伸之（KAWASHIMA NOBUYUKI）
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教
研究者番号：60272605

研究代表者の専門分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：歯髄細胞 象牙芽細胞 Notchシグナル 歯髄細胞分化 歯髄再生

1. 研究計画の概要

健康な歯で物を噛むことが出来るのは QOL を高める上で大変重要である。そのため我々歯科医はいかに歯を保存できるように常に配慮して診療を行っている。ところで、歯の内部に存在する神経と血管に富んだ歯髄組織は、歯が口腔内において健全に機能する上で大変重要であるが、炎症（歯髄炎）を起した歯髄組織は除去せざるを得ない。このような現状を鑑み、本研究においては、歯髄細胞の分化メカニズムの一端を明らかにし、それを元に臨床的な歯髄再生のシナリオを描くのが本研究の目的である。歯髄細胞の分化メカニズムを明らかにする上で、様々な組織・細胞の分化に深く関わっている Notchシグナルを切り口とする点が本研究の特色である。下記項目について研究を行った。

（1）Notch およびその下流のシグナルの発現動態の解明（歯胚および成熟歯髄）

（2）Notch およびその下流のシグナルの歯髄細胞および歯髄幹細胞における機能的な解析

（3）Notch およびその下流のシグナルを応用し、歯髄細胞を分化誘導するための臨床的検討

2. 研究の進捗状況

これまでに、骨芽細胞分化において Notchシグナルはその未分化性を維持する上で重要なファクターであることを示してきた。すなわち、骨芽細胞様の未分化間葉細胞 Kusa-A1 に Notchシグナルのアクティブフォーム（Notch細胞内ドメイン）をトランスフェクションしたところ、骨芽細胞マーカー

の発現、石灰化物の *in vitro*、*in vivo* での形成が阻害され、逆に Notchシグナルをブロック（Notchシグナルのモジュレーターである RBPj をトランスフェクション）することにより骨芽細胞の分化は促進された。今回、歯髄組織に二次象牙質を誘導して保存する、あるいは歯髄組織を誘導するために、歯髄細胞分化における Notchシグナルの詳細を検討するとともに、Notchシグナルを制御することにより、歯髄細胞の分化を促進あるいは抑制することの可否について検討を行った。まず、歯髄細胞における Notchシグナルについて RT-PCR にて検討を行ったところ、Notch1-3 まで発現していた。Notch4 の発現は認められなかった。また、Notchシグナル下流をみたところ、Hes1 および Hey1 の発現が認められ、歯髄細胞において Notchシグナルは Hes1 あるいは Hey1 経路で伝えられていることが明らかになった。さらに、アスコルビン酸とグリセロリン酸で分化および石灰化を誘導したところ、経時的に Hey1 発現が減少した。一方、Hey1 を歯髄細胞に強制発現させたところ、分化および石灰化は抑制される傾向にあった。以上から、Hey1 は歯髄細胞の分化に置いて、Notchシグナルを伝える主要な転写調節因子は Hey1 であり、そのシグナルは歯髄細胞の未分化性の維持に関与している可能性が高いことが明らかになった。

3. 現在までの達成度

（1）Notch およびその下流のシグナルの発現動態の解明に関して、歯髄組織に Notch1-3 が発現していることが明らかになった。

(2) Notch およびその下流のシグナルの歯髄細胞および歯髄幹細胞における機能的な解析に関し、Notch およびその下流のシグナルの発現動態の解明に関して、Hey1 が重要であるとの所見を得た。

(3) Notch およびその下流のシグナルを応用し、歯髄細胞を分化誘導するための臨床的検討については、まだ十分な対応が出来ていない。

4. 今後の研究の推進方策

臨床を視野に入れ、より早期に臨床的な展開することができるよう、研究を進めていく。そのためには、歯髄細胞の分化のコミットメントに対する Notch シグナルの役割を明らかにしていく。また臨床応用を検討する上で、細胞およびベクターあるいはタンパクの担体を何にするのかについても検討を行う。

5. 代表的な研究成果

(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 7 件)

Expression of Notch-Signalling-related Genes in Normal and Differentiating Rat Dental Pulp Cells, Sun H, Kawashima N, Xu J, Takahashi S, Suda H, AEJ 2009 in press. 査読有り

Root Canal Medicaments, Kawashima N, Wadachi R, Suda H, Yeng T, Parashos P. Int Dent J. 2009 Feb;59(1):5-11. 査読有り

T Cell Response Mediated by Myeloid Cell-Derived IL-12 Is Responsible for Porphyromonas gingivalis-Induced Periodontitis in IL-10-Deficient Mice, Sasaki H, Suzuki N, Kent R, Kawashima N, Takeda J and Stashenko P, The Journal of Immunology, 2008, 180: 6193-6198. 査読有り

Amelogenin positive cells scattered in the interstitial component of odontogenic fibromas, Kabasawa Y, Nagumo K, Takeda Y, Kawashima N, Okada N, Omura K, Yamaguchi A and Katsube K, J. Clin. Pathol., Jul 2008; 61: 851 - 855. 査読有り

Kinetics of RANKL, RANK and OPG expressions in experimentally-induced rat periapical lesions, Kawashima N., Suzuki N., Yang G., Ohi C., Okuhara S., Kawanishi H., Suda H., Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology,

and Endodontology 103, 707-711, 2007. 査読有り

Kinetic study of immunohistochemical colocalization of antigen presenting cells and nerve fibers in rat periapical lesions, Yang G, Kawashima N, Kaneko T, Suzuki N, Okiji T, Suda H J. Endodon, 33 (2), 132-136, 2007. 査読有り

Differentiation of an ameloblast-lineage cell line (ALC) is induced by Sonic hedgehog signaling, Takahashi S, Kawashima N, Sakamoto K, Nakata A, Kameda T, Sugiyama T, Katsube K, Suda H, BBRC, 353 (2007) 405-411. 査読有り

[学会発表] (計 33 件) 代表的な 3 件を記す。
Induction of IL17 synthesis in the experimentally-induced murine periapical lesions, Kawashima N, et.al., Korean Academy of Endodontics, BEXCO Busan, Korea March 27, 2010.

Expression of Sp7 in the rat dental pulp Kawashima N, et.al., Korean Academy of Conservative Dentistry, Ramada Plaza, Jeju, Korea Nov. 13, 2009.

Notch Signaling in the Dental Pulp, Kawashima N, et.al., IADR, Metro Toronto Convention Centre, ON, Canada, July 2, 2008.

[図書] (計 1 件)

Kawashima N and Suda H, Pathological aspects of pulpal and periapical inflammations, in : Orstavik D and Pitt Ford TR editors, Essential Endodontology, Oxford, Blackwell Publishing, 2007 pp44-80.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称 : 歯周病又は根尖性歯周炎の予防又は治療薬

発明者 : 川島伸之、鈴木規元他

権利者 : 同上

種類 : 特許

番号 : 特願 2009-218590

出願年月日 : 平成 21 年 9 月 24 日

国内外の別 : 国内

○取得状況 (計 0 件)