

Title	2 : 象牙芽細胞の効率的な分化誘導法の検討
Author(s)	星野, 立樹; 中村, 貴; 小野寺, 晶子; 齋藤, 暁子; 木村, 基善; 小田嶋, 彩乃; 一戸, 達也; 東, 俊文
Journal	歯科学報, 118(3): 238-238
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/4605">http://hdl.handle.net/10130/4605</a>
Right	
Description	

## 口 演

### No.1 : 象牙芽細胞の感覚受容器に関する免疫組織化学的研究

田中亜生<sup>1)</sup>, 澁川義幸<sup>2)</sup>, 石川 昂<sup>3)</sup>, 北村 啓<sup>3)</sup>, 田崎雅和<sup>2)</sup>, 山本 仁<sup>3)</sup>, 新谷誠康<sup>1)</sup>  
(東歯大・小児歯)<sup>1)</sup> (東歯大・生理)<sup>2)</sup> (東歯大・組織発生)<sup>3)</sup>

**目的:** 象牙芽細胞は内エナメル上皮との上皮-間葉相互作用により歯乳頭の細胞から分化し象牙質形成機能の他, 感覚受容機能を持つことが知られている。Shibukawa et al (2015) は, 象牙芽細胞の感覚受容機能に, transient receptor potential (TRP) V4 チャンネル, TRPA1 チャンネル, pannexin 1 (PANX-1) チャンネルが重要な役割を演じていることを報告した。しかし, 象牙芽細胞が分化のどの段階で感覚受容機能を獲得するかは不明である。そこで TRP チャンネルと神経の発現時期から, 象牙芽細胞の感覚受容機能の獲得時期を明らかにすることを目的とし, ラット下顎臼歯での TRP チャンネル, PANX-1, および neurofilament protein (NF) の発現を免疫組織化学的に検索した。

**方法:** 生後 0, 3, 6, 9, 12 日齢の Wistar ラットを 4% パラホルムアルデヒド溶液で灌流固定後, 頭蓋を摘出し 10% EDTA で脱灰後, 通法に従ってパラフィンおよび O. C. T コンパウンドに包埋した。

下顎臼歯の 4 μm の連続前額断切片を作製し, H-E 染色と抗 dentin sialoprotein 抗体 (抗 DSP 抗体), 抗 TRPV4 抗体, 抗 TRPA1 抗体, 抗 PANX-1 抗体, および抗 NF 抗体を用いた免疫組織染色を行った。

**結果および考察:** 抗 DSP 抗体, 抗 TRPV4 抗体, 抗 TRPA1 抗体, および抗 PANX-1 抗体に対する陽性反応は共に, 未熟な象牙芽細胞では観察されないが, 象牙芽細胞の分化が進むにつれて陽性反応が観察されるようになった。また, 象牙質の石灰化が生じている部位では, 象牙芽細胞に強い免疫陽性反応が認められた。抗 NF 抗体に対する陽性反応は, 抗 TRP 抗体と抗 PANX-1 抗体に対する陽性反応が観察された時期より遅れて認められた。以上の所見から, TRP チャンネルと PANX-1 チャンネルが象牙質形成能に関与し, 象牙芽細胞の感覚受容機能が象牙質形成能より遅れて発現することが示唆された。

### No.2 : 象牙芽細胞の効率的な分化誘導法の検討

星野立樹<sup>1)</sup>, 中村 貴<sup>2)</sup>, 小野寺晶子<sup>2)</sup>, 齋藤暁子<sup>2)</sup>, 木村基善<sup>3)</sup>, 小田嶋彩乃<sup>4)</sup>, 一戸達也<sup>1)</sup>,  
東 俊文<sup>2)</sup> (東歯大・歯麻)<sup>1)</sup> (東歯大・生化)<sup>2)</sup> (東歯大・小児歯)<sup>3)</sup> (東歯大・口科研)<sup>4)</sup>

**目的:** マウス胎生 14 日前後で歯胚が蕾状期から帽状期に移行する際に形成されるエナメル結節は, 複数の増殖因子を分泌するシグナルセンターとして機能し, 歯の形成の中心的な役割を果たしている。線維芽細胞増殖因子 (FGF) ファミリー分子の内 FGF4 と FGF8, 9 がエナメル結節から分泌され, FGF4, FGF9 は象牙芽細胞形成の活性化因子として働くこととされているがその詳細なメカニズムは明らかにされていない。そこで本研究では, 出生直後の Dmp1-tdTomato コンディショナルトランスジェニックマウス歯乳頭由来の未分化間葉細胞を用いて象牙芽細胞へと分化させ, 効率的な象牙芽細胞誘導法の確立と共に FGF4, 9 が作用する分子機構の検討を行うこととした。

**方法:** Cre-loxP システムにより Dmp1 の存在下で tdTomato を発現するコンディショナルトランスジェニックマウスを作製した。出生後 24 時間以内に第一大臼歯部歯胚を回収し, Collagenase I 及び Trypsin-EDTA を用いて細胞を単離させ播種した。無添加群, FGF4 添加群, FGF9 添加群, FGF4 + FGF9 添加群の 4 群にて, 21 日間培養した。サン

プルは 0 日, 7 日, 14 日, 21 日で回収し, RNA を抽出後, qRT-PCR 法によって遺伝子発現の解析を行った。

**結果および考察:** Dmp1-tdTomato マウスの歯胚を採取し凍結切片での Dmp1 発現を確認したところ, 日齢ともに上皮部から間葉部への移行がみられ, その発現が上昇した。分化培養とともに, FGF 添加群では tdTomato 発現細胞数が増加し, qRT-PCR 法にて FGF4, FGF9 単独添加した群, 両者を添加した群は非添加群と比較し Dmp1 mRNA が経時的に上昇した。象牙芽細胞遺伝子である Dspp 及び Nestin mRNA は FGF4 単独群で経時的な発現上昇が認められ, さらに, FGF9 共投与により増強された。その際 Msx-1, Runx2 の発現上昇がみられた。本研究で歯胚から採取し, 一度歯原性を失った未分化間葉細胞に対して FGF4, 9 を用いた象牙芽細胞誘導法を確立した。FGF4 が分化誘導に必須な因子であり, FGF9 はその分化誘導を効率的に行う補助を担っている可能性が示唆され, その下流では Msx-1, Runx2 の転写因子が協調的に動いていることが考えられた。