

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21791794

研究課題名（和文）実験動物スンクスを用いた歯の代生と加生の分子メカニズムの探究

研究課題名（英文）Developmental mechanisms regulating tooth succession and accession in the house shrew (*Suncus murinus*)

研究代表者

山中 淳之 (YAMANAKA ATSUSHI)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・准教授

研究者番号：80343367

研究成果の概要（和文）：

哺乳類における歯の交換は、乳歯が一生の間に一度だけ永久歯に生えかわる二生歯性を特徴としている。マウスには歯の交換が一切見られないので、乳歯列が歯の代生と加生によって永久歯列に置き換わる交換のメカニズムを明らかにするために、本研究では実験動物スンクス (*Suncus murinus*) の歯列の発生を調べた。スンクスの全ての歯胚の発生順序を調べると、隣接する歯胚は同時には形成されず、形成時期に一定のずれがあることが分かった。この歯の交換様式は、先行して形成された歯胚が近傍に抑制因子を分泌して後続歯の発生位置と発生時期を決定している、と考えると上手く説明できる。

研究成果の概要（英文）：

The diphyodont tooth replacement in mammals is characterized by a single replacement of a deciduous dentition by a permanent dentition. Because the mouse never replaces its teeth, this study used the house shrew, *Suncus murinus*, as a model to investigate the control of the diphyodont replacement by successions and accessions of teeth. The developmental sequence of tooth germs in the house shrew indicates that two adjacent tooth germs do not develop simultaneously, but with a constant time lag. We suggest that this mode of tooth succession and accession can be explained by a sequential inhibitory cascade model in which the timing of initiation and the spacing of tooth development are determined by the inhibition from developmentally preceding adjacent tooth germs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度			
2007年度			
2008年度			
2009年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・形態系基礎歯科学

キーワード：歯の発生、歯の交換、二生歯性、乳歯、永久歯、*Shh*、スンクス

1. 研究開始当初の背景

ヒトを含め哺乳類の歯列は、乳歯が一生涯に一回だけ永久歯に生えかわる二生歯性(diphyodonty)を特徴としている。ただし、永久歯のうち実際に生えかわるのは切歯、犬歯、小臼歯だけであり、これらが代生歯(successional teeth)と呼ばれるのに対し、大臼歯は乳歯列の遠心に付加されるだけなので加生歯(accessional teeth)と呼ばれる。哺乳類の二生歯性の歯の交換様式は、哺乳類や顎の成長パターンといった哺乳類の特異的な特徴と密接に関連していると考えられており、現生および化石哺乳類の研究者にとって重要な研究対象となっている(Kielan-Jaworowska et al., 2004)。

にもかかわらず、二生歯性の歯の交換を制御する発生メカニズムに関してはほとんど何も分かっていない。これは、一般的な哺乳類の実験動物であるマウスなどの齧歯類が、非常に特殊な歯列を有しており、歯の交換が一切見られないからである。したがって、歯の二生歯性のメカニズムを解明するためには、乳歯胚と永久歯胚の二世代の歯胚を有する実験動物を導入することが必要である。

2. 研究の目的

そこで、本研究は、二世代の歯胚を持つ実験動物スunks (*Suncus murinus*)を導入し、二生歯性の歯の交換様式を形態学的に記載し、その交換様式を制御する発生メカニズムを明らかにすることを目的とした。

スunksは、トガリネズミ形目トガリネズミ科に属する実験動物で、二世代の歯胚を有する(図1)。ただし、乳歯胚は胎生期に急速に退縮してしまい、機能歯を形成することはない。退縮する乳歯胚の隣に永久歯胚(代生歯胚)が形成され、生後に萌出し機能歯となる。

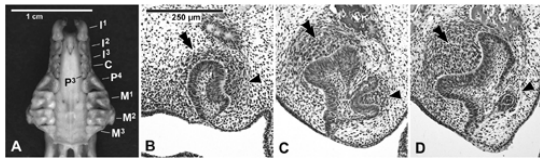


図1 (A) スunks上顎の永久歯列。I: 切歯、C: 犬歯、P: 小臼歯、M: 大臼歯。(B-D) スunks上顎第4小臼歯(P⁴)の退縮する乳歯胚(矢頭)とその口蓋側(舌側)で急速に成長する代生歯胚(二重矢頭)。(B) E19、(C) E20、(D) E21。(Yamanaka et al., 2010より)

本研究では、まず、歯胚上皮のマーカー遺伝子である *Sonic hedgehog* (*Shh*) の発現を使って、全ての乳歯胚、永久歯胚(代生歯胚)

と加生歯胚)について発生の順番を調べ、乳歯列がどのように永久歯列に交換されるのかを明らかにした。次に、その交換様式に見られる規則性を明らかにすることで、二生歯性の歯の交換を制御する分子メカニズムを提唱し、その妥当性を検討した。

3. 研究の方法

スunksの成獣を交配させ、各ステージ(E16からE26まで)の胎仔を摘出した。頭部の前頭断連続組織切片を作製し、一部はH-E染色を行った。一部は、*Shh*のプロンプを用いた *in situ* hybridizationを行い、遺伝子発現を調べた。また、H-E染色した連続組織切片の画像を用いてコンピューター上で口腔上皮および歯胚上皮の3次元再構築像を作成した。

4. 研究成果

(1) スunksにおける乳歯胚と永久歯胚の交換の様式

スunksでは、E15頃に歯胚上皮の肥厚が開始し、間葉側へ陥入していくことで、アーチ状の歯堤が形成される。この歯堤に沿って、乳歯胚の形成が始まるが、E19ではすでに退縮過程に入っており、E21頃には痕跡的になった(図2)。

一方で、退縮する乳歯胚の口蓋側(舌側)には切歯から小臼歯までの代生歯胚が形成され、急速に成長した(図2)。大臼歯の歯胚(加生歯胚)は歯堤の遠心端が伸長することにより、一つずつ遠心方向に付加されていった(図2)。

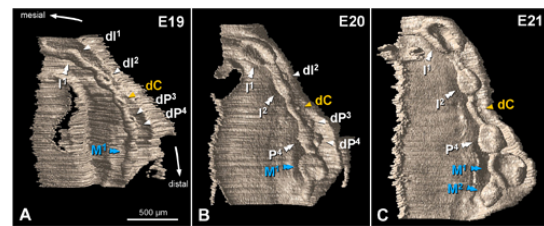


図2 スunks上顎の口腔上皮と歯胚上皮の3次元再構築像。上皮だけを抽出し、間葉を除去して、上側(間葉側)から観察している。歯胚上皮は間葉側へ陥入して成長する。歯胚の略号は図1(A)と同じ。前付きのdは乳歯胚であることを示す。最初は歯堤に沿って乳歯胚が形成されるが、すぐに退縮し、その口蓋側に急速に代生歯胚が形成されることがわかる。大臼歯の歯胚(加生歯胚)は、遠心方向の一つずつ付加されていく。(A) E19、(B) E20、(C) E21。(Yamanaka et al., 2010より)

(2) 乳歯胚、代生歯胚、加生歯胚の *Shh* の発

現パターン

スunksでは歯胚上皮の肥厚が開始する前から、将来の歯堤の位置にアーチ状の *Shh* の発現が見られるが、次第に歯胚上皮に発現が限局するようになり、その位置に乳歯胚が形成される (Yamanaka et al., 2007)。乳歯胚の歯胚上皮には *Shh* の発現が継続して見られたが、歯胚の退縮と共に発現が減弱しついに消失した (図 3A-E)。

切歯から小臼歯までの代生歯胚では、最初は *Shh* の発現は見られず、歯胚が帽状期後期に達すると初めて歯胚上皮の先端に *Shh* の発現が現れた (図 3A-E)。帽状期になると、1次エナメル結節に強い発現が見られ、鐘状期になると内エナメル上皮に発現が広がっていった。大白歯の歯胚 (加生歯胚) の *Shh* の発現の変化は代生歯胚のそれと同じであった (図 3F, G)。

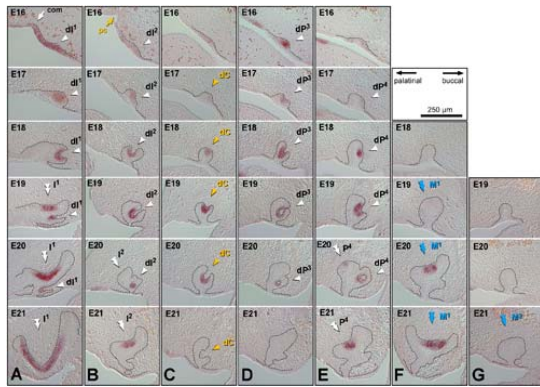


図 3 スunksの上顎歯胚における *Shh* の発現パターン。(A) 第 1 切歯、(B) 第 2 切歯、(C) 犬歯、(D) 第 3 小臼歯、(E) 第 4 小臼歯、(F) 第 1 大白歯、(G) 第 2 大白歯。乳歯胚では、開始期から発生過程を通じて歯胚上皮に *Shh* の発現が見られる。代生歯胚 (切歯から小臼歯までの永久歯胚) と加生歯胚 (大白歯の歯胚) では、蕾状期後期に達するとはじめて歯胚上皮の先端に *Shh* の発現が現れ、帽状期の 1 次エナメル結節に受け継がれる。(Yamanaka et al., 2010 より)

(3) 歯胚の発生順序

スunksの全ての乳歯胚、代生歯胚、加生歯胚の発生時期を、組織切片における形態と *Shh* の発現をもとにまとめると図 4 のようになる。

上顎においては、最も早く発生が開始するのは、第 1 切歯、第 2 切歯、第 3 小臼歯の乳歯胚であったが、それ以外の歯胚の発生は隣の歯胚の発生よりも必ず一定時間遅れて進行することが分かった。1 次エナメル結節が形成される帽状期を基準にして歯胚の発生順序を比較してみると、この傾向を一層はっきりと認めることができた。

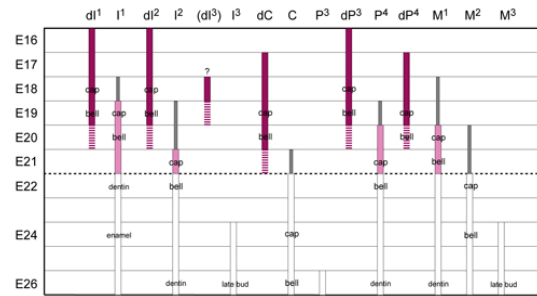


図 4 スunksの上顎における全ての歯胚の発生順序。深紅の棒は乳歯胚における *Shh* の発現を、ピンクの棒は代生歯胚と加生歯胚における *Shh* の発現を表す。E22 以降の *Shh* の発現は調べていない。late bud: 蕾状期後期、cap: 帽状期、bell: 鐘状期、dentin: 象牙質基質の沈着開始、enamel: エナメル質基質の沈着開始。(Yamanaka et al., 2010 より)

(4) 二生歯性の歯の交換を制御するメカニズム

先行して形成された歯胚の 1 次エナメル結節から抑制因子が分泌され、近傍に別の歯胚が形成されるのを妨げていると仮定すると、スunksにおける歯胚の発生の順番を上手く説明することができる。この仮定の下にスunksの上顎の歯胚形成における推定される抑制カスケードを図 5 に示した。

この抑制カスケードモデルでは、代生歯胚の形成は必ずしも乳歯胚からの抑制を受けているわけではない。例えば、第 2 切歯の代生歯胚 (I^2) は、その乳歯胚 (dl^2) ではなく、第 1 切歯の代生歯胚 (I^1) からの抑制を受けている。また、大白歯の歯胚 (加生歯胚) は必ず一つ近心の歯胚からの抑制を受けている。顎の遠心方向への成長によって、歯胚が形成されるスペースが確保されるために、大白歯の歯胚が遠心に一つずつ付加されていく、と考えられる。

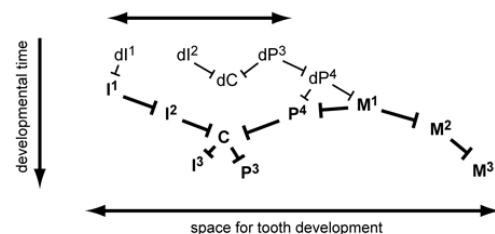


図 5 スunksの上顎の歯胚形成における推定される抑制カスケード。歯胚の形成開始時期および形成場所は、先行して形成された歯胚によって抑制的に決定されると仮定している。顎の成長によって歯胚が形成可能なスペースは拡大している。代生歯胚の形成は乳

歯胚に抑制されるとは限らない。大白歯の歯胚（加生歯胚）は一つ近心の歯胚からの抑制を受ける。(Yamanaka et al., 2010 より)

二世代の歯胚を有するスunksの歯胚の交換様式から推定される歯の代生と加生のメカニズムをまとめると以上のようなになるだろう。歯の代生と加生は、おそらくほぼ同じ分子メカニズムによって制御されていると考えられる。unksでは、乳歯胚が途中で退縮してしまうので、上記のモデルをそのままヒトの歯の交換に適用することはできないかもしれない。しかし、新たに歯胚が形成される場合、開始時期と位置を制御するメカニズムはunksでもヒトでも同じであると考えられる。今後、歯胚の器官培養を利用した実験を行い、上記のモデルの妥当性を検討する必要がある。

参考文献

Kielan-Jaworowska Z, Cifelli RL, Luo Z-X. Mammals from the Age of Dinosaurs: Origins, Evolution, and Structure. New York: Columbia University Press; 2004.

Yamanaka A, Yasui K, Sonomura T, Uemura M. Development of heterodont dentition in house shrew (*Suncus murinus*). Eur J Oral Sci 2007; 115: 433-440.

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3件)

- (1) 山中淳之. 哺乳類の歯列の異形歯性と二生歯性の発生メカニズム. 鹿児島大学歯学部紀要 2011; 31: 71-80. 査読無
- (2) Yamanaka A, Uemura M. The house shrew, *Suncus murinus*, as a model organism to investigate mammalian basal condition of tooth development. J Oral Biosci 2010; 52: 215-224. 査読有
- (3) Yamanaka A, Yasui K, Sonomura T, Iwai H, Uemura M. Development of deciduous and permanent dentitions in the upper jaw of the house shrew (*Suncus murinus*). Arch Oral Biol 2010; 55: 279-287. 査読有

〔学会発表〕 (計3件)

- (1) Yamanaka A, Yasui K, Uemura M. Patterning of the heterodont dentition

in the house shrew (*Suncus murinus*). 10th TMD (Tooth Morphogenesis and Differentiation), 2010年9月3日, ベルリン医科大学, ベルリン市.

- (2) 山中淳之, 菌村貴弘, 岩井治樹, 植村正憲. ジャコウネズミの歯列形成過程における歯胚の発生順序. 第51回歯科基礎医学会学術大会, 2009年9月11日, 朱鷺メッセ, 新潟市.
- (3) 山中淳之. 実験動物unksを使った異形歯性歯列の発生学的研究. 第51回歯科基礎医学会学術大会, 2009年9月11日, 朱鷺メッセ, 新潟市.

〔図書〕 (計1件)

- (1) 山中淳之, 花村肇. 歯の新知見. スunksの生物学 (磯村源蔵, 織田銃一, 東家一雄, 宮木孝昌編). 東京: 学会出版センター, 2011; 107-113.

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
山中 淳之 (YAMANAKA ATSUSHI)
鹿児島大学・歯学総合研究科・准教授
研究者番号: 80343367