

22q11.2 欠失症候群由来 iPS 細胞による顎骨病態機序の解明

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	オダシマ アヤノ 小田嶋 彩乃
所属等	東京歯科大学口腔科学研究センター リサーチレジデント
プロフィール	東京歯科大学歯科麻酔学講座大学院在籍中、『マウス iPS 細胞による頭部神経堤分化誘導における発現遺伝子の解析』に関する研究を行い、次世代シーケンサーによる解析、細胞生物学・分子生物学に関する基本的な知識および手技を習得。また、障害者歯科治療に従事し多くの症例を経験していく中、歯科領域において様々な病態があることに着目し治療法の確立が重要であると考えた。そこで、顎顔面領域に多くの症状を示す神経堤症の一つである 22q11.2 欠失症候群の病態解明に着目し、治療法確立を目指している。

1. 研究の概要

神経堤症 (Neurocristopathy) は神経堤領域に症状を呈する疾患の総称であり、口蓋裂、小下顎症、象牙質形成不全など神経堤領域に症状を示す。神経堤は象牙質、下顎骨を含む多くの顎顔面・口腔領域組織が形成される。

本研究では神経堤症の一つ 22q11.2 欠失症候群由来 iPS 細胞を用いる。本症候群において神経堤発生分化に問題があるのか、またはその後の神経堤由来組織分化段階に問題があるのかなど顎顔面・口腔領域の病態発症メカニズムはほとんど未解明である。そこで確立した iPS 細胞を用い、病態発症メカニズムを明らかにする。

2. 研究の動機、目的

22q11.2 欠失症候群は歯科的特徴として、口蓋裂、歯の萌出異常、口蓋裂、小下顎症、象牙質形成不全が挙げられ、神経堤症の一つである。頭部神経堤は胎生 3.5 週に発生し、神経堤由来口腔領域組織として下顎骨は胎生 10 週ごろに形成され、神経堤に由来する下顎骨、象牙質、セメント質、歯根膜などの多くの組織が胎生期に発生する。22q11.2 欠失症候群における病態は神経堤領域の異常に起因することを考慮すると、ヒト胎生期における神経堤の発生メカニズム、原因遺伝子の解明が重要であるが、22q11.2 欠失症候群ヒト胎生期の細胞を採取するのは困難である。

そこで、ヒトにおける神経堤細胞から象牙芽細胞の疾患発症メカニズムを解明するためには未分化性を維持する疾患特異的ヒト iPS 細胞を用いることで、ヒト胎生期における神経堤や神経堤由来組織を再現できることが可能であると考えた。正常ヒト iPS 細胞と 22q11.2 欠失症候群由来 iPS 細胞間で分子機能解析を比較検討することで今後、疾患に対する治療の開発、患者の QOL の向上へとつながるという着想に至った。

3. 研究の結果

①22q11.2 欠失症候群患者からの iPS 細胞樹立

本研究は当大学倫理審査の承認を受け (承認番号 875)、22q11.2 欠失症候群患者並びに保護者より同意を得た。患者単核球より中西ら (産総研) から提供を受けたセンダイウイルスベクターにて 22q11.2 欠失症候群患者 iPS 細胞を樹立し、qRT-PCR におけるセンダイウイルス

サイレンシングの確認、未分化性・多分化能を確認した。(図 1)

②疾患特異的 iPS 細胞から神経堤細胞への分化誘導

疾患特異的 iPS 細胞と正常 iPS 細胞を比較するため、iPS 細胞から神経堤細胞分化誘導培地を用いて神経堤細胞へと分化誘導を行った。(図 2)

疾患特異的 iPS 細胞は神経堤分化中期に発現する遺伝子、後期に発現する遺伝子共に正常 iPS 細胞と比較すると発現時期に違いが認められた。後期発現遺伝子は正常 iPS 細胞が 14 日目に急激な上昇を認めるのに対し、疾患特異的 iPS 細胞は 7 日目、14 日目ともに発現が上昇しているものの緩やかであった。

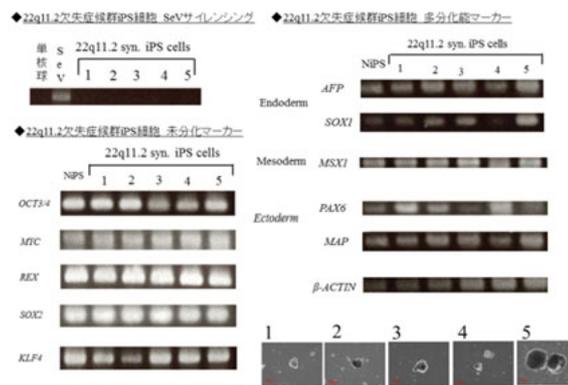


図 1

③疾患特異的 iPS 細胞から象牙芽細胞への分化誘導

②で作成した神経堤細胞を用いて、神経堤細胞から象牙芽細胞への分化誘導を行った。(図 2) 象牙芽細胞分化は正常 iPS 細胞では象牙芽細胞誘導後 14 日目に象牙芽細胞に発現する遺伝子の急激な上昇が認められたが、疾患特異的 iPS 細胞では発現上昇が緩やかであった。

◆22q11.2症候群患者iPS細胞から誘導した各種細胞

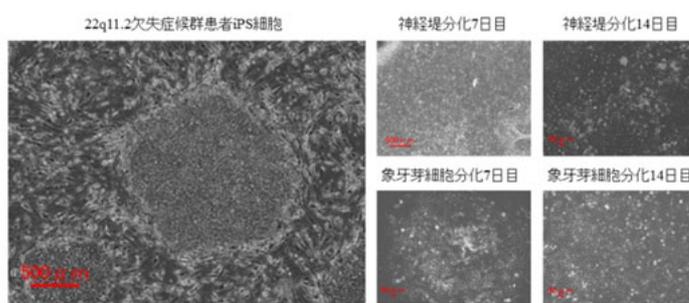


図 2

以上のことから22q11.2欠失症候群患者由来神経堤細胞また象牙芽細胞は正常iPS細胞由来細胞に比べ関連遺伝子の発現時期の遅滞が認められたことから、22q11.2欠失症候群においては象牙芽細胞よりも前段階である神経堤分化段階で成長に差が生じるのではと考えられる。

4. これからの展望

今後は分化誘導を行った神経堤細胞や象牙芽細胞を用いた顎顔面領域の治療法確立を行っていく。また同症候群は口蓋裂も主症状であることから骨芽細胞の分化を行っていく必要があると考えている。

治療法の確立においては各物質の添加群/非添加群の疾患特異的 iPS 細胞と正常 iPS 細胞で神経堤細胞の細胞遊走能、発現遺伝子の比較検討を上記同様 7、14、21 日目の細胞を回収し、経時的に観察する。さらに各物質の添加群/非添加群で誘導した神経堤細胞を上記の骨芽細胞、象牙芽細胞の分化誘導方法を用い、発現遺伝子、硬化能も経時的に比較検討する。

今後は自分自身の歯科領域に関する疾患の解明や再生医療の研究のみならず、大学院生等の研究分野での育成に励み、歯科領域の研究の発展に寄与出来ればと考えております。

5. 社会に対するメッセージ

障害者歯科を受診する患者においては顎顔面領域に多くの症状を示すため、その病態解明、治療法の確立は重要であるとされている。顎顔面領域(歯牙、口蓋、下顎骨)組織は胎生期に発生する。そのため症候群における口蓋裂や象牙質形成不全、下顎骨低形成は胎児期発生段階で症状を呈するが胎児期の細胞を採取することは困難である。そのため今回ヒト胎児期の細胞を再現出来る疾患特異的 iPS 細胞の作成、顎顔面領域分化誘導後の症候群病態解明という考えに至った。

今後は今回作成した疾患特異的 iPS 細胞由来の神経堤細胞や象牙芽細胞を用い、歯科領域における顎顔面領域の治療法の確立を行うことで、患者の QOL 向上を目指していきたいと考

えている。