

第 244 回松本歯科大学大学院セミナー

日 時: 2011 年 12 月 13 日(火) 18 時 00 分~19 時 30 分

場 所: 実習館 2 階 総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者: 中村 卓史 氏

(東北大学大学院歯学研究科 口腔保健発育学講座小児発達歯科学分野 准教授)

タイトル: エピプロフィン遺伝子の同定とその機能解析

近年の再生研究の発展により、部分的な歯の再生が可能となってきたが、適切な大きさや咬頭を有した機能的な歯の再生には至っていない。歯の発生において、歯原性上皮・間葉組織を構成する細胞の増殖と分化は、両組織間で展開される相互作用によって制御されており、機能的な歯の形態形成に重要である。これまでに、歯の発生過程に発現する多くの遺伝子が同定され、分子生物学的手法により、いくつかの遺伝子群の歯の発生における機能解明が行われてきた。これらの知見を歯の再生や組織工学に応用するためには、より深く、またより網羅的に歯の発生に関与する遺伝子群の発現解析が必須である。

1990年代に始まったヒューマンゲノムプロジェクトは、米国国立衛生研究所のヒューマンゲノム研究所が主導となった全世界的なプロジェクトで、約30000個の遺伝子がゲノム上に存在していることを明らかにした。その後、米国国立衛生研究所の各研究所には、組織別の遺伝子発現プロファイリングを行うプロジェクトが立ち上がり、歯科顎顔面研究所から私に与えられたプロジェクトは、歯胚に発現している遺伝子群の網羅的解析を行い、歯の発生に関わる新規の遺伝子群の同定と機能解析というものであった。この結果が、NCBI のホームページの UniGene データベースに公開されている (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=unigene>)。我々の遂行したこのプロジェクトは、これまでにエピプロフィン(Epfn)、TM14、Pannexin3 などを含む多数の新規遺伝子の同定とそれらの機能解析に貢献している。

Epfn は、3つ連続した C2H2 タイプの Zn フィンガー構造をカルボキシ端に有する Sp ファミリーに属する転写因子で、発生中の歯胚、毛根、上皮、性器、そして四肢に発現する。歯胚形成において Epfn は、歯の発生初期の歯堤に限局して発現し、その後、内エナメル上皮およびエナメル芽細胞にも持続的に発現する。歯の発生の後期になると、神経堤細胞由来の間葉細胞から分化した象牙芽細胞にも Epfn の発現が認められる。

Epfn の生体での機能を解析する事を目的として、Epfn 遺伝子欠損マウスを作成した。Epfn 遺伝子欠損マウスは、エナメルの欠損、歯冠歯根の形態異常、過剰歯形成等の表現系を呈した。Epfn 遺伝子欠損マウスに形成された過剰歯を組織学的に検討した結果、歯原性上皮のエナメル芽細胞への分化が完全に阻害されていた。その結果、Epfn 遺伝子欠損マウスの歯には、エナメルの構造が欠損していた。過剰歯は、象牙質のみで形成され、象牙質の一部に構造異常を認めた。より詳細に Epfn 遺伝子の歯の発生における役割を解析するために、発生中の歯胚の解析を行った。その結果、Epfn 遺伝子欠損マウス歯胚のエナメル器は、未分化な歯原性上皮細胞で構成されており、上皮細胞の増殖能は低下していた。通常、内エナメル芽細胞が細胞極性を持ち、

エナメル芽細胞へと分化していくが、Epf<sub>n</sub> 遺伝子欠損マウスの歯原性上皮細胞は、細胞極性が認められず、エナメル芽細胞へ分化しなかった。このことからエピプロフィン<sup>®</sup>は歯原性上皮がエナメル芽細胞へ分化するために必須の転写因子であることが明らかとなった。エナメル芽細胞へと分化することのない Epf<sub>n</sub> 遺伝子欠損マウスの歯胚の歯原性上皮は、枝分かれしながら間葉組織への陥入を断続的に行い、上皮と接した歯原性間葉細胞を象牙芽細胞へと分化誘導させることが明らかとなった。このランダムに誘導された象牙芽細胞が、象牙質基質を分泌、石灰化し過剰歯を形成させていた。このことにより、Epf<sub>n</sub> は歯数を決定する機構にも関わっていることが明らかとなった。

我々は、Epf<sub>n</sub> の上皮組織での機能をより深く理解するために、サイトケラチン5プロモーター<sup>®</sup>を利用し、上皮組織特異的に Epf<sub>n</sub> 蛋白を強制発現させたトランスジェニックマウスモデルを作成した。Epf<sub>n</sub> 強制発現マウスモデルでは、歯の形態異常やエナメル質形成不全を認めた。興味深いことに、下顎切歯の舌側歯原性上皮細胞の一部が、異所性にエナメル芽細胞へと分化し、エナメルを形成していた。また、Epf<sub>n</sub> 強制発現マウスの歯胚形成過程において、上皮および間葉細胞の増殖を比較検討した結果、Epf<sub>n</sub> が発現している上皮細胞のみならず、Epf<sub>n</sub> の発現していない歯原性間葉細胞の細胞増殖活性が上昇していた。このことは、上皮細胞に発現している Epf<sub>n</sub> が、歯の発生中の上皮間葉の組織間相互作用に関与していることを示唆している。

将来的に Epf<sub>n</sub> の遺伝子発現をコントロールすることにより、貴重な歯原上皮幹細胞の未分化状態を維持したまま豊富にかつ効率よく調整すること培養システムの構築に繋げていきたい。また、Epf<sub>n</sub> の遺伝子を発現させることにより、歯原性上皮細胞のエナメル芽細胞分化を促進させ、歯冠や歯根の形態の制御、さらには再生させる歯の数を調節することを可能にできればと考えている。

歯胚の発生を含め、器官形態形成における Epf<sub>n</sub> の分子機構の解明は、新たな再生医療技術の開発の一助となり、またエナメル質形成不全や外胚葉異形成症などの遺伝性疾患の発症メカニズムの解明につながると考えている。

## 経歴

- 1994 広島大学歯学部卒業
- 1998 大阪大学大学院歯学研究科修了 (第一口腔外科)
- 1998-1999 関西ろうさい病院歯科口腔外科医長
- 1999-2008 米国国立衛生研究所 歯科顎顔面研究所 職員研究員
- 2008-2009 トーマスジェファーソン大学医学部整形外科研究部門 助手
- 2009- 東北大学歯学研究科小児発達歯科顎 准教授 (小児歯科)