

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19591

研究課題名（和文）代生歯堤の形成・維持メカニズムの解明

研究課題名（英文）Mechanisms of the formation and maintenance of successional dental lamina

研究代表者

大峽 淳（Ohazama, Atsushi）

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：40266169

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：ヒトは乳歯と永久歯を持つ「二生歯性」である。永久歯は乳歯の舌側にある代生歯堤から形成されるが、ヒトの永久歯の舌側に代生歯堤は存在しない。意図的な代生歯堤の誘導は、新たな歯の再生治療へとつなげることができる。本研究では、代生歯堤の形成のメカニズムを検索した。代生歯堤の進化の過程における変化に、Shhシグナルの変化が関与している可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

再生療法の研究の多くは、幹細胞を使用したものとなっている。しかし、幹細胞の使用は手技的にも、コスト的にも、難題が多い。そのため再生療法には、幹細胞を使用しない別のアプローチを模索することが必要と考える。体を作る設計図である遺伝子には、進化の過程で失った制御システムが潜在すると考えられており、先祖返りは、その潜在したシステムが顕在化したことによって生じる。本研究での成果は、進化の過程で失った代生歯堤形成メカニズムを顕在化させることを、歯の再生療法に応用することに貢献できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Humans has diphyodont with deciduous and permanent teeth. Permanent teeth are formed from successional tooth band located at the lingual side of deciduous teeth, but successional tooth band is not present in human permanent teeth. It is possible that artificial successional tooth band formation leads to a new tooth regeneration therapy. In this study, we elucidated the mechanism of the formation of the successional tooth band. Our data also indicate the possibility that changes in Shh signaling may be involved in the evolutionary process of the successional tooth band formation.

研究分野：発生生物学

キーワード：再生

1. 研究開始当初の背景

ヒトは乳歯と永久歯を持つ「二生歯性」である。永久歯は乳歯の舌側にある代生歯堤から形成されるが、ヒトの永久歯の舌側に代生歯堤は存在しない。何度も歯が生え変わる多生歯性の動物は、この代生歯堤を永続的に持つ。意図的に代生歯堤を誘導できれば、新たな歯の再生治療へとつながる可能性が高い。しかし、代生歯堤の形成や維持、代生歯堤からの歯の形成開始メカニズムなど、代生歯堤に関しての情報は全くない。

2. 研究の目的

分子レベルでの研究に欠かせないマウスが、永久歯のみの一生歯性で代生歯堤を持たないため研究に利用できないことが、代生歯堤研究の停滞の大きな原因となっている。一方で、ヒトやマウスを含めた全ての動物は、多生歯性の動物から進化し、現在に至っていると考えられている。多生歯性の動物は、使用している歯の舌側に、永続的に代生歯堤をもち、そこから新しい歯を形成する。一生歯性の動物は進化の過程で代生歯堤の形成能を完全に失い、二生歯性の動物は2回目以降の代生歯堤の形成能を失ったと考えられている。一方で、多数の歯列を同時に保有する生物の存在は、舌側にある代生歯堤が、それらの舌側の歯列の名残である可能性も示唆しており、代生歯堤の喪失のメカニズムの詳細は全く明らかでない。複合的な変化によって引き起こった可能性が高いと考えられている。一次線毛分子である Polaris の神経堤由来細胞特異的欠損マウスで、上顎臼歯の舌側に歯胚様の構造体を認めた。永久歯の舌側に歯を持つ遺伝子改変マウスは、進化の過程で失われた代生歯堤もしくは舌側の歯列の形成能を、遺伝子改変によって活性化した可能性を示しており、その解析によって、代生歯堤の形成や維持、代生歯堤からの歯の形成開始メカニズムなどが明らかにできる可能性がある。本研究では、この Polaris 欠損マウスを用いて、代生歯堤の誘導・維持の分子メカニズムの解明を目指す。

3. 研究の方法

Polaris の神経堤由来細胞特異的欠損マウスは、出生と同時に致死となる。vergingal plugの有無をもとに、目的の胎生ステージの胎仔を取り出し、分子レベルでの解析を行った。

4. 研究成果

Polaris の神経堤由来細胞特異的欠損マウス (Polaris<sup>fl/fl</sup>;Wnt1Cre)の上顎臼歯の舌側に歯胚様の構造体を認めた(図1)。口蓋には口蓋皺壁が存在し、口蓋皺壁の原基には、一部の歯胚関連分子が発現することが知られている(Kawasaki et al., PLoS One. 2018 Sep 20;13(9):e0204126.)。しかし、口蓋皺壁には、歯胚関連遺伝子のうちの Pax9 や Msx1 は発現しない。Polaris 欠損マウスの舌側歯胚様構造体には Pax9、Msx1 の両方とも発現が認められ(図2、図3)

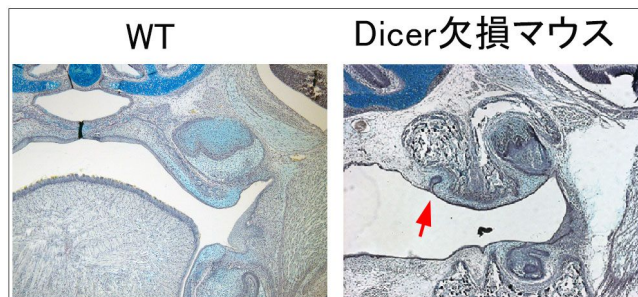


図1;舌側過剰歯胚様構造体

Polari s 欠損マウスの舌側歯胚様構造体は、口蓋皺壁の異常による構造体ではないことが示された。舌側での歯胚を失わせた可能性があるとする様々な経緯の中で、複数の歯列の喪失には、Osr2 と Bmp4 の拮抗関係の獲得が関係するとの報告がある(Zhang et al., Science.323:1232-4,2009)。現在の正常マウスでは、歯胚の舌側に発現する Osr2 が歯の誘導分子の一つである Bmp4 の舌側の拡大を抑えているが、Osr2 が欠損すると、Bmp4 が舌側へ拡大し、舌側に過剰歯胚が出現する。この拮抗関係の獲得

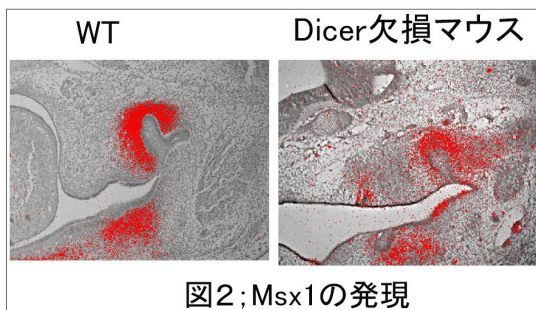


図2;Msx1の発現

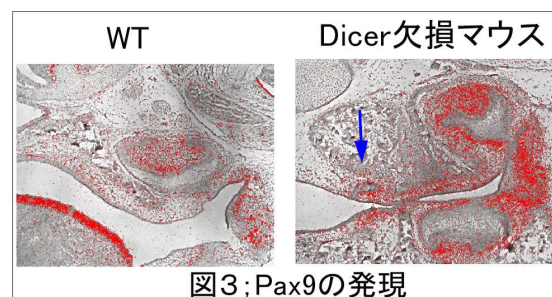


図3;Pax9の発現

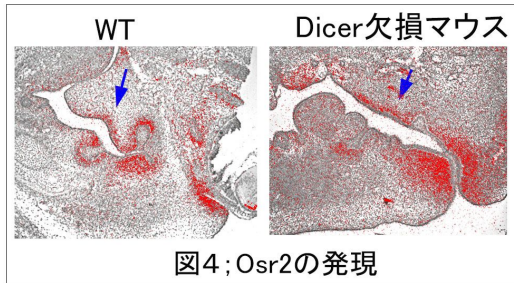


図4; Osr2の発現

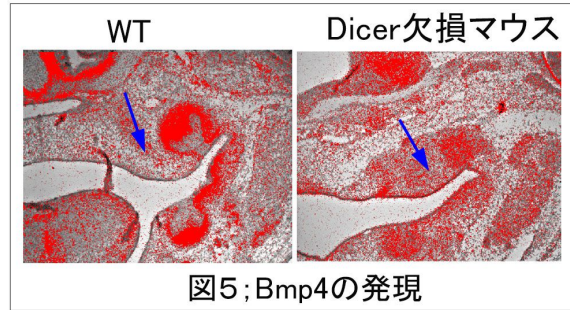


図5; Bmp4の発現

が、舌側の歯胚形成能の退化に關与した可能性が考えられている。Polaris 欠損マウスにおける舌側の過剰歯胚が、この Osr2 と Bmp4 の拮抗關係の破綻によるものかを検索するために、Polaris 欠損マウスで Osr2 と Bmp4 の発現を確認した。しかし、Polaris 欠損マウスでは、Osr2 と Bmp4 の拮抗關係は維持され、破綻していなかった(図4、図5)。このことより、複数の歯列の形成能喪失とは違う代生歯堤喪失の経緯に Polaris が關与する可能性が示された。

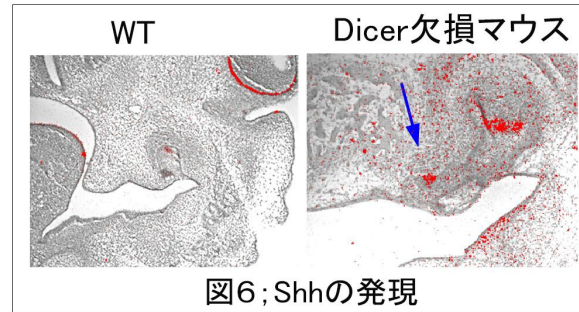


図6; Shhの発現

Polaris 欠損マウスの舌側過剰歯胚には、正常な歯胚と同様に Shh の発現が認められた(図6)。Polaris は一次線毛に局在するタンパクであり、Shh シグナルは一次線毛内で活性化する。そこで、Shh シグナルの活性のマーカ分子の発現を検索した。その結果、通常の歯胚では、Shh シグナルは主に間葉組織で活性化するのに対し、Polaris の舌側過剰歯胚では、間葉での発現が消失し、代わりに上皮での発現が認められた(図7)。その傾向は、第一大臼歯の歯胚でも観察された。

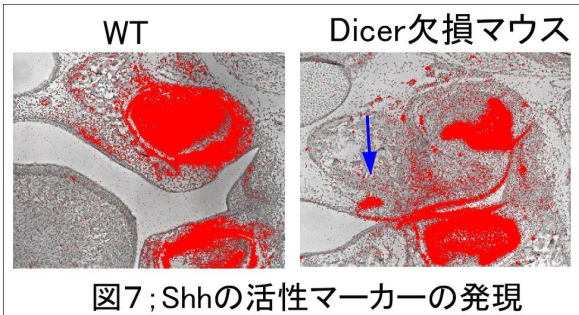


図7; Shhの活性マーカーの発現

以上のことから、Polaris 欠損マウスの上顎大白歯歯胚の舌側に認められた過剰歯胚は、複数の歯列の形成能喪失とは違う進化過程での変化と關連している可能性が示唆された。また、Shh シグナルの活性様式が変化していたことから、その進化における変化には、Shh シグナルの変化が關与している可能性があることが示された。また、Shh シグナルの活性様式の変化が、Polaris 欠損マウスの第一大臼歯歯胚でも認められた。代生歯胚と第一大臼歯歯胚は連続性を有している。代生歯胚と大白歯歯胚が共に変化することが、舌側の歯胚形成能の変化につながっている可能性が示された。

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
研究分担者	前田 健康  (Maeda Takeyasu)  (40183941)	新潟大学・医歯学系・教授   (13101)	
研究分担者	川崎 真依子  (Kawasaki Maiko)  (40584587)	新潟大学・医歯学系・准教授   (13101)	

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