

# ストア作動性Ca<sup>2+</sup>流入の異常による外胚葉異形成症 におけるエナメル質形成不全の発症メカニズム

古川, 雄亮

<https://hdl.handle.net/2324/1806933>

---

出版情報：九州大学, 2016, 博士（歯学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : 古川 雄亮

論 文 名 : ストア作動性  $\text{Ca}^{2+}$  流入の異常による外胚葉異形成症におけるエナメル質形成不全の発症メカニズム

区 分 : 甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [緒言]

カルシウムシグナリングは細胞の機能を制御する  $\text{Ca}^{2+}$  依存性の情報伝達経路のことをいう。カルシウムシグナリングの1つであるストア作動性  $\text{Ca}^{2+}$  流入 (SOCE) は細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度調整機構であり、細胞内に存在する  $\text{Ca}^{2+}$  貯蔵庫の小胞体 (ER) 内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が減少すると、細胞膜にある  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルより細胞外から細胞質内に  $\text{Ca}^{2+}$  の流入を促す機構である。この SOCE を担う関連分子として、Stromal interaction molecule (Stim) 1 と Orai1 が同定されており、Stim1 は ER 内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の低下を感知すると、ER 膜上を移動し、細胞膜上の Orai1 と複合体を形成する。その結果、 $\text{Ca}^{2+}$  が細胞外より流入することで細胞質内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が上昇し、外分泌腺の分泌や細胞分化、免疫反応等の生理的反応が生じるとされている。

近年になり、この Stim1 や Orai1 等の SOCE 関連遺伝子の変異により、外胚葉異形成症 (ED) と類似の所見を示す症例が報告されるようになってきた。免疫不全、筋力低下、低石灰化型エナメル質形成不全症といった表現型が認められたことで、SOCE 関連遺伝子が新たな ED の原因遺伝子であるとの見解が強まっている。しかし、SOCE の変異により歯等の上皮系組織に特徴的な表現型がなぜ引き起こされるかについては不明な点が多い。そこで、本研究では上皮系組織 (特に歯の発生と形成の過程) において SOCE が重要な役割を担うと仮定し、SOCE を担う分子である STIM1/2 の歯における発現パターンの解析を行うと共に、エナメル質形成における Stim1/2 の役割の解明を目的に本研究を遂行した。

### [試料と方法]

*Keratin14 (K14)-cre transgenic* マウスと *Stim1/2<sup>fl/fl</sup>* マウスを交配し、Stim1、Stim2 および両方を上皮特異的に欠失したコンディショナルノックアウト (cKO) マウスを作成し、*Stim1/2<sup>fl/fl</sup>* マウスはコントロールマウスとして使用した。生後 6 日齢 (P6)、生後 12 日齢 (P12) および 8 週齢 (8W) の各遺伝子型マウスを試料として用い、遺伝子発現解析、肉眼的・組織学的解析、X 線学的解析および走査型電子顕微鏡 (SEM) による解析を行った。

## [結果]

P12の上顎第1臼歯エナメル芽細胞における *Stim1/2* の遺伝子発現量を定量的PCRで解析すると、各 *cKO* マウスで有意に発現量が減少していることが確認された。また、免疫組織化学染色法によりエナメル芽細胞での *Stim1/2* の局在を確認すると、P6よりP12においてシグナルがより顕著であった。また、*Heamatoxylin-Eosin* 染色では、各 *cKO* マウスの上顎第1臼歯の歯やエナメル芽細胞の形態に顕著な差は認められなかった。しかし、肉眼所見において8Wの *Stim1 cKO* マウスおよび *Stim1/2 cKO* マウスの切歯、臼歯ではチョーク様エナメル質や顕著な咬耗といった表現型が観察された。さらに、X線学的解析により下顎切歯エナメル質の石灰化度の定性的・定量的解析を行ったところ、*Stim1 cKO* マウスおよび *Stim1/2 cKO* マウスにおいてエナメル質の石灰化度の減少が認められた。さらに、SEMによりエナメル質の構造を観察したところ、*Stim1 cKO* マウスおよび *Stim1/2 cKO* マウスのエナメル小柱は観察されなかった。また、*Stim1/2* のノックアウトによるエナメル質形成に関わる一部の遺伝子の発現変化の有無について解析したところ、コントロールマウスと比較して発現量および局在に有意な変化は認められなかった。加えて、エナメル芽細胞成熟期にエナメル質への  $Ca^{2+}$  供給の中心的な役割を担うとされている *Slc24a4* の局在も、*Stim1/2* のノックアウトによって顕著な変化はなかった。最後に、各遺伝子型マウスの下顎切歯を採取し、GBHA染色および *Calcein* 蛍光ラベリング法によって、エナメル芽細胞成熟期の初期から中期にみられる *ruffle-ended ameloblasts (RA)* と *smooth-ended ameloblasts (SA)* の2つの細胞群の周期性を視覚化した。その結果、コントロールマウスおよび *Stim2 cKO* マウスでは、エナメル芽細胞成熟期の初期から中期に相当する部位でSAバンドがみられたが、成熟期の後期ではRAとSAの周期性が失われ、Feの沈着によりエナメル質表面が黄色い色調を呈していた。一方、*Stim1 cKO* マウスおよび *Stim1/2 cKO* マウスでは、成熟期の後期においてもSAバンドが依然として存在し、かつFe沈着は認められなかった。

## [考察]

*Stim1* をノックアウトした場合に限りエナメル質形成不全の表現型が認められたが、先行研究でエナメル芽細胞成熟期における *Stim1* の相対的発現量が *Stim2* よりも極めて高いという報告があることから、*Stim1* がエナメル質の成熟に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。また、GBHA染色および *Calcein* 蛍光ラベリング法により *Stim1 cKO* マウスおよび *Stim1/2 cKO* マウスでは、通常RAとSAの周期性が消失していくエナメル芽細胞成熟期後期においてもSAのバンドが観察され、かつFe沈着によるエナメル質の黄色い色調が確認されなかった点から、エナメル芽細胞成熟期後期へのステージ移行が遅延している可能性が考えられた。

## [結論]

SOCEを担う *Stim1* は、エナメル質の成熟すなわち石灰化において重要な役割を果たすのみならず、成熟期エナメル芽細胞の周期的変化に影響を与えている可能性が示唆された。