

論文内容の要旨

主 論 文

Coexpression of Ang1 and Tie2 in odontoblasts of mouse developing and mature teeth—a new insight into dentinogenesis

マウス発生期ならびに成熟歯牙象牙芽細胞における Tie2/Ang1 の発現-象牙質形成における新たな知見-

中島和慶,柴田恭明,菱川善隆,末松貴史,森雅子,福原茂朋,小路武彦,澤瀬隆,池田通

(Acta Histochemica et Cytochemica・巻、頁未定 2014年)
〔ページ数 18〕

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：澤瀬教授)

緒 言

Angiopoietin-1 (Ang1)は血管周囲細胞を含む間葉系細胞から分泌され、血管内皮細胞に優位に発現する受容体 Tie2 を介し、パラクラインな機序で血管の新生や安定化を制御する。Ang1 は血管形成を誘導することにより骨形成を間接的に促進することが報告されているが、象牙質形成における機能は明らかでない。本論文の目的は、マウス第1大臼歯発生過程における両分子の局在を明らかにすることで、そのシグナルの、象牙質形成における役割を考察するものである。

対象と方法

胎生17、18日、生後1、3、8、15日目のマウス下顎を4%パラフォルムアルデヒドで固定、パラフィン包埋し、厚さ4 μmの組織切片を作製した。得られた標本は、Ang1抗体、Tie2抗体、さらに分化した象牙芽細胞マーカー、Nestin抗体を用いて免疫染色ならびに免疫蛍光二重染色を施行した。また、Ang1についてIn situ ハイブリダイゼーション (ISH)によって mRNA の局在を観察し、Tie2についてはマウス胎生18日目の下顎第1大臼歯歯胚ライセートを用いてウエスタンブロッティングを行った。

結果

マウス下顎第1大臼歯では、胎生18日に咬頭頂付近から象牙芽細胞の分化が開始する。同部位の免疫染色において、Ang1シグナルは咬頭頂付近の象牙芽細胞やエナメル芽細胞、基底膜に局在した。Ang1プローブを用いたISHでは、シグナルは象牙芽細胞やエナメル芽細胞に局在した。一方Tie2は咬頭頂を中心とした象牙芽細胞の遠心側(基底膜側)胞体や細胞突起に局在が観察され、胎生18日臼歯歯胚ライセートを用いたウエスタンブロッティングにより、Tie2ならびにリン酸化Tie2が検出さ

れた。

生後 1、3、8 日目マウス下顎第 1 大臼歯の免疫染色において、歯冠部の Ang1 シグナルは象牙芽細胞と象牙前質に、Tie2 は象牙芽細胞の、細胞突起を含む遠心側胞体に局在した。生後 15 日目の歯根部象牙芽細胞でも Ang1、Tie2 シグナルともに歯冠同様の局在を示した。また、骨芽細胞やセメント芽細胞、エナメル芽細胞では Ang1 が陽性であったのに対し Tie2 は陰性であった。

免疫蛍光二重染色を用いて、胎生 18 日目臼歯における Ang1、Tie2 の局在を、Nestin のそれと比較したところ、Ang1 シグナルは Nestin 発現細胞に局在し、一方で Tie2 は Nestin の局在と一致した。また、成熟歯牙を用いて Ang1/Tie2 免疫蛍光二重染色を行ったところ、Ang1 は象牙前質に局在を示し、細胞突起を含む象牙芽細胞遠心側において Ang1 と Tie2 は同じ局在を示した。

考察

今回我々は、Ang1 とその受容体である Tie2 が分化初期から象牙芽細胞に共発現する事を明らかにした。これまでに報告された、象牙芽細胞分化に関与する TGFs、BMPs 等の受容体は象牙芽細胞のみならず骨芽細胞にも発現しているのに対し、Tie2 は他の硬組織形成細胞、すなわち骨芽細胞、セメント芽細胞、エナメル芽細胞では検出されなかった。この結果は、オートクラインな Tie2 シグナルが、象牙質に特徴的な構造や機能獲得およびその保持に関与する可能性を示唆するものである。

Ang1 は、象牙質基質の主要分子であるⅢ型コラーゲンや、基底膜分子に親和性を有する。基質に沈着した Ang1 は、血管内皮細胞の膜表面に表出した Tie2 を基質側へと誘導し、接着斑と異なる接着機構を形成する。Ang1/Tie2 接着機構における Tie2 リン酸化シグナルは細胞極性を決定し、細胞骨格を改変し、内皮細胞の遊走を惹起する。Tie2 の発現は、内皮細胞以外では数えるほどしか報告がなく、それ以外での Ang1/Tie2 機能は不明であるが、以上を鑑みると、象牙芽細胞分化初期、基底膜に沈着した Ang1 は象牙芽細胞表面の Tie2 を基底膜側に誘導し、細胞骨格を改変することで象牙芽細胞特異的形態の構築に寄与し、一方で生後、象牙基質に沈着した Ang1 が Tie2 を介して細胞突起を象牙質内に保持し、象牙質の恒常性に寄与する可能性が考えられる。

象牙芽細胞に特異的に発現する Tie2 の発見は、象牙芽細胞分化マーカーとしての意義のみならず、象牙質特異的構造と機能形成分子機序解明を大きく進捗させると期待される。

(備考) ※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。