総 説

歯の発生の分子メカニズム

野 地 澄 晴

徳島大学工学部生物工学科

Molecular Mechanisms of Tooth Development

Sumihare Noji

*Department of Biological Science and Technology, Faculty of Engineering, The University of Tokushima
2-1 Minami-Jyosanjima Cho, Tokushima City 770, Japan*

Key words : Tooth development/homeobox genes/peptide growth factors

Abstract : Recent progress in elucidation of mechanisms of tooth development was reviewed. Many genes expressed during tooth development have been identified. For example, homeobox genes such as *Msx*, *Dlx*, *Barx* and peptide growth factors such as Sonic hedgehog (SHH), BMP, FGF, HGF, etc. are expressed in tooth buds and probably play important roles for tooth morphogenesis. Since *Msx*, *Dlx*, and *Barx* are expressed differentially during tooth formation, combination of expression patterns of these genes may be related to dentition and tooth morphology. On the other hand, differentiation of the tooth bud may be regulated by epithelial-mesenchymal interaction which is mediated by SHH, BMP4, BMP2, FGF4, and Notchs. It is interesting to note that these genes are also expressed during development of various organs other than tooth. Furthermore, they are vertebrate homologues of *Drosophila* genes which functions during insect morphogenesis. Thus, it seems likely that fundamental mechanisms underlying tooth development are common over other organs such as limbs, guts and lungs in vertebrates as well as in insects.

緒 言

本総説では、歯の発生メカニズムが現在、どの程度解明されてきているかについて紹介し、今後の展望について議論する。歯がどのようにして形成されるかは、まだほとんど解明されていない。もし、歯の発生メカニズムを解明することができれば、単に知的好奇心を満足させるだけでなく、歯組織の人工再生による治療などの臨床的应用も可能になるかもしれない。分子生物学の発展に伴い、多くの生命現象が分子レベルで詳細に解明されている。生物の発生現象も例外ではなく、発生分化に関わ

る多くの遺伝子が同定され、その役割が解明されている。発生の研究において、多くの重要な発見がショウジョウバエの研究から得られ、現在も得られ続けている¹⁾。発生に関する非常に重要な概念は、ショウジョウバエの研究からほとんど得られたといっても過言ではない。その代表的な概念は、親分遺伝子の概念である。この概念を説明するために、まず歯の形成に数千個の遺伝子が関与していると仮定しよう。それらの個々の遺伝子が適材適所で、適時に働かなければ、正常な歯は形成されないと考えられる。その数千の遺伝子発現がどのように調節されているかはまだ解明されていないが、その遺伝子群の中に階層があり、発生の初期に働き、その遺伝子産物がア

メロジェニンのように歯の一部になるのではなく、多くの遺伝子群の発現調節を司る遺伝子の存在が考えられる。それが歯の形成に関わる親分遺伝子であり、他あるいは自分自身の遺伝子発現を調節する転写調節タンパク質をコードしている。もちろん、遺伝子群の中に階層性があることは知られていたが、具体的に親分遺伝子が同定され、単離されたのはショウジョウバエにおいてであった。それらの遺伝子内に共通な特徴として、DNA結合領域をコードするホメオボックス（図1）が存在していた。したがって、ホメオボックスも持つ遺伝子、ホメオボックス遺伝子は親分遺伝子である可能性が高い。一方、親分遺伝子であるホメオボックス遺伝子群の発現を調節する細胞間のシグナル分子もショウジョウバエの研究から同定され、ホメオボックス遺伝子群と同様に、ハエだけでなく、脊椎動物にも存在し、やはり細胞間のシグナル分子として作用していることが、報告されている²⁾。そこで、ここでは、歯の形成に関与するホメオボックス遺伝子群およびそれらの発現調節に関わっていると考えられる細胞間シグナル分子、特にペプチド細胞増殖因子に着目し、最近の知見について総説する。

歯の位置と形態を決めるホメオボックス遺伝子群

歯の形成は、上皮と移動してきた神経堤細胞との相互作用により形成されるが、どの位置にどの歯が形成されるかを決定するメカニズムの詳細はまだ解明されていない。しかし、最近、その端緒となる発見が報告されており、その主役はホメオボックス遺伝子である可能性が示唆されてきている。体の前後軸に沿ったパターン形成は、Hox（ホックス）と呼ばれるホメオボックス遺伝子群が司っている。前後の位置情報は、Hoxコードと呼ばれるHox遺伝子の発現の組合せにより、決められていると考えられている。四肢の骨などの形成パターンもHoxコードにより同様に決められていることが、ノックアウトマウスを用いて示されている³⁾。一方、歯の発生過程においてはHox遺伝子群は発現していないので、他のホメオボックス遺伝子群の発現パターンにより、顎での歯に関する位置情報が決定されていると予想される。Weissら⁴⁾は歯胚に発現している他のホメオボックス遺伝子を同定する目的で、マウスの9.5, 14.5, 17.5日の歯胚において発現しているホメオボックス遺伝子をPCR法によりクローニングし、解析した。現在までに同定されている遺伝子は、*Msx1*, *Msx2*, *Dlx1*, *Dlx2* などである。*Msx* 遺伝子は、ショウジョウバエの *msh* (*muscle segment homeobox*) 遺伝子の相同遺伝子としてクロー

Fig. 1 Schematic representations of a cDNA of a homeobox gene (top) and a homeodomain-DNA complex (bottom). The homeodomain contains three α helices (See Fig. 2). The position of residue Arg31 in helix II is indicated by R31, which changes to be Pro in a human *MSX1* homeodomain missense mutation. (Modified Fig. 3 in ref. 7)

ニングされた（図2）。これまでに3つのサブタイプが同定され、一般的に上皮-間葉相互作用に関与していると考えられている⁵⁾。*Dlx* はショウジョウバエの *Dll* (*Distal-less*) の相同遺伝子として、クローニングされ（図2）、少なくとも6種類知られており、それらは各歯胚に特徴的に発現していることが報告されている^{4,6)}。ことなどから、Weissらはクラスターを形成していないホメオボックス遺伝子に属する *Dlx* や *Msx* などの遺伝子群の発現パターンの組合せにより、歯の位置と形態が決定されている可能性があるとして予想している⁴⁾。彼らの予想を裏付けるように、興味ある結果が *Msx* 遺伝子の一つである *Msx1* 遺伝子のノックアウトマウスの研究から得られた。里方とMaasは、*Msx1* の欠損マウスを作製し、口蓋裂や顔面および歯の発生異常が生じ、特に歯については切歯の欠損、臼歯の形成不全が生じることを見出した（図3）⁵⁾。*Msx1* は一般的に上皮-間葉相互作用により形態形成が進行する領域に発現していることが報告されているが、実験結果から *Msx1* 遺伝子は顔面や歯の発生における上皮-間葉相互作用において特に重要であることがわかった。*Msx1* と *Msx2* がオーバーラップして発現している組織においては *Msx1* 欠損マウスにおいても正常で

		Helix 1			Helix 2		turn	Recognition	Helix
		1	10	20	30	40	50	60	
Human	MSX1	NRKPRTPTFTT	AQLLALERKF	RQKQYLSIAE	RAEFSSSLSL	TETQVKIWFQ	NRRAKAKRLQ		
Mouse	msx1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Human	MSX2	-----	S-----	-----	-----	-N-	-----	-----	
Mouse	msx2	-----	S-----	-----	-----	-N-	-----	-----	
Dlx1		MRKPRTIYSS	LQLQ-LNR-F	QRTQYLALPE	RAELA-SLGL	TQTQVKIWFQ	NR-SKYK-M-K		
DLX1		I-----	---A---	-Q-----	-----	-----	-K---F--L--		
Dlx1		I-----	---A---	-Q-----	-----	-----	-K---F--L--		
DLX2		V-----	F-AA-Q---	-K-----	-----	-----	-----F---W-		
Dlx2		V-----	F-AA-Q---	-K-----	-----	-----	-----F---W-		
Dlx3		-----	Y-LA-Q---	-KA-----	-----Q--	-----	-		
Dlx4		-----	---AA-Q---	-KA-----	-----	-----	-		
DLX5		V-----	F-AA-Q---	-K-----	-----	-----	-K---I--I--		
DLX6		I-----	---A-H--	-Q-----	-----	-----	-K---F--LL-		
Solurshin		QRRQRTHTFS	QQLQELEATF	QRNRYPDMST	REEIAVWTNL	TEARVRVWFK	NRRAKWRKRE		
Ptx-1/P-OTX		-----	-----	-----M	-----	--P-----	-----		
unc-30		P-----	H--T---NW-	S-----AC	-----IS-	-----	-----		
Otx-1		---E--T--R	S--DV---L-	AKT----IF-	---V-LKI--	P-S--Q---	-----C-QQQ		
Otx-2		---E--T--R	A--DV---L-	AKT----IF-	---V-LKI--	P-S--Q---	-----C-QQQ		
otd		---E--T--R	A--DV---L-	GKT----IF-	---V-LKI--	P-S--Q---	-----C-QQL		
goosecoid		K--H--I--D	E--EA--NL-	-ETK---VGT	--QL-RKVH-	R-EK-E---	-----RQK		
Pax-7		---S--T--A	E--E---KA-	E-TH---IY-	---L-QR-K-	-----Q--S	-----R---QA		
Pax-3		---S--T--A	E--E---RA-	E-TH---IYT	---L-QRAK-	--A-Q--S	-----R---QA		
Drg11		---N--T-AL	---EA--V-	AQTH---VF-	---L-MKI-	-----Q--Q	-----T-		
al		---Y--T---	F--E---KA-	S-TH---VF-	---L-MKIG-	-----IQ--Q	-----Q-		
Cart-1		K--H--T---	L--E---KV-	-KTH---VYV	--QL-LR-E-	--A-Q--Q	-----		
Prx-1		---N--T-N-	S---A--RV-	E-TH---AFV	--DL-RRV--	-----Q--Q	-----F-RN-		
Prx-2		---N--T-N-	S---A--RV-	E-TH---AFV	--L-RRV--	S---Q--Q	-----F-RN-		
Chx10		K--H--I--	Y--E---KA-	-NEAH---VYA	--ML-MK-E-	P-D-IQ--Q	-----		
Otp		-K-H--R--P	A--N---RS	-AKTH---IFM	---L-LRIG-	--S-Q--Q	-----K--K		

Fig. 2 Alignment of amino acids in the homeodomain of the *Msx* family (top), the *Dlx* family (middle) and the *solurshin* (*RIEG*) family (bottom).

Fig. 3 Sections of the first molar tooth buds of normal (left) and *Msx1* knocked-out mouse 14.5 day embryos (right) (Modified Fig. 9 in ref. 5).

あった。このことから、*Msx2* は *Msx1* の役割を補償する役割があると考えられている。事実、それらの遺伝子のダブルノックアウトの系では、多数の組織において高度な発生異常が観察されている。*Msx1* は、後述の BMP4 などにより発現が誘導されることが知られており、一般的に上皮-間葉相互作用を仲介する重要なホメオボックス

遺伝子である⁵⁾。

最近、Vastardis ら⁷⁾は、第2小臼歯と第3臼歯が優性遺伝的に形成不全となる家系について、連鎖解析を行い、原因遺伝子が染色体4pに存在することを発見した(図4)。その4pには *Msx1* 遺伝子があり、その *Msx1* 遺伝子の塩基配列を決定したところ、ホメオボックス中の31番目の Arg (R) が Pro (P) に変化するミスセンス突然変異が存在することを発見した。ホメオドメインの中の31番目の Arg (R) は高度に保存されたアミノ酸残基であり(図2)、標的DNAのバックボーンと相互作用することが知られている(図1)。*Msx1* のミスセンス突然変異により、特異的な臼歯が欠損するのは、突然変異 *Msx1* がドミナントネガティブタイプのメカニズムで作用し、*Msx1* タンパク質と他のタンパク質との相互作用が変化し、特異的な歯の発生異常を生じると考えられている。しかし、ホメオボックスコードが異常になったためなのか、臼歯の発生過程における特異的なメカニズムなのかは、まだ明確になっていない⁸⁾。これらの結果から、*Msx1*

Fig. 4 Pedigree of family 1 La, indicating clinical status. Individuals with a G-C transversion in exon 2 of MSX1 are indicated by + (top). Profile of the permanent dentition in affected members of family 1 La (bottom). (Modified Fig. 1 in ref. 7)

は歯の発生において、歯の形成される位置およびその形態にも関与している可能性が示唆された。これらの *Msx1* に関する研究から、一般的に歯の発生、特に位置と形態に関する情報が他のホメオボックス遺伝子により調節されている可能性が高いことが裏付けられた。

さらに, Tissier-Seta ら⁹⁾は, *Ncam* のプロモーターの調節領域に結合するタンパク質をクローニングした結果, 新しいホメオボックス遺伝子である *Barx1* を発見した。*Barx1* は, ショウジョウバエの *BarH1* の脊椎動物の相同遺伝子かもしれない。この遺伝子は、歯の発生にも関与しており、臼歯乳頭に発現していることが報告されている。切歯には発現しないので、切歯と臼歯を区別する遺伝子である可能性がある。最近、眼や歯の形成不全を伴う Rieger 症候群の原因遺伝子として、新しいピコイドタイプのホメオボックス遺伝子 (*Rieg*) がクローニングされている¹⁰⁾。*Rieg* は上顎や下顎の上皮に発現し、歯の誘導に関与している可能性もある。

マウスの無眼症の原因遺伝子として、*Pax6* が同定されている¹¹⁾。この遺伝子は、ホメオボックスに加えてペヤードボックスを持つ遺伝子である。Halder ら¹¹⁾は、ショウジョウバエにおいて *Pax6* の相同遺伝子である *eyeless* を異所性に発現し、眼を触覚や翅に作ることに成功している。脊椎動物においては、まだ成功していないが、*Pax6* の発現により眼を誘導することができるかもしれない。また、*Pax3* は耳の形成に関与しており、その突然変異が Waardenburg 症候群 I 型, III 型の疾患に関与することが報告されている¹¹⁾。このように、一部の *Pax* 遺伝子群は器官の発生に関与していることが知られている。したがって、歯の形成においても未知の *Pax* 様遺伝子が関与している可能性がある。もし歯を誘導する遺伝子が存在すれば、その遺伝子の異所性発現により歯が誘導される可能性もある。

今後さらに、歯の発生過程において多数のホメオボックス遺伝子が発現し、それぞれ形態形成における役割を担っていることが解明されてゆくと予想される。これまでに報告されている多くのホメオボックス遺伝子は、ショウジョウバエで同定されているホメオボックス遺伝子の脊椎動物版である。ショウジョウバエにおいては一つの遺伝子が、脊椎動物では数個から十数個に重複して存在している。他の器官においても同様であるが、歯の進化メカニズムも遺伝子の重複と反復使用により説明できるであろう²⁾。遺伝子の重複には一つの染色体内での重複 (クロスオーバー) とクラスターの重複がある (図 5)。このようなメカニズムで、遺伝子のファミリーが形成され、そのことにより、より複雑な形態が作られてきたと考えられる。歯の形態形成においても同じであろう。

歯形成に関与する細胞増殖因子群

歯の発生過程を図 6 に示す¹²⁾。上皮-間葉相互作用に

Fig. 6 Schematic representation of mouse tooth development. Drawings of sagittal section (A), frontal sections (B-D). ab, ameloblasts; dc, developing cusp; de, dental epithelium; dm, dental mesenchyme; dl, dental lamina; iee, inner enamel epithelium; jm, jaw mesenchyme; ob, odontoblasts; oe, oral epithelium; oee, outer enamel epithelium; pek, primary enamel knot; sek, secondary enamel knot; si, stratum intermedium. (Modified Fig. 1 in ref. 12)

Fig. 5 Evolutionary process to form a gene family through gene duplication.

より歯胚が形成されるのであるが、その相互作用を担う物質に関してはほとんど解明されていなかった。しかし、最近わずかながら、その正体が明確になってきている。そこで、重要と思われる因子について最近の知見を以下にまとめた。

1. Sonic hedgehog

歯胚の形成における重要な因子は、ショウジョウバエの *hedgehog* の相同遺伝子である *Sonic hedgehog* (*Shh*) である。小山らは、1991年にニワトリの肢芽に歯胚を移植することによって、重複肢が誘導されることを発見し、最近報告した(図7参照)¹³⁾。同様に、切歯についても重複肢誘導能を調べ、基部に強い活性が存在することを発見した。これらのことから、肢発生における指の誘導因子と歯形成に関与する因子が類似していることが示唆さ

れていた。1993年に Riddle ら¹⁴⁾は、肢芽における指誘導因子が SHH タンパク質 (SHH) であることを報告した。そこで、歯の形成においても、SHH が重要な働きをしているに違いないとの予想に基づき、*Shh* の歯胚での発現を調べた。その結果、Iseki¹⁵⁾、Koyama ら¹³⁾は、*Shh* が歯胚の上皮に発現していることを発見した(図8)。*Shh* は歯胚が形成される初期の肥厚した上皮に発現し、それ以降も継続的に発現している。最近、*Shh* の受容体として *patched* (*ptc*) が着目され、さらに、*ptc* とヘテロ2量体を形成し、シグナル伝達に関わる遺伝子として *smoothened* (*smo*) がクローニングされた¹⁶⁾。*ptc* は12回膜貫通型のタンパク質で、一方、興味あることに、*smo* は7回膜貫通型の受容体で、Gタンパク質とカップルしている。*smo* は Wnt の受容体である Frizzles とスーパーファミリーを形成していると考えられる。SHH は、Ptc に直接結合するが、細胞内へのシグナル伝達は Smo が行う。Smo 単独では常に活性化されており、Ptc-Smo 複合体では Smo は不活性になっている。SHH が Ptc に結合することにより、Smo が活性化され、シグナルが細胞内へ伝達されることが解明された(図9)。このシグナル伝達にはタンパク質リニン酸化酵素 A (PKA) 活性の阻害が必要であることが報告されている¹⁷⁾。ショウジョウバエを用いた研究から、hh は別の細胞に作用して、decapentaplegic (*dpp*), wingless (*wg*) などの細胞間シグナル分子を誘導することが知られている。hh に対応する脊椎動物の遺伝子の一つは *Shh* であり、*dpp* に対応するのが、骨形成因子として知られている Bone morphogenetic protein (BMP2, BMP4) である。さらに、*wg* に対応するのは、Wnt である。したがって、歯の発生においても、BMP や Wnt が関与することは予想され、

Fig. 7 Schematic representation of morphologies of tooth germs and portions (shaded) used for transplantation into host chick embryo wing buds (top). Morphological appearance of tooth germs (A, C, E) and grafted chick wings (B, D, F), showing the tooth germs can induce digit duplication. (Modified Figs 1 and 2 in ref. 13).

Fig. 8 Immunohistochemical localization of SHH in neonatal incisor. A, control without primary antibody ; B, with Ab80 antiserum. SHH is present in the differentiating ameloblasts (double arrow-heads) as well as adjacent presumptive odontoblast cell layer (arrow-head). (Modified Fig. 9 in ref. 13)

事実, BMP2 や BMP4 が歯の発生に関与していることはすでに報告されている^{18,19)}。

2. BMP

骨組織内の骨誘導因子として単離された BMP は、その遺伝子のクローニングにより、TGF- β スーパーファミリーの一員であることがわかった¹⁾。その後多くの BMP が発見されている。その役割は骨形成に関与するだけでなく、多くの形態形成の場において重要な役割を果たしている。したがって、BMP は dpp と同様に形態形成に必要不可欠なシグナル分子であると考えられている。歯の発生過程において、SHH は BMP2 を誘導するが、BMP4 との関係はまだ明確になっていない。Vainio ら¹⁸⁾は、歯発生過程における BMP2 と BMP4 の役割について詳細な解析を行っている (図 10)。特に、*Bmp4* は、マウス 11 日胚の歯の形成予定領域の上皮に発現し、12 日胚では、歯胚の間葉に発現が移行することなどから、歯の形成における上皮-間葉相互作用の中心的役割を担っていると考えられている。一方、*Bmp2* は、*Bmp4* より以降に歯胚に発現する。*Bmp2* は 14 日胚の歯胚が cap ステージの時期に、内エナメル上皮に発現する。16 日胚においては一端発現は消失し、やがて、17~18 日胚の間

葉 (歯乳頭) に再び発現する。*Bmp2* は preodontoblast に発現し、細胞が最終分化する期間に発現しており、生後 4 日目の歯においても発現が観察されている。また、*Bmp7*²⁰⁾や TGF β 受容体遺伝子²¹⁾が歯胚に発現していることも報告されている。以上の事から、TGF β スーパーファミリーは歯胚の上皮-間葉相互作用に関与し、歯の発生に重要な役割を担っていることがわかる。

3. HGF

肝細胞増殖因子 (HGF) は、名前の由来どおり、肝細胞の増殖を促進する因子として発見されたが、その後の研究から肝臓再生だけでなく、発生分化にも HGF は関与し、さらに、肝臓だけでなく、腎臓や肺の形態形成においても重要な役割を演じていることが、示唆されている²²⁾。さらに、われわれは、HGF が肢の形態形成や軟骨の形成にも重要であることを示した²³⁾。最近、Tabata ら²⁴⁾は、HGF が歯の形成においても重要であることを示した。HGF 遺伝子は 17 日胚のキャップステージの歯乳頭に発現しており、一方、その受容体である *cMet* は 17 日胚の内エナメル上皮に発現することを発見した。歯形成における HGF の役割を解明するために、彼らは歯胚の組織培養系を用い、アンチセンスオリゴデオキシ核酸

Fig. 9 Model describing the putative SHH receptor and its activation by Shh-N or following inactivation of Ptc. A, inactivate receptor; B, ligand-dependent activation; C, constitutive activation without Ptc. (Modified Fig. 6 in ref. 16)

(ODN) を用いて HGF の mRNA の翻訳過程をブロックする実験を行った。その結果、HGF の効果をブロックすると、歯胚の上皮と間葉の形態が崩れ、本来上皮が間葉を包むようになっている歯胚の形態が、逆に間葉が上皮を取り囲む形態に変化することを発見した(図 11)。このような効果が、HGF の作用をブロックした結果であることは、アンチセンス ODN を加えた系に HGF を添加することによって、正常な歯胚が形成されることから確認された。そこで、なぜ上皮-間葉の逆転現象が生じるのかを解明するため、上皮と間葉の増殖活性を調べたところ、HGF 作用のブロックにより、エナメル上皮細胞の増殖と間葉の歯乳頭の細胞の増殖のバランスが崩れ、

Fig. 10 Expression patterns of *Bmp4*, *Bmp2*, *Shh*, and *Notch2* during early tooth development. Expression regions are indicated by ■.

Fig. 11 Schematic representation of the control, and HGF sense- and antisense-treated explants. In the antisense-treated explant, the enamel organ is surrounded by a thin layer of dentin and dental papilla, appearing "inside-out" compared with the control and sense-treated explants. eo, enamel organ; dp, dental papilla; arrow, dentin. (Modified Fig. 5 in ref. 24)

相対的に間葉側の増殖速度が高くなり、逆転現象が生じたと考えられた²⁴⁾。これらの結果から、HGFが歯の正常な発生には不可欠であることが示された。

4. FGF

線維芽細胞増殖因子 (FGF) は現在までに 10 種類が知られており、さらに増加すると考えられている。数種類の FGF が歯の形成に関与していると考えられるが、注目されているのは、FGF4 である²⁵⁾。FGF4 はヒトの胃ガンの細胞から初めて同定された FGF で、当初は hst と呼ばれていた。発生過程においては、肢芽の肥厚した上皮である AER の後部に特異的に発現し、SHH と相互作用していることが知られている²⁶⁾。歯胚においても、FGF4 は 14 日胚エナメル上皮、特に歯の発生のシグナルセンターであると考えられているエナメル結節と呼ばれる領域に発現している。この領域には *Shh* が発現しており、FGF4 と SHH との相互作用が発生のシグナルとして重要であると考えられる。興味あることに、四肢の形成過程において、肢芽の後部は ZPA と呼ばれるシグナルセンターであると考えられ、その領域の間葉に *Shh* が、対応する上皮に *Fgf4* が発現し相互に発現を維持していることが報告されている²⁶⁾。Vahtokari ら¹²⁾は、歯発生過程において増殖だけでなくアポトーシスも生じ、複雑な形態が構築されることを報告している。興味あることに、歯胚で生じるアポトーシスが、FGF4 の添加により抑制されることを報告している。特に、シグナルセンターであると考えられるエナメル結節は役目を終えるとアポトーシスにより除去されると考えている。

5. 関連する因子：Notch

ショウジョウバエ Notch は神経分化に関係しており、そのタンパク質は 300 kD の膜貫通型受容体である。細胞外ドメインには 36 個の EGF モチーフがある。Notch タンパク質は Delta あるいは Serrate と呼ばれるタンパク質と相互作用することが知られている²⁷⁾。Notch の役割については、ショウジョウバエの系で詳しく調べられている。*Notch* は脊椎動物においても発見されており、現在 4 種類知られている²⁸⁾。ショウジョウバエの場合と同様に、細胞の分化に関与していることが報告されている。*Notch* は歯胚においても発現しており (図 10)²⁹⁾、マウス 11 日胚の歯の形成領域の上皮に発現し、13 日胚では *Notch1* と 2 は上皮に、*Notch1* は間葉にも発現するが、*Notch3* は発現が消失する。歯胚の器官培養系を用いた実験により、*Notch* 遺伝子の発現抑制と上皮細胞のエナメル芽細胞への運命の決定が関連していることが示唆さ

れた。*Notch* 遺伝子の発現はレチノイン酸により誘導されることから、レチノイン酸による歯の発生の調節に *Notch* が関与していることが示唆された²⁹⁾。

歯の発生のモデル

歯の発生には多くの遺伝子が関与しているであろう。しかし、歯の形態形成を司る遺伝子群は、他の組織や器官の発生分化に関与している遺伝子群と共通である。したがって、他の器官などの発生分化のメカニズムを参考に、歯の発生メカニズムに関してある程度予想することが可能である。たとえば、毛、歯、汗腺の形成不全など 150 以上もの症状を伴う症候群である anhidrotic ectodermal dysplasia (EDA) においては、一つの原因遺伝子の突然変異により、さまざまな組織が異常になることから、それらの組織形成に共通のメカニズムが存在することが示唆される。Kere ら³⁰⁾は最近、X 染色体にある EDA の原因遺伝子の同定に成功した。この遺伝子は、新しい膜貫通型タンパク質で、皮膚や毛の上皮細胞に発現している。興味あることに、EDA に良く似た症状を示す突然変異マウスが知られており、*Tabby* (*Ta*) と名付けられている。*Ta* の表現型は上皮細胞増殖因子 (EGF) の投与により部分的にレスキューされることから、EDA 遺伝子は EGF のシグナル伝達に関与している可能性が示唆されている。EDA には 150 以上の異なる症状があることから予想して、EDA 遺伝子はファミリーを形成している可能性が高い³⁰⁾。いずれにしても、この遺伝子に象徴されるように、形態形成に関与する遺伝子群は多くが共通であり、歯の発生においても例外ではないと考えられる。その共通性は、歯などが進化の過程で形成されてきたメカニズムに由来している。動物の歯は進化の過程において、ある日突然出現したのではなく、たぶん、何十億年の進化の積み重ねにより生じてきた組織である。歯の起源が何であろうと、現在の歯に進化するためには、起源の組織を形成するたぶん少数の遺伝子群が重複をくり返して、複雑な機能と形態を獲得してきたと考えられる。これらの仮説を考慮して、歯の発生モデルを提案する。

1. 歯の形成位置と形態の決定

歯列の決定に関与していると考えられるホメオボックス遺伝子群は *Dlx*, *Msx*, *Barx* などであるが、これらの遺伝子はすべてショウジョウバエの相同遺伝子である。*Dlx* はショウジョウバエの *Distal-less* (*Dll*) の相同遺伝子である。*Dll* は昆虫の脚などの形成過程において、遠

Fig. 12 Regulation of eyespot formation (top) and tooth development (bottom). Eyespot formation and diversity is regulated in four stages. a, a prepattern of gene activity creates the potential focal pattern reflected by early *Dll* expression; b, *Dll* expression is stabilized only in specific wing subdivisions; c, signaling from the focus induces surrounding cells; d, induced cells later differentiate into scales of different colors depending on their distance from the focus and their position in the wing (top). A butterfly with eyespots. (Modified Figs. 5 and 8 in ref. 31) Schematic representation of sagittal (left) and transversal (middle) sections of a tooth germ at late bell stage. A higher magnification of a cusp (right). Abbreviations are indicated in Fig. 6. (Modified Fig. 1 in ref. 12)

近軸方向の位置情報を担うと考えられている²⁾。最近、蝶のハネの中の模様、特に目玉模様と呼ばれる同心円の模様の位置が、*Dll* によって決定されることが報告された(図 12)³¹⁾。したがって、*Dlx* は脊椎動物において歯も含めた組織の形成において、細胞の位置情報を規定するタンパク質である可能性がある。*Msx* や *Barx* も同様な機能を持ち、*Dlx* との相互作用により位置情報の細密化と細胞分化の調節を行っていると考えられる。もしそうであれば、蝶のハネの目玉模様形成のメカニズムと歯の多重構造形成のメカニズムは類似している可能性がある。

2. 歯胚の分化調節

歯が形成される上皮は肥厚し、やがて陥入し、歯胚が形成される。上皮の肥厚は間葉の細胞により調節されている。上皮肥厚はどんなシグナルにより生じるかまだ不明であるが、肥厚した上皮には *Shh* と *Bmp4* が発現している。*BMP4* の受容体はタイプ I とタイプ II のヘテロ 2 量体を形成し、細胞内シグナル伝達系を活性化する³²⁾。その結果、間葉細胞において、*Msx1* や *Lef1*³³⁾ と呼ばれる転写調節因子を誘導する。一方、SHH は *Ptc-Smo* の系により *BMP2* などを誘導する。間葉においてたぶん FGF

ファミリーや BMP ファミリーあるいは Wnt ファミリーが誘導され、それらが上皮に再び作用し、*Notch* などの発現を調節するのではないかと、考えられる(図 13)。

おわりに

数年前までは、歯の発生について分子レベルで語ることはほとんどできなかったが、断片的な情報からではあるが、次第にその輪郭が見えてきたように思われる。結局、歯は毛などと同じように上皮が進化の過程で変化したものであり、その基本は他の組織同様、上皮-間葉相互作用である。その相互作用の基本は、多少の多様性はあるにしても、同じであり、要は、TGF β ファミリーに属する分子によるセリン/スレオニンのリン酸化を介した情報伝達と、FGF ファミリーなどの分子によるチロシンのリン酸化、SHH などによる cAMP を介した情報伝達により、細胞の成長、細胞死、細胞分化を調節することである。歯になるか毛になるかは、同じ遺伝子の発現を多少モディファイし、最終的にどの特殊なタンパク質を産生するかを決めることによるのであろう。しかし、いかにして歯が形成されるかについては、さらに詳細な

Fig. 13 Epithelial-mesenchymal interactions during tooth development and factors involved in the interaction. A, initiation of epithelial differentiation induced by unknown mesenchymal factors; B, mesenchymal differentiation induced by epithelial factors at bud and cap stages; C, epithelial differentiation induced by mesenchymal factors at bud and cap stages.

研究がもちろん必要である。例えば、歯列がどのようなホメオボックス遺伝子の組合せ(ホメオボックスコード)により決定されているかは、関連する遺伝子群の発現パターンを詳細に研究し、発生工学的な方法で証明して行かなければならない。また、すでにクローニングされている遺伝子について、歯胚における発現のカスケードを詳細に研究しなければならない。歯の形成メカニズムの全体像が解明されるためには、若手の研究者がこの分野に興味を持ち、積極的に研究することが必要不可欠であ

る。この総説が若手の研究者にとって歯の発生に興味を懐くきっかけとなり、今後の研究の一助になれば幸いである。

この総説を執筆する機会を与えていただいた、日本大学松戸歯学部安孫子宜光教授、HGFに関する資料およびこの総説へのコメントをいただいた大阪大学歯学部の栗栖浩二郎教授に感謝致します。

文 献

- 1) 上野直人, 野地澄晴: 形づくりの分子メカニズム, 羊土社, 東京, 1993.
- 2) 野地澄晴: 形態形成遺伝子群の反復作用と重複. 細胞工学 **14**: 1425~1433, 1995.
- 3) Mark, M., Lohnes, D., Mendelsohn, C., Dupe, V., Vonesch, J.L., Kastner, P., Rijli, F., Bloch-Zupan, A. and Chambon, P.: Roles of retinoic acid receptors and of Hox genes in the patterning of the teeth and of the jaw skeleton. *Int. J. Dev. Biol.* **39**: 111~121, 1995.
- 4) Weiss, K., Ruddle, F.H. and Bollekens, J.: *Dlx* and other homeobox genes in the morphological development of the dentition. *Conn. Tissue Res.* **32**: 1~4, 1995.
- 5) 里方一郎, 内山 聖: 不妊を示す *Hoxa10* 欠損マウスと口蓋裂・歯の発生異常を示す *Msx1* 欠損マウスの解. 蛋白質・核酸・酵素 **40**: 2134~2143, 1995.
- 6) Simeone, A., Acampora, D., Pannese, M., D'Esposito, M., Stornaiuolo, A., Gulisano, M., Mallamaci, A., Kastury, K., Druck, T., Huebner, K. and Boncinelli, E.: Cloning and characterization of two members of the vertebrate *Dlx* gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**: 2250~2254, 1994.
- 7) Vastardis, H., Karimbux, N., Guthua, S.W., Seidman, J.G. and Seidman, C.E.: A human *MSX1* homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nature Genet.* **13**: 417~421, 1996.
- 8) Thesleff, I.: Two genes for missing teeth. *Nature Genet.* **13**: 379~380, 1996.
- 9) Tissier-Seta, J.P., Mucchielli, M.L., Mark, M., Mattei, M.G., Goridis, C. and Brunet, J.F.: *Barx 1*, a new mouse homeodomain transcription factor expressed in cranio-facial ectomesenchyme and stomach. *Mech. Dev.* **51**: 3~15, 1995.
- 10) Semina, E.V., Reiter, R., Leysens, N.J., Alward, W.L.M., Small, K.W., Datson, N.A., Siegel-Bartelt, J., Bierke-Nelson, D., Bitoun, P., Zabel, B.U.,

- Carey, J.C. and Murray, J.C. : Cloning and characterization of a novel bicoid-related homeobox transcription factor gene, RIEG, involved in Rieger syndrome. *Nature Genet.* **14** : 392~399, 1996.
- 11) Halder, G., Callaerts, P. and Gehring, W.J. : Induction of ectopic eyes by targeted expression of the eyeless gene in *Drosophila*. *Science* **267** : 1788~1792, 1995.
 - 12) Vaahtokari, A., Aberg, T. and Thesleff, I. : Apoptosis in the developing tooth : association with an embryonic signaling center and suppression by EGF and FGF-4. *Development* **122** : 121~129, 1996.
 - 13) Koyama, E., Yamaai, T., Iseki, S., Ohuchi, H., Nohno, T., Yoshioka, H., Hayashi, Y., Leatherman, J.L., Golden, E.B., Noji, S. and Pacifici, M. : Polarizing activity, Sonic hedgehog, and tooth development in embryonic and postnatal mouse. *Dev. Dyn.* **206** : 59~72, 1996.
 - 14) Riddle, R.D., Johnson, R.L., Laufer, E. and Tabin, C. : Sonic hedgehog mediates the polarizing activity of the ZPA. *Cell* **75** : 1401~1416, 1993.
 - 15) Iseki, S., Araga, A., Ohuchi, H., Nohno, T., Yoshioka, H., Hayashi, Y. and Noji, S. : *Sonic hedgehog* is expressed in epithelial cells during development of whisker, hair and tooth. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **218** : 688~693, 1996.
 - 16) Stone, D.M., Hynes, M., Armanini, M., Swanson, T.A., Gu, Q., Johnson, R.L., Scott, M.P., Pennica, D., Goddard, A., Phillips, H., Noll, M., Hooper, J. E., Sauvage, F. and Rosenthal, A. : The tumour-suppressor gene patched encodes a candidate receptor for Sonic hedgehog. *Nature* **384** : 129~134, 1996.
 - 17) Nusse, R. : Patching up hedgehog. *Nature* **384** : 119~120, 1996.
 - 18) Vainio, S., Karavanova, I., Jowett, A. and Thesleff, I. : Identification of BMP-4 as a signal mediating secondary induction between epithelial and mesenchymal tissues during early tooth development. *Cell* **75** : 45~58, 1993.
 - 19) Bitgood, M.J. and McMahon, A.P. : *Hedgehog* and *Bmp* genes are coexpressed at many diverse sites of cell-cell interaction in the mouse embryo. *Dev. Biol.* **172** : 126~138, 1995.
 - 20) Helder, M.N., Ozkaynak, E., Sampath, K.T., Luyten, F.P., Latin, V., Oppermann, H. and Vukicevic, S. : Expression pattern of osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in human and mouse development. *J. Histochem. Cytochem.* **43** : 1035~1044, 1995.
 - 21) Iseki, S., Osumi-Yamashita, N., Miyazono, K., Franzen, P., Ichijo, H., Ohtani, H., Hayashi, Y. and Eto, K. : Localization of transforming growth factor-beta type I and type II receptors in mouse development. *Exp. Cell Res.* **219** : 339~347, 1995.
 - 22) 野地澄晴, 濃野 勉 : 発生過程における HGF の役割. *実験医学*, **11** : 1125~1129, 1993.
 - 23) Takebayashi, T., Iwamoto, M., Jikko, A., Matsumura, T., Enomoto-Iwamoto, M., Myokai, F., Koyama, E., Yamaai, T., Matsumoto, K., Nakamura, T., Kurisu, K. and Noji, S. : Hepatocyte growth factor/scatter factor modulates cell motility, proliferation, and proteoglycan synthesis of chondrocytes. *J. Cell Biol.* **129** : 1~9, 1995.
 - 24) Tabata, J., Kim, K., Liu, J., Yamashita, K., Matsumura, T., Kato, J., Iwamoto, M., Wakisaka, S., Matsumoto, K., Nakamura, T., Kumegawa, M. and Kurisu, K. : Hepatocyte growth factor is involved in the morphogenesis of tooth germ in murine molars. *Development* **122** : 1243~1251, 1996.
 - 25) Niswander, L. and Martin, G.R. : *Fgf-4* expression during gastrulation, myogenesis, limb and tooth development in the mouse. *Development* **114** : 755~768, 1992.
 - 26) Niswander, L., Jeffrey, S., Martin, G.R. and Tickle, C. : A positive feedback loop coordinates growth and patterning in the vertebrate limb. *Nature* **371** : 609~612, 1994.
 - 27) Rebay, I., Fleming, R.J., Fehon, R.G., Cherbas, L., Cherbas, P. and Artavanis-Tsakonas, S. : Specific EGF repeats of Notch mediate interactions with Delta and Serrate : implications for Notch as a multifunctional receptor. *Cell* **67** : 687~699, 1991.
 - 28) Nye, J.S. and Kopan, R. : Vertebrate ligands for Notch. *Curr. Biol.* **5** : 966~969, 1995.
 - 29) Misiadis, T.A., Lardelli, M., Lendahl, U. and Thesleff, I. : Expression of *Notch1*, *2*, and *3* is regulated by epithelial-mesenchymal interactions and retinoic acid in the developing mouse tooth and associated with determination of ameloblast cell fate. *J. Cell Biol.* **130** : 407~418, 1995.
 - 30) Kere, J., Srivastava, A.K., Montonen, O., Zonana, J., Thomas, N., Ferguson, B., Munoz, F., Morgan, D., Clarke, A., Baybayan, P., Chen, E.Y., Ezer, S.,

- Saarialho-Kere, U., Chappelle, A. and Schlessinger, D. : X-linked anhidrotic (hypohidrotic) ectodermal dysplasia is caused by mutation in a novel transmembrane protein. *Nature Genet.* **13** : 409~416, 1996.
- 31) Brakefield, P.M., Gates, J., Keys, D., Kesbeke, F., Wijngaarden, P.J., Menteiro, A., French, V. and Carroll, S.B. : Developement, plasticity and evolution of butterfly eyespot patterns. *Nature* **384** : 236~242, 1996.
- 32) Nohno, T., Ishikawa, T., Saito, T., Hosokawa, K., Noji, S., Wolsing, D.H. and Rosenbaum, J.S. : Identification of a human type II receptor for Bone Morphogenetic Protein-4 that forms differential heteromeric complexes with Bone Morphogenetic Protein type I receptors. *J. Biol. Chem.* **270** : 22522~22526, 1995.
- 33) Kratochwil, K., Dull, M., Farin, I., Galceran, J. and Grosschedl, R. : *Lef 1* expression is activated by BMP-4 and regulates inductive tissue interactions in tooth and hair development. *Gene & Dev.* **10** : 1382~1394, 1996.