

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659906

研究課題名(和文)多発性歯牙腫を有している患者における原因因子の検索

研究課題名(英文)Analysis of multiple odontoma in the patients

研究代表者

菊入 崇 (KIKURI, Takashi)

北海道大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：10322819

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：歯牙腫は顎骨内に発生する歯牙様硬組織を主体とする歯源性腫瘍である。歯牙腫は臨床的には珍しい症例ではないが、これまでの報告によると、複数の歯牙腫が同一顎骨内に多発することは極めて稀である。本研究において解析を行った2症例は全ての大白歯の歯根根尖部に歯牙腫を発生していた。この2症例は歯牙腫のみならず永久歯においても象牙質とセメント質に形態異常が確認された。これら二人の患者の臨床的特徴は比較的一貫しているため、原因遺伝子を検索するために遺伝子解析を行った。歯牙種の発生と歯牙の構造異常は特定の遺伝子によって引き起こされていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Odontomas are hamartoma composed of a mixture of odontogenic hard and soft tissues. Odontomas are the most common of the odontogenic tumors in the jaw. However it is a rare case that multiple odontoma occurs in the same patient. Here we report two patients of multiple odontomas. These two patients have both of the compound and complex type odontoma at the root apical of all molars. Microscopic examination showed the unusual structure of dentin tubes and cementum of not only odontoma but also extracted tooth. Because the clinical features of these two patients with multiple odontoma seem to be relatively consistent, we performed the gene analysis using CGH array. These data suggested that the structural abnormalities of the tooth and the occurrence of multiple odontomas are caused by specific genes.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：歯学 歯牙腫 歯の発生

1. 研究開始当初の背景

歯牙の発生は、歯が形成される位置において口腔上皮が間葉側へ肥厚増殖することで開始する。その後の歯の組織分化は、歯胚上皮と歯胚間葉の相互作用によって厳密にコントロールされ、最終的に歯が形成される。近年、歯の発生に関わる分子機構の詳細が明らかにされつつあるが、全ての分子制御機構が判明している訳ではない。歯の発生機序を明らかにすることは、近い将来に歯の再生医療を実現する上で非常に重要である。

歯牙腫は、顎骨内に発生する歯牙様硬組織を主体とする歯原性腫瘍で、過誤腫に類似する病変である。歯牙腫は臨床的には、決して珍しい症例ではないが、しかし、これまでの報告によると、複数の歯牙腫が同一顎骨内に多発することは極めて稀である。

本研究において解析を行った症例は、残存している全ての大白歯の歯根根尖部に歯牙腫が存在していた。また、全ての歯牙で歯冠形態に異常を起しており、これまで報告のない極めて珍しい症例であった。

2. 研究の目的

本症例における歯牙種の発現パターンから、顎骨内において系統的に発生していることから、歯の発生過程において何らかの原因によって引き起こされたものと推測された。本症例で起きている異常について分子生物学的に明らかにすることが出来れば、歯の発生機序の一旦を明らかにする事が可能である。そのため、歯牙における構造的異常とその発症原因について検索を行った。

3. 研究の方法

(1) 抜去歯牙における微細構造の解析

抜去歯牙に対して、脱灰後の薄切片を作成し、エナメル質・象牙質・セメント質の構造異常を観察した。

(2) 遺伝子発現コピー数変数の解析

多発性歯牙腫を有する2症例および健常児から血液を採取、サンプルを調整して、DNAを抽出した。全染色体を対象にゲノムコピー数変化を解析するためCGHアレー解析を行った。

(3) 歯髓由来幹細胞の分化誘導実験

抜去した歯牙の歯髓から歯髓由来幹細胞を株化した。株化した歯髓由来幹細胞の多分化能を同定するために、*in vivo* および *in vitro* において分化実験を行った。

4. 研究成果

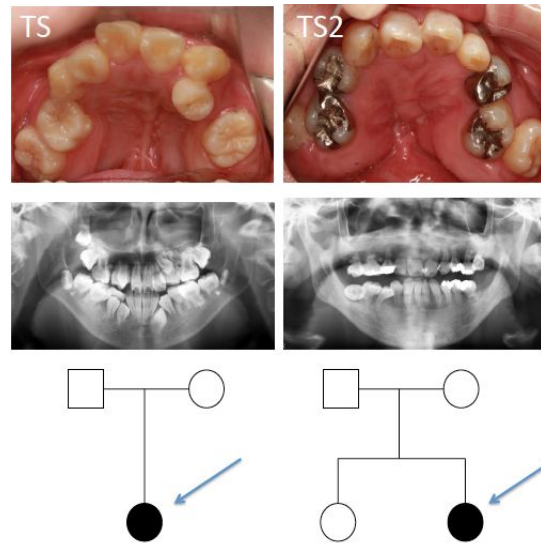


図1 解析を行った患者の口腔内写真、パノラレントゲン写真および家系図

抜去した大白歯および摘出した歯牙腫の組織切片において、エナメル小柱の形態および配列に異常は見られなかったが、象牙質において正常な歯牙では見られない様々な異常が観察された(図2)。



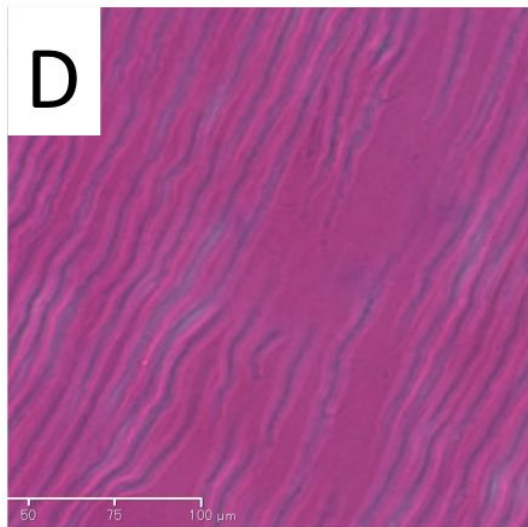
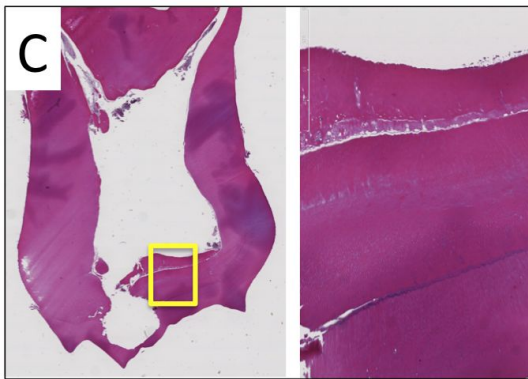
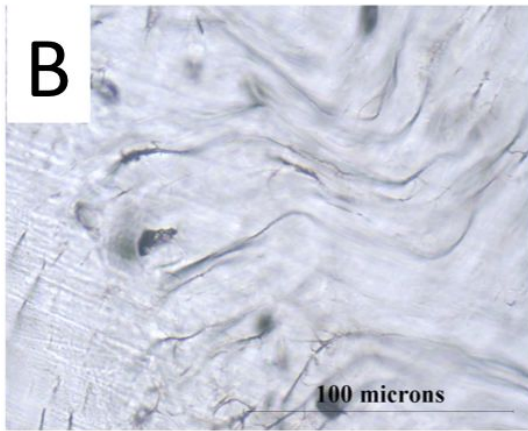


図 2 A: 症例 TS、齲蝕のため抜去した上顎右側第 1 大臼歯と根先部に存在していた歯牙種 B: エナメル質像 (研磨標本) C: 象牙質像 (HE 染色、脱灰標本) D: 象牙細管像

- (1) 象牙質が階層構造を示しており、各階層の接面では象牙細管の連続性が分断されていた。
- (2) 一本の象牙細管の太さに均一性がなく、場所によっては複数の象牙細管が融合していた。
- (3) 象牙質中に、細胞を埋入している空洞が点在しており、おのおの空洞は細い突起で連結していた。

抜歯後の歯髄から歯髄由来幹細胞株を確立し、幹細胞の多分化能について検討を行った。間葉系幹細胞の表面マーカーである CD105、CD73、SSEA4、Oct4 の発現について検討したところ、歯牙種を有している症例から確立した歯髄由来幹細胞では、正常の歯牙の歯髄から確立した歯髄幹細胞と比較して、これらのマーカーの発現が有意に多いことが判明した。

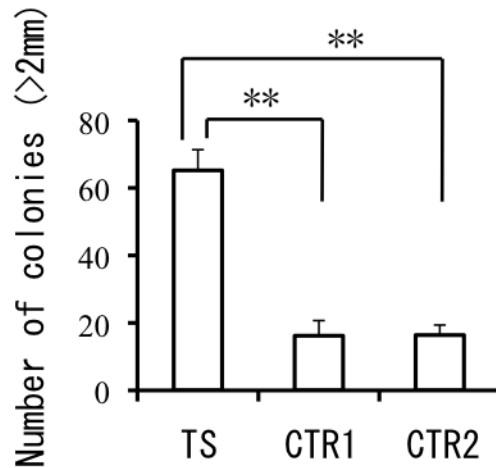
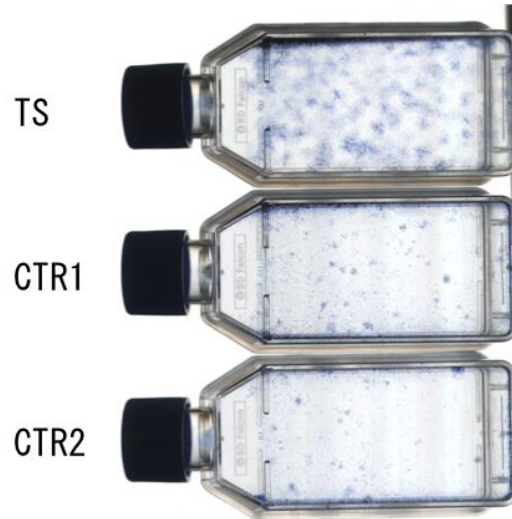
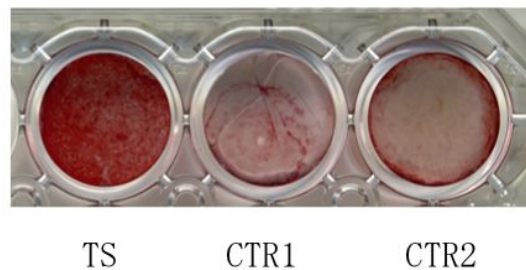


図 3 歯髄由来幹細胞の CFU-F assay の結果



TS CTR1 CTR2

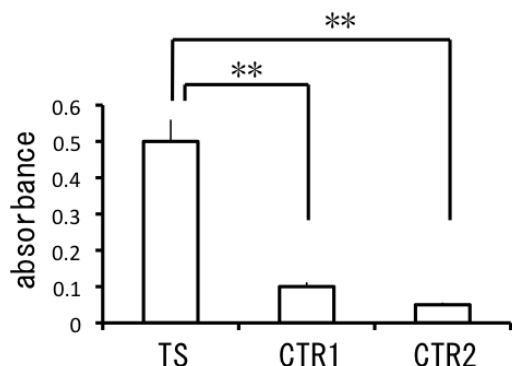


図4 歯髓由来幹細胞の osteogenesis assay の結果

in vivo および *in vivo* における骨誘導実験では、歯牙種を有している症例から確立した歯髓由来幹細胞(TS)の方が、正常の歯牙の歯髓から確立した歯髓幹細胞(CTR1、CTR2)より、骨分化能が高いことが判明した(図3、4)。

これらの症例における異常に関して候補遺伝子を明らかにするため、次世代シーケンサーおよびCGH array解析を行い、候補遺伝子を絞り込んだ。

以上の結果から、研究対象となった多数の歯牙腫を有した症例において、歯牙種の発生と歯牙の構造異常は、特定の遺伝子によって引き起こされていることが示唆された。

本研究においては、北海道大学病院自主臨床審査委員会の承認を受けた。組織の採取にあたっては、被検者の人権と利益の保護に配慮し、インフォームドコンセントに基づき、実験の主旨を十分に説明した後に同意を書面にて確認した。

遺伝子解析に関連するすべての研究については、北海道大学大学院歯学研究科ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の許可が得られたもののみを実施した。動物実験を行うにあたっては、北海道大学動物実験委員会の規則に従った。

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0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菊入 崇 (KIKUIRI, Takashi)
北海道大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号： 10322819

(2) 研究分担者

吉村 善隆 (YOSHIMURA, Yoshitaka)
北海道大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号： 30230816

(3) 連携研究者

福本 敏 (FUKUMOTO, Satoshi)
東北大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号： 30264253

中村 卓史 (NAKAMURA, Takashi)
東北大学・大学院歯学研究科・准教授
研究者番号： 90585324