

令和 6 年 5 月 23 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K17249

研究課題名（和文）エナメル形成におけるライオニゼーションの解明

研究課題名（英文）Elucidation of lyonization in enamel formation

研究代表者

工藤 武久（Kudo, Takehisa）

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号：70909770

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：女性では、2つあるX染色体のうち一つが不活性化される（X染色体の不活性化）。器官の形成段階におけるX染色体の不活性化に関しては、未だ不明な点が多く残されている。本研究では、X染色体の不活性化は各細胞ごとにランダムに行われるが、その後の細胞の分布は、各器官の細胞分裂パターンに依存する可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

器官形成には、X染色体上の遺伝子も多く関わる。そのために、女性におけるX染色体の不活性化が器官形成にどのようにかわるかを調べることは、先天異常の原因解明に必須となる。本研究結果の成果は、生前診断と生前治療へのアプローチ研究に貢献できる。

研究成果の概要（英文）：In females, one of X chromosomes is inactivated (X inactivation). X inactivation during organogenesis remains unclear. The present study indicates the possibility that X inactivation occurs randomly, and the subsequent distribution of cells depends on pattern of cell proliferation in each organ.

研究分野：口腔解剖学

キーワード：ライオニゼーション エナメル形成

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトを含む哺乳類の性別は、性染色体で決定されている(男性-XY、女性-XX)。1つしかX染色体を持たない男性と違い、女性はX染色体を2つ保有する。一つは父親から、一つは母親から受け取る。転写因子は両方の染色体に結合可能なため、そのままでは女性の細胞では、X染色体由来タンパク質が男性の2倍となり、細胞にとって致死的状況となる。しかし、女性の細胞は、ある段階で父親、母親いずれかのX染色体のみを転写することを決定し、それ以降、生涯にわたり、決めたX染色体だけを転写の対象とし、もう一方のX染色体を不活性化の状態にしておくことで、タンパクが2倍になることを回避している。ライオニゼーション(X染色の不活性化)と呼ばれるシステムである。哺乳類のメスのほぼ全ての細胞で惹起されているシステムである。父性X染色体か、母性X染色体かの選択は、ランダムに決定されると考えられている。そのため、父性X染色体か、母性X染色体かの選択は細胞によって異なるものの、一度決定したら、その細胞から分裂する細胞は、生涯同じ染色体を不活性化すると考えられている。つまり、女性の体には、父性染色体を選択した細胞と、母性染色体を選択した細胞の2種類が存在することになる。器官形成におけるライオニゼーションはあまり把握されておらず、不明な点が多い。

## 2. 研究の目的

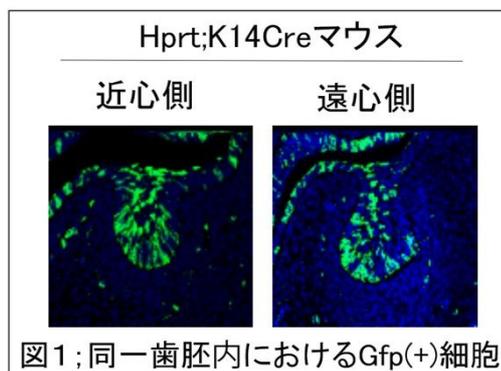
Amelogeninの遺伝子は性染色上にあり、エナメル形成はライオニゼーションによる影響を受ける可能性はあるものの、エナメル形成におけるライオニゼーションを検索した報告はない。本研究の目的は、エナメル形成におけるライオニゼーションを検索することにある。

## 3. 研究の方法

各細胞が、父性、母性のいずれのX染色体を選択したかを、Cre-LoxPシステムによってGfpの発現で確認できるマウス(Hprtマウス)が開発された。このHprtマウスとKeratin(K)14マウスを交配したマウス(Hprt;K14Creマウス)を用いて、エナメル形成におけるライオニゼーションを検索した。

## 4. 研究成果

母親のX染色体を不活性化して、父親のX染色体上の遺伝子を転写している細胞をGfp(+)細胞として、父親のX染色体を不活性化して、母親のX染色体上の遺伝子を転写している細胞をGfp(-)細胞として検出できるように、HprtマウスとK14Creマウスを交配して、Hprt;K14Creマウスを作成した。胎生13.5日の歯胚を観察した。同一歯胚の中でも、近心側のGfp(+)細胞の分布は、遠心側のGfp(+)細胞の分布と異なっていた(図1)。他個体の近心側の歯胚に、図1と同じGfp(+)細胞の分布を示す部位が存在するか検索したものの、認められなかった。また、同一個体の左右の歯胚の近心側におけるGfp(+)細胞の分布を比較したが、左右の歯胚でも異なっていた。どの部位でも、どの歯胚でも、どの個体でも、Gfp(+)細胞の分布は異なっており、X染色体の不活性化が、歯胚でもランダムで生じていることが示された。



次に、一つの歯胚におけるGfp(+)細胞の3次元構築を行った。詳細に解析した結果、Gfp(+)細胞と、Gfp(-)細胞は均等に散らばっており、Gfp(+)細胞やGfp(-)細胞の大きなクラスターは、3次的に確認できなかった(図2)。

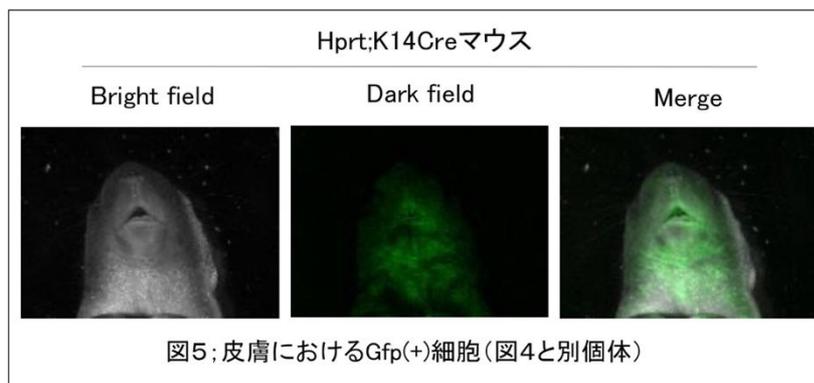
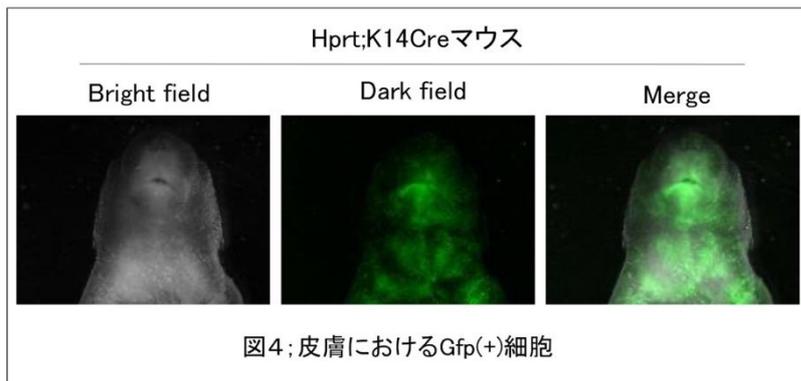
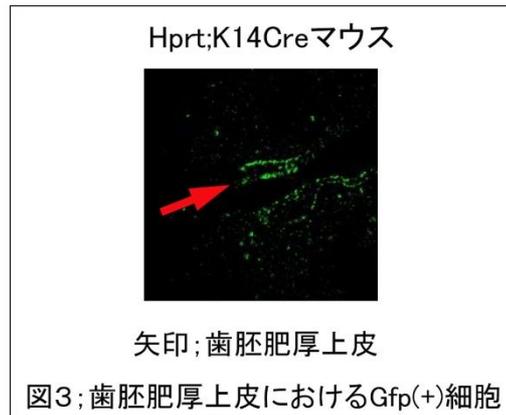
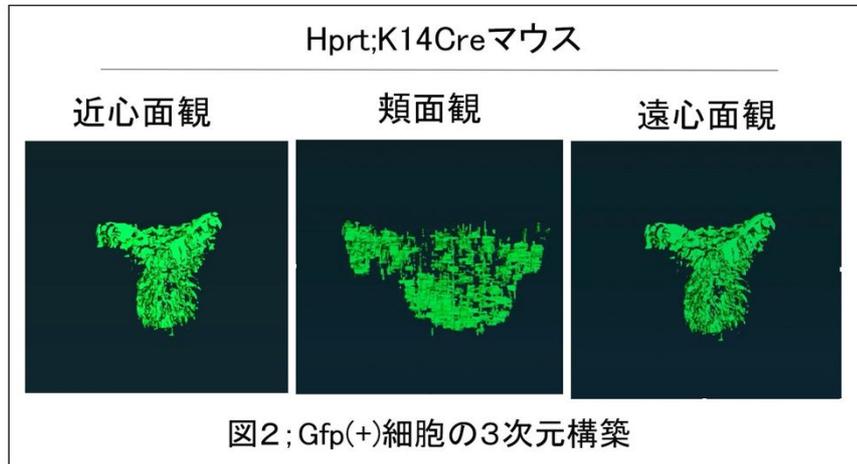
歯胚形成は、上皮の肥厚から開始される。肥厚上皮では複数のGfp(+)細胞と複数のGfp(-)細胞が観察された(図3)。これ以降の歯胚上皮は、この肥厚上皮の細胞が由来と考えられる。上皮は、分裂する際に、親細胞の隣に娘細胞が位置すると考えられる。

歯胚においても、図3で示したGfp(+)細胞とGfp(-)細胞の周囲に、Gfp(+)またはGfp(-)の娘細胞が、それぞれ形成されるはずであり、それらは、クラスターとして認められるはずである。しかし、前述のGfp(+)細胞の3次元構築実験が示すように、歯胚においてGfp(+)細胞やGfp(-)細胞の大きなクラスターは認められなかった。このことは、歯胚の上皮細胞は、母親のX染色体を不活性化して、父親のX染色体上の遺伝子を転写している細胞の間に、父親のX染色体を不活性化して、母親のX染色体上の遺伝子を転写している細胞が介在していることを示している。上皮は、互いに密着しているために、間葉細胞のように簡単には移動できない。そのため、歯胚上皮細胞は、母親のX染色体を不活性化して、父親のX染色体上の遺伝子を転写している細胞の間に、父親のX染色体を不活性化して、母親のX染色体上の遺伝子を転写している細胞が増殖していくような、特定の増殖方向パターンを有している可能性が示された。それらはさらに、上皮細胞は、互いの細胞が、どちらのX染色体を不活性化しているか理解しあっていることも意味している。

一方、Hprt;K14Cre マウスの皮膚を観察したと

ころ、皮膚の上皮ではGfp(+)細胞のクラスターが認められた(図4)。また、そのクラスターの分布は、個体間で異なっていることも確認された(図5)。皮膚の上皮でも、X染色体の不活性化はランダムに決定されているものの、上皮細胞の増殖方向のパターンは歯胚と異なることが示唆された。

以上のことから、X染色体の不活性化はランダムに行われるが、その後の細胞の分布は、各器官の細胞分裂パターンに依存す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
--	---------------------------	-----------------------	----

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