

報道機関 各位

東北大学大学院歯学研究科

歯のエナメル質の厚さを制御するメカニズムを解明

～歯の大きさ調整や培養期間の短縮へ道、歯の再生治療への応用が期待～

【概要】

東北大学病院小児歯科の齋藤幹（さいとう かん）講師と東北大学大学院歯学研究科小児発達歯科学分野の福本敏（ふくもと さとし）教授らのグループは、歯のエナメル質の厚さを制御するメカニズムを明らかにしました。

歯や毛などは、骨形成因子 BMP を介した上皮-間葉相互作用により器官形成が進行します。この BMP ファミリー分子の 1 つである GDF5 が、上皮系由来であるエナメル質の形成に関与し、その厚さを制御していることを見いだしました。

本研究は GDF5 が歯の上皮細胞に発現し、エナメル質の形成にも関与する事を見いだした初の報告であり、本結果より GDF5 を用いてエナメル質形成を促進することで、歯の厚みを制御する事が可能となり、歯の再生の実現のための重要な一歩と期待されます。

本研究の成果は平成 28 年 3 月 31 日に英科学雑誌、Scientific Reports 誌電子版に掲載予定です。

【詳細な説明】

〈研究の背景〉

現在、iPS 細胞等の幹細胞を用いた臓器の再生研究が進んでおり、マウスなどの小型動物においては歯の再生が可能となっております。しかし、ヒトの歯はマウスと比べて大きく、ヒトの永久歯の形成には発生段階においても 10 年近くかかるため、再生医療の実用化には臓器形成時間の短縮化が重要な課題となり、増殖因子などを用いた歯胚形成の促進化が検討されてきました。

Bone morphogenic protein (BMP) ファミリーは、骨を形成するタンパク質として同定された増殖因子の 1 つであり、現在 15 種類ほど発見されています。しかし、その機能は骨や軟骨などの形成だけではなく、胚細胞の発生や分化にも重要な役割を持っています。特に、BMP2 や BMP4 は骨形成に関与するだけではなく、歯や毛髪等の形成にも関与するため、歯胚形成促進因子として着目されてきました。しかしながら、BMP2 や BMP4 のみでは歯のエナメル質形成には不十分であり、他の因子との併用が必要と考えられていました。そこで我々は 14 番目の BMP ファミリーである BMP14/Growth

differentiation factor 5 (GDF5)が歯胚に発現する事から、本分子に着目し解析する事としました。

〈研究手法〉

歯の形成過程における GDF5 の発現を調べたところ、以前の報告通りに間葉由来の歯周靭帯^(注1)が形成される時期に発現を認めました。本分子は軟骨などの分化発育に重要であり、その遺伝子異常により変形性関節症や短指趾等の疾患が引き起こされることが分かっていますが、歯の発生や機能における役割等は未だ明らかとなっておりませんでした。さらに詳細にその発現を検討した結果、発現部位は歯周靭帯部だけではなく、エナメル質を作るエナメル芽細胞^(注2)にも認められました。GDF5 が歯の上皮系細胞に発現していることは今まで報告されておらず、この結果は GDF5 がエナメル質形成に影響を与えている可能性を示唆するものでした。

そこで、GDF5 の歯胚発生過程における役割を明らかにする目的で、GDF5 の立体構造の解析を行い、受容体との結合部位を特定しました(図 1)。この結合部位のうち、408 番目のアミノ酸である W(トリプトファン)が R(アルギニン)に変異した遺伝子組み換えマウスが既に存在しており、関節の異常が見られる事が知られていました。このマウスの解析から GDF5 の 408 番目のアミノ酸の変異は GDF5 の機能を阻害すると考えられてきました。しかし、GDF5 に遺伝子異常を有する本マウスの歯の形態をマイクロ CT にて解析したところ、エナメル質が肥厚しており、歯全体が一回り大きくなっていることが分かりました(図 2)。

そこで野生型^(注3)の遺伝子配列である UGG から AGG へと一塩基だけ遺伝子組み換えを行い、408 番目のアミノ酸を W から R へ置換した変異型^(注3)の GDF5 蛋白を作成し、その機能を詳細に検討することにしました。以前に我々の研究グループが樹立したラット歯原性上皮細胞株^(注4)である SF2 細胞に野生型 GDF5 と変異型 GDF5 を遺伝子導入^(注5)し、歯のエナメル質を誘導するタンパクである、アメロジェニンとアメロブラスチンの発現量を調べたところ、変異型 GDF5 を導入した細胞でアメロジェニンとアメロブラスチンの発現量の顕著な増加が認められました(図 3)。BMP2 がエナメル芽細胞のアメロジェニンやアメロブラスチンの発現を上昇させることは知られていましたが、GDF5 の変異は、その作用を更に増強し、エナメル質形成を促進されることが分かりました。

〈今後の展開〉

本研究より、軟骨や骨等の間葉系組織の形成に重要と言われていた GDF5 が上皮でも発現しており、上皮由来エナメル芽細胞の分化調節を行なうことで、エナメル質形成に関与していることが新たに判明しました。この結果は歯のエナメル質形成のメカニズム解明や歯の再生における歯のサイズや作成時間短縮などの問題を解決する糸口になることが期待されます。

なお、本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金の助成を受けて行われました。

【用語説明】

(注 1) 歯周靭帯

歯の根は骨の中に入り込み、歯を支えています。しかし、噛む力や外力から歯や骨の

負担を減らすために、歯根と骨の間に歯周靭帯という組織が入り込み、ショックアブソーバーの様に力を緩衝しています。

(注 2) エナメル質、エナメル芽細胞

外胚葉由来である未熟な上皮細胞がエナメル芽細胞へと成長し、エナメルタンパクを出して石灰化した物がエナメル質です。歯は神経である歯髄を中心に象牙質とエナメル質の三層構造をしており、一番外側にあるエナメル質は生体内で最も堅く、歯髄を保護しています。

(注 3) 野生型、変異型

野生集団が持つ、最も一般的な遺伝子配列。主に正常な状態で本来の機能を有していると言われていています。その一方で野生型ではない配列を変異型と言います。

(注 4) 歯原性上皮細胞株

歯由来の上皮細胞を不死化させた実験用の細胞。SF2 はラットの歯胚から採取した上皮細胞で、刺激によりエナメル質を作成するエナメル芽細胞へ分化させることができる。

(注 5) 遺伝子導入

細胞内に遺伝子を組み込み、遺伝子導入された細胞に目的のタンパクを作らせ、強制発現させる実験方法

【論文題目】

Liu J, Saito K, Maruya Y, Nakamura T, Yamada A, Fukumoto E, Ishikawa M, Iwamoto T, Miyazaki K, Yoshizaki K, Ge L and Fukumoto S. Mutant GDF5 enhances ameloblast differentiation via accelerated BMP2-induced Smad1/5/8 phosphorylation. Scientific reports,

「変異 GDF5 は BMP2 による Smad1/5/8 リン酸化を増強し、エナメル芽細胞分化を促進する」

【お問い合わせ先】

東北大学大学院歯学研究科小児発達歯科学分野
教授 福本 敏 (ふくもと さとし)

電話番号：022-717-8380

Eメール：fukumoto@dent.tohoku.ac.jp

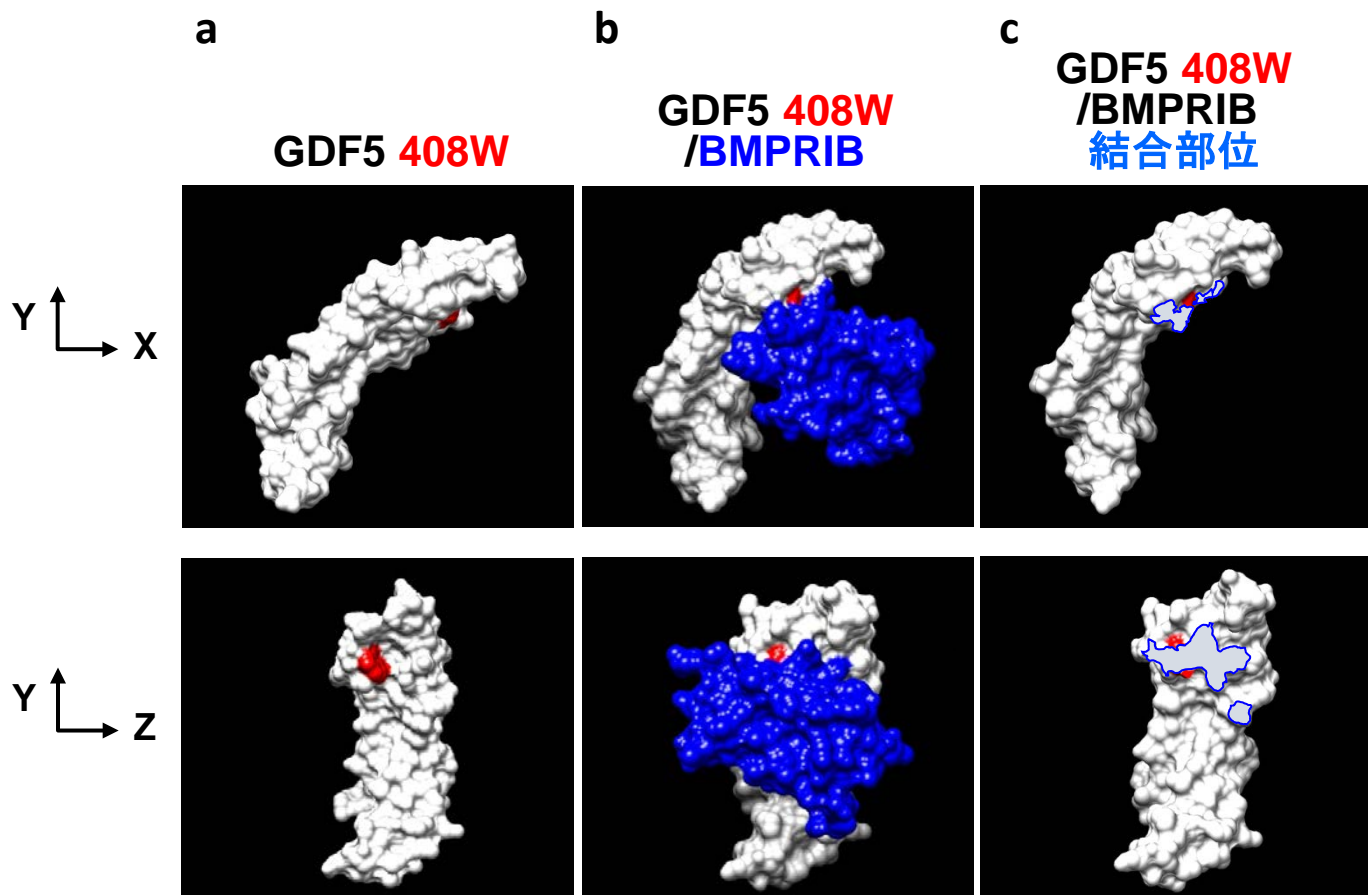
東北大学病院小児歯科

講師 齋藤 幹 (さいとう かん)

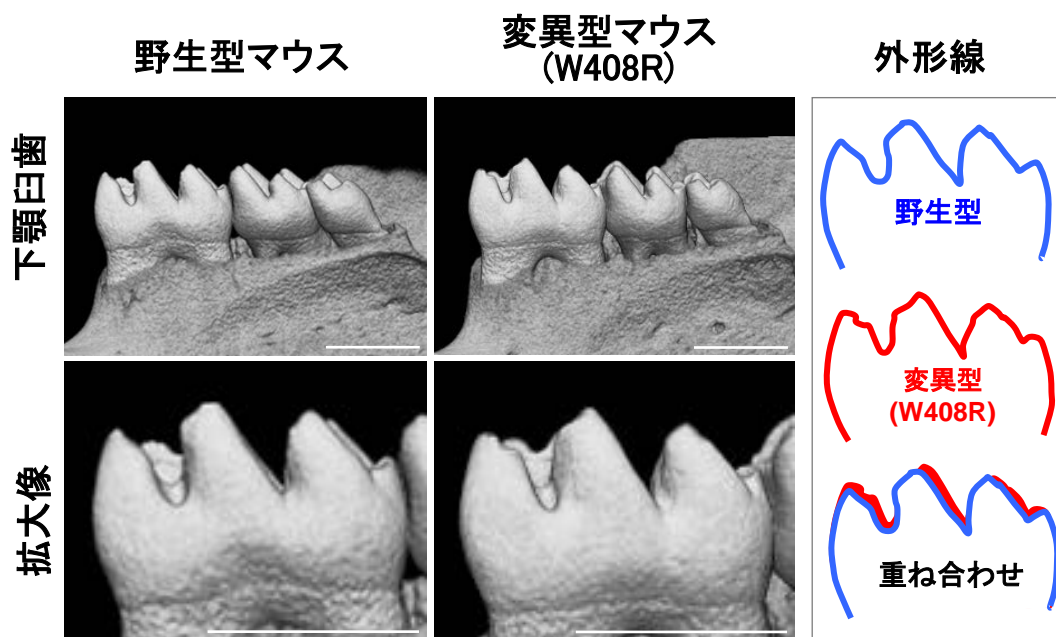
電話番号：022-717-8382

Eメール：kanta@dent.tohoku.ac.jp

図1

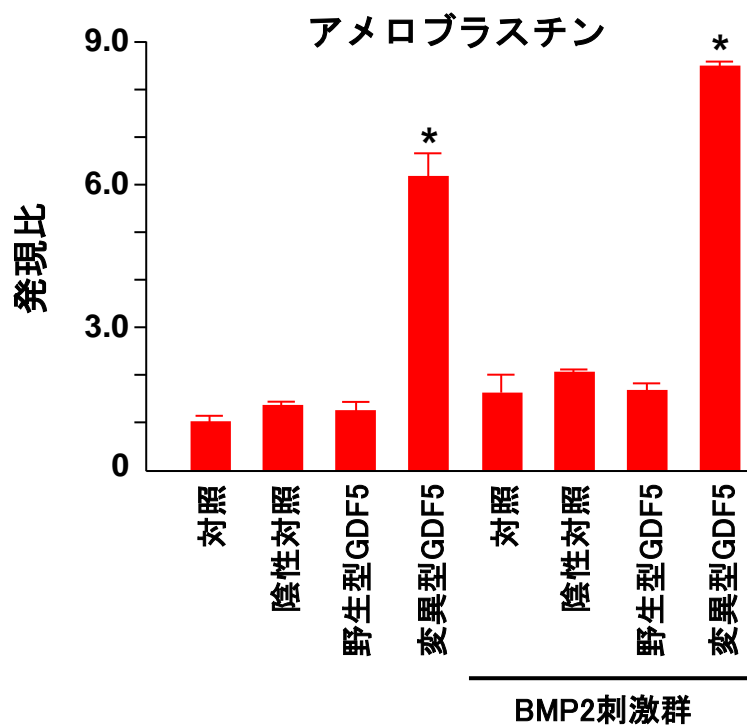
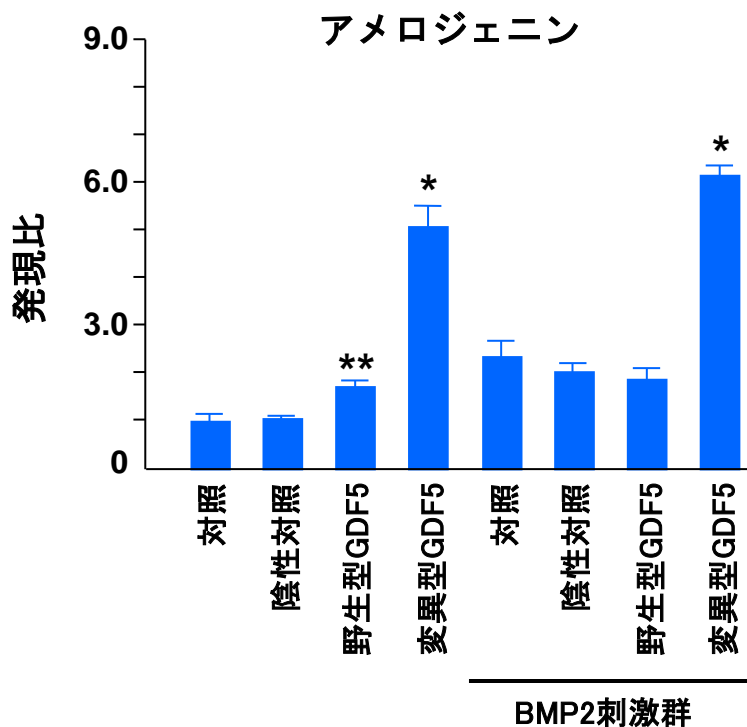


a, GDF5タンパクの立体構造、赤い部位が408番目のアミノ酸であるW(トリプトファン)。b, GDF5とその受容体であるBMPRIIB(青色)が結合したときの立体像。c, GDF5がBMPRIIBと結合している部位(水色)。408番目の赤い部位がBMPRIIBの結合部位の一部であることが分かります。



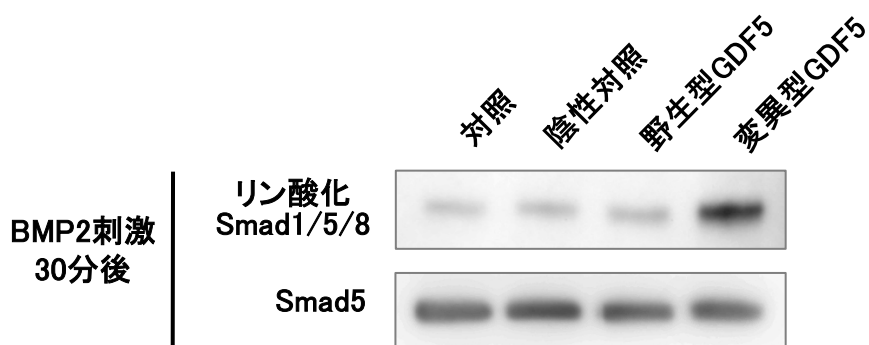
野生型マウスと408番目のアミノ酸をWからRへ遺伝子組み換えを行った変異型マウスの臼歯。臼歯の外形線を重ね合わせると、赤色が見えることから変異型マウスの歯の体積が増えています。

図3



エナメル芽細胞に野生型GDF5または変異型GDF5を遺伝子導入し、エナメル質形成に重要なアメロジェニンやアメロブラスチンの発現量を調べました。

BMP2を加えても発現量が増加しましたが、変異型GDF5導入時の方が顕著な増加が見られました。



エナメル芽細胞に野生型GDF5または変異型GDF5を遺伝子導入した後に、BMP2を加えて、リン酸化されたSmad1/5/8の発現量を調べて細胞内シグナルの活性化を測定しました。

変異型GDF5存在下ではBMP2の刺激が強く入っています。