

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K19305

研究課題名（和文）歯の形態形成における一次繊毛遺伝子と外的環境因子の関わり

研究課題名（英文）The relationship between primary cilia and environmental factors during tooth development

研究代表者

緒方 佳代子（OGATA, Kayoko）

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：70830123

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）：近年、第一大臼歯、切歯といった特定の歯種に限局して生じる形成異常（Molar-incisor malformation; MIM）が明らかとなったが、その原因は不明である。本研究では、MIMと診断されたヒト抜去歯を用いた実験で、MIMに現れる歯髄腔の異所性石灰化を確認し、その特徴を免疫染色および特殊染色により明らかにした。また、マウス歯乳頭由来細胞株を用いた一連の実験を行い、MIMの異所性石灰化の原因として、第一大臼歯および切歯が形成される時期の環境因子が関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Molar-incisor malformation (MIM) のような形成異常を呈する歯は、保存が困難となり早期に抜歯が必要となる場合があり、成長発達期である小児においては健全な口腔機能の獲得に不利となる。本研究により、MIMの歯に現れる異所性石灰化の原因として、第一大臼歯や切歯の形成時期である出生時や出生後早期の環境因子が関与している可能性が示唆された。この成果は、MIMの原因解明へ向けた端緒となると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In recent years, it was reported that a new type of localized abnormal tooth root morphology, Molar-root incisor malformation (MIM). MIM showed root abnormality of regional teeth such as permanent first molars (PFM) and incisors. However, the mechanism of MIM symptoms remains unclear.

We confirmed ectopic mineralization of pulp cavity in and clarified characteristics of it by histological analyses using human teeth diagnosed with MIM. We finally conclude that based on considering the result of in vitro, environmental factors during the period of developing the PFM and incisor possible cause involved in the ectopic calcification of MIM.

研究分野：小児歯科学 歯の発生

キーワード：MIM 形成異常 歯

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

2014年に第一大臼歯、第二乳臼歯と中切歯に局限して現れる形成異常として、Molar-Incisor Malformation (MIM) が報告された(1)。第一大臼歯の異常が著明で、歯冠は正常に形成されるが、歯頸部で狭窄し、短い歯根、異所性石灰化(cervical mineralized diaphragms; CMD)による歯髓腔の狭窄が認められる。また中切歯では、臨床的歯冠歯頸側1/3付近にエナメル質形成不全による陥凹が認められる。したがって、形成異常に起因する歯髓炎や歯周炎を発症する頻度が高く、このMIMを示す児では、永久歯を早期に喪失するリスクは極めて高い。

歯根形態の異常を特徴とするMIMと類似する疾患として、第一大臼歯と切歯に局限したエナメル質形成不全症があり、Molar Incisor Hypomineralization (MIH) と称する。MIMとMIHの2つの疾患の共通点は、第一大臼歯と切歯に局限して歯の形成異常が現れるという点である。これらの歯胚は、出生時から出生後早期にかけて歯冠の石灰化と歯根形成を開始することから、MIHの発症には妊娠時の母体環境、分娩時の状態、新生児期や乳児期の既往症や服薬歴など、出生時や出生後早期の環境因子が深く関与していると考えられている(2)。2017年には、MIMの歯を持つ児の遺伝子解析によって、*TCTEX1D2* 遺伝子に変異が見つかり、織毛病であるジューヌ症候群(Jeune asphyxiating thoracic dystrophy; JATD)とMIMの関与が示唆された(3)。しかしながら、MIMやMIHのように局限した歯種に形成異常が認められる原因は明らかとなっていない。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、歯の発生において、環境因子の変化という負荷を外因因子として加えることによって、一次織毛関連遺伝子群を含めた歯の発生制御がどのような影響を受けるかを明らかにすることである。

### 3. 研究の方法

#### (1) ヒト抜去歯を用いたMIMの歯の解析

福岡歯科大学医科歯科総合病院小児歯科において、保存不可のため抜歯が必要となったMIMと診断された第一大臼歯を用いて以下の解析を行った。(書面による同意取得。)

マイクロCT解析

SEM (Scanning Electron Microscope) 解析

組織学的解析

マイクロCT、SEMにて観察後、パラフィン包埋切片を作成し、特殊染色および免疫組織化学染色により解析を行った。

#### (2) 細胞株を用いた薬剤の影響の解析

マウス歯乳頭由来細胞株(mDP細胞)を用いて、培地にプレドニゾロン(PSL)を添加し培養を行った後、mRNAを抽出し、qRT-PCRにより解析を行った。

mDP細胞を用いて骨分化誘導培地(ODM)にPSLを添加し、7、14、および21日間、培養を行い、石灰化の評価をAlizarin Red S染色にて行った。

#### (3) マウスを用いた薬剤の歯への影響の解析

ICRマウスを用いて、生後0日齢から生後14日齢までPSLを投与し、パラフィン包埋切片を作成し、組織学的解析により歯への影響を調べた。(倫理審査委員会許可番号:20008)

### 4. 研究成果

#### (1) ヒト抜去歯を用いたMIMの歯の解析

抜去されたMIMの第一大臼歯は、肉眼的には歯冠部に明らかな異常を認めなかった。一方で歯根は短く、細く、彎曲しており、形態異常が明らかとなった。マイクロCT解析より、歯髓腔直下にCMDが観察された。脱灰標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を行ったところ、狭窄した歯髓腔の下に水平に広がるCMDが観察された(図1)。CMDは泡状の細胞質マトリックスや好酸性の物質で構成されていた。SEM解析では、CMDは健全な象牙質とは異なり、線維状の構造物が束になり球形となった構造物が密集していることが明らかとなった(図2)。

組織学的解析では、CMDは特殊染色（alcian blue 染色、Safranin O 染色）および免疫組織化学染色（I型コラーゲン、オステオカルシン、ペリオスチン）で陽性であった。

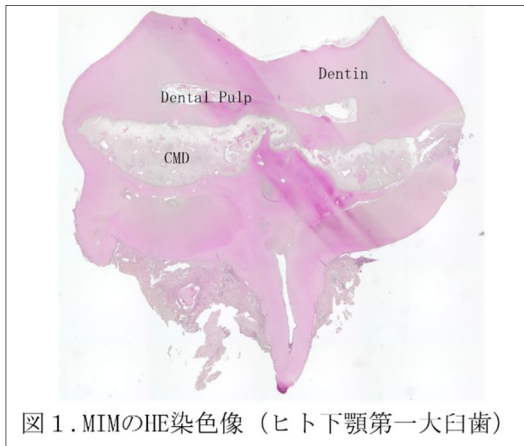


図1. MIMのHE染色像（ヒト下顎第一大臼歯）

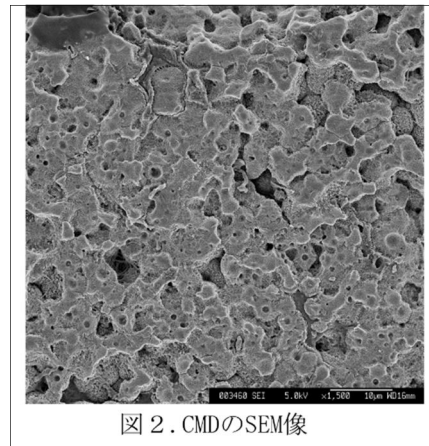


図2. CMDのSEM像

### (2) 細胞株を用いた薬剤の影響の解析

PSL 添加群ではコントロール群と比較して、添加後3日および5日において、骨芽細胞分化に関わる転写因子 Osterix、骨芽細胞分化マーカーである Osteocalcin、Alkaline Phosphatase の mRNA レベルの発現が上昇した。一方で、一次繊毛の構成タンパクである IFT88 や IFT80 の mRNA レベルに明らかな変化は認められなかった。

ODM に PSL を添加した群では、添加後7日、14日、21日においてコントロール群（DMEM）および ODM 群と比較して石灰化の亢進が明らかとなった（図3）。

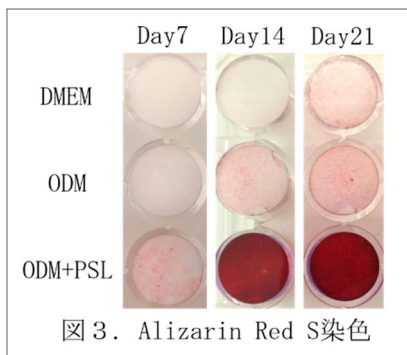


図3. Alizarin Red S染色

### (3) マウスを用いた薬剤の歯への影響の解析

PSL 投与群ではコントロール群と比較して体重減少がみられたが、歯の発生に明らかな変化は認められなかった。

### 引用文献

- (1) Witt CV. et al., Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol., 2014 Apr;117(4):e311-9
- (2) Zschocke J. et al., Arch Oral Biol, 20 Apr 2017, 80:222-8
- (3) Weerheijm KL., Eur J Paediatr Dent., 2003 Sep;4(3):114-20

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------