

研究者：岩田こころ（所属：東京医科歯科大学 小児歯科学障害者歯科学分野）

研究題目：歯胚特異的に発現する von Willebrand factor D and EGF domains (*Vwde*) 遺伝子の歯胚発育過程における役割解明

目的：

人体で最も硬い組織である歯のエナメル質は上皮細胞から形成される。エナメル基質を分泌するエナメル芽細胞は、歯原性上皮細胞が内エナメル上皮細胞という細胞小器官の発達、極性や接着等の細胞行動が活発な細胞を経て分化した細胞であるが、歯の発生に重要な役割を担う内エナメル上皮細胞の分子メカニズムはまだ不明な点が多くある。これまでにわれわれはバイオインフォマティクス解析にて、細胞外マトリックスタンパク質である von Willebrand factor D and EGF domains (*Vwde*) が歯に特異的に発現し、マウスやヒトにおいてこれまでに解析されていない新規遺伝子であることを見出した。さらに、*Vwde* が内エナメル上皮細胞に発現し、エナメル芽細胞の分化とエナメル質形成に必須の遺伝子であり、その過程において Ncadherin の制御に関与していることを初めて明らかにした (Iwata K et al., Journal of Cellular Physiology, 2021)。歯の発生において、歯原性上皮細胞からエナメル芽細胞へと分化する過程でカルシウム依存性細胞接着分子である Ecadherin から Ncadherin に切り替わることが安定した細胞配列につながるという報告がある。そこで *Vwde* のさらなる分子機構を明らかにするために、本研究では、歯原性上皮細胞を用いて機能解析を行い、細胞シグナル機構を解明することを目的とした。

対象および方法：

***Vwde* の下流分子の網羅的解析**

Vwde 発現ベクターをマウスの切歯の cervical loop より樹立した歯原性上皮細胞 M3H1 細胞に導入し、*Vwde* 安定過剰発現細胞を作製した。これを用いて RNAseq 法を行い、*Vwde* による下流制御因子を網羅的に検討した。遺伝子組み換え実験は徳島大学遺伝子組み換え実験安全管理委員会による承認 (30-125) および東京医科歯科大学研究安全管理運営委員会による承認 (G2021-033C) を得て遂行した。

結果および考察：

Vwde を過剰発現させた M3H1 細胞における遺伝子発現解析では、216 個の発現変動遺伝子を認めた。そのうち、下流遺伝子 152 個の発現が上昇し、64 個の発現が低下していた。Gene Ontology 解析において、生物学的機能で示される細胞内での機能に関する遺伝子も見られたが、細胞構成と分子機能を示す Gene Ontology が多く占めていた。さらに、細胞構成としては、細胞膜や細胞外マトリックスおよび細胞間結合に関するものが挙げられ、分子機能では結合に関するものが多く挙げられた。具体的な下流遺伝子としては、インテグリン関連遺伝子である Itgal や Lypd10 や、細胞基質間接着に関与する遺伝子である Msln、Rptn、Emprin や、タイトジャンクション関連遺伝子である Cgln1 や、カドヘリン関連遺伝子 Pcdhb8 の発現上昇を認め

た。一方で興味深いことに、カドヘリン関連遺伝子である *Pcdhga8* は発現が低下していた。*Vwde* の発現パターンは非常に興味深く、実際には歯原性上皮幹細胞が凝集し一段階分化した TA 細胞となるところから発現しはじめ、基底膜に沿って細胞が配列する内エナメル上皮細胞においても継続して発現を認める。さらに臼歯では咬頭形成領域であるエナメルノットの周囲に発現を認めることから形態形成に最も重要な発生の初期段階において役割を持つことが示唆された(図1)。本研究の結果より *Vwde* はエナメル芽細胞の分化初期段階において、細胞間および細胞-細胞外基質接着に関わる遺伝子を多く変動させ、細胞の配列、極性に関与していることが示唆された。今後は *Vwde* と今回挙げられた発現変動遺伝子との分子機構の詳細を明らかにすることでエナメル質形成における役割を解明していく予定である。

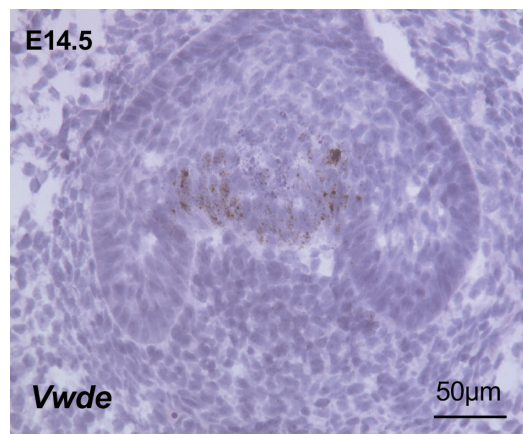


図1

成果発表：(予定を含めて口頭発表、学術雑誌など)

・ 岩田こころ、岩本 勉

von Willebrand factor D and EGF domains (*Vwde*) の異常は歯冠破折をもたらす
第 87 回口腔病学会学術大会

・ 第 61 回日本小児歯科学会大会にて発表予定