
基礎教育講演

iPS 細胞を用いた臨床応用の基礎と課題

野間 隆文

キーワード：iPS cell, personalized medicine, regenerative medicine,
tooth development and morphogenesis, tooth regeneration

Basics and Perspectives on the Regeneration Therapy using iPS cells

Takafumi NOMA

Abstract : In 2006, the iPS cells have come out in the world. When calling the "pluripotent stem cell" till then, it was an embryonic stem cell, but there were two issues that should be conquered on using an embryonic stem cell. One is an ethical problem and another is rejection. The "new hero iPS cell" showed overwhelming predominancy on these problems. By establishing innovative stem cell technology prior to the world, aiming at its utilization in regeneration medicine is advocated as an important research mission of the life science field in our country. In that meaning, the iPS cell development attracts much attention.

However, we have still many problems to be solved, such as prevention of iPS cell-derived carcinogenesis, improvement of establishing efficiency of iPS cell, selection of iPS cell source from tissues, establishment of the differentiation inducing method, purifying method of induced cells from iPS cells and its improvement of the purity in induced cell fraction.

Here, I would like to summarize the contents of an educational lecture performed at the 39th Annual Meeting of Shikoku Society of Dental Research, and to describe the present status and perspectives about iPS cell-mediated regeneration medicine, especially the possibility and the subject of our research trial aimed at tooth regeneration.

はじめに

2006年にiPS細胞が颯爽と世に登場した。それまで“多能性幹細胞”の主役の座は胚性幹細胞(ES細胞)であったが、ES細胞には二つの克服すべき課題があった。一つは倫理的問題、もう一つは移植拒絶である。これらの問題で圧倒的な優位性をアピールしたのが“ニューヒーローiPS細胞”である。革新的な幹細胞操作技術や治療技術等を世界に先駆けて確立し、再生医療の実用化を目指すことは、国の「ライフサイエンス分野の重点研究課題」として提唱されている。その意味においてiPS細胞には大いに期待が集まっている。しかしながら、現実

は、ガン化の防止、iPS化の効率向上、採取すべき細胞の組織はどこにするか、さらには再生のための分化誘導法の確立と分化後の純度向上や純化方法等、克服すべき課題もまだ多くあるのが実情である。本総説では、第39回四国歯学会で行った教育講演内容であるiPS細胞を用いる再生療法の可能性と課題について整理し、私たちの研究グループが目指している歯の再生へ向けた研究の現状と課題について述べてみたい。

1. 臓器としての歯の重要性

平成元年(1989年)に80歳になっても自分の歯を20

本以上残そうとする「8020運動」が厚生省（現・厚生労働省）と日本歯科医師会によって提唱されてから、22年が経つ¹⁾。それ以降、厚生労働省から公表されている6年毎の歯科疾患実態調査結果によると、80歳から84歳において20歯以上有する者の割合は、平成5年が11.7%、平成11年が13.0%、平成17年が21.1%（歯残数は約10本）と改善傾向にある²⁾。

歯のある生活は、単に食物の咀嚼・嚥下を通じた栄養補給にとどまらず、食事自体を楽しむこと、会話を楽しむこと、さらには歯で噛むことが神経機能の賦活化を介した認知症予防にも繋がるといわれている。つまり、私たちの歯は生活の質（QOL）の維持・増進を通して、健康長寿の延伸にはなくてはならない臓器の一つとも言える。したがって、喪失歯の再建・再生は健康長寿に関わる重要な課題である。

2. 遺伝的プログラムによる歯の発生

歯の発生 (odontogenesis) には歯の形態 (morphogenesis) と歯数 (dentition) の決定という歯の組織を規定する重要な問題が含まれる³⁾。さらに歯の組織構造の構築機転として、エナメル質形成 (amelogenesis)、象牙質形成 (dentinogenesis)、セメント質形成 (cementogenesis) がある。臓器としての歯は、発生過程で第一鰓弓部の歯芽予定領域の一層の表皮細胞由来の口腔粘膜上皮が肥厚してくる歯堤肥厚期からはじまり、以後上皮細胞と神経堤由来の間葉細胞との間の相互作用により、歯胚の形態形成を進め、蕾期、帽状期、鐘状期と言う発生過程を踏んで、歯冠部や歯根部を形成し、出生後、萌出して口腔内に現れる。歯の種類は顎の位置情報であるホメオボックス遺伝子や増殖因子などの発現パターンによって、切歯、犬歯、小白歯、大白歯が規定されると考えられている。例えば、外胚葉性の開始シグナル PITX2 が上皮細胞内に発現すると切歯側で BMP4、白歯側で FGF8 といった増殖因子が誘導され、それらが神経堤由来外胚葉性間葉の切歯部で MSX1 や MSX2 を、白歯側で BARX1 や DLX2 を誘導し、これらの分子の濃度勾配の情報に基づいて形態形成が進むと考えられている。現在までの研究成果をまとめると、この歯の発生過程が遺伝子発現のダイナミックスの結果として捉えることができ、遺伝的プログラムの進行に伴って key player の発現動態が明らかにされてきている⁴⁾。

分子レベルでの歯の発生機序の解明は、歴史的には、1969年 Kollar らによって、歯胚上皮と間葉組織の再構成実験に遡る⁵⁻⁷⁾。歯の発生過程において、歯堤肥厚期では上皮が主導的な歯の誘導活性を担っており、それ以降では間葉からの誘導によって歯の形成が進行することが示された。つまり、歯は毛、肺、腺と同様に、上皮間葉相互作用によって形成されることを示した。次いで、Vainio らは、歯芽予定領域の口腔粘膜上皮由来 BMP4 が神経堤由来間葉細胞における MSX1 を誘導し、その結果

BMP4 を誘導することで、この BMP4 は再び、上皮細胞に対して MSX2 を誘導させるといった分子機構を明らかにした⁸⁾。さらに、Thesleff 研究室のホームページでは免疫組織化学的解析や *in situ hybridization* 等の検討結果が加わって、詳細な遺伝子発現パターンが公表されている⁹⁾。

一方、種々の顎顔面領域の遺伝性疾患の研究からも、歯の発生・分化に関連する種々の重要な遺伝子が見つかってきている (表1)。歯数に関する遺伝的な発生異常の例としては、EDA 遺伝子変異によって生じる無歯症や Runx2 遺伝子異常に伴う過剰歯が知られている¹⁰⁾。これらの遺伝性疾患の発症機序や責任遺伝子の解明は治療方針の決定のための診断的意義に留まらず、歯の発生プロセスを理解する上で貴重な情報を提供している。また、ヒトの歯は一生のうちで乳歯から永久歯に交換可能な二生歯性であるが、何回も交換可能な多生歯性の生物もあり、そのメカニズムの解明は比較解剖学的見地から歯の進化や再生を考える上でヒントを与えている¹¹⁾。

3. 口腔粘膜からの iPS 細胞の作製

1) iPS 細胞出現の経緯とその意義

私たちの体は約60兆個の細胞から構成されており、その細胞の種類は約200種類と言われている。これらはすべてたった1個の受精卵が細胞分裂によってできたものである¹²⁾。つまり、受精卵はあらゆる種類の細胞になる能力 (万能性) を有していることを示している。受精卵が卵割し、2細胞期胚、4細胞期胚、8細胞期胚、桑実胚期を経て、受精後5日目頃に胚が着床する直前の100個程度の細胞からなる胚盤胞という初期発生段階になり、この胚盤胞では細胞集団が子宮へ着床後、胎盤になる栄養外胚葉と将来の胎児になる部分の内部細胞塊に分かれる。すべての体の組織はこの内部細胞塊から作られる¹³⁾。1981年、Evans らはマウスの胚盤胞からこの内部細胞塊を取り出し、培養をして多能性を有する細胞株を樹立した¹⁴⁾。この細胞株が体を構成するすべての細胞を作り出せることは、内部細胞塊を除いた毛色の違うマウスの胚盤胞に移植することでキメラマウスを作り、さらにホモ個体を作成することで証明した。これが今日、胚性幹細胞 (ES 細胞) と呼んでいるものである。1998年には、ヒトの ES 細胞が Thomson らによって樹立された¹⁵⁾。ES 細胞は多能性を有することから、加齢、病氣、事故などの原因による臓器の機能低下や欠損を補う再生医療への応用が注目され、多くの研究が報告されている。しかしながら、ES 細胞の作製において受精卵の破壊を伴うことから、その倫理的側面や規制が ES 細胞の研究や臨床応用を進めていく上でジレンマになっている。

その一方で、1997年、体細胞を ES 細胞のような万能細胞に初期化する仕組み (reprogramming) の解明の研究成果として、英国 Roslin 研究所の Wilmut によって体

表 1 代表的な顎顔面領域の遺伝性疾患

病名	同定された責任遺伝子
アントレービクスラー症候群	POR (Cytochrome P450 oxidoreductase)
外胚葉異形成症	P63, EDAR, GJB6, etc.
カルマン症候群	KAL
クルーゾン症候群	FGFR2 IgIIIa/c ドメイン変異
鎖骨頭蓋異形成症	Cbfa1
尖頭合指症(アペール症候群)	FGFR2 Ig II ドメイン, IgIIIドメイン変異
トリーチャーコリンズ症候群	TCOF1
軟骨形成不全症	FGFR3
ヌーナン症候群	PTPN11(SHP2), KRAS, SOS1 etc.
ファイファー症候群	FGFR1, FGFR2 IgIIIドメイン変異
マルファン症候群	Fibrin1, TGF-β R1, R2
リーガー症候群	PITX2
CFC 症候群	KRAS, BRAF, MEK1/2
Costello 症候群	HRAS
Pallister-Hall 症候群	GLI3
Townes 症候群	SALL1
Waardenburg 症候群	PAX3, MITF, etc.

細胞クローン「ドリー」の誕生が報告された¹⁶⁾。これは、成体羊の乳腺細胞由来の細胞核を未受精卵へ移植することによって哺乳類の分化した細胞の遺伝子でも細胞の初期化をすることができることを示した点で画期的なものであった。

2006年、山中らはES細胞で発現する遺伝子の中から初期化因子(山中因子; *Oct3/4*, *Sox2*, *KLF4*, *c-Myc*)を同定し、マウス皮膚線維芽細胞にこの4因子を導入して樹立したES細胞に似た細胞を人工多能性幹細胞(induced pluripotent stem cell)と名付けた¹⁷⁾。翌年にはヒトiPS細胞の樹立にも成功した¹⁸⁾。この成功は、iPS細胞作製の効率や腫瘍化の問題は解決される必要があるものの、倫理的制約や同種移植拒絶の問題をクリアし、再生医療の実現に向けて大きく前進させることを期待されている。最近のトピックスとしては、iPS細胞作製時に使用する山中4因子のうちの*c-Myc*による腫瘍化が懸念されるリスクの回避について新たな進歩があった。これまでは腫瘍化リスクを減らすために*c-Myc*を用いないiPS細胞の作製法が用いられてたものの、作製効率が格段と低下するという問題があった。山中らは、*Oct3/4*や*KLF4*の代替因子の網羅的な探索から未受精卵や受精卵で高発現している新規の初期化因子*Glis1*を見出し、それがiPS細胞作製において*c-Myc*を用いないでも完全な初期化を高効率で誘導する優れた特徴を有することを見出した¹⁹⁾。このことはiPS細胞による腫瘍化リスクを減らし、かつ不完全な初期化を減らせるというiPS細胞作製方法にとって極めて大きな改善で、臨床応用に向けてまた一歩着実に前進した。

2) 口腔粘膜利用とそのメリット

2008年の時点では、iPS細胞作製のための細胞ソースとして、体細胞では、皮膚線維芽細胞、表皮細胞、末梢

血、臍帯血などが、成体幹細胞では、脂肪幹細胞、神経幹細胞、脱落乳歯由来幹細胞、歯髄幹細胞などが報告されていた^{20, 21)}。また、iPS細胞の細胞ソースとしては、細胞バンク化によって、臨床応用を目指す流れがある。その根拠としては、移植拒絶を予防する観点から、日本では約50種類の代表的なHLAの型のiPS細胞が準備できれば、国民の9割程度に適応できると報告されている^{22, 23)}。いわば緊急症例に対応できるレディーメイドのiPS細胞と言える。私たちの研究グループでは、歯学部の強みを生かし、移植拒絶がなく、安全なiPS細胞を提供できるように、患者自身の細胞を用いて、いわばオーダーメイドのiPS細胞(disease or patient specific iPS cell)を作製しようと考えた。そこで、口腔粘膜をiPS細胞作製のための細胞ソースとして用いることとした。口腔粘膜は、体表皮膚のように角化していないことから、年齢を問わず、視診にて粘膜の健康状態を簡単に評価できるとともに、安全にかつ簡単に採取できること、創傷治療が皮膚に比べ早いこと、さらには創傷痕が残らないことなどの特徴がある。また、口腔粘膜の線維芽細胞は神経堤由来の外胚葉性間葉であることから、将来歯や顎骨などの再生に関しては、エピジェネティックメモリーなど有利に働く可能性を検討できる余地があると考えた。この点は最近の研究で実験的にも示されている^{24, 25)}。

3) 口腔粘膜由来iPS細胞の樹立

ヒトのiPS細胞を作製するために、まず徳島大学の臨床研究倫理審査委員会での承認を得た。さらに同委員会承認された手続きに基づいて、健常人ボランティアに対してインフォームドコンセントで同意を得た後、図1のように、口腔粘膜組織に直径5mm、厚さ1mm程度のパンチバイオプシーを施行し、組織塊をシャーレに回収した。デイスパーゼ処理後、図に示すように上皮部分と間葉組織部分を分離し、それぞれの表面をシャーレに接着させ、細胞を増殖させた。図2のような流れで、増殖活性が高かった線維芽細胞を用いて、まずレンチウイルスによってレトロウイルスレセプター発現ベクターを導入し、次いで、レトロウイルスベクターに搭載した山中4因子を導入した。4因子導入後2週間位からES細胞様コロニーが出現し、1ヶ月後には100程度まで増加した。それぞれの細胞コロニー(クローン)を分離した後、4クローンについて未分化マーカー発現の確認したところ、そのうちの1つのクローン(TiPS30)において導入した外因性4因子が良好にサイレンスされていることを見出した。さらにこのTiPS30クローンについて、*in vitro*での三胚葉への分化能、*in vivo*多分化能(免疫不全マウス精巣内での奇形種形成能)を検討し、いずれの評価でも良好な多分化能が確認された(図3)。この時のiPS細胞作製効率は0.022%で、皮膚線維芽細胞を用いたiPS細胞作製効率と同等であった²⁶⁾。その後、別の2人の健常人から得た口腔粘膜線維芽細胞を用いた

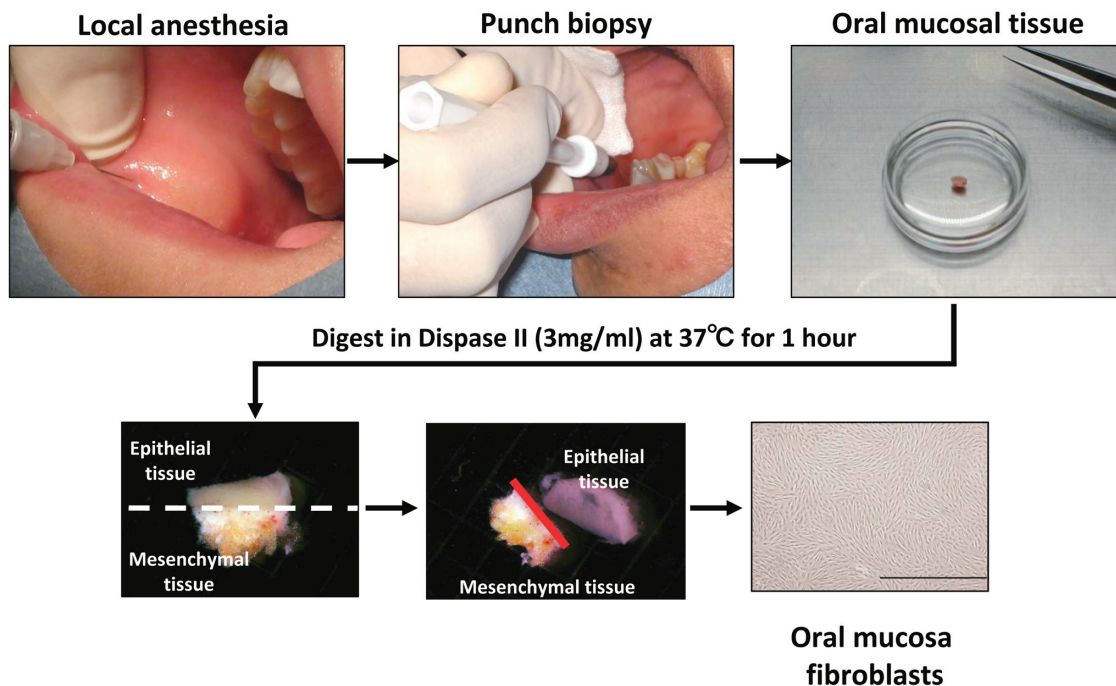


図1 口腔粘膜細胞の採取と増殖

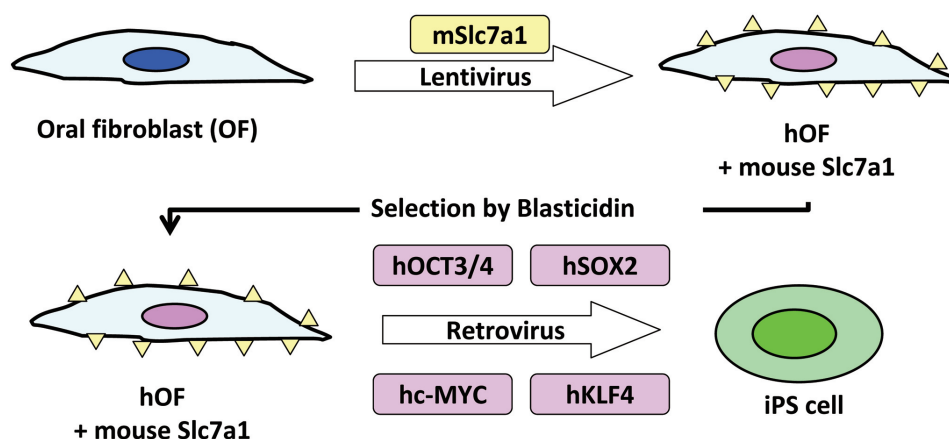


図2 口腔粘膜細胞のiPS化

iPS 作製実験でもほぼ同様な結果であった。ヒトの iPS 細胞では、規則上、キメラ形成能による多能性の評価ができないが、最近マウスにおいてキメラ形成能と non-codingRNA のひとつである *Gtl2* 遺伝子の RNA 発現レベルとの間で高い相関性が報告された²⁷⁾。そこで、私たちが樹立した iPS 細胞をマイクロアレイ解析で遺伝子発現を調べ、データベース上で比較分析したところ、3人の健常人からそれぞれ得た iPS 細胞3クローンにおいて、多能性が報告されている ES 細胞よりも *Gtl2* 遺伝子はいずれも高い発現をしていることが分かった。Stadtfeltらの報告によると、iPS 細胞の *Gtl2* 発現レベルはクローン間でバラツキがあることが示されていることから、口腔

粘膜由来の iPS 細胞の性質として注目している (第52回歯科基礎医学会にて発表)²⁸⁾。

4. 歯の再生に役立つ知見とその解析ツール

私たちの研究グループでは、歯の発生プロセスに基づいて幹細胞から歯胚 (tooth germ) を試験管内で作ることと、その歯胚を器官培養によって成熟させて、歯肉下に移植し、歯を再建することを目指して研究を進めている。そこで、私たちは解析材料として歯の全分化段階が観察できるげっ歯類の切歯を利用している。図4はラット下顎切歯の正中矢状断面図で、左端が根元 (apical bud)、右端が先端 (incisal end) である。Apical

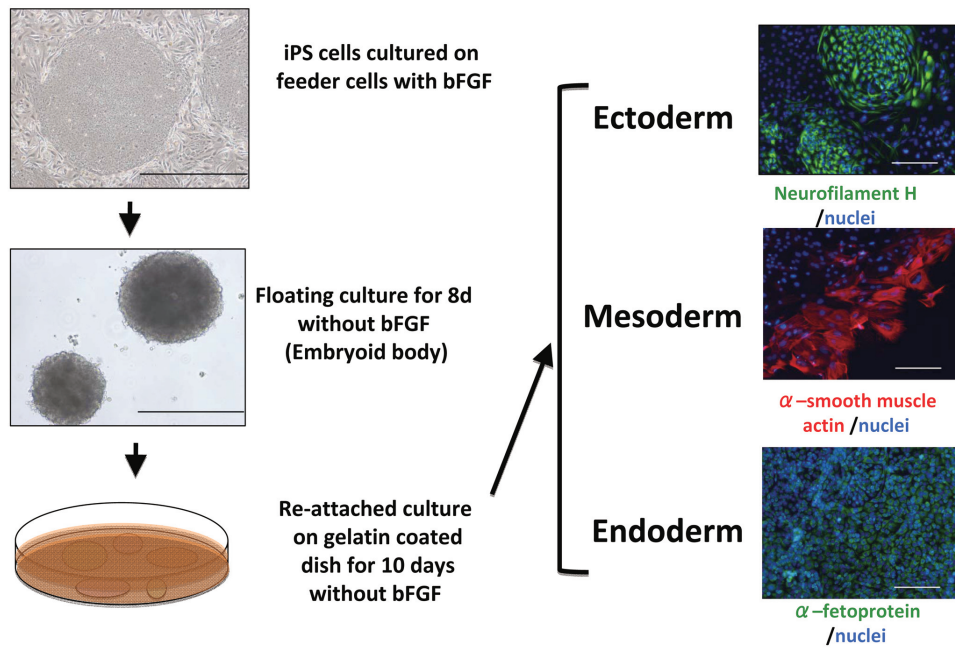


図3 *in vitro* 多能性評価

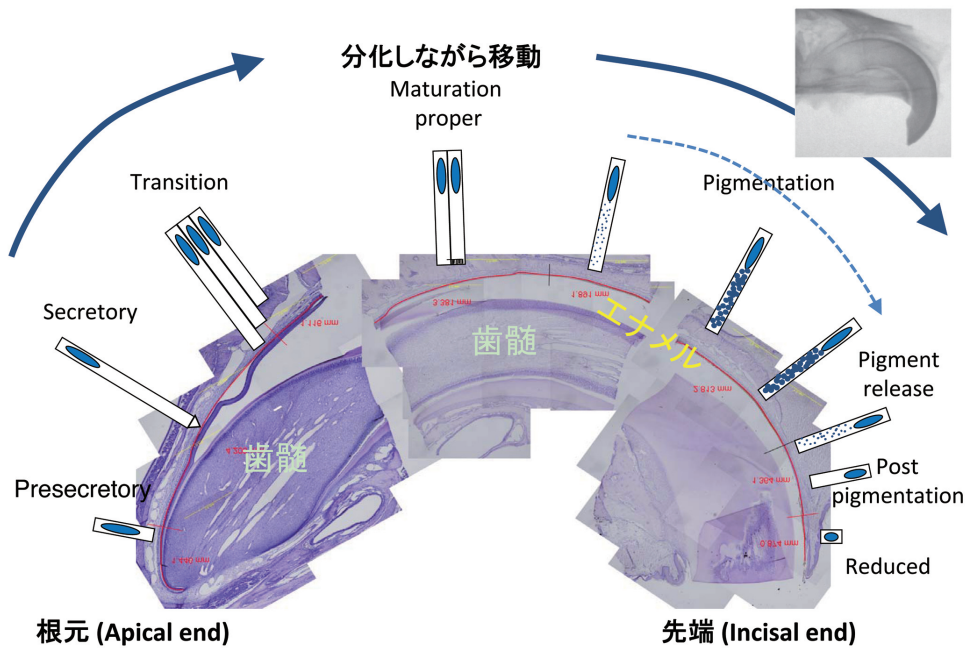


図4 げっ歯類の切歯正中矢状断像

end に存在する上皮組織幹細胞は分裂増殖 (transient amplifying) しながら, presecretory, secretory, transition, mature property, pigmentation, pigment release, post pigmentation, reduced の各時期を経て, 最終的に細胞成分は消失する。歯髄側では血管周囲の pericyte も間葉系幹細胞のソースの一つとして考えられている。切歯での組織学的な観察とこれまでに報告されている歯の発生プロセスの知見を踏まえ, 現時点で歯の発生プロセスに

ついて図5のような作業仮説を考えている。そこで, 歯の発生プロセスを試験管内で再現させるためには, 生体内の発生過程で生じる歯原性上皮細胞でのシグナルカスケード, つまり Pitx2, Ctip2, Sp6 といった一連の転写因子のカスケードと間葉系細胞での Msx1/2, Runx2, Sp7 のカスケードを順次駆動させることで, 発生過程で生じている上皮間葉相互作用を擬似的に誘導し, 遺伝子発現パターンを再構成し, 石灰化現象を引き出すこ

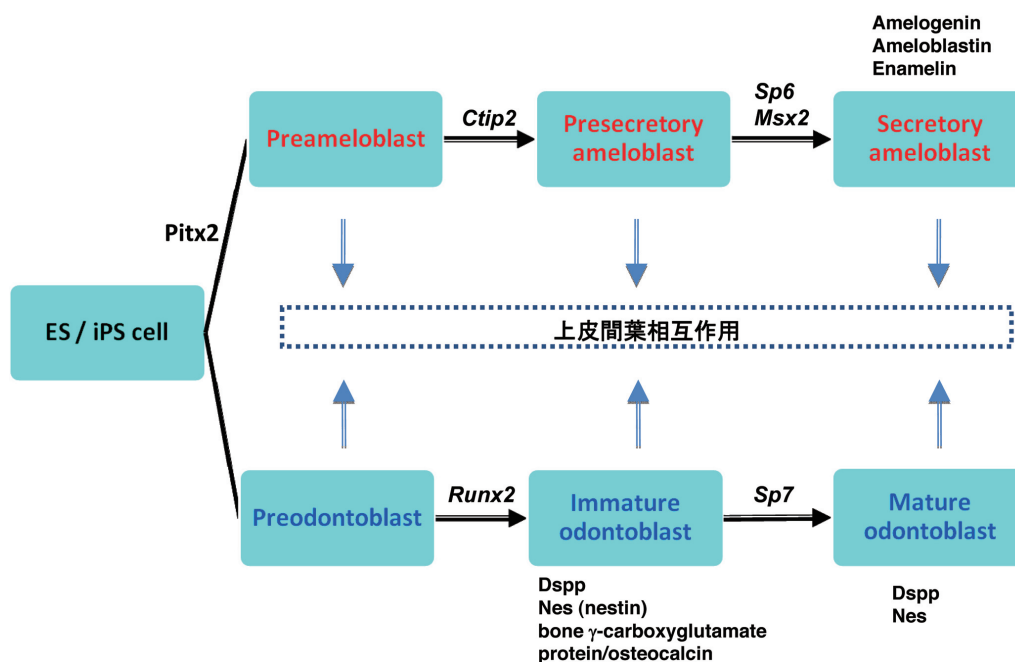


図5 歯の発生プロセスの想定図

とができるのではないかと考えている。なお、図5のCtip2についてはSp6遺伝子上流因子としての報告がある²⁹⁾。

この仮説の検証として、まず転写因子Sp6に着目して、その遺伝子の発現パターンやその機能、標的遺伝子について解析を行った。Sp6は転写Spファミリーメンバーの1つで、ドメイン構造には相互に似た特徴がある。Sp1-Sp4はアミノ末端側の転写調節領域が長いに対して、Sp6を含めてSp5-Sp9は短い。さらにSp6はSp5、Sp7とともにその転写調節領域にプロリン残基を多く含んでいる。一方、カルボキシ末端側にはファミリー間で相同性の高い、3カ所のzinc finger domainを有している。このSp6についてはアメリカのNIHのグループが2004年に最初に*epiprofin*という名前でのcDNAクローニングとそのmRNAが歯原性上皮と一部の象牙芽細胞に発現していることを*in situ hybridization*法を用いて解析した結果を報告している³⁰⁾。さらに2008年には同じアメリカのNIHのグループとベルギーのグループがそれぞれ独自にSp6ノックアウトマウスを作製し、その表現型解析を報告している^{31,32)}。歯の表現型は特徴的なもので、野生型では生後3週目に切歯を認めるのに対して、ノックアウトでは切歯の萌出が遅延しており、生後12ヶ月ではエナメル質形成不全、過剰歯、咬頭形成や歯根形成の異常を呈していた。歯以外では、無毛、合指症、肺形成異常などの所見が認められた。歯の所見からは、Sp6が歯の発生・分化に必須の分子であることが示唆されているものの、詳しい分子機構は未だ明らかにはなっていない。

そこで、私たちはSp6タンパク質の発現を検出するた

めに、まず抗SP6抗体を作製し、それまで明らかにならなかったタンパク質の局在の同定から、解析を始めた。図6はラット切歯における発現パターンを抗SP6抗体で免疫組織染色をした結果である³³⁾。Sp6タンパク質はエナメル芽細胞では、presecretoryからsecretoryの時期まで主に核に局在していることが分かった。一部象牙芽細胞にも発現が観察された。最近私たちは、*in vitro*のSp6過剰発現系を構築し、特異的遺伝子ノックダウン法と組み合わせることで、Sp6の標的遺伝子としてエナメルタンパク質の一つであるアメロチン遺伝子を見出した³⁴⁾。これは、歯の発生におけるSp6とエナメル質形成との直接的な関連を示した最初の発見であり、ノックアウトマウスの表現型の発生メカニズムを説明する一つの理由となり得る点で重要な知見と言える。これとは別に、私たちは、Sp6が歯の発生・分化の遺伝的プログラムを進行させるのに重要なBMPシグナルをネガティブに調節するフォリスタチンの遺伝子発現を抑制することも見出した³³⁾。さらにSp6トランスジェニックラットを作製し、gain-of-functionの視点からSp6の働きを検討したところ、異所性Sp6発現がmaturation期における切歯におけるエナメル芽細胞の形態学的分化の進行を阻害し、かつ細胞質内に鉄の貯留を維持することでエナメル表面への鉄色素沈着を抑制するという所見を得た³⁵⁾。このことはSp6が歯の発生・分化における役割のみならず、鉄代謝制御という生理機能面で新たな役割があることを示唆した点で意義があった。以上の研究結果から、転写因子Sp6の発現は時空間特異的に厳密に調節され、それによって発現したSp6は歯の発生・分化に関わる分子群の遺伝子発現をポジティブにもネガティブにも調節する

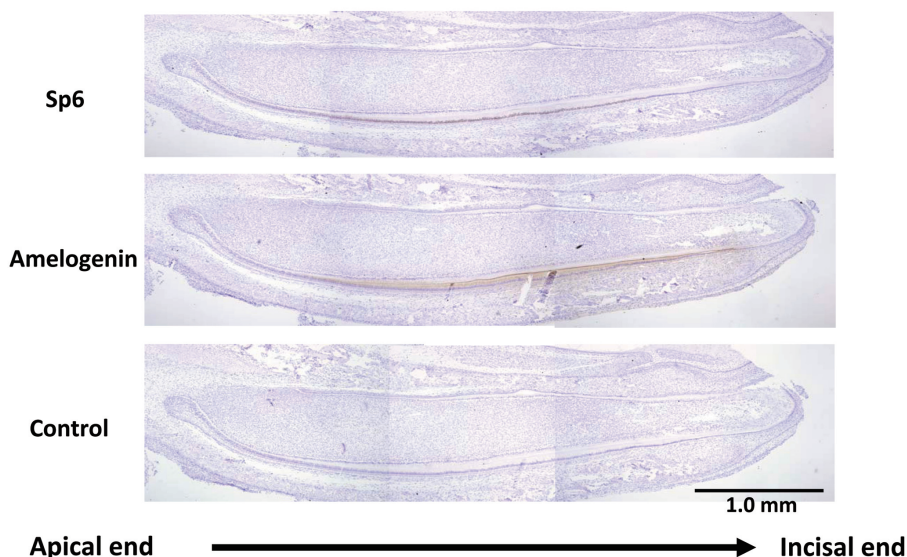


図 6 A Sp6 と Amelogenin のタンパク質発現

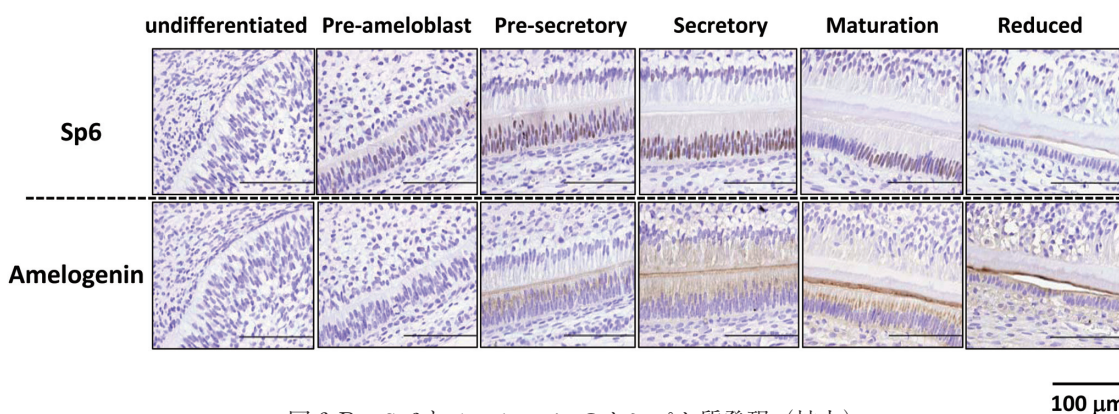


図 6 B Sp6 と Amelogenin のタンパク質発現 (拡大)

ことを通して、歯の発生・分化のタイミングを調節し、形態学および代謝機能的に制御を行っていることが明らかになった。

さて、歯胚を構成する歯原性上皮と外胚葉性間葉のそれぞれの細胞を iPS 細胞や ES 細胞などの幹細胞から誘導する方法として、転写因子のカスケードを順次駆動することは生体の発生過程で組織・細胞内で生じている事象を再現し、形態学的変化や遺伝子発現の共通性を確認することに他ならない。外胚葉性間葉細胞の分化誘導については、その元となる神経堤細胞が iPS 細胞より誘導する方法が最近報告されている³⁶⁾。したがって、現時点では iPS 細胞から歯原性上皮細胞を誘導する方法論の確立にフォーカスが当たっている。

5. Biomaterials の活用

組織再生には 3 要素が必要であると言われている^{37, 38)}。臓器や組織を作るための「細胞」、細胞の働き

や分化を誘導するサイトカインなどの生理活性物質の「シグナル」、細胞やシグナルの足場としての「細胞外基質」である。細胞に関しては、iPS 細胞、ES 細胞、組織幹細胞、骨髄細胞、間葉系幹細胞などの幹細胞がある。これらのうち、現在は、特に間葉系幹細胞の利用が主流である。シグナル分子としては、細胞増殖を促進したりや分化誘導を促す Activin, BMP, TGF- β , FGF, PDGF などのサイトカイン類がある。最近注目を集めているのは、再生医療用に開発されている新たな材料群である。カーボンナノチューブなどによる材料表面を加工した素材により幹細胞の増殖や分化を制御できるものやシグナル分子の徐放性 DDS 素材など細胞との組み合わせにより、再生する臓器や組織の特性にあわせて利用や応用が可能となってきた³⁹⁾。

したがって、iPS 細胞を用いた歯の再生に関しては、
i) いかにして発生プロセスを再現するような培養環境 (細胞外基質) を用意して、エナメル芽細胞や象牙

- 芽細胞を誘導するのか、
- ii) 分化させたエナメル芽細胞や象牙芽細胞を用いて上皮間葉相互作用(シグナル)をいかに再現して歯胚培養系を構築するのか、
- iii) (さらには、その歯胚培養系によって作製した培養歯胚の移植と石灰化の促進(シグナルと細胞外基質)をいかにして実施するのか、
- iv) 上記の分化誘導や歯胚培養系に利用可能な biomaterial をいかに組み合わせるのか、
- といった諸問題を解決しながら、患者自身のニーズに合わせたオーダーメイドの歯胚作製と移植による歯の再建のレシピを一つずつ作っていくことが求められている。

おわりに

ヒトゲノム解明に引き続き生命現象の理解や病気メカニズムの解明が進み、さらには iPS 細胞の出現など再生に必要な幹細胞操作技術の breakthrough によって、加齢、病気や先天性の遺伝疾患あるいは事故などによって喪失した臓器や組織の機能回復が可能である時代になってきた。実験上では生殖細胞の作製まで可能になった⁴⁰⁾。このような研究の急速な進展下では、健康長寿の意義を再考する必要もありそうだ。

今後、私たちには作製した iPS 細胞を用いた組織や臓器の再生、疾患 iPS 細胞を用いた病態解明と治療法の開発といった問題が眼前にあり、臨床応用へ向けた取り組みを着実に発展させていくことが必要である。最近注目される研究成果として、常染色体性劣性遺伝病患者から作製した iPS 細胞をジンクフィンガーヌクレアーゼと piggyBac 技術によって、その病気の責任遺伝子の点変異が傷痕を残さずに両アレルで修復できたという報告がなされた⁴¹⁾。この方法は患者自身の iPS 細胞を用いることから、自家移植によって、治療する再生医療の対象になる。歯科領域においても、顎顔面領域遺伝性疾患の中で単一遺伝子異常により生じる無歯症などは、歯の再生において本法の適用になることが予想され、iPS 細胞の利用が多いに期待される。健康な生活歯が私たちの健康長寿を支えてくれているのは間違いない。自分たち自身の口腔ケアに気をつけながら、早く健康な生活歯を再建できる方法を見出し、現実の医療に結びつけることで社会の役に立ちたいところである。

謝 辞

本総説で紹介した研究成果のうち、分子医化学分野で行われたものは、三好講師、堀口助教、武藤博士(現理研 CDB)、Intan 博士(現ハーバード大)、阿部博士(現産総研)、Ivan 博士(現ガジャマダ大)、Utami 博士(現ガジャマダ大)、Ryna(国費留学生院2)、萩田(技術員)の方々との共同研究である。

参考文献

- 1) 厚生労働省ホームページ:8020運動とは <http://www.e-healthnet.mhlw.go.jp/information/teeth/h-01-003.html>
- 2) 国民衛生の動向. 58, 120-121 (2011)
- 3) Nanci A: Ten Cate's Oral Histology 6th ed. Missouri, USA, Mosby, 2003, 79-110.
- 4) Thesleff I: Epithelial-mesenchymal signalling regulating tooth morphogenesis. J Cell Sci 116, 1647-1648 (2003)
- 5) Kollar EJ and Baird GR: The influence of the dental papilla on the development of tooth shape in embryonic mouse tooth germs. J Embryol Exp Morphol 21, 131-148 (1969)
- 6) Kollar EJ and Baird GR: Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs. I. Reorganization of the dental epithelium during tooth-germ reconstruction. J Embryol Exp Morphol 24, 159-171 (1970)
- 7) Kollar EJ and Baird GR: Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs. II. The inductive role of the dental papilla. J Embryol Exp Morphol 24, 173-186 (1970)
- 8) 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)
- 9) Thesleff 研究室 ホームページ: Gene expression in tooth. <http://bite-it.helsinki.fi/>
- 10) Thesleff I: The genetic basis of tooth development and dental defects. Am J Med Genet 140A, 2530-2535 (2006)
- 11) Mark F. Teaford, Moya Meredith Smith, Mark W. J. Ferguson: Development, Function and Evolution of Teeth. Cambridge UK. Cambridge University Press, 187-188 (2000)
- 12) Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P: Molecular Biology of The Cell. 5th ed. Garland Science, NY USA. 2008, 1-42 (2008)
- 13) Gilbert SF: Developmental Biology. Sinauer Associates, MA USA, 325-368 (2006)
- 14) Evans MJ And Kaufman MH: Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. Nature 292, 154-156 (1981)
- 15) Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS and Jones JM: Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 282, 1145-1147 (1998)
- 16) Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ and Campbell KH: Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature 385, 810-813 (1997)
- 17) Takahashi K and Yamanaka S: Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell 126, 663-676 (2006)

- 18) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K and Yamanaka S: Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131, 861-872 (2007)
- 19) Maekawa M, Yamaguchi K, Nakamura T, Shibukawa R, Kodanaka I, Ichisaka T, Kawamura Y, Mochizuki H, Goshima N and Yamanaka S: Direct reprogramming of somatic cells is promoted by maternal transcription factor Glis1. *Nature* 474, 225-229 (2011)
- 20) Polo JM, Liu S, Figueroa ME, Kulalert W, Eminli S, Tan KY, Apostolou E, Stadtfeld M, Li Y, Shioda T, Natesan S, Wagers AJ, Melnick A, Evans T and Hochedlinger K: Cell type of origin influences the molecular and functional properties of mouse induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 28, 848-55 (2010)
- 21) Ye Z and Cheng L: Potential of human induced pluripotent stem cells derived from blood and other postnatal cell types. *Regenerative Medicine* 5, 521-530 (2010)
- 22) Nakatsuji N, Nakajima F and Tokunaga K: HLA-haplotype banking and iPS cells. *Nat Biotechnol* 26, 739-740 (2008)
- 23) Nakatsuji N: Banking human pluripotent stem cell lines for clinical application? *J Dent Res* 89, 757-758 (2010)
- 24) Kim K, Doi A, Wen B, Ng K, Zhao R, Cahan P, Kim J, Aryee MJ, Ji H, Ehrlich LI, Yabuuchi A, Takeuchi A, Cunniff KC, Hongguang H, McKinney-Freeman S, Naveiras O, Yoon TJ, Irizarry RA, Jung N, Seita J, Hanna J, Murakami P, Jaenisch R, Weissleder R, Orkin SH, Weissman IL, Feinberg AP and Daley GQ: Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells. *Nature* 467, 285-290 (2010)
- 25) Ji H, Ehrlich LI, Seita J, Murakami P, Doi A, Lindau P, Lee H, Aryee MJ, Irizarry RA, Kim K, Rossi DJ, Inlay MA, Serwold T, Karsunky H, Ho L, Daley GQ, Weissman IL and Feinberg AP: Comprehensive methylome map of lineage commitment from haematopoietic progenitors. *Nature* 467, 338-342 (2010)
- 26) Miyoshi K, Tsuji D, Kudoh K, Satomura K, Muto T, Itoh K and Noma T: Generation of human induced pluripotent stem cells from oral mucosa. *J Biosci Bioeng* 110, 345-350 (2010)
- 27) Stadtfeld M, Apostolou E, Akutsu H, Fukuda A, Follett P, Natesan S, Kono T, Shioda T and Hochedlinger K: Aberrant silencing of imprinted genes on chromosome 12qF1 in mouse induced pluripotent stem cells. *Nature* 465, 175-181 (2010)
- 28) 三好圭子, 辻大輔, 工藤景子, 里村一人, 武藤太郎, 伊藤孝司, 野間隆文: ヒト口腔粘膜由来 iPS 細胞の樹立とその意義. [第52回歯科基礎医学会学術大会にて口頭発表 (東京). Sep 22, 2010.] *J Oral Biosci* 52 suppl. 116 (2010)
- 29) Golonzhka O, Metzger D, Bornert JM, Bay BK, Gross MK, Kioussi C and Leid M: Ctip2/Bcl11b controls ameloblast formation during mammalian odontogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 106, 4278-4283 (2009)
- 30) Nakamura T, Unda F, de-Vega S, Vilaxa A, Fukumoto S, Yamada KM and Yamada Y: The Krüppel-like factor epiprofin is expressed by epithelium of developing teeth, hair follicles, and limb buds and promotes cell proliferation. *J Biol Chem* 279, 626-634 (2004)
- 31) Nakamura T, de Vega S, Fukumoto S, Jimenez L, Unda F and Yamada Y: Transcription factor epiprofin is essential for tooth morphogenesis by regulating epithelial cell fate and tooth number. *J Biol Chem* 283, 4825-4833 (2008)
- 32) Hertveldt V, Louryan S, van Reeth T, Drèze P, van Vooren P, Szpirer J and Szpirer C: The development of several organs and appendages is impaired in mice lacking Sp6. *Dev Dyn* 237, 883-892 (2008)
- 33) Ruspita I, Miyoshi K, Muto T, Abe K, Horiguchi T and Noma T: Sp6 downregulation of follistatin gene expression in ameloblasts. *J Med Invest* 55, 87-98 (2008)
- 34) Utami TW, Miyoshi K, Hagita H, Yanuarieska RD, Horiguchi T and Noma T: Possible linkage of Sp6 transcriptional activity with amelogenesis by protein stabilization. *J Biomed Biotech* (2011) in press.
- 35) Muto T, Miyoshi K, Horiguchi T and Noma T: Dissection of Morphological and Metabolic Differentiation of Ameloblasts via Ectopic SP6 Expression. *J Med Invest* (2011) in press.
- 36) Lee G, Chambers SM, Tomishima MJ and Studer L: Derivation of neural crest cells from human pluripotent stem cells. *Nat Protoc* 5, 688-701 (2010)
- 37) Ripamonti U and Reddi AH: Tissue engineering, morphogenesis, and regeneration of the periodontal tissues by bone morphogenetic proteins. *Crit Rev Oral Biol Med* 8, 154-163 (1997).
- 38) 田畑泰彦: ティッシュ・エンジニアリングへの DDS 技術の応用. ティッシュ・エンジニアリング—組織工学の基礎と応用—上田実編. 名古屋, 名古屋大学出版会, 52-67 (1999)
- 39) Chen FM, Wu 1A, Zhang M, Zhang R and Sun HH: Homing of endogenous stem/progenitor cells for in situ tissue regeneration: Promises, strategies, and translational perspectives. *Biomaterials* 32, 3189-3209 (2011)
- 40) Hayashi K, Ohta H, Kurimoto K, Aramaki S and Saitou M: Reconstitution of the mouse germ cell specification pathway in culture by pluripotent stem cells. *Cell* 146, 519-532 (2011)
- 41) Yusa K, Rashid ST, Strick-Marchand H, Varela I, Liu

PQ, Paschon DE, Miranda E, Ordóñez A, Hannan NR, Rouhani FJ, Darche S, Alexander G, Marciniak SJ, Fusaki N, Hasegawa M, Holmes MC, Di Santo JP, Lomas DA, Bradley A and Vallier L: Targeted gene correction of α 1-antitrypsin deficiency in induced pluripotent stem cells. *Nature* 478, 391-394 (2011)