

Connexin43 is required for ameloblastin expression and dental epithelium differentiation

著者	孫 冕
号	48
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	歯博第818号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00126822

氏名(本籍) : 孫 冕 (中国)

学位の種類 : 博士 (歯学) 学位記番号 : 歯博第818号

学位授与年月日 : 2018年3月27日 学位授与の要件 : 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科(博士課程) 歯科学専攻

学位論文題目 : Connexin43 is required for ameloblastin expression and dental epithelium differentiation (コネキシン43はアメロブラスチンの発現および歯原性上皮の分化に必要である)

論文審査委員 : (主査)教授 齋藤正寛
教授 福本敏 教授 若森実

論文内容要旨

Gap junctions are a protein linker that communicates directly with the adjacent cytoplasm. The hemichannels are formed by six connexin subunits which are pass through the cell membrane and the two hemichannels are located on the adjacent cell membrane to form a complete gap junction. Cell-cell interaction via gap junctions is important for the differentiation and maintenance of cellular functions. Gap junction proteins form hexameric complexes that allow the intercellular transport of small molecules including Ca^{2+} , IP3, and cAMP, take an important role of regulation to metabolism of cells, homeostasis, generation, differentiation and so on. Connexin is a large family of proteins that make up the cell gap junction in the human group.

More than 20 cell gap junction proteins have been identified in weaves, connexin43 (Cx43), which is encoded by Gjal gene, is one of the most widely distributed and studied tissues in this family of proteins. To members, mainly expressed in the myocardium, lungs, smooth muscle, lens, fibroblasts and other tissues. It has been identified as a tumor suppressor gene. This gene is also important in the electrical conduction system of the heart, which may control synchronous sharing of concurrent function in cells. Cx43 is also responsible for several kinds of human diseases, such as cardiovascular diseases, cancer, wound healing, cicatrisation, skin diseases, some reproductive diseases, digestive diseases and nervous system diseases, especially oculodentodigital dysplasia (ODDD), a disorder characterized by congenitally missing teeth, microdontia, enamel hypoplasia, syndactyly, osteodysplasia, and craniofacial deformities.

We investigated the pathogenic mechanisms of ODDD by analyzing Cx43 null mice (Cx43^{-/-}). Then we investigated the expression pattern of Cx43 both in incisors and malors. In incisors,

Cx43 expression increased during the progression of differentiation and was located in the layer of ameloblasts and odontoblasts during the secretory stage. In contrast, expression shifted from ameloblasts to the papillary layer during the maturation. In molars, Cx43 expression intensified in the dental epithelium and mesenchyme after birth and Cx43 protein localized in cell-cell interface of dental epithelial culture to form gap junctions. These observations suggest that Cx43 may regulate the differentiation of ameloblasts and odontoblasts during tooth development.

In mammary gland epithelial cells, Cx43 expression is induced by TGF- β 1 via p38 and PI3kinase/Akt pathway. However, Cx43 expression in dental epithelial cells was not affected by TGF- β 1, with or without gap junction inhibitors, whereas gap junction inhibitors significantly reduced TGF- β 1-induced expression of ameloblastin. Therefore, these findings suggest that the presence of gap junctions is important for the TGF- β 1-mediated expression of ameloblastin. An almost complete lack of induction of ameloblastin by TGF- β 1 was observed in a primary culture of Cx43^{-/-} dental epithelial cells. These results suggest that Cx43 gap junction activity is essential for the TGF- β 1-mediated expression of ameloblastin and dental epithelial differentiation.

Further, TGF- β 1-mediated phosphorylation and nuclear translocations of ERK1/2, but not Smad2/3, were suppressed by gap junction inhibitors. Cx43 regulates intercellular communications through gap junction activities by modulating TGF- β 1-mediated ERK signaling and ameloblastin expression.

審査結果要旨

ギャップジャンクションは細胞間接着において隣接する細胞間の情報伝達を調節するリンカータンパク質である。隣接する細胞において2つのヘミチャネルが一緒になってギャップジャンクションを形成する。細胞膜を貫通する6つのコネキシンサブユニットにより1つのヘミチャネルが形成される。コネキシン43 (CX43) は、コネキシンファミリーの最も重要な遺伝子の1つである。CX43は生理学的な細胞間コミュニケーションにおいて中心的な役割を果たすため、その機能障害は心臓血管疾患、皮膚疾患、生殖疾患、消化器疾患および神経疾患などを引き起こす。CX43の遺伝子変異は先天性欠損歯、矮小歯、エナメル質形成不全、骨形成、骨異形成、および頭蓋顔面変形を特徴とする眼歯指形成異常 (ODDD) を引き起こす。このように歯の奇形がODDDで頻繁に観察されるが、歯の形成におけるCX43の機能的役割は未だ明らかにされていない。

本研究では、ODDDにおけるCX43の病態生理学的役割を解明する研究を実施した。著者は、CX43が歯胚の分泌段階において、エナメル芽細胞および象牙芽細胞で発現することを見出した。エナメル芽細胞は筒状の形態を示す極性化が分化に重要な役割を果たすことが知られている。しかし、CX43ノックアウトマウスの歯では、エナメル芽細胞は観察されず、代わりにエナメル質形成マーカーであるアメロブラスチンの発現減少を伴う極性を失った歯原性上皮細胞が多層化する異常な形態を示していた。TGF- β 1はエナメル芽細胞のアメロブラスチン遺伝子発現を誘導することが示されているが、この誘導はギャップジャンクション阻害剤により阻害された。さらに、TGF- β 1を介するERK-1/2リン酸化および核移行はギャップジャンクション阻害剤によって抑制された。これらの研究成果よりCX43が調整しているギャップジャンクション活性を介して細胞間情報伝達は、TGF- β 1を介したERKシグナル伝達の活性化およびアメロブラスチン遺伝子発現を誘導すること

で、エナメル芽細胞分化を調節していることが示された。

この様に著者はエナメル芽細胞分化および ODDD の発症に対する CX43 の役割を解明した。この研究は小児歯科の分野においてエナメル質形成不全症の解明に重要な情報を提供することから、臨床的にも大きな意義があると判断される。よって、本論文は博士（歯学）の学位授与に値すると認める。