

## 〔Mini Review〕

## エナメル質再生研究の展開

Bolortsetseg Dembereldorj<sup>1)</sup>, 菅谷 裕行<sup>1)</sup>, Syed Taufiqul Islam<sup>2)</sup>, 加藤 大生<sup>1)</sup>,  
市村 彰啓<sup>1)</sup>, 倉重 圭史<sup>1)</sup>, 吉田 光希<sup>3)</sup>, 安彦 善裕<sup>3)</sup>, 齊藤 正人<sup>1)</sup>

- 1) 北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野  
2) 北海道医療大学歯学部口腔生物学系生理学分野  
3) 北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系臨床口腔病理学分野

## The regeneration of enamel : a review of the literature.

Bolortsetseg Dembereldorj<sup>1)</sup>, Hiroyuki Sugaya<sup>1)</sup>, Syed Taufiqul Islam<sup>2)</sup>, Taisei Kato<sup>1)</sup>, Akihiro Ichimura<sup>1)</sup>,  
Yoshihito Kurashige<sup>1)</sup>, Koki Yoshida<sup>3)</sup>, Yoshihiro Abiko<sup>3)</sup>, Masato Saitoh<sup>1)</sup>

- 1) Division of Pediatric dentistry, Department of Oral growth and Development,  
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Hokkaido, Japan.  
2) Division of Physiology, Department of Oral Biology,  
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Hokkaido, Japan.  
3) Division of Oral Medicine and Pathology, Department of Human Biology and Pathophysiology,  
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Hokkaido, Japan.

**Key words** : エナメル質再生, 再生医療, amelogenin

## Abstract

Enamel, which covers the surface of teeth, is the hardest hard tissue in the body. However, once enamel is missing due to dental caries, acid erosion, occlusal wear, or abrasion, it cannot be regenerated. Polymeric polymers such as composite resins are used to repair lost enamel hydroxyapatite. The same material, enamel hydroxyapatite is ideally

suited for enamel restoration. Various studies have been conducted on synthetic and biological hydroxyapatite with the aim of repairing and regenerating missing enamel. The present review reports on studies of enamel hydroxyapatite regeneration.

## 緒 言

人体を構成する硬組織には、エナメル質、象牙質、セメント質、骨そして軟骨の5つが存在しており、軟骨以外はハイドロキシアパタイト (HAP) を主成分としている。歯の表層を覆うエナメル質は、生体内で最も硬度の高い組織で、約95~97%のHAPと約1%のエナメルプロテイン、そして2%の水からなる (Simmer et al., 1995) (Smith et al., 1996)。エナメル質の形成は、エナメル芽細胞の発育に則っており、細胞増殖期、細胞分化期、器質形成期、移行期、成熟期、退縮期の6つに分けられる。退縮期にはエナメル質がほぼ形成され、エナメル芽細胞が退縮・消失し、歯は口腔内へ萌出する。萌出後、

齲蝕や酸蝕症などによりエナメル質が欠損してしまうと再生は行われず、欠損したエナメル質の大きさや部位によって治療法は異なるが、コンポジットレジンによる修復が多く行われている (Ruan et al., 2015)。しかし、コンポジットレジン収縮によるマイクロリーケージや経年劣化により2次齲蝕の危険性が高い材料である (Larsson, 2012; Santos et al., 2019)。エナメル質の欠損修復には、エナメル質と同様な規則的な配列を持つHAPを用いることが理想であるため、エナメル質の欠損を補填・再生することを目的に様々な研究が行われている。

## エナメルマトリックス

エナメル質HAPはエナメル芽細胞から形成される。基

質形成期にエナメル芽細胞は、エナメルマトリックスを分泌し、成熟期において分解および脱却されエナメル質の石灰化度が上昇する。エナメルタンパクは、エナメル質HAPの形成に必須であり、マトリックスプロテインであるamelogenin, ameloblastinおよびenamelin (tufelin) と、エナメルタンパクの分解・脱却に重要なプロテアーゼであるMMP-20 (Enamelysin) とKallikrein-related peptidase-4 (KLK4) などからなる (Bartlett, 2013)。現在、生後6か月のブタ歯胚から抽出・精製され、90%以上がamelogeninであるenamel matrix derivative (EMD) (Andrei et al., 2018; Bartlett et al., 1999) が治療に応用されている。EMDは、歯科領域ではエムドゲイン®として歯周外科治療に、医科領域ではXelma®として創傷治療・再生療法を目的として良好な成績が報告されている (Chadwick et al., 2009) (Romanelli et al., 2008)。ここでは、エナメルプロテインであるamelogeninに焦点をあて最近の知見を紹介する (表1)。

### Amelogenin

エナメル質HAP再生を目的とする研究は、歯胚のエナメル質の形成を模倣しamelogeninが多く研究されている。Amelogenin欠損マウスのエナメル質の厚さは正常マウスの10~20%程度、無秩序な結晶構造、低石灰化および歯の色調異常が認められ、エナメル質のHAP形成においてamelogeninが必要不可欠であることを示唆している (Gibson et al., 2001) (Smith et al., 2016) (Hu et al., 2016)。

Amelogenin遺伝子は脊椎動物の種を越えて高度に保存されており、エナメル質形成に重要な役割を果たしている。構造はN末端側に疎水性領域、C末端側に親水性領

域をもち (Apicella et al., 2017)、最も研究が進んでいるマウスamelogeninでは、すべてのエクソンが翻訳されると194アミノ酸からなる (M194: full length Amelogenin)。しかし、前駆体mRNAに由来する16以上の選択的スプライシングバリエーションが存在し、代表的な選択的スプライシングフォームとして、エクソン1、エクソン4が欠失したM180と、エクソン4とエクソン6の大半が欠失したM59 (leucine-rich amelogenin peptide: LRAP) が知られている (Bartlett et al., 2006)。エナメル質の厚さ、および結晶構造形成においてAmelogenin KOマウスは野生型に比較し、エナメル質の厚さが10~20%減少し結晶構造が不規則になる。Amelogenin KOマウスにトランスジェニック (Tg) -LRAPマウスを交配させても子孫のエナメル質に変化はないものの、Tg-M180マウスと交配した子孫はエナメル質の厚さの増加および結晶構造が規則的になり、さらにTg-LRAPマウスを交配させることでエナメル質の厚さおよび結晶構造が野生型と類似することから、M180とLRAPが相互作用する可能性が報告されている (Gibson et al., 2011)。AmelogeninはMMP-20およびKLK4により分解されるが、分解物の代表的なものに45アミノ酸のチロシンリッチアメロゲニンペプチド (tyrosine-rich amelogenin peptide: TRAP) がある (Wyganowska-Świątkowska et al., 2015)。TRAPに点変異をもつマウスでは、エナメル質の形成不全が生じることが報告されており (Kim et al., 2004) (Gibson et al., 2007)、TLAPもエナメル質の形成に関与しているとみられるが、詳細は不明である (Bartlett, 2013) (図1)。

表1: エナメルマトリックスの働き  
エナメルマトリックスKOマウスにおけるエナメル質の変化

Proteins and proteinases	Phenomenon in Knock out (KO) mouse	function in enamel mineralization	Ref.
Amelogenin	<ul style="list-style-type: none"> <li>エナメル質低形成</li> <li>エナメル小柱構造の不整</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>非晶質Ca-P相の安定化</li> <li>HAP結晶の形態・組織制御</li> <li>エナメル質厚さの制御</li> </ul>	(Bidlack et al., 2017; Guo et al., 2015; Pugach et al., 2014)
Ameloblastin	<ul style="list-style-type: none"> <li>エナメル芽細胞の極性消失</li> <li>エナメル質の剥離</li> <li>象牙質表層への異形成層形成</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>細胞接着</li> <li>細胞分化の制御</li> <li>HAP結晶構造の維持</li> </ul>	(Dong et al., 2022; Liang et al., 2019; Wazen et al., 2009)
Enamelin (tufelin)	<ul style="list-style-type: none"> <li>エナメル質低形成</li> <li>エナメル小柱構造の不整</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>アメロジェニンとの相互作用</li> <li>結晶コアの生成</li> <li>HAP結晶の伸長</li> </ul>	(Dong et al., 2022; Yan et al., 2017)
Amelotin	<ul style="list-style-type: none"> <li>エナメル質低形成</li> <li>エナメル質硬度の減少</li> </ul>		(Núñez et al., 2016)
KLK-4	<ul style="list-style-type: none"> <li>エナメル質低形成</li> <li>エナメル質硬度の減少</li> <li>エナメル質の剥離</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>エナメルタンパクの消化およびエナメル質の成熟</li> </ul>	(Núñez et al., 2016; Simmer et al., 2009)
Mmp-20	<ul style="list-style-type: none"> <li>エナメル質低形成</li> <li>エナメル質硬度の減少</li> <li>エナメル小柱構造の不整</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>エナメルタンパクの切断</li> </ul>	(Smith et al., 2011; Bartlett et al., 2004)

## エナメル質再生研究の展開

エナメル質は、HAPを主成分として構成される。アパタイトは、六方晶系、空間群は $P6_3/m$ 、化学式 $M_{10}(ZO_4)_6X_2$ で表される結晶の総称である。アパタイトは、大きく分けて3つに分類される。エナメル質や骨など生体が生体アパタイト、火成岩や水成岩の「鉱物アパタイト」、化学合成により作られる「合成アパタイト」となる。これまでに欠如したエナメル質を補填するために、合成アパタイトと生体アパタイトの研究が行われておりPandyaらは研究系を5つに分類している(Pandya et al., 2019)。合成アパタイトに関しては、①エナメル質HAPの物理化学的合成(enamel synthesis using physicochemical means)、②エナメルマトリックスタンパク質によるエナメル質HAP結晶誘導(protein matrix-guided enamel crystal growth)、③エナメル質表面の再石灰化(enamel surface remineralization)があげられる。生体アパタイトでは、④エナメル芽細胞によるエナメル質HAPの再生(cell-based enamel engineering)、そして、⑤歯胚再生(biological enamel regeneration based on de novo induction of tooth morphogenesis)がある。

### 1. エナメル質の物理化学的合成

エナメル質の物理化学的合成は、エナメル質を構成する生体アパタイト類似物を合成アパタイトにより補填する方法である。この合成アパタイトは、炭酸カルシウムを約1000℃で焼成し、窒素下など非生理的環境下で合成される。作製された合成HAPは、エナメル質と同様に化学量論組成が1.67に相当する(Chen et al., 2005)。エナメル質は、HAPが規則的に配列しているが、合成アパタイトではエナメル質に類似した規則的配列の再現は困難である。また、作製過程で次亜塩素酸ナトリウム、界面活性剤、ビスホスホネートなどが必要であり、有毒性も

あることから臨床応用が難しいとされている(Chen et al., 2005; Chen et al., 2006; Ren et al., 2012)。

### 2. エナメルマトリックスタンパク誘導によるエナメル質結晶の生化学的生成

組織工学的に天然歯のエナメル質形成を模倣するには、amelogeninを豊富に含むエナメルタンパクを用い、これに多量のリン酸イオンおよびカルシウムイオンを反応させることが必要である。初期エナメル質は、約60~70%の水、20~30%のタンパク、15~20%のイオンで構成され(Atsawasuwan et al., 2013; Robinson et al., 1988)、エナメルタンパクの90%はAmelogeninであることから、Amelogeninを使用した研究がほとんどである。生体アパタイトの形成にはAmelogeninが重要であるが、その働きは直接石灰化を誘導するのではなく、アパタイト核の形成、c軸結晶の成長、アパタイト間の間隔調整を担っている(Eastoe, 1960, 1979; Margolis et al., 2006; Moradian-Oldak, 2012; Pandya et al., 2017)。Amelogeninを使用したバイオミネラリゼーションの研究では、リン酸カルシウム添加した飽和石灰化培地が使用され(Noro et al., 2015)、ハイドキシアパタイトの形成は認められるものの、生体アパタイトと同等のサイズや構造、合成HAPに匹敵する硬度の形成には至っていない(Wang et al., 2017)。

### 3. エナメル質表面への再石灰化および石灰化誘導

歯の萌出後、エナメル質を形成したエナメル芽細胞は消失するため、失われたエナメル質の再生は困難である。エナメル質を齲蝕により実質欠損することがないように、エナメル質表層を機械的ないし化学的に組成を変更させる方法や、Amelogeninを使用してエナメル質表層にHAPを作製する方法が報告されている。化学的組成を変更するには、フッ化物を用いてエナメル質のHAPをフル

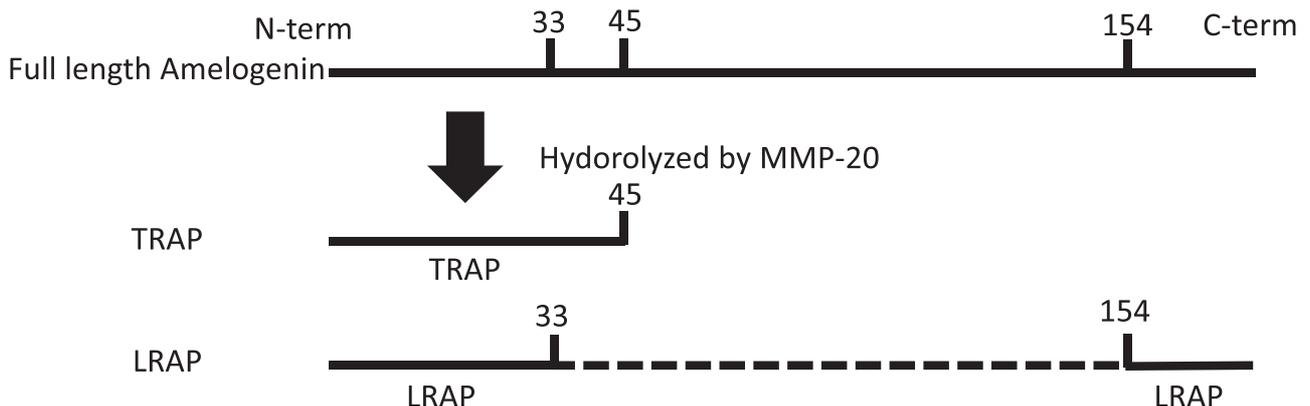


図1：アメロゲニン切断産物  
全長amelogeninは、MMP-20により切断されTRAP (1-45)とLRAP (1-33および115-180)が生じる。

オロアパタイトやフルオロHAPに置換させ、耐酸性を向上させる方法が一般的である (Moreno et al., 1974 ; Lynch et al., 2012). しかし、フッ化物の過剰摂取は、斑状歯を生じる可能性があることが欠点となる (Martinez-Mier et al., 2016). 全長AmelogeninやN末端、C末端、中央部、TRAP、そしてLRAPや他のスプライシングフォームを使用したリコンビナントAmelogeninを使用し、エナメル質に自然誘導型HAPを形成する研究も行われている。TRAPはself-assemble (Zhu et al., 2011)、中央部はHAPの結晶間隔を調整し (Jin et al., 2009)、C末端はHAPの結晶表面への接着に関わると報告されている (Zhang et al., 2011). これらのリコンビナントAmelogeninを使用した研究では、エナメル質表層に石灰化を誘導することはできるがエナメル質の様な規則的なHAP構造には至っておらず、硬度や再現性については不明である。リコンビナントAmelogeninの研究では十分な結果が得られていないため、self-assemble合成ペプチドによるHAPの誘導が数多く報告されている。海外では、self-assemble合成ペプチドであるP<sub>11</sub>-4が歯磨剤 (Curodont repair<sup>®</sup>) に使用されている。P<sub>11</sub>-4は、 $\beta$ シート構造を有し、平面状の構造をなしており (Aggeli et al., 2003)、そこに唾液が含まれるとカルシウムイオンやリン酸イオンが吸着しHAPを誘導するものである (Palmer et al., 2008) (Hojabri et al., 2022). これらのタンパクおよびペプチドは、エナメル質表層の石灰化を誘導するものの、実質欠損部を補うほどの厚径の添加は困難であり (Wierichs et al., 2017)、表層下脱灰への再石灰化の処置として使用されている。最近、in vitroにおいてエナメル質HAPの硬度およびある程度の厚径をもつHAP誘導ペプチドが報告された。Mukherjeeら (Mukherjee et al., 2018) は、脱灰エナメル質に、Amelogeninの配列に含まれるrP26およびrP32を1週間浸漬することにより30 $\mu$ mのHAPを形成し、硬度もエナメル質に近い値であることを報告している。しかし、in vitroの研究であり今後のさらなる研究報告がのぞまれる。

#### 4. エナメル芽細胞によるエナメル質の再生 (cell-based enamel engineering)

合成アパタイトの形成は可能になりつつあるものの、生体エナメル質に類似した配列をもつHAPの誘導は成功していない。そこで、エナメル質を形成するエナメル芽細胞様細胞を使用した再生研究が行われている。エナメル芽細胞は、歯の萌出時は消失しているため、エナメル器から単離されたAmelogeninを発現する歯原性上皮細胞が報告されており、マウスエナメル芽細胞様細胞株

(ALC) (Nakata et al., 2003)、ラット歯原性上皮細胞株 (HAT-7) (Kawano et al., 2002)、マウスエナメル芽細胞様細胞株 (LS8) (Huang et al., 2008) がある。またブタ歯原性上皮細胞株 (PABSo-E) (DenBesten et al., 1999)、ラット歯原性上皮株 (SF2-24) (Arakaki et al., 2012) などである。また不死化されていないサービカルループ細胞やマラッセ上皮遺残細胞 (Hemeryck et al., 2022 ; Shimura et al., 2008)、iPS細胞を使用してエナメル芽細胞に誘導する研究が行われている (Chavez et al., 2014 ; Cai et al., 2013). しかし、エナメル質石灰化の誘導や、iPS細胞からAmelogenin発現エナメル上皮様細胞への誘導は報告されているが、エナメル質HAPのような生体アパタイトの形成には至っていない。

歯の形成は、上皮間葉相互作用により形成される (Tziafas et al., 2010). エナメル質も上皮間葉相互作用により形成されるため、Amelogeninのみでは、エナメル質生体アパタイトの形成は難しいことが示唆されている。

#### 5. 歯胚再生 (biological enamel regeneration based on de novo induction of tooth morphogenesis)

歯胚は歯原性上皮と間葉細胞により構成されることから、マウスにおいて歯胚から歯原性上皮と間葉細胞を単離し、歯胚のように再構築させて、副腎や顎骨内に移植し歯を再生させることが可能となった (Ono et al., 2017 ; Nakao et al., 2007 ; Ohazama et al., 2004). 再生された歯は、エナメル質、象牙質、セメント質、歯根膜の形成をみると、通常の歯と同じように使用することが可能となっている。しかし、特定の歯冠形態に誘導することは成功していない。また、歯胚の再構築には、歯胚から歯原性上皮と間葉系細胞を単離しており、ヒトでは倫理および技術的にも困難である。

### 最後に

現在、エナメル質HAPの再生において様々な研究が行われている。しかし、エナメル質HAPのように規則的な配列も認めるHAPの合成には至っていない。今後、さらなる研究報告がのぞまれる。

### 参考文献

- Aggeli A, Bell M, Carrick LM, Fishwick CWG, Harding R, Mawer PJ, Radford SE, Strong AE, Boden N. pH as a Trigger of Peptide  $\beta$ -Sheet Self-Assembly and Reversible Switching between Nematic and Isotropic Phases. *Journal of the American Chemical Society*, 125 : 9619-9628, 2003.

- Andrei M, Dinischiotu A, Didilescu AC, Ionita D, Demetrescu I. Periodontal materials and cell biology for guided tissue and bone regeneration. *Ann Anat*, 216 : 164–169, 2018.
- Apicella A, Marascio M, Colangelo V, Soncini M, Gautieri A, Plummer CJG. Molecular dynamics simulations of the intrinsically disordered protein amelogenin. *J Biomol Struct Dyn*, 35 : 1813–1823, 2017.
- Arakaki M, Ishikawa M, Nakamura T, Iwamoto T, Yamada A, Fukumoto E, Saito M, Otsu K, Harada H, Yamada Y, Fukumoto S. Role of epithelial–stem cell interactions during dental cell differentiation. *J Biol Chem*, 287 : 10590–10601, 2012.
- Atsawasuwan P, Lu X, Ito Y, Chen Y, Gopinathan G, Evans CA, Kulkarni AB, Gibson CW, Luan X, Diekwisch TG. Expression and function of enamel–related gene products in calvarial development. *J Dent Res*, 92 : 622–628, 2013.
- Bartlett JD. Dental enamel development : proteinases and their enamel matrix substrates. *ISRN Dent*, 2013 : 684607, 2013.
- Bartlett JD, Beniash E, Lee DH, Smith CE. Decreased mineral content in MMP–20 null mouse enamel is prominent during the maturation stage. *J Dent Res*, 83 : 909–913, 2004.
- Bartlett JD, Ganss B, Goldberg M, Moradian–Oldak J, Paine ML, Snead ML, Wen X, White SN, Zhou YL. 3. Protein–protein interactions of the developing enamel matrix. *Curr Top Dev Biol*, 74 : 57–115, 2006.
- Bartlett JD, Simmer JP. Proteinases in developing dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med*, 10 : 425–441, 1999.
- Bidlack FB, Xia Y, Pugach MK. Dose–Dependent Rescue of KO Amelogenin Enamel by Transgenes in Vivo. *Front Physiol*, 8 : 932, 2017.
- Cai J, Zhang Y, Liu P, Chen S, Wu X, Sun Y, Li A, Huang K, Luo R, Wang L, Liu Y, Zhou T, Wei S, Pan G, Pei D. Generation of tooth–like structures from integration–free human urine induced pluripotent stem cells. *Cell Regen*, 2 : 6, 2013.
- Chadwick P, Acton C. The use of amelogenin protein in the treatment of hard–to–heal wounds. *Br J Nurs*, 18 : S 22, S24, S26, passim, 2009.
- Chavez MG, Hu J, Seidel K, Li C, Jheon A, Naveau A, Horst O, Klein OD. Isolation and culture of dental epithelial stem cells from the adult mouse incisor. *J Vis Exp*, 2014.
- Chen H, Clarkson BH, Sun K, Mansfield JF. Self–assembly of synthetic hydroxyapatite nanorods into an enamel prism–like structure. *J Colloid Interface Sci*, 288 : 97–103, 2005.
- Chen H, Tang Z, Liu J, Sun K, Chang S–R, Peters MC, Mansfield JF, Czajka–Jakubowska A, Clarkson BH. Acellular Synthesis of a Human Enamel–like Microstructure. *Advanced Materials*, 18 : 1846–1851, 2006.
- DenBesten PK, Gao C, Li W, Mathews CH, Gruenert DC. Development and characterization of an SV40 immortalized porcine ameloblast–like cell line. *Eur J Oral Sci*, 107 : 276–281, 1999.
- Dong C, Lamichhane B, Yamazaki H, Vasquez B, Wang J, Zhang Y, Feng JQ, Margolis HC, Beniash E, Wang X. The phosphorylation of serine(55) in enamelin is essential for murine amelogenesis. *Matrix Biol*, 111 : 245–263, 2022.
- Eastoe JE. Organic matrix of tooth enamel. *Nature*, 187 : 411–412, 1960.
- Eastoe JE. Enamel protein chemistry—past, present and future. *J Dent Res*, 58 : 753–764, 1979.
- Gibson CW, Li Y, Suggs C, Kuehl MA, Pugach MK, Kulkarni AB, Wright JT. Rescue of the murine amelogenin null phenotype with two amelogenin transgenes. *Eur J Oral Sci*, 119 Suppl 1 : 70–74, 2011.
- Gibson CW, Yuan ZA, Hall B, Longenecker G, Chen E, Thyagarajan T, Sreenath T, Wright JT, Decker S, Piddington R, Harrison G, Kulkarni AB. Amelogenin–deficient mice display an amelogenesis imperfecta phenotype. *J Biol Chem*, 276 : 31871–31875, 2001.
- Gibson CW, Yuan ZA, Li Y, Daly B, Suggs C, Aragon MA, Alawi F, Kulkarni AB, Wright JT. Transgenic mice that express normal and mutated amelogenins. *J Dent Res*, 86 : 331–335, 2007.
- Guo J, Lyaruu DM, Takano Y, Gibson CW, DenBesten PK, Bronckers AL. Amelogenins as potential buffers during secretory–stage amelogenesis. *J Dent Res*, 94 : 412–420, 2015.
- Hemeryck L, Hermans F, Chappell J, Kobayashi H, Lambrechts D, Lambrichts I, Bronckaers A, Vankelecom H. Organoids from human tooth showing epithelial stemness phenotype and differentiation potential. *Cell Mol Life Sci*, 79 : 153, 2022.
- Hojabri N, Kunzelmann KH. Adhesion and whitening effi-

- cacy of P11-4 self-assembling peptide and HAP suspension after using NaOCl as a pre-treatment agent. *BMC Oral Health*, 22 : 59, 2022.
- Hu Y, Smith CE, Cai Z, Donnelly LA, Yang J, Hu JC, Simmer JP. Enamel ribbons, surface nodules, and octacalcium phosphate in C57BL/6 *Amelx*(-/-) mice and *Amelx*(+/-) lyonization. *Mol Genet Genomic Med*, 4 : 641-661, 2016.
- Huang Z, Sargeant TD, Hulvat JF, Mata A, Bringas P, Jr., Koh CY, Stupp SI, Snead ML. Bioactive nanofibers instruct cells to proliferate and differentiate during enamel regeneration. *J Bone Miner Res*, 23 : 1995-2006, 2008.
- Jin T, Ito Y, Luan X, Dangaria S, Walker C, Allen M, Kulkarni A, Gibson C, Braatz R, Liao X, Diekwisch TG. Elongated polyproline motifs facilitate enamel evolution through matrix subunit compaction. *PLoS Biol*, 7 : e1000262, 2009.
- Kawano S, Morotomi T, Toyono T, Nakamura N, Uchida T, Ohishi M, Toyoshima K, Harada H. Establishment of dental epithelial cell line (HAT-7) and the cell differentiation dependent on Notch signaling pathway. *Connect Tissue Res*, 43 : 409-412, 2002.
- Kim JW, Simmer JP, Hu YY, Lin BP, Boyd C, Wright JT, Yamada CJ, Rayes SK, Feigal RJ, Hu JC. Amelogenin p.M1T and p.W4S mutations underlying hypoplastic X-linked amelogenesis imperfecta. *J Dent Res*, 83 : 378-383, 2004.
- Larson TD. The clinical significance of marginal fit. *Northwest Dent*, 91 : 22-29, 2012.
- Liang T, Hu Y, Smith CE, Richardson AS, Zhang H, Yang J, Lin B, Wang SK, Kim JW, Chun YH, Simmer JP, Hu JC. AMBN mutations causing hypoplastic amelogenesis imperfecta and *Ambn* knockout-NLS-lacZ knockin mice exhibiting failed amelogenesis and *Ambn* tissue-specificity. *Mol Genet Genomic Med*, 7 : e929, 2019.
- Lynch RJ, Smith SR. Remineralization agents – new and effective or just marketing hype? *Adv Dent Res*, 24 : 63-67, 2012.
- Margolis HC, Beniash E, Fowler CE. Role of macromolecular assembly of enamel matrix proteins in enamel formation. *J Dent Res*, 85 : 775-793, 2006.
- Martinez-Mier EA, Shone DB, Buckley CM, Ando M, Lippert F, Soto-Rojas AE. Relationship between enamel fluorosis severity and fluoride content. *J Dent*, 46 : 42-46, 2016.
- Moradian-Oldak J. Protein-mediated enamel mineralization. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 17 : 1996-2023, 2012.
- Moreno EC, Kresak M, Zahradnik RT. Fluoridated hydroxyapatite solubility and caries formation. *Nature*, 247 : 64-65, 1974.
- Mukherjee K, Ruan Q, Nutt S, Tao J, De Yoreo JJ, Moradian-Oldak J. Peptide-Based Bioinspired Approach to Regrowing Multilayered Aprismatic Enamel. *ACS Omega*, 3 : 2546-2557, 2018.
- Nakao K, Morita R, Saji Y, Ishida K, Tomita Y, Ogawa M, Saitoh M, Tomooka Y, Tsuji T. The development of a bioengineered organ germ method. *Nat Methods*, 4 : 227-230, 2007.
- Nakata A, Kameda T, Nagai H, Ikegami K, Duan Y, Terada K, Sugiyama T. Establishment and characterization of a spontaneously immortalized mouse ameloblast-lineage cell line. *Biochem Biophys Res Commun*, 308 : 834-839, 2003.
- Noro D, Kurashige Y, Shudo K, Takahashi A, Abiko Y, Saitoh M. Effect of epithelial cells derived from periodontal ligament on osteoblast-like cells in a Transwell membrane coculture system. *Arch Oral Biol*, 60 : 1007-1012, 2015.
- Núñez SM, Chun YP, Ganss B, Hu Y, Richardson AS, Schmitz JE, Fajardo R, Yang J, Hu JC, Simmer JP. Maturation stage enamel malformations in *Amtn* and *Klk4* null mice. *Matrix Biol*, 52-54 : 219-233, 2016.
- Ohazama A, Modino SA, Miletich I, Sharpe PT. Stem-cell-based tissue engineering of murine teeth. *J Dent Res*, 83 : 518-522, 2004.
- Ono M, Oshima M, Ogawa M, Sonoyama W, Hara ES, Oida Y, Shinkawa S, Nakajima R, Mine A, Hayano S, Fukumoto S, Kasugai S, Yamaguchi A, Tsuji T, Kuboki T. Practical whole-tooth restoration utilizing autologous bioengineered tooth germ transplantation in a postnatal canine model. *Sci Rep*, 7 : 44522, 2017.
- Palmer LC, Newcomb CJ, Kaltz SR, Spoerke ED, Stupp SI. Biomimetic Systems for Hydroxyapatite Mineralization Inspired By Bone and Enamel. *Chemical Reviews*, 108 : 4754-4783, 2008.
- Pandya M, Diekwisch TGH. Enamel biomimetics-fiction or future of dentistry. *Int J Oral Sci*, 11 : 8, 2019.
- Pandya M, Lin T, Li L, Allen MJ, Jin T, Luan X, Diekwisch TGH. Posttranslational Amelogenin Processing and Changes in Matrix Assembly during Enamel Develop-

- ment. *Front Physiol*, 8 : 790, 2017.
- Pugach MK, Ozer F, Mulmadgi R, Li Y, Suggs C, Wright JT, Bartlett JD, Gibson CW, Lindemeyer RG. Shear bond strength of dentin and deproteinized enamel of amelogenesis imperfecta mouse incisors. *Pediatr Dent*, 36 : 130–136, 2014.
- Ren F, Ding Y, Ge X, Lu X, Wang K, Leng Y. Growth of one-dimensional single-crystalline hydroxyapatite nanorods. *Journal of Crystal Growth*, 349 : 75–82, 2012.
- Robinson C, Kirkham J, Hallsworth AS. Volume distribution and concentration of protein, mineral and water in developing bovine enamel. *Arch Oral Biol*, 33 : 159–162, 1988.
- Romanelli M, Dini V, Vowden P, Agren MS. Amelogenin, an extracellular matrix protein, in the treatment of venous leg ulcers and other hard-to-heal wounds : experimental and clinical evidence. *Clin Interv Aging*, 3 : 263–272, 2008.
- Ruan Q, Moradian-Oldak J. Amelogenin and Enamel Biomimetics. *J Mater Chem B*, 3 : 3112–3129, 2015.
- Santos ERD, Busato AL. Microleakage in posterior teeth with different materials and different types of cavities. *Indian J Dent Res*, 30 : 783–787, 2019.
- Shimura Y, Tsuchiya S, Hata K, Honda MJ. Quiescent epithelial cell rests of Malassez can differentiate into ameloblast-like cells. *J Cell Physiol*, 217 : 728–738, 2008.
- Simmer JP, Fincham AG. Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Crit Rev Oral Biol Med*, 6 : 84–108, 1995.
- Simmer JP, Hu Y, Lertlam R, Yamakoshi Y, Hu JC. Hypomaturation enamel defects in Klk 4 knockout / LacZ knockin mice. *J Biol Chem*, 284 : 19110–19121, 2009.
- Smith CE, Hu Y, Hu JC, Simmer JP. Ultrastructure of early amelogenesis in wild-type, Amelx(–/–), and Enam(–/–) mice : enamel ribbon initiation on dentin mineral and ribbon orientation by ameloblasts. *Mol Genet Genomic Med*, 4 : 662–683, 2016.
- Smith CE, Nanci A. Protein dynamics of amelogenesis. *Anat Rec*, 245 : 186–207, 1996.
- Smith CE, Richardson AS, Hu Y, Bartlett JD, Hu JC, Simmer JP. Effect of kallikrein 4 loss on enamel mineralization : comparison with mice lacking matrix metalloproteinase 20. *J Biol Chem*, 286 : 18149–18160, 2011.
- Tziafas D, Kodonas K. Differentiation potential of dental papilla, dental pulp, and apical papilla progenitor cells. *J Endod*, 36 : 781–789, 2010.
- Wang H, Xiao Z, Yang J, Lu D, Kishen A, Li Y, Chen Z, Que K, Zhang Q, Deng X, Yang X, Cai Q, Chen N, Cong C, Guan B, Li T, Zhang X. Oriented and Ordered Biomimetic Remineralization of the Surface of Demineralized Dental Enamel Using HAP@ACP Nanoparticles Guided by Glycine. *Sci Rep*, 7 : 40701, 2017.
- Wazen RM, Moffatt P, Zalzal SF, Yamada Y, Nanci A. A mouse model expressing a truncated form of ameloblastin exhibits dental and junctional epithelium defects. *Matrix Biol*, 28 : 292–303, 2009.
- Wierichs RJ, Kogel J, Lausch J, Esteves-Oliveira M, Meyer-Lueckel H. Effects of Self-Assembling Peptide P 11–4, Fluorides, and Caries Infiltration on Artificial Enamel Caries Lesions in vitro. *Caries Res*, 51 : 451–459, 2017.
- Wyganowska-Świątkowska M, Urbaniak P, Nohawica MM, Kotwicka M, Jankun J. Enamel matrix proteins exhibit growth factor activity : A review of evidence at the cellular and molecular levels. *Exp Ther Med*, 9 : 2025–2033, 2015.
- Yan WJ, Ma P, Tian Y, Wang JY, Qin CL, Feng JQ, Wang XF. The importance of a potential phosphorylation site in enamelin on enamel formation. *Int J Oral Sci*, 9 : e4, 2017.
- Zhang X, Ramirez BE, Liao X, Diekwisch TG. Amelogenin supramolecular assembly in nanospheres defined by a complex helix-coil-PPII helix 3D-structure. *PLoS One*, 6 : e24952, 2011.
- Zhu L, Uskoković V, Le T, Denbesten P, Huang Y, Habellitz S, Li W. Altered self-assembly and apatite binding of amelogenin induced by N-terminal proline mutation. *Arch Oral Biol*, 56 : 331–336, 2011.



Bolortsetseg Dembereldorj

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野 大学院生

2014年6月 モンゴル国立医科学大学 歯学部 歯科医学科 卒業

2014年7月 モンゴル・ウランバートル “Purevjav教授先生 Aesthedent” プライベート  
デンタルクリニック 在籍

2017年6月 モンゴル・中央県 州立総合病院 在籍

2019年4月 北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野  
大学院歯科研究科博士課程 入学