

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10109

研究課題名(和文)細胞アンテナによる象牙質再生への道を拓く基礎研究

研究課題名(英文)Basic research for dentin regeneration by antenna of cell

研究代表者

高江洲 かずみ(河田かずみ)(Kawata, Kazumi)

岡山大学・医歯薬学域・助教

研究者番号：10457228

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文):象牙芽前駆細胞のIntraflagellar transport (IFT) 88は一次繊毛形成に働き、一次繊毛関連シグナルである古典的WNTシグナルの抑制により象牙芽細胞分化を制御すること、また、古典的WNTシグナルはネガティブフィードバックにより一次繊毛形成を抑制することを明らかにした(Bone, 2021)。また、細胞増殖速度は、Ift88ノックダウン乳癌細胞株では、現在までの報告通り、増加したが、Ift88ノックダウン象牙芽前駆細胞では抑制された。この制御機構には、Hippoシグナルで機能するYAP、古典的WNTシグナルで機能するbeta-cateninの関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

象牙芽細胞上の一次繊毛の機能に関しては、ほとんど研究が進んでいない状況で、我々は、象牙芽前駆細胞の分化は、一次繊毛を介した古典的WNTシグナルにより制御されることを明らかにした(Bone, 2021)。また、筋幹細胞などでは、一次繊毛は細胞増殖制御機構のブレーキとして機能する(Palla AR, et al., Nat. Commun., 2022)。しかし、本研究では、これらとは異なり石灰化能力のある象牙芽前駆細胞では、一次繊毛は細胞増殖速度を加速させた。つまり、一次繊毛は、象牙芽前駆細胞では、石灰化という重要な能力の獲得に寄与している可能性を示唆され、今後の研究の展開へと繋がった。

研究成果の概要(英文): In rat pre-odontoblasts, intraflagellar transport (IFT) 88 plays a role in the formation of primary cilia and regulates odontoblastic differentiation by inhibiting the activation of canonical WNT signaling, which is one of the primary cilia-mediated signals. Moreover, there is negative feedback between the primary cilia and canonical WNT signaling, canonical WNT signaling inhibits the formation of primary cilia (Bone, 2021). Furthermore, Ift88 knockdown increased the rate of cell proliferation in rat breast cancer cells consistent with previous studies but was suppressed in rat pre-odontoblasts. It was suggested that the regulatory mechanism of cell proliferation is associated with the transcriptional coactivators, YAP and beta-catenin in Hippo signaling and canonical WNT signaling respectively.

研究分野：細胞生物学

キーワード：象牙芽前駆細胞 IFT88 象牙芽細胞分化 細胞増殖

1. 研究開始当初の背景

歯牙の構成要素の一つである、象牙質を造り上げる象牙芽細胞には“一次繊毛”が存在する (Magloire H, et al., *Cell Biol. Int.*, 2004)。一次繊毛は象牙芽細胞以外にも体を構成する殆どの細胞に存在している。その機能は多様で、発生期には、動物の身体の左右軸を決定している (Nonaka S, et al., *Cell*, 1998)。また、細胞外環境感知センサーとして、Hedgehog (Hh) (Chiang C, *Nature*, 1996)や WNT シグナル (Germino GG, *Nat. Genet.*, 2005)を伝え、細胞極性の調節も行っている。しかし、象牙芽細胞上の一次繊毛の機能に関しては殆ど研究が進んでいない。そのような状況で、申請者は、象牙芽細胞の分化は、一次繊毛を介した古典的 WNT シグナルにより制御されることを明らかにしており、論文投稿準備中である。この成果を基盤に現在、象牙芽前駆細胞における一次繊毛の機能をさらに詳細に検討している。

日本では、人口の4人に1人が65歳以上となっている。しかし、そのうち多くの高齢者は、運動器障害による移動機能の低下(ロコモティブ・シンドローム)、生活習慣病、認知症などに長期間苦しめられている。これらの疾患は一度発症すると根治困難なため、普段から予防に取り組む必要がある。咀嚼機能はこれら疾患と深いつながりがあり、また生命活動を根底から支えている。しかし残念なことに現状では、多くの高齢者で残存歯数の減少により咀嚼能力の低下がみられる。現在のう蝕治療では十分な歯質再生は望めないうえ、再発・再治療が避けられない。そして、最終的には歯牙喪失により咀嚼機能低下を来す。う蝕罹患部歯質再生の実現は、歯科医学上の急務である。

2. 研究の目的

現在、齲歯への再生治療法はない。このため、申請者は、歯牙の再生治療方法の開拓を目指している。象牙芽細胞には細胞外環境感知センサーである一次繊毛がある。しかし、象牙芽細胞上の一次繊毛の機能に関しては殆ど研究が進んでいない。本研究では、象牙芽細胞における一次繊毛を介した細胞極性制御機構を中心に様々な細胞生理機構を解明する。そして、これを理想的な形態を持つ歯牙を再生するための足掛かりとすることが目的である。

3. 研究の方法

理想的な形質・形態の象牙質を再生するためには、まず正常象牙質の形成過程を解明する必要がある。そのためには、1. 象牙芽前駆細胞の接着・増殖、2. 分化、3. 細胞極性の分子制御機構を検討する。その上で、象牙質再生法の開発を検討していく。現在までに、象牙芽前駆細胞の分化は一次繊毛により制御されていることを明らかにしており、本研究では、象牙芽前駆細胞の増殖、細胞極性における一次繊毛の機能を以下のように分析・解析し、それを象牙質再生に応用する方法を探索していく。

I. 一次繊毛による象牙芽細胞細胞の接着・増殖制御機構の解明

現在までに、一次繊毛形成に機能する *Intraflagellar transport (Ift) 88* をノックダウンした *Ift88-KD* 象牙芽前駆細胞では、一次繊毛形成は抑制され、細胞接着能力や細胞増殖速度が減少することを確認している。この時に活性が変動するシグナル経路を検討する。

II. 象牙質発生過程における象牙芽前駆細胞上の一次繊毛による細胞極性制御機構の検討

象牙芽細胞上の一次繊毛は象牙質側から歯髄側へ向かって存在する (Thivichon-Prince B, et al., *J Dent Res.*, 2009)。異なる発生時期のラット臼歯の標本により、一次繊毛の極性の変化を観察することで、一次繊毛がどのようにして象牙芽細胞極性形成に与っているかを解明する。

4. 研究成果

象牙芽前駆細胞における IFT88 は一次繊毛形成に働き、一次繊毛関連シグナルの一つである古典的 WNT シグナルの抑制を介して象牙芽細胞分化を制御すること、また、一次繊毛と古典的 WNT シグナルの間にはネガティブフィードバックが存在し、古典的 WNT シグナルは一次繊毛形成を抑制することを明らかにした (Bone, 2021)。

また、細胞増殖速度は、*Ift88* をノックダウンした乳癌細胞株である sh-*Ift88* MRMT-1 細胞では、現在までの報告通り、増加したが、*Ift88* をノックダウンした象牙芽前駆細胞である sh-*Ift88*KN-3 細胞では抑制された。この細胞増殖制御機構には、Hippo シグナルの転写共益因子である YAP、古典的 WNT シグナルの転写調節因子である beta-catenin の関与することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tomomi Mizukawa, Takashi Nishida, Sho Akashi, Kazumi Kawata, Sumire Kikuchi, Harumi Kawaki, Masaharu Takigawa, Hiroshi Kamioka, Satoshi Kubota	4. 巻 236
2. 論文標題 RFX1-mediated CCN3 induction that may support chondrocyte survival under starved conditions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Cell Physiol .	6. 最初と最後の頁 6884-6896
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jcp.30348.	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 -

1. 著者名 Abdellatif Elseoudi, Takashi Nishida, Tomomi Mizukawa, Takako Hattori, Kazumi Kawata, Eman A Taha, Masaharu Takigawa, Satoshi Kubota	4. 巻 15
2. 論文標題 Bipartite regulation of cellular communication network factor 2 and fibroblast growth factor 1 genes by fibroblast growth factor 1 through histone deacetylase 1 and fork head box protein A1	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Cell Commun Signal .	6. 最初と最後の頁 81-91
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12079-020-00600-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kazumi Kawata, Keishi Narita, Ayako Washio, Chiaki Kitamura, Tatsuji Nishihara, Satoshi Kubota, Sen Takeda	4. 巻 150
2. 論文標題 Odontoblast differentiation is regulated by an interplay between primary cilia and the canonical Wnt pathway	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bone.2021.116001	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 -

1. 著者名 Satoshi Kubota, Harumi Kawaki, Bernard Perbal, Kazumi Kawata, Takako Hattori, Takashi Nishida	4. 巻 15
2. 論文標題 Cellular communication network factor 3 in cartilage development and maintenance	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Cell Commun Signal .	6. 最初と最後の頁 533-543
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12079-021-00629-z	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

1. 著者名 Sho Akashi, Takashi Nishida, Tomomi Mizukawa, Kazumi Kawata, Masaharu Takigawa, Seiji Iida, Satoshi Kubota	4. 巻 62
2. 論文標題 Regulation of cellular communication network factor 2 (CCN2) in breast cancer cells via the cell-type dependent interplay between CCN2 and glycolysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Oral Biosci .	6. 最初と最後の頁 280-288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2020.07.001.	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 -

1. 著者名 Kubota S, Ishikawa T, Kawata K, Hattori T, Nishida T	4. 巻 21
2. 論文標題 Retrotransposons Manipulating Mammalian Skeletal Development in Chondrocytes.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International journal of molecular sciences	6. 最初と最後の頁 pii: E1564
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21051564.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計6件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 河田 かずみ、青山 絵理子、滝川 正春、久保田 聡
2. 発表標題 軟骨細胞におけるCCN2、CCN3とPDGFRLの生物学的作用におけるHippo pathwayの関与
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河田 かずみ、青山 絵理子、滝川 正春、久保田 聡
2. 発表標題 CCN2、CCN3とPDGFRLの軟骨細胞における生物学的作用へのHippo pathwayの関与
3. 学会等名 第62回日本生化学会 中国・四国支部例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河田かずみ, 成田啓之, 鷲尾絢子, 北村知昭, 西原達次, 久保田聡, 竹田扇
2. 発表標題 象牙芽前駆細胞において一次繊毛は古典的WNTシグナルと相互作用しながら細胞分化を制御する.
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河田かずみ, 成田啓之, 鷲尾絢子, 北村知昭, 西原達次, 久保田聡, 竹田扇
2. 発表標題 象牙芽前駆細胞における一次繊毛と古典的WNTシグナルの相互作用.
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河田 かずみ, 久保田 聡, 滝川 正春
2. 発表標題 CCN2、CCN3による軟骨細胞増殖と分化の制御を抑制する癌抑制遺伝子PDGFRL
3. 学会等名 第40回岡山歯学会総会・学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河田 かずみ, 久保田 聡, 滝川 正春
2. 発表標題 癌抑制遺伝子PDGFRL はCCN2、CCN3による軟骨細胞増殖と分化の制御を抑制する
3. 学会等名 第11回日本CCNファミリー研究会
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	青山 絵理子 (Aoyama Eriko) (10432650)	岡山大学・学術研究院 医歯薬学域・助教 (15301)	
研究分担者	西田 崇 (Nishida Takashi) (30322233)	岡山大学・学術研究院 医歯薬学域・准教授 (15301)	
研究分担者	服部 高子 (Hattori Takako) (00228488)	岡山大学・学術研究院 医歯薬学域・助教 (15301)	
研究分担者	滝川 正春 (Takigawa Masaharu) (20112063)	岡山大学・学術研究院 医歯薬学域・教授 (15301)	
研究分担者	久保田 聡 (Kubota Satoshi) (90221936)	岡山大学・学術研究院 医歯薬学域・教授 (15301)	

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0件

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