

令和 3 年 5 月 24 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K19264

研究課題名（和文）歯の形成における時期特異的な細胞増殖阻害による影響についての検討

研究課題名（英文）Stage specific effect of inhibiting cell proliferation on tooth morphogenesis

研究代表者

磯貝 由佳子（Isogai, Yukako）

大阪大学・歯学研究科・招へい教員

研究者番号：20724743

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本年度は歯牙発生の研究に適切なマウスを用いて様々な細胞増殖修飾因子がどのように歯牙発身に影響を及ぼすのか解析を行った。その結果、細胞増殖抑制効果のある化学療法を施したサンプルのみならず、顎顔面形成に必要な不可欠なレチノイン酸シグナル経路の活性や不活性化においても特異的な歯牙形成不全が引き起こされる事を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究成果では、細胞増殖抑制効果のある化学療法を行った場合の歯牙形成不全には他の遺伝的、環境的要因も影響を及ぼす可能性が高い事を示唆しており今後の研究においては歯牙発生時において組織が受けている様々な外的内的要因の探求とそれらの相互作用の解明が必要である事を示すものである。

研究成果の概要（英文）：This year, we analyzed how various cell proliferation modifiers affect tooth development using mice suitable for research on tooth development. As a result, it was found that specific tooth hypoplasia is caused not only in the sample treated with chemotherapy having an inhibitory effect on cell proliferation but also in the activation and inactivation of the retinoic acid signal pathway essential for maxillofacial formation.

研究分野：矯正歯科

キーワード：歯牙発生 細胞増殖 形態形成

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

小児がんに対する化学療法の進歩により小児がん患者の生存率が高くなっている一方、化学療法を行った小児がん患者に、歯の部分的な欠損、短根やタウロドント(槌状根)などの歯根の形態異常、萌出遅延、矮小歯などといった歯および歯根の形成不全がみられることが報告されており、化学療法を行った時期によって、歯の形成が障害される部位や程度が異なる。

歯根の適切な発達は歯の形成および萌出において非常に重要である。歯根の形成過程としては、歯冠の輪郭形成が終わった後、歯冠が石灰化完了する前に、根の形成が始まる。歯冠の完成後、エナメル器の頸部ループは著明な細胞増殖を示し、先端方向に成長し、ヘルトビツヒの上皮鞘(Hertwig's epithelial root sheath: HERS)を形成する。さらに、HERSが歯乳頭の下に広がり、複数の歯根分岐が形成される。このように HERS の伸長と融合は、根形成にとって重要であることが知られている。

これまで、歯の発生において、その形成障害が生じる time point が早ければ早いほどその障害の程度が大きいと考えられていた。しかし、申請者らがマウスに細胞増殖を阻害する抗がん剤を投与した実験で、時期特異的に様々な表現型の歯の形成不全がみられることがわかった。例えば、生後一日で抗がん剤を投与したマウスでは第二臼歯のみが欠損し、第一及び第三臼歯は歯冠の形成が見られた(図1)。そこで、歯の形成には重要な time point があるのではないかとこの点に着目し、HERSにおける細胞増殖が阻害される時期によってその表現型が異なるのではないかと考えた。

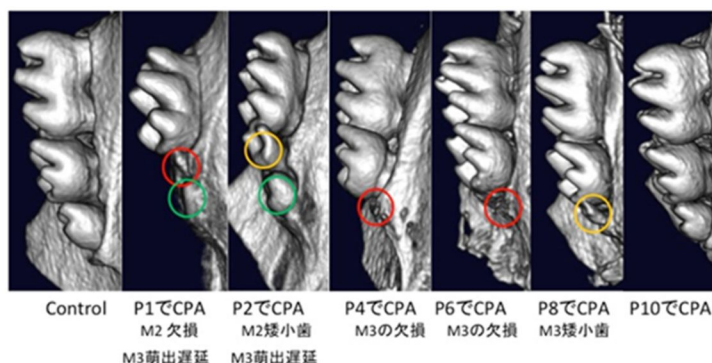


図1 抗がん剤(CPA)を投与したマウスの臼歯形成異常

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、化学療法による細胞増殖阻害が、いつ、どのように歯および歯根の形成に与える影響を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

本研究では、マウスに抗がん剤を投与し、どの time point で抗がん剤を投与するとどのような形成不全が生じるかを検討する。具体的には以下の流れで行う。

P1 から P10 までの K14-GFP マウスに抗がん剤を投与する。

a. 上記マウスから下顎大臼歯部を器官培養し、HERSの伸長の経時的変化を観察する。

b. 下顎大臼歯を摘出し、マイクロCTを使用して、歯冠、歯根の形態を三次元的に観察する。

異なる作用機序の抗がん剤や細胞増殖阻害剤を用いた実験を行って、各薬剤の作用機序によって、歯冠および歯根の形態への影響が異なるかを検討する。

#### 4. 研究成果

本研究計画では動物を用いて具体的な歯の発生ステージ毎の抗がん剤の影響を調査する予定であったが、まず当院矯正科に受診した5歳以下で化学療法を受けた小児がん治療経験患者における歯の形成異常について臨床研究を行った。図2に示すように小児がん治療経験者では矮小歯、欠如歯、萌出遅延歯が生じ、小白歯と第二大臼歯といった部位特異的に矮小歯や欠如歯が生じることが分かった(図3)。このように臨床研究から、5歳以下の患者で歯胚形成中の永久歯に特異的に抗がん剤が作用し、歯の形成異常が生じていることが示唆された。

細胞増殖抑制効果のある化学療法を行った小児がん患者では、歯牙形成不全がみられることを示した。このことから細胞増殖抑制効果のある化学療法を行う事により発生時期特異的に歯牙発生が阻害される事が強く示唆される。本年度は歯牙発生の研究に適切なマウスを用いて様々な細胞増殖修飾因子がどの様に歯牙発生に影響を及ぼすのか解析を行った。その結果、細胞増殖抑制効果のある化学療法を施したサンプルのみならず、顎顔面形成に必要な不可欠なレチノイン酸シグナル経路の活性や不活性化においても特異的な歯牙形成不全が引き起こされる事を見出した(図4, 5)。これらの事は細胞増殖抑制効果のある化学療法を行った場合の歯牙形成不全には他の遺伝的、環境的要因も影響を及ぼす可能性が高い事を示唆しており今後の研究においては歯牙発生時において組織が受けている様々な外的内的要因の探求とそれらの相互作用の解明が必要である事を示すものである。

細胞増殖抑制効果のある化学療法を行った小児がん患者では、歯牙形成不全がみられることを示した。

このことから細胞増殖抑制効果のある化学療法を行う事により発生時期特異的に歯牙発生が阻害される事が強く示唆される。本年度は歯牙発生の研究に適切なマウスを用いて様々な細胞増殖修飾因子がどの様に歯牙発生に影響を及ぼすのか解析を行った。その結果、細胞増殖抑制効果のある化学療法を施したサンプルのみならず、顎顔面形成に必要な不可欠なレチノイン酸シグナル経路の活性や不活性化においても特異的な歯牙形成不全が引き起こされる事を見出した(図4, 5)。これらの事は細胞増殖抑制効果のある化学療法を行った場合の歯牙形成不全には他の遺伝的、環境的要因も影響を及ぼす可能性が高い事を示唆しており今後の研究においては歯牙発生時において組織が受けている様々な外的内的要因の探求とそれらの相互作用の解明が必要である事を示すものである。

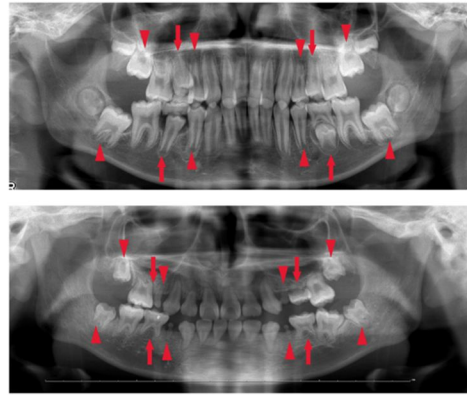


図2 小児がん治療経験者と対照群のパノラマX線画像

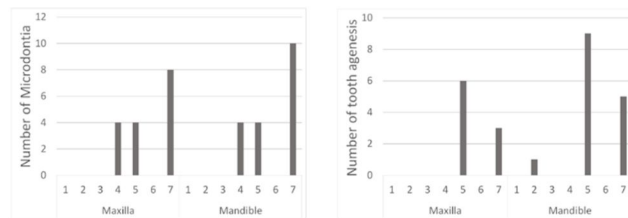


図3 小児がん治療経験者の矮小歯数と欠如歯数

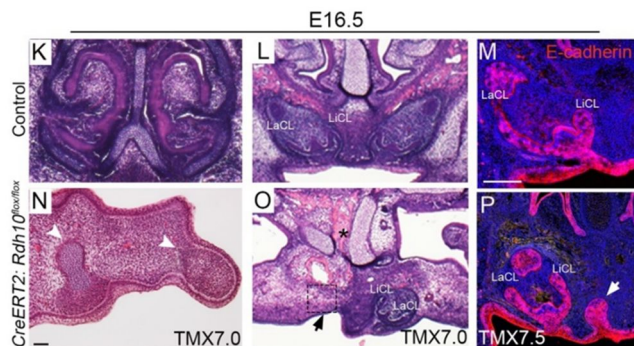


図4 レチノイン酸シグナルの不活性化による切歯の形成異常

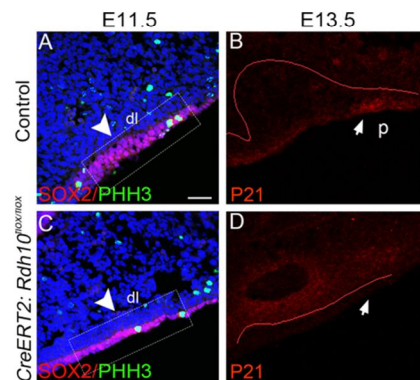


図5 レチノイン酸シグナルの不活性化による切歯の形成異常

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Aoyama Gozo, Kurosaka Hiroshi, Oka Ayaka, Nakatsugawa Kohei, Yamamoto Sayuri, Sarper Safiye Esra, Usami Yu, Toyosawa Satoru, Inubushi Toshihiro, Isogai Yukako, Yamashiro Takashi	4. 巻 10
2. 論文標題 Observation of Dynamic Cellular Migration of the Medial Edge Epithelium of the Palatal Shelf in vitro	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	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） 10.3389/fphys.2019.00698	査読の有無 無
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 Nakatsugawa Kohei, Kurosaka Hiroshi, Inubushi Toshihiro, Aoyama Gozo, Isogai Yukako, Usami Yu, Toyosawa Satoru, Yamashiro Takashi	4. 巻 5
2. 論文標題 Stage- and tissue-specific effect of cyclophosphamide during tooth development	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Orthodontics	6. 最初と最後の頁 519-530
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/ejo/cjz002	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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