



Thymosin beta 4 遺伝子導入による歯原性上皮細胞作製の可能性

概要

九州大学大学院歯学研究院口腔病理学研究分野の坂井英隆教授らの研究グループでは、「歯の再生」に関する研究を進めています。これまでに「歯の再生」に必須の「エナメル質を作る細胞＝エナメル芽細胞(※1)」は生後完全に消失するために、ヒトにおける「歯の再生」は不可能でしたが、研究グループは歯の発生初期に発現する遺伝子の解析を行い、そのうちのThymosin beta 4(※2)という遺伝子が歯の発生に重要な役割を担っている可能性を見出しました。この遺伝子をヒト皮膚表皮由来のHaCaT細胞(※3)へ導入し、石灰化誘導培地にて培養するとエナメル質に特異的な蛋白を有する石灰化物を形成することを見出し、普通の皮膚細胞からエナメル芽細胞の性格を有する細胞の作製に世界で初めて成功しました。今回の成果は、歯の再生の実現に向けた第一歩となると思われます。

なお本研究成果は、2013年11月16日に欧州科学誌『Stem Cell Research』にaccepted paperとして掲載されました。

背景

「歯の再生」はマウスの歯胚(※4)から分離した細胞を用いた器官原器法(※5)の開発者である、東京理科大学の辻孝教授らの研究グループにより成功しています。しかしながら、ヒトの歯胚を採取することは倫理的問題から困難です。そこで研究グループは歯の発生初期に発現する遺伝子を用いることで細胞の性質を歯原性上皮細胞(※6)に変換できるのではないかと、という仮説の基に本研究を行いました。

内容

Thymosin beta 4, X-linked (TMSB4X)(※7)は胎生期に口腔粘膜上皮細胞が下層の間質へ陥入する際に、将来のエナメル器となる上皮細胞に強い発現を認めました。またマウス胎仔下顎を器官培養し、TMSB4Xの発現を抑制すると歯胚の発育が阻害されることを明らかにし、TMSB4Xが歯胚の発生に重要な役割を担っていることを明らかにしました。

これらの結果を基に、TMSB4Xをヒトの皮膚由来の細胞(HaCaT細胞)へ導入し、石灰化誘導培地にて培養するとエナメル質に含まれるアメロジェニン、アメロブラスチン、エナメルリン蛋白(※8)の遺伝子発現が上昇し、これらの蛋白を含む石灰化物が形成されました。これらの実験結果から、TMSB4X導入により皮膚の細胞が歯のエナメル質を作る細胞へ形質転換(※9)を起こす可能性を見出しました。

効果

「医科は生命の医療」、「歯科は生活の医療」と言われるように、歯の喪失は食べること、話すこと、笑顔が美しいこと、など生活の面で種々の障害をもたらします。また一度失われた永久歯は二度と萌出しません。このような観点から「歯の再生」が可能になればQuality of Life(QOL、生活の質)を生涯にわたり維持する事が可能になります。本研究はその第一歩となる成果です。

今後の展開

医療は「安全・安心」の行為である必要があります。したがって、形質転換された細胞が生体の中で身体に障害を起こす事なく、その機能を発揮するためには、皮膚の細胞がエナメル芽細胞へと変換する過程で起こる遺伝子の発現状況の変化を正確に捉える必要があります。現在、研究グループではTMSB4Xシグナル経路の上流、あるいは下流に位置する遺伝子を検索しており、最終的には形質転換のメカニズムを明らかにしたいと思っております。また形質転換させた細胞と歯髓由来の細胞を共培養することでエナメル質、象牙質、歯髓を備えた「歯」の再生実験に取り組んでいます。そのうえで、九州大学医系地区部局倫理審査委員会の承認を得て、抜歯などの際に除去される歯肉組織から口腔粘膜上皮細胞を採取し、エナメル芽細胞へ形質転換させ、将来的には「歯の再生」を実現させたいと考えています。

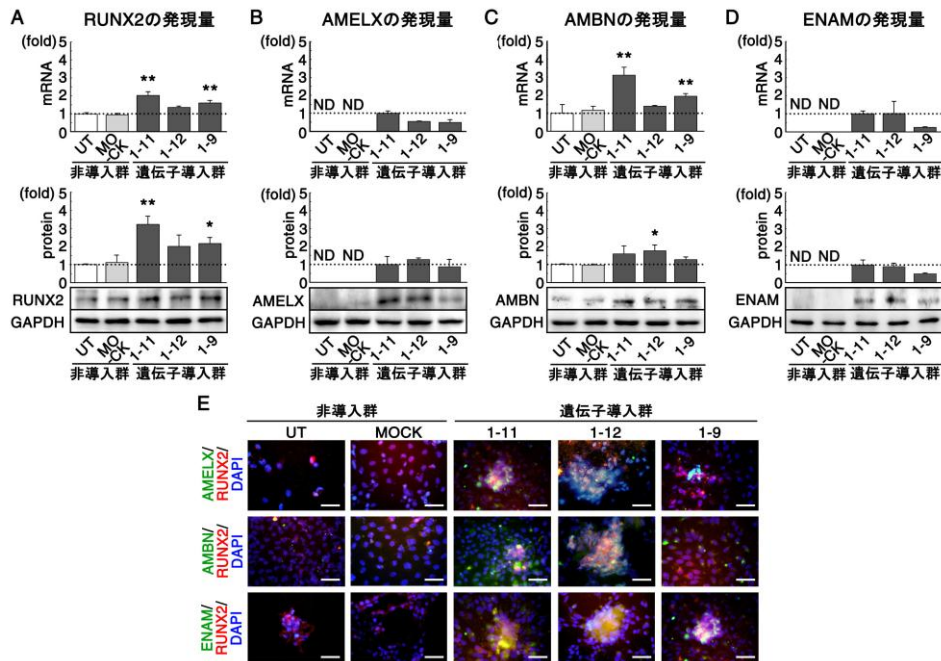


図1 Thymosin beta 4 遺伝子導入された HaCaT 細胞の RUNX2 (※10)、アメロジェニン (AMELX)、アメロプラスチン (AMBN)、エナメルイン (ENAM) の mRNA と蛋白の発現結果 (A~D) とその細胞を3週間の石灰化誘導培養を行った後の RUNX2、AMELX、AMBN、ENAM の免疫細胞化学染色の結果を示す。

(A~D) : Thymosin beta 4 遺伝子導入された HaCaT 細胞 (遺伝子導入群; 1-11, 1-12, 1-9) は非導入群 (UT, MOCK) と比較して mRNA (上段)、蛋白 (下段) の発現において RUNX2、AMELX、AMBN、ENAM の発現上昇がみられた。(**: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$, ND: Not detectable)

(E) : 3週間の石灰化誘導培養を行うと、遺伝子導入群には石灰化形成と、同部位における RUNX2 と AMELX、AMBN、ENAM の共染色像が認められた。

■用語解説

※1 エナメル芽細胞

エナメル質の形成に必要なエナメル基質を分泌する細胞。このエナメル基質にはアメロジェニンやアメロプラスチン、エナメルインが含まれる。

※2 Thymosin beta 4

β -thymosin (β サイモシン) ファミリーの一つで、ヒトを含めた殆どの哺乳類にみられる遺伝子。主に細胞骨格の制御に関わる。その他に、血管新生、創傷治癒、育毛促進作用などが報告されている。当研究室では、歯の発生に深く関わる因子の一つであると報告してきた。

※3 HaCaT 細胞

ヒトの背部皮膚より樹立した細胞で、正常な角化細胞として世界中で幅広く研究に用いられている。

※4 歯胚

歯を作る組織で、胎生期初期に形成され、エナメル質を作る「エナメル器」、象牙質を作る「象牙芽細胞」を含む「歯乳頭」、およびこれら2つの組織を包み込み、将来セメント質を作る「歯小囊」からなる。

※5 器官原器法

東京理科大学の辻孝教授らの研究チームが2007年に発表 (Nakao et al., 2007) した、上皮細胞と間葉細胞を別々に高密度集団にしてからコラーゲンゲルの中に上下に重なるように配置して培養する技術のこと。現在、この培養方法で、歯、唾液腺などの作製が確立されている。

※6 歯原性上皮細胞

歯胚の構成細胞は「上皮由来の細胞」と「間葉由来の細胞」の2つからなり、そのうち「上皮由来」の細胞を歯原性上皮細胞と呼び、将来エナメル質を作る細胞になる。

※7 Thymosin beta 4, X-linked

Thymosin beta 4 は X、Y 染色体上にその遺伝子が存在の確認がされており、そのうち X 染色体上に存在するものを Thymosin beta 4, X-linked という。

※8 アメロジェニン、アメロプラスチン、エナメルイン

エナメル質が形成されるときにカルシウム化合物が沈着するためのエナメル基質蛋白がまず形成される。アメロジェニン、アメロプラスチン、エナメルインは主要なエナメル基質蛋白である。

※9 形質転換

細胞が外部からの DNA を取り込むなどによって、細胞の表現形質が変化すること。

※10 RUNX2

骨芽細胞の分化制御など、骨形成に関わる因子として重要な因子。研究グループでは、RUNX2 がアメロジェニン、アメロプラスチンなどのエナメル基質蛋白の遺伝子発現に関わる因子と報告した。

【お問い合わせ】

九州大学大学院歯学研究院 教授

坂井 英隆

電話：092-642-6325

FAX：092-642-6329

Mail：hsakaiop@dent.kyushu-u.ac.jp