

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21007

研究課題名（和文）歯胚発生におけるHippo-YAP/TAZシグナル伝達経路関連遺伝子の機能解析

研究課題名（英文）Functional analysis of Hippo-YAP/TAZ signaling pathway during tooth development

研究代表者

仁木 佑紀 (Niki, Yuki)

東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・助教

研究者番号：10964819

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：歯胚発生過程における、母胎内の低酸素状態等の環境要因と、Hippo-Yap/Tazシグナル伝達経路関連遺伝子の因果関係に関する検討を行なった。まず予備実験として低酸素環境の酸素濃度と作用時間を検討した。低酸素条件において歯胚の器官培養を行ったところ、結果として、低酸素環境下では歯胚のサイズが小さくなり、咬頭形成が抑制されることが示された。また、Hippo-Yap/Tazシグナル伝達経路関連遺伝子とは異なるが、歯胚発生過程におけるSuperoxide dismutases (SODs) の働きを示唆する結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Hippo-Yap/Tazシグナル伝達経路は、細胞増殖を調節することによって、様々な組織や器官の大きさを制御することが知られている。本シグナル制御機構の異常はがんの発症や悪性化のみならず、歯胚の発生異常を惹起することが報告されているが、その詳細は明らかではない。本研究は、歯胚発生過程におけるHippo-Yap/Tazシグナル伝達経路関連遺伝子の機能解析および、母胎内の環境要因が歯胚発生に与える影響を解明することを目的としており、得られた知見は、歯胚の形態形成に関する基礎的な意義のみでなく、将来的には歯科再生医療の実現化に向けての一助となるなど、臨床的意義ももつと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We investigated the relationship between environmental factors such as hypoxia and Hippo-Yap/Taz signaling pathway during tooth development. First, as a preliminary experiment, we determined the oxygen concentration and duration of the hypoxic condition. The results of organ culture of tooth germs under hypoxic conditions showed that the size of tooth germs was smaller and cusp formation was suppressed under hypoxic conditions. The results also suggest that, different from Hippo-Yap/Taz signaling pathway, superoxide dismutases (SODs) may also play important role in tooth development.

研究分野：口腔科学

キーワード：歯胚発生 Hippo-Yap/Tazシグナル伝達経路 Tead1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Hippo-Yap/Taz シグナル伝達経路は、器官の大きさの制御に関わるとして近年注目されている。個体の体全体の大きさは、成長ホルモンやインスリン様成長因子によって制御されるが、肝臓、心臓、脳などそれぞれの器官の大きさは、体の大きさに対して決まった割合に形成、維持されると言われており、Hippo-Yap/Taz シグナル伝達経路は細胞増殖を抑制することで、器官のサイズの決定に関与していることが明らかになっている。歯胚発生の過程における Hippo-Yap/Taz シグナル伝達経路の機能に関する報告はまだ少なく、申請者らは、その下流の転写因子である Tead1 に注目して解析を行い、歯胚の発生過程でも特に、咬頭の形成が行われ、歯冠の形態が決定する胎生 16.5 日齢 (E16.5) マウスの下顎臼歯歯胚において、Tead1 の発現量が増加することを発見した。この結果は Tead1 が歯胚発生過程において発生段階特異的な機能をもつことを示唆したが、Tead1 がどのように機能しているか、未だ不明である。

2. 研究の目的

歯胚発生過程における Hippo-Yap/Taz シグナル伝達経路の機能に関する報告はまだ少なく、申請者らはこの経路の下流で実際に働く転写因子 Tead について世界に先駆けて報告を行なった。Hippo-Yap/Taz シグナル伝達経路は複雑なメカニズムで調整されており、TGF- β (transforming growth factor- β) Wnt などの複数のシグナル伝達経路と相互に作用する。この経路の過程で調整に働く遺伝子も重要だが、Tead などの転写因子は Hippo-Yap/Taz シグナル伝達経路の下流で直接的に細胞増殖の促進などに働く遺伝子であり、転写因子に着目することで、その機能をより明確にできると考えた。本研究は、歯胚発生過程における Tead1 の機能に関して、歯胚の器官培養系を用いて解明することを目的とする。また、当分野の疫学研究では、母親の妊娠中の喫煙と子どもの永久歯欠損の発症の関連性を報告しており、本研究では、ニコチンや低酸素状態など環境の変化が歯胚発生に与える影響についての解析を行う。

3. 研究の方法

母胎内における低酸素状態が歯胚発生に与える影響に関する検討を行なった。まず予備実験として低酸素環境の酸素濃度と作用時間を検討した。その後、胎生 14.5 日齢の C57BL/6J マウス胎児から下顎臼歯歯胚を摘出し、コントロール (Cont) 群と低酸素 (Hypo) 群 (n=38) において形態学的解析および組織学的解析を行った。予備実験の結果に基づき、Hypo 群は酸素 0% の低酸素条件下で 3 時間、正常酸素条件下で 21 時間の周期で器官培養を行った。2 日または 7 日間の反応後にサンプルを採取した。得られたサンプルから、まず形態学的解析として、位相差顕微鏡を用いて歯胚を撮影し、木村らの報告¹に従い、咬頭頂を結ぶ直線を基準として歯胚の幅径と歯冠長の計測、および咬頭の数の評価を行った。また、組織学的解析として、免疫組織化学、蛍光免疫染色を行った。組織学的解析では、Hippo-Yap/Taz シグナル伝達経路関連遺伝子に加え、活性酸素を除去する主要な抗酸化酵素である Superoxide dismutases (SODs) にも着目した。また、定量的 RT-PCR 法により、歯胚発生過程における各遺伝子の発現様相を解析した。統計学的解析として、2 群間の差の検定にはスチューデントの t 検定、3 群間の差の検討には分散分析を用い、p 値 0.05 以下を有意差ありとした。

4. 研究成果

組織学的解析より、Hypo 群は Cont 群と比較し、培養 7 日における歯胚の幅径および歯冠長が有意に小さく、咬頭数が少ない結果となった。低酸素環境下では歯胚のサイズが小さくなり、咬頭形成が抑制されることが示された。(Fig.1)

また、培養 2 日の Cont 群において、SOD ファミリーメンバー (Sod1-3) のうち、Sod3 mRNA が Sod1、Sod2 と比較して有意に高い発現を示し、歯胚発生過程において、SOD ファミリーメンバーのうち SOD3 が抗酸化酵素として機能する可能性が示唆された。Hypo 群では、Sod3 mRNA の発現が Cont 群と比較して有意に低い結果となり、低酸素環境下において Sod3 の発現が抑制されている可能性が示された。低酸素環境下において抗酸化酵素の機能が低下することで、活性酸素が過剰となり、歯胚のサイズの縮小や咬頭形成の抑制に関与している可能性が推察された。その詳細および Hippo-Yap/Taz シグナル伝達経路関連遺伝子の発現、機能に関しては、更に検討が必要と考えている。

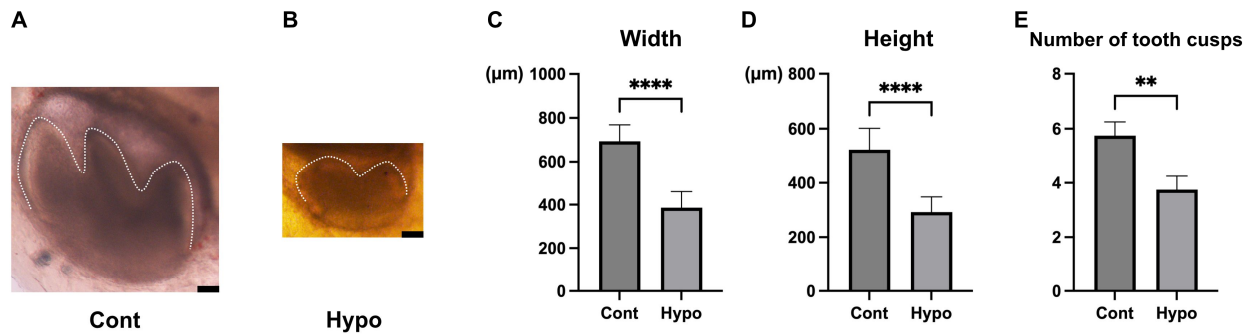


Figure 1. Morphometric analysis of tooth germs of control group and hypoxia group
Hypoxia suppresses tooth germ size development and cusp formation *in vitro*.

(A, B) Images of organ culture tooth germs under normoxic and hypoxic conditions.

(C, D) Measurement of width and height of tooth germs in normoxia and hypoxia groups.

Scale bars: 50 µm. **, P < 0.01; ****, P < 0.0001.

<引用文献>

1. Kimura S et al., Journal of dental research, 2022

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Lu Y, Kobayashi Y, Niki Y, Moriyama K
2. 発表標題 Analysis of SOD3 expression patterns under hypoxia during tooth development in mice
3. 学会等名 第82回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2023年

〔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
---------	---------