

[最近のトピックス] 組織学関連

エナメル器におけるversicanの発現について

柴田 俊一, Jiang Bei-Zhan

Shunichi SHIBATA, Jiang Bei-Zhan

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系組織学分野

Division of Histology, Department of Oral Growth and Development, Health Sciences University of Hokkaido

プロテオグリカンは非コラーゲン性の細胞外基質成分で、ヒアルロン酸と会合体を形成するversicanなどの大型プロテオグリカンや、decorin, biglycanなどのleucin-rich小型プロテオグリカンなど様々な分子が同定されており、それらはスペースの確保や細胞との相互作用を通して、様々な器官の形態形成に関与していることが知られている。Versicanは様々な組織で発現が認められているが、歯に関連する組織では、歯乳頭および歯髄組織に多く存在することが知られている¹⁾。しかしながらエナメル器などの上皮組織におけるversicanの発現はヒト歯胚において免疫組織化学的局在が報告されているだけで²⁾、ほとんど検索されていないのが現状である。そこで、マウス歯胚エナメル器におけるversicanの発現を*in vivo*での*in situ* hybridization, 免疫組織化学に加え、器官培養とラジオアイソトープを用いたmetabolic labelingの系を用いて検索した。

In situ hybridizationの結果、early bud stage歯胚の上皮にversican mRNAの発現が明瞭に認められるのに対し、間葉組織にはその発現が認められなかった。Bud stageからBell stageへと進むにつれ、歯胚の上皮要素すなわちエナメル器は内・外エナメル上皮、星状網、中間層に区分されるようになる。versican mRNAの発現は星状網ではほとんど認められなくなるが、内・外エナメル上皮では両者の移行部であるcervical loop付近に引き続きその発現が認められた(図1)。

一方cap stage以降は間葉組織、特に歯乳頭組織にversican mRNAの強い発現が認められるようになり、bell stageに到るまで引き続き同部位に強い発現が認められた(図1)。Versican core proteinに対する抗体を用いた免疫組織化学の結果では、ほぼ*in situ* hybridizationと同様の染色傾向が認められた。

またE16.0の歯胚(early bell stage)を摘出し、コラゲ

ナーゼ処理をして上皮成分と間葉成分を分離した後、それぞれの組織からtotal RNAを抽出し、半定量PCR法で、versican mRNAの発現量を測定したところ、上皮組織中には間葉組織とほぼ同様か、やや少ない程度の発現が認められた。

さらに分離したそれぞれの組織を器官培養の系に移し、³⁵Sを培地に添加することによって、metabolic labelingを行い、標識された分子をSuperose 6によるゲルろ過で解析した。その結果、上皮組織の培養上澄中にversicanと考えられる明瞭なピークが認められ(Void volumeの位置)、それは³⁵Sの総標識量の約10%を占めていた(図2)。

以上の結果から歯胚の形成過程では上皮組織(エナメル器)もversicanを発現していることが明らかとなり、この分子が歯胚の形成過程にも重要な役割を演じていることが推測された。

参考文献

- 1) Shibata S et al. Isolation of proteoglycan (versican) aggregates from rat dental pulp. *Arch Oral Biol* 45: 563-568, 2000.
- 2) Yamada K et al. Light and electron microscopical immunohistochemical localization of large proteoglycans in human tooth germs at the bell stage. *Histochem J* 29, 167-175, 1997.

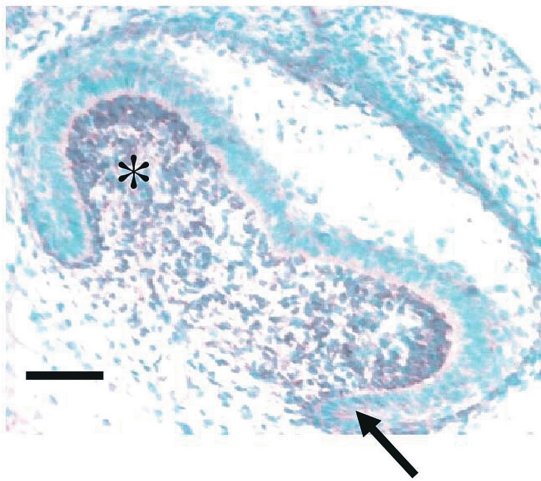


図1 Bell stageの歯胚（胎齢18.5日）の矢状断切片におけるin situ hybridization. Versican mRNAは歯乳頭細胞（*）に強い発現が見られる他, cervical loop付近のエナメル器（矢印）にも発現が認められる. Bar=100 μ m.

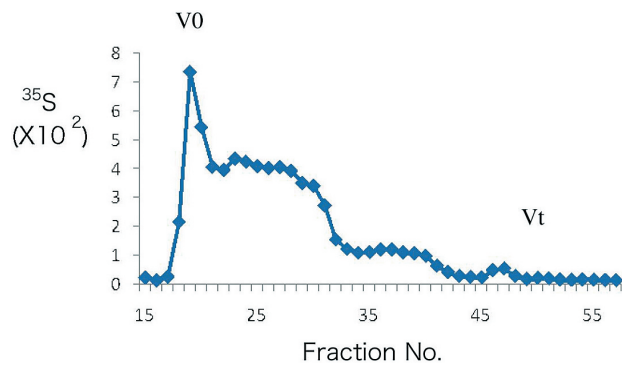


図2 ^{35}S で標識した上皮組織の培養上澄から抽出したサンプルのSuperose 6によるゲル濾過の結果. Void volumeの位置(V_0)にversicanと考えられる明瞭なピークが認められる.