



研究成果

2025年2月28日

細胞の「ちから」で歯を治す：血管の周囲にいるペリサイトが象牙質を再生することを明らかにしました。

【ポイント】

- ・ 歯髄ペリサイトは象牙芽細胞に分化する。
- ・ ペリサイト由来の象牙芽細胞は機械感受性と石灰化駆動を示す。
- ・ 小胞体ストレスセンサータンパク質の ATF6a は、ペリサイトから分化した象牙芽細胞の機能を調節する。

【概要】

東京歯科大学・生理学講座の黄地健仁講師（筆頭著者）と澁川義幸教授（責任著者）と共同研究チームは、象牙芽細胞を枯渇させる遺伝子改変マウスと血管周囲に存在する周皮細胞（ペリサイト）を可視化した遺伝子改変マウスを用いた実験で、機械感受性と石灰化駆動を示す機能的な象牙芽細胞に分化する局所前駆細胞を世界で初めて同定しました。

象牙芽細胞は、機械感受性（象牙質知覚過敏のセンサー細胞）と石灰化能力（象牙質形成能）を示す最終分化細胞と考えられていました。Piezo1 などの機械感受性イオンチャネルが象牙芽細胞に存在し、Ca²⁺シグナル伝達を介してその生理学的機能と関連しています。機械感受性イオンチャネルから流入した Ca²⁺と、その Ca²⁺を貯蔵する小胞体（endoplasmic reticulum ; ER）からの Ca²⁺放出の両方が、さまざまな生物学的現象のセカンドメッセンジャーシステム（Ca²⁺シグナル）として機能します。小胞体は、細胞内に Ca²⁺を動員する細胞内 Ca²⁺ストアとして機能します。ER 内の Ca²⁺濃度の変化は、ER ストレスを引き起こす要因の1つです。

ペリサイトは、歯髄内における象牙芽細胞周囲の血管に存在しています。このような象牙芽細胞-血管-神経でつくられる解剖学的微小環境は、ペリサイトと象牙芽細胞が相互作用する可能性を示していますが、発生および病理学的条件下でのそれらの詳細なプロファイルは不明でした。

研究チームは、重度の象牙質損傷後の象牙芽細胞死をモデルとした遺伝的象牙芽細胞枯渇マウスで象牙芽細胞を死滅誘導後、ペリサイトマーカーである NG2 に陽性を示す細胞（NG2 陽性細胞）が細胞稠密層（セルリッチゾーン）に存在し、増殖後 Piezo1 陽性象牙芽細胞に分化することを明らかにしました。歯髄・象牙質損傷時、修復象牙質形成を担う細胞は永く未知でしたが、今回の研究では、NG2 陽性ペリサイトが発生的な象牙芽細胞の起源であるグリア細胞よりも早く象牙芽細胞に分化することが可能な象牙芽細胞前駆細胞であることを同定しました。

NG2 陽性ペリサイトがどのようにして Piezo1 陽性象牙芽細胞に分化するかを調べるために、ER ストレスセンサータンパク質である ATF6a に焦点を当てました。遺伝的象牙芽細胞の枯渇後、NG2 陽性ペリサイトは象牙芽細胞層で増殖し、機能的な象牙芽細胞として分化しました。細胞質内の Ca²⁺は小胞体に存在するカルシウムイオンポンプである sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase（SERCA）を介して小胞体内に取り込まれます。ER ストレス誘導剤として知られる SERCA 阻害剤であるタプシガルジンを用いると、象牙芽細胞系譜細胞の細胞内 Ca²⁺濃度が増加しました。この増加は、薬理的 Piezo1 阻害剤の適用によって有意に阻害され、SERCA 阻害による ER ストレスが象牙芽細胞系譜細胞における Piezo1 誘発応答を増強することを示しました。一方、細胞死によって象牙芽細胞内から放出された ATP 分解後の ADP による象牙芽細胞系譜細胞の ADP 受容

体 (Gq タンパク質共役型受容体) 活性化に続く細胞内 Ca^{2+} 濃度増加は、Piezo1 活性化を誘導しませんでした。ATF6a および/または NG2 の遺伝子抑制実験により、象牙芽細胞系譜細胞の石灰化が損なわれました。以上より、本研究の結論として ATF6a が NG2 陽性ペリサイトから、感覚受容細胞および象牙質形成細胞である機能的な象牙芽細胞への分化と、その後の機能を調節することが明らかになりました。

本成果は、2025 年 2 月 4 日 (米国時間) 付で、国際歯科学研究学会 (International Association for Dental Research; IADR) の公式雑誌である『Journal of Dental Research』に研究論文として発表されました。

<https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/00220345241307944>

【研究の背景と経緯】

歯は生涯にわたる機械刺激やその他多くのストレス環境に暴露されています。う蝕 (虫歯) が歯のエナメル質を侵食し、象牙質まで到達すると、象牙細管が露出します。象牙細管には細管内液が存在し、象牙質表面の外的刺激による細管内液の移動は、象牙細管内に存在する象牙芽細胞突起の膜伸展を誘発します。膜伸展による象牙芽細胞膜上の機械感受性イオンチャネルの活性化は、細胞外から Ca^{2+} を流入させます。細胞内カルシウムイオン濃度の増加は、ATP 放出チャネルの活性化により象牙芽細胞から ATP を放出させ、象牙芽細胞直下の三叉神経節ニューロンを興奮させます。これにより、象牙質知覚過敏を代表とする象牙質痛が発生します。一方、機械感受性イオンチャネルの活性化による細胞内カルシウムイオン濃度の増加は、細胞膜カルシウム排出系タンパク質を介して、石灰化前線へ Ca^{2+} を放出し、石灰化が生じます。

これまでに象牙芽細胞は最終分化成熟細胞として考えられてきました。過剰な機械刺激や熱刺激、またう蝕などによる象牙芽細胞の死滅時には歯髄細胞、特に深部に存在する未知の細胞により修復象牙質が形成され、予防的に歯が守られている可能性が示唆されていました。しかし、複数の細胞種により構成される歯髄細胞のうち、どの様なプロファイルを持った細胞が修復象牙質に関与する幹細胞や前駆細胞であるのか、またその詳細なメカニズムは永い間不明でした。

【研究成果】

象牙芽細胞層に隣接するセルリッチゾーンにおいて、2 種類の Nestin 陽性細胞と Nestin 陰性細胞が両方も、象牙芽細胞の枯渇にตอบสนองして増殖し、象牙芽細胞様細胞に分化することが知られていましたが、そのプロファイルは未知でした。本研究では、NG2 陽性 Nestin 陽性細胞が象牙芽細胞枯渇後にセルリッチゾーンで増殖し、象牙芽細胞マーカーを発現することを示しました。また、定常状態では NG2 陽性細胞がセルリッチゾーン付近に局在しており、損傷後に NG2 陽性細胞が象牙質の石灰化を促進することも示しました。これらの所見は、NG2 陽性ペリサイトが、重度の象牙質損傷後に直ちに象牙芽細胞に分化する象牙芽細胞前駆細胞として、局所的な象牙芽細胞の細胞源であることを示しています。

NG2 と Nestin は間葉系幹細胞のマーカーです。近年、単一細胞 RNA シークエンシング解析により、Nestin が象牙芽細胞前駆細胞マーカーとペリサイトマーカーの両方であることが明らかになりました。さらに、歯髄内 NG2 陽性細胞はグリア細胞に由来するのではなく、間葉系幹細胞に由来することも示されていました。本研究の結果は、NG2 陽性 Nestin 陽性ペリサイトが歯髄の周縁部に局在するが、内部の深部には存在しない歯原性間葉系前駆細胞であり、機能的な象牙芽細胞に分化できることを更に裏付けています。

ER ストレスとは、異常な高次構造をもつタンパク質や正常な修飾を受けていないタンパク質が小胞体の内腔に蓄積した状態です。このようなタンパク質は折り畳まれていないタンパク質として、ER 内でのカルシウム欠乏などのさまざまな生理学的ストレスの影響を受けます。ER ストレスは細胞にダメージを与えるため、細胞にはこれを回避するための ER ストレス応答と呼ばれるシステムが備わっています。小胞体 (ER) 内における折り畳まれていないタンパク質の蓄積は、ER ストレスセンサータンパク質によって感知されます。

今回の研究は、定常状態の象牙芽細胞が ER ストレスセンサータンパク質の ATF6a を発現することを示し、象

牙芽細胞の ATF6a が生理学的に ER ストレスを感知し、ER ストレス応答で機能する可能性があることを示しました。象牙芽細胞の遺伝的枯渇後、セルリッチゾーンの NG2 陽性細胞は Nestin を発現し、ATF6a を核内移行させました。ER ストレス誘導物質として知られるタプシガルギンは SERCA を抑制し、その結果 ER への Ca^{2+} の取り込みを阻害します。本研究では、タプシガルギンが象牙芽細胞系譜細胞における ER ストレス応答としての ATF6a の核内移行を誘導しました。また、タプシガルギンが細胞内遊離カルシウムイオン濃度を増加させることを明らかにしました。この増加は、Piezo1 阻害剤の適用により大幅に抑制されました。しかし、Piezo1 阻害剤は、ADP 受容体活性化による細胞内遊離カルシウムイオン濃度の増加を阻害しませんでした。さらに、ADP 受容体活性化による ATF6a の核内移行は観察できませんでした。したがって、直接的な SERCA 制御による ER 内カルシウムイオン濃度変化による ER ストレスが、象牙芽細胞前駆細胞における Piezo1 誘導性の応答を増強することがわかりました。

NG2 陽性ペリサイトは、損傷後の象牙質の石灰化を促進しました。ATF6a 遺伝子および/または NG2 遺伝子が shRNA によって遺伝的に下方制御されると、石灰化が損なわれました。過去の報告では、Piezo1 が象牙質形成を負にまたは正に調節することが示唆されています。象牙質形成の過程において、反応象牙質形成は発生学および生理学的に無傷な象牙芽細胞によって駆動されますが、修復象牙質形成は歯髄細胞に由来する分化した象牙芽細胞によって仲介され、特に今回の研究に基づいて NG2 陽性ペリサイトが潜在的な起源であることが明らかになりました。つまり、象牙質の再生はさまざまな起源によって達成されます。さらなる研究が必要ですが、異なる種類の細胞に由来する象牙芽細胞のプロファイルを解明することは、将来的に有望な象牙質再生療法につながると思われる。

結論として、本研究の結果は、象牙芽細胞の直下にある NG2 陽性 Nestin 陽性細胞が象牙芽細胞前駆細胞であることを示しました。セルリッチゾーンから象牙芽細胞層まで遊走する NG2 陽性 Nestin 陽性細胞は、機械感受性と象牙質の石灰化にも関与しています。ATF6a は、セルリッチゾーンの NG2 陽性ペリサイトを、感覚受容細胞および象牙質形成細胞として機能する象牙芽細胞に分化させるために重要な役割を果たします。

現時点での課題と今後の更なる研究への取り組みについて：

ER は象牙質と象牙芽細胞の核の間に位置します。象牙芽細胞内の遠位象牙質側に ER が存在すると、象牙芽細胞が感覚受容細胞および象牙質形成細胞として効果的に機能するようになる可能性があります。本研究のデータは、タプシガルギン誘発性の細胞内遊離カルシウムイオン濃度増加に対する Piezo1 の即時応答を示し、Piezo1 が SERCA と至近距離で直接相互作用する可能性があることを示唆しています。SERCA がセルリッチゾーンの NG2 陽性ペリサイトでどのように阻害され、Piezo1 活性と機能連関するかを明らかにするためのさらなる *in vivo* 研究は、再生療法および予防歯科の開発につながると思われる。

本研究は、以下の競争的資金によって実施されました。

科学研究費助成事業（科研費）

22K17025（研究代表者：東京歯科大学 生理学講座 黄地健仁）

19K10117（研究代表者：東京歯科大学 生理学講座 木村麻記）

22K09972（研究代表者：東京歯科大学 生理学講座 木村麻記）

19H03833（研究代表者：東京歯科大学 生理学講座 澁川義幸）

24K12953（研究代表者：東京歯科大学 生理学講座 澁川義幸）

2021 年度 中富健康科学振興財団研究助成

（研究代表者：東京歯科大学 生理学講座 黄地健仁）

2021 年度 NDA 歯科医療研究助成

(研究代表者：東京歯科大学 生理学講座 黄地健仁)

【論文情報】

論文タイトル Pericytes are odontoblast progenitor cells depending on ER-stress

著者 Takehito Ouchi, Masayuki Ando, Ryuya Kurashima, Maki Kimura, Natsuki Saito, Akira Iwasaki, Hinako Sekiya, Kazuma Nakajima, Toshihiro Hasegawa, Toshihide Mizoguchi, Yoshiyuki Shibukawa

雑誌名 Journal of Dental Research

【研究者プロフィール】

氏 名：澁川 義幸（しぶかわ よしゆき）Yoshiyuki Shibukawa

所属・職名：東京歯科大学 生理学講座・教授

氏 名：黄地 健仁（おうち たけひと）Takehito Ouchi

所属・職名：東京歯科大学 生理学講座・講師

【お問い合わせ先】

所 属：東京歯科大学 生理学講座

職名・氏名：教授・澁川 義幸

電 話：03-6380-9560

E - m a i l : yshibuka@tdc.ac.jp