

最近のトピックス

歯の発生研究の展望と歯の幹細胞ニッチェ：常生歯形成端を示す新用語apical budの提唱

New perspectives on tooth development and the dental stem cell niche: Proposal of the new term "apical bud" to refer to the apical end of the continuously growing tooth

新潟大学 大学院医歯学総合研究科
顎顔面再建学講座 硬組織形態学分野

大島 勇人

Div. of Anatomy and Cell Biology of the Hard Tissue

Dept. of Tissue Regeneration and Reconstruction

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

Hayato Ohshima

1. はじめに

再生医療の主役となるのが、自己増殖したのち様々な機能細胞に分化する能力のある幹細胞と呼ばれる細胞群である。我々の体が形成される時には、各種の機能細胞が作り出されるかなめの部分に幹細胞が存在する。受精卵が発生を始めた初期にはすべての細胞種に分化可能な多能性幹細胞が存在し、ES細胞（胚性幹細胞）と呼ばれる。一方、成体の組織では、限定はされているものの多能性を備えた組織幹細胞が存在する。例えば、造血系幹細胞、粘膜や表皮などの上皮幹細胞、神経系幹細胞などがあり、組織幹細胞はその自己再生能と分化能により組織恒常性と損傷後の組織再生に寄与している。この組織幹細胞はnicheニッチェという特別な微小環境に存在することで幹細胞としての性質を維持していると考えられており、その分子機構が次第に明らかになっている（以下「組織幹細胞」のことを単に「幹細胞」と呼ぶ。また、ここで述べるニッチェとは、上皮と間葉との間の相互作用によって制御された幹細胞維持に必要な微小環境であると理解して頂きたい）。

ところで、歯の発生は、第1鰓弓由来の外胚葉（口腔粘膜上皮）と神経堤由来の中胚葉（外胚葉性間葉）との相互作用（上皮間葉相互作用という）を通して、時間的・空間的な正確な細胞の増殖と細胞死の調節が行われ形態形成・細胞分化が進行する¹⁾。哺乳類の歯は異形歯

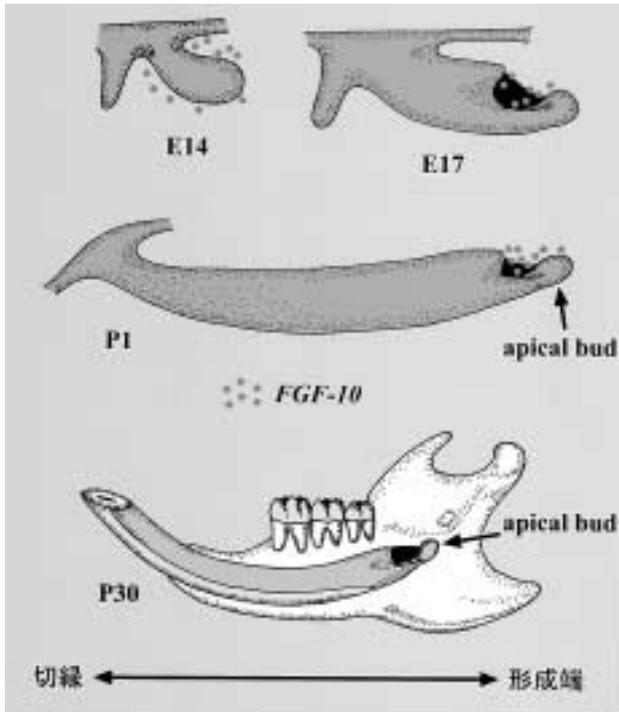
性といい、部位によりその形態が異なり、また動物種により歯の形態は多様性を示し、その食性を反映していると言われる。さらに、歯の形だけではなく、その発生様式も多様で、ネズミやウサギなどのある種の動物は一生生涯生え続ける常生歯（ヒトの歯を有根歯というので、それに対して常生歯は無根歯ともいう）をもつ。

この常生歯において歯の幹細胞が発見された²⁾が、この知見は最近の歯の発生生物学研究でのブレイク・スルーと言えよう。歯の幹細胞ニッチェは常生歯の形成端（常生歯においては、口腔内に露出している切縁・咬頭側と反対側の先端を形成端と呼ぶ）に存在し、この領域は共通の形態学的特徴をもつ。幹細胞の維持と分化を決定するシグナル分子として、Notch1, Lunatic fringe, fibroblast growth factor (FGF)-10が歯胚上皮・間葉に発現している。最近の組織学的・分子生物学研究から、常生歯形成端には歯胚が恒久的に維持されている分子機構が存在することから、我々はこの特別な歯の幹細胞ニッチェの領域を示すapical budという新しい用語を提唱した^{3), 4)}。本稿では、このapical budの形態学的特徴、幹細胞維持・分化の分子機構、常生歯と体肢芽との発生の比較を通して、歯の発生研究と歯科における再生医療の展望を述べてみたい。

2. 常生歯における幹細胞存在領域の形態学的な特徴

ラットやマウスなどの齧歯類の切歯は一生生涯生え続ける常生歯である。これは、形成端における持続的な細胞供給と切縁における咬耗によりその恒常性が保たれている⁵⁾。形成端の歯胚上皮と間葉をコラゲナーゼ処理で分離して歯胚上皮を走査電子顕微鏡で観察すると、この部位の歯胚上皮はコブ状に突出した形態を成しており、あたかも仰向けの人間が頭をもたげているかの様な形態を呈していることが明らかとなった（図参照）。歯の発生が上皮間葉相互作用により進行することは先に述べたが、歯胚は、蕾状期、帽状期、鐘状期とその形態を変化させる。興味深いことに、常生歯形成端の歯胚上皮をその長軸に垂直な面で連続切片を作製して観察すると、その形態が蕾状期、帽状期、鐘状期の歯胚と同じ形態を順次呈することが示された⁴⁾。このことは、成獣になった後も常生歯形成端に初期段階の歯胚が恒久的に維持されていることを示していると言えよう（図参照）。

細胞分裂マーカーで形成端歯胚上皮を観察すると、この部位には非対称分裂する細胞が存在し、分裂した一方の娘細胞は細胞分裂をしながら切縁側へ移動し内エナメ



図：齧歯類切歯の発生過程（E14：胎生14日，E17：胎生17日，P1：生後1日，P30：生後30日）

ル上皮，中間層，星状網，外エナメル上皮に分化するのに対し，もう一方は細胞分裂後，形成端歯胚上皮内に留まることが明らかになった。この幹細胞が存在する形成端の歯胚上皮について，これまで適切な用語が存在しなかったためにcervical loopという用語が誤って用いられてきた。cervical loopというのは帽状期から鐘状期歯胚における内エナメル上皮と外エナメル上皮との移行部（折れ返り）のことを指し，歯冠形成が終わるとヘルトピヒの上皮鞘となる部位である。従って，形成端には幹細胞が存在し歯胚が恒久的に維持されていることから，常生歯形成端を示すapical budという新しい用語を提唱するに至った。また，このapical budは齧歯類切歯だけでなく，モルモットの臼歯などにも存在することから⁶⁾，apical budは歯種に拘わらず常生歯形成端に共通して存在すると考えられた。

3．常生歯における幹細胞ニッチの分子機構

幹細胞研究における問題点は組織においてその存在を示す特異的なマーカーが存在しないことであるが，幹細胞がニッチと呼ばれる特別な領域に存在することが知られており，この微小環境が細胞の自己再生能の維持と分化の方向性の決定に重要な役割を果たしていると考えられている。これまでの研究により，apical budと周囲の間葉組織が特異的なシグナルを発現することが明らか

になっている。このシグナルの主役を演じるのがNotchシグナルであり，*Notch1* mRNAがapical budの星状網に発現し，基底膜に接した基底細胞との境界部で強い発現を示す。この*Notch1*の発現が強い部位は，その下流のシグナルの転写因子*HES1* (Hairy/Enhancer of Split) mRNAの発現と一致する。また，基底細胞は*Lunatic fringe* mRNA (Lunatic fringeはNotchシグナルを修飾すると考えられている)を発現し，基底細胞が内エナメル上皮細胞に分化すると*Jagged1* mRNA (Jagged1はNotch1のリガンドとして働く)を発現するようになる。さらに，apical bud周囲の間葉は*FGF-10* mRNAを発現している。このFGF-10は幹細胞の形成と維持に重要な働きをすることが明らかになっており⁷⁾，歯胚間葉におけるFGF-10の持続的な発現が常生歯のapical budを維持していると言えよう。一方，有根歯であるマウス臼歯の歯胚形成過程においても，歯胚間葉に一過性に*FGF-10* mRNAが発現することが示されており，有根歯であっても歯胚の段階では幹細胞が維持されている可能性があると考えられる。

4．常生歯と体肢芽の発生

様々な器官発生過程において，その初期発生過程は共通の形態学的特徴を示し，共通の分子機構が存在することが示されている。体肢の発生過程を観察すると，体肢芽のシグナル・センターの一つである極性化活性域 zone of polarizing activity (ZPA) とFGF-10を含むFGFスーパー・ファミリーが形態形成の鍵となるシグナルとなっている。歯胚形成におけるシグナル・センターはエナメル結節enamel knotであると考えられており⁸⁾，間葉におけるFGF-10発現との相互作用により，歯胚の形成段階は蕾状期，帽状期，鐘状期と進行する。有根歯の発生では間葉の*FGF-10* mRNAの発現が停止するが，常生歯では持続的な*FGF-10* mRNAの発現がみられ，apical budを維持していると考えられる（図参照）。しかしながら，エナメル結節でのシグナルと間葉における*FGF-10* mRNA発現との相互作用の分子機構は明らかになっていない。

5．幹細胞を用いた歯の再生医療の展望

歯というのが上皮由来組織と間葉由来組織からなる石灰化器官であるために，歯の再生は神経や筋，骨の様な組織の再生に比べて解決しなければならない多くの課題が残っている。歯の発生が上皮間葉相互作用により進行することは繰り返し述べたが，数多くのシグナル分子や成長因子の発現パターンが明らかになっており (<http://bite-it.helsinki.fi/>)，器官・細胞培養系や遺伝子

改変マウスを使ってこれらのシグナルの機能解析が進んでいる。このような情報の集積は、将来、歯の発生機構の解明から歯の再生医療へと繋がるであろう。しかしながら、歯の位置や形、数を調節しているのは200以上もの遺伝子の相互作用によるものであるので、シグナルの解析が進んだとしてもティッシュ・エンジニアリングにより歯をつくることは容易なことではない。我々がより単純な歯の再生モデルとして常生歯を研究対象とし、apical budの維持・分化機構を解明することが、歯の再生医療具現化に向けての有効な最初のステップであり、この分子機構の解明こそが歯の再生医療に有益な情報を与えることになるであろう。歯の幹細胞、そしてその維持に必要なニッチェ、そして細胞運命の決定についての分子機構解明の研究は今始まったところである。

6 . おわりに

本稿は大阪大学大学院歯学研究科 原田英光助教授（口腔分化発育情報学講座 口腔解剖学第1教室）との共同研究の結果ならびに最近出版した総説⁴⁾の内容を紹介したものである。

参考文献

- 1) Jernvall, J. and Thesleff, I. : Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. *Mech. Dev.*, 92(1): 19-29, 2000.
- 2) Harada, H., Kettunen, P., Jung, H.S., Mustonen, T., Wang, Y.A. and Thesleff, I. : Localization of putative stem cells in dental epithelium and their association with Notch and FGF signaling. *J. Cell Biol.*, 147(1): 105-120, 1999.
- 3) Ohshima, H., Kenmotsu, S. and Harada, H. : Use of the term apical bud to refer to the apical end of the continuously growing tooth. *Arch. Comp. Biol. Tooth Enamel*, 8 : 45-49, 2003.
- 4) Harada, H., and Ohshima, H. : New perspectives on tooth development and dental stem cell niche. *Arch. Histol. Cytol.*, 67(1): 1-11, 2004.
- 5) Ohshima, H. and Yoshida, S. : The relationship between odontoblasts and pulp capillaries in the process of enamel- and cementum-related dentin formation in rat incisors. *Cell Tissue. Res.*, 268 (1): 51-63, 1992.
- 6) Harada, H., Mitsuyasu, T., Toyono, T. and Toyoshima, K. : Epithelial stem cells in teeth. *Odontology*, 90(1): 1-6, 2002.
- 7) Harada, H., Toyono, T., Toyoshima, K., Yamasaki, M., Itoh, N., Kato, S., Sekine, K. and Ohuchi, H. : FGF10 maintains stem cell compartment in developing mouse incisors. *Development*, 129(6): 1533-1541, 2002.
- 8) Thesleff, I., Keranen, S. and Jernvall, J. : Enamel knots as signaling centers linking tooth morphogenesis and odontoblast differentiation. *Adv. Dent. Res.*, 15 : 14-18, 2001.