

## 歯の細胞外マトリックスと石灰化

藤沢隆一, 久保木芳徳  
北海道大学歯学部生化学

### Extracellular Matrix of Tooth and Its Role in Calcification

Ryuichi FUJISAWA and Yosinori KUBOKI

Department of Biochemistry, School of Dentistry, Hokkaido University

Received, 25 February 2000.

**Abstract :** Uncalcified tooth enamel is composed of matrix proteins. The proteins are degraded and deleted just before the calcification. Fully calcified enamel contains almost no proteins. The major component of the uncalcified enamel matrix is amelogenin, which is rich in Pro and is hydrophobic. This protein forms aggregates and reserves spaces for future calcification. Specific proteases degrade this protein before the calcification. Tooth dentin contains collagenous matrix. Mineral crystals deposit in and around the collagen fibrils during the calcification. Dentin matrix contains minor proteins called non-collagenous proteins. One of them is phosphophoryn, a unique phosphoprotein of dentin. This protein is a highly acidic protein which is rich in P-Ser and Asp. It is immobilized on collagen matrix and induces nucleation of mineral crystals. Investigators think that phosphophoryn is involved in calcification of dentin.

**Key words :** enamel, dentin, amelogenin, phosphoprotein, calcification

#### はじめに

歯は人体で最も硬い組織として知られている。無機質そのものであるかのような印象を持たれるかたもあるかもしれないが、歯のマトリックスも細胞機能の場として、生理活性を持っている。近年の研究によって、歯の細胞外マトリックスを構成する分子のリスト作りはほぼ完了した。現在、これらの分子の機能が明らかにされようとしている。

歯は、上皮と間葉の間の相互作用によって形成される複合組織である。エナメル質は、上皮系のエナメル芽細胞によって形成される。象牙質とセメント質は、間葉系の象牙芽細胞とセメント芽細胞によって形成され、骨に類似した組織である。細胞外マトリックスに関しても、象牙質とセメント質は骨や一般の結合組織に似て、コラーゲンを主体としたものである。これに対して、エナメル質の細胞外マトリックスはこれらとはまったく異なる。

歯の細胞外マトリックスの特徴はその石灰化能にあるといえよう。歯を形成する細胞は、エナメル芽細胞の場合も象牙芽細胞の場合も、まず、タンパク質性の基質を形成する。そこにリン酸カルシウム的一种であるハイドロキシアパタイトが沈着して、最終的には骨を上回る硬度に達する。この石灰化過程において、結晶の核生成や結晶成長のコントロールに対して、細胞外マトリックスが重要な役割をはたすと多くの研究者は考えている。

#### エナメル質の細胞外マトリックス成分

エナメル質は上皮性の組織であり、その組織学的・生化学的特徴は、間葉性の象牙質や骨とは大きく異なる。石灰化を完了したエナメル質は、ほぼ純粋なミネラルであり、ごく微量のタンパク質しか含まない。この点で、石灰化後もタンパク質を保持している象牙質とは異なる。象牙質ではまた、細胞突起が象牙質中に伸びているが、エナメル質には細胞成分は一切存在しない。

石灰化を終えたエナメル質はタンパク質を含まないが、石灰化前の幼若なエナメル質には相当量のタンパク質が存在する。つまり、はじめにエナメル芽細胞によってタンパク質が分泌されて未石灰化基質が形成され、石灰化の開始とともにこのタンパク質が分解除去され、かわりにミネラル結晶が沈着するという経過になる<sup>1)</sup>。石灰化前のエナメル質はチーズ程度の硬さであり、指のつ

別刷請求先: 藤沢隆一 〒060-8586 札幌市北区北13条西7丁目 北海道大学歯学部生化学

Reprint requests to: Ryuichi Fujisawa, Department of Biochemistry, School of Dentistry, Hokkaido University, N13W7, Sapporo, Japan. Tel: +81-11-706-4234, Fax: +81-11-706-4919, e-mail: rfuji@den.hokudai.ac.jp

表1 エナメル質の基質タンパク質

|                 |                                                 |
|-----------------|-------------------------------------------------|
| アメロジェニン         | 未石灰化エナメル質の主要タンパク質。Pro に富む。疎水性で会合しやすい。20～25 kDa。 |
| エナメルリン          | 酸性糖タンパク質。140～150 kDa (分解後 30～60 kDa)。           |
| シースリン(アメロプラスチン) | エナメル小柱鞘に局在。62 kDa (分解後 13～17 kDa)。              |
| タフテリン           | エナメル-象牙境界に存在。50～60 kDa。                         |

めで容易にくずすことができる。

石灰化前のエナメル質に含まれるタンパク質は、アメロジェニンと非アメロジェニン成分の2種類に大別される<sup>2)</sup>(表1)。アメロジェニンはエナメル・タンパク質の主成分であり、溶解性の低い、特異なアミノ酸組成を持つタンパク質である。非アメロジェニン成分はアメロジェニンに比べれば少量成分であり、多様な分子量の酸性糖タンパク質群の集団である。これらの両タンパク質群はタンパク質化学的性質が異なるだけでなく、エナメル質の石灰化にともなう量的変化においても差がある。

アメロジェニンは、アミノ酸 160-200 残基のポリペプチド鎖1本よりなるタンパク質である。特異なアミノ酸組成を持ち、全アミノ酸の約 1/3 がプロリンによって占められ、ヒスチジン、グルタミンの含有量も多い。分子の大部分はプロリンに富む、比較的疎水性の高い領域よりなり、Pro-Gln または Gln-Pro という配列がしばしば見られる。N 末端近くに親水性領域があり、16 番目のセリンはリン酸化されている。分子の C 末端にも親水性領域があり、グルタミン酸、アスパラギン酸、リジンに富んでいる(図1)。

アメロジェニンは疎水性相互作用によって会合しやすい性質を持っており、それがこのタンパク質の取り扱いを困難にしている。アメロジェニンの立体構造については、 $\beta$ -ターン構造の存在が予想されているが、まだ明らかではない。

アメロジェニンはエナメル芽細胞によって合成分泌される。この合成分泌をおこなう時期のエナメル芽細胞は、形成期エナメル芽細胞と呼ばれている。アメロジェニンの遺伝子は X 染色体および Y 染色体上に位置する。遺伝子は 7 つのエキソンよりなる。この遺伝子から、スプライシングの違いによって複数の mRNA が形成される。この過程でエキソン 3, 4 がスキップされることもある。最も大きなエキソン 6 の大半がスキップされたものから、leucine-rich amelogenin peptide (LRAP) として知られる低分子量ペプチドが形成される(図1)。

細胞外に分泌されたアメロジェニンはタンパク質分解酵素による分解を受けて、さらに多様な分子種を生じる(図1)。実際にエナメル質中に何種類かのタンパク質分解酵素が検出されている。たとえば、MMP に属するエナメライシン (MMP-20) やセリンプロテアーゼの一種

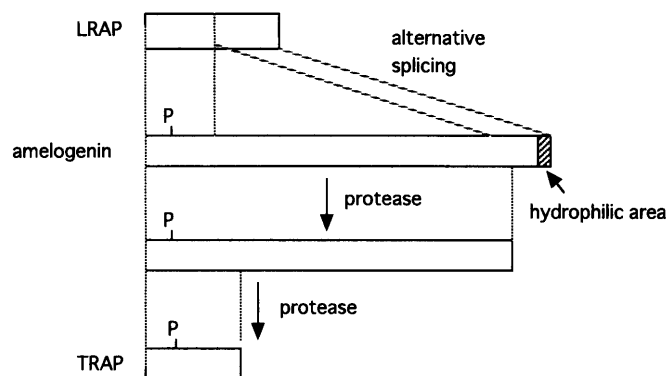


図1 アメロジェニンとアメロジェニン由来ペプチド  
アメロジェニンは未石灰化エナメル質の主要なタンパク質である。アメロジェニンは N 末端近くにリン酸化部位(P), C 末端に親水性領域を持っている。分泌後、アメロジェニンはプロテアーゼ消化を受け、まず C 末端親水性領域が失われ、さらに分解されて TRAP 等の低分子ペプチドを生ずる。あるいは、スプライシングの違いによって LRAP のようなペプチドを生ずる。これらの過程が組み合わさることによって、きわめて多様な分子種を生ずる。

が存在する。はじめにアメロジェニン分子の C 末端の親水性領域が切り離される。その後、分子内のさまざまな位置で切断がおこる。N 末端から分子の全長の約 1/4 のところで切断されると、tyrosine-rich amelogenin peptide (TRAP) として知られるペプチドが形成される。分解はさらに進行してアメロジェニンは低分子化され、最終的には吸収されてしまう。この時期のエナメル芽細胞は吸収期エナメル芽細胞と呼ばれる。

アメロジェニンの機能に関してはさまざまな考えが提出されている。消極的な役割としては、将来石灰化がおこる場所を確保するという役割が考えられている。アメロジェニンは、疎水性相互作用によって会合してゲルを形成して、石灰化がおこる予定の空間を占める。石灰化の開始に先だって、上記のタンパク質分解酵素によって分解され、基質から除去されると考える。より積極的な役割を想定する研究者は、アメロジェニンがハイドロキシアパタイト結晶の核生成や結晶成長をコントロールすると考える。N 末端近くのリン酸化部位または C 末端の親水性部位が、このようなコントロールをおこなう可能性のある部位である。

エナメル質形成不全は先天性のエナメル質形成障害である。肉眼的な症状としては、エナメル質の厚みの減少や石灰化の低下が見られる。遺伝型としては体染色体優性・劣性および X 染色体連鎖優性・劣性型がある。X

染色体に関連したエナメル質形成不全の中には、アメロジェニン遺伝子の異常が検出された例がある<sup>3)</sup>。ヒトのアメロジェニン遺伝子は、X染色体のp22.1-22.3領域に位置する。エナメル質形成不全の遺伝解析から、その原因遺伝子がこの領域に局在することが明らかになった。さらに詳細な解析により、この疾患ではアメロジェニン遺伝子の内部に5 kbにわたる欠損が存在することが見いだされた。もう1つの例では、アメロジェニン遺伝子の第5エクソンの途中でナンセンス変異が生じている。これらの、アメロジェニン遺伝子の変異が、エナメル質の正常な形成および石灰化を阻害すると考えられる(図2)。

非アメロジェニン成分の代表的なタンパク質がエナメルリンである。エナメルリンは全エナメル・タンパク質の1/10以下を占めるにすぎないが、アメロジェニンよりミネラル結晶との親和性が強いことから注目されている。エナメルリンもプロリンに富むタンパク質ではあるが、アメロジェニンほどではない。酸性の糖タンパク質であり、脱灰操作によって抽出されることから、ミネラル結晶に親和性を持つと考えられている。実際に、試験管内での結合実験でも、エナメルリンがハイドロキシアパタイトに結合することが確かめられている。

アメロジェニンと同様に、エナメルリンもエナメル質の成熟とともにプロテアーゼによる分解を受けて、低分子成分が出現する。合成分泌された直後のエナメルリンは

140~150 kDaの大きさであるが、ただちに分解されて、30~60 kDaの断片となって組織中に存在する。そしてさらに分解されて、石灰化とともにエナメル質基質から除去されていく。除去の速度はアメロジェニンより遅く、一部のタンパク質は石灰化完了後も微量成分として残存する。エナメルリンの機能については、アメロジェニンと同様に不明な点が多いが、アメロジェニンよりもより直接的に結晶形成のコントロールに関与すると想像されている。

非アメロジェニン成分の中でこのほかにクローニングされたタンパク質としては、シースリン(アメロブラスチン)とタフテリンがある。シースリンは62 kDaのタンパク質として合成分泌されるが、分解されて13~17 kDaの断片として組織中に残る。これらの断片は、エナメル小柱鞘という、エナメル質結晶をかこむ組織に局在する。タフテリンはエナメル叢とよばれるエナメル質中の組織に関連して存在すると考えられている。

### 象牙質の細胞外マトリックス成分

象牙質は、神経堤細胞由来の間葉系細胞である象牙芽細胞によって形成される。象牙質基質は骨と同様に不溶性コラーゲンにより構成されている。エナメル質とは異なり、象牙質の基質タンパク質は石灰化後も残存して、組織の一構成要素となる。象牙芽細胞は基質を分泌しながら後退していき、分泌された基質には次の段階でミネラル結晶が沈着する。したがって象牙芽細胞と石灰化領域(石灰化前線)の間には、狭い未石灰化領域が存在する。この部分は象牙前質と呼ばれる。象牙芽細胞は象牙質基質中に長い突起をのばしている。

象牙質基質は重量比で約70%を占めるミネラルと約20%を占めるタンパク質より構成される。ミネラルは力学的には圧縮強さに寄与し、タンパク質は引っ張り強さに寄与している。したがって、象牙質は、100%のミネラルよりなるエナメル質より硬度は劣るが、強靱性はすぐれている。象牙質のタンパク質の大部分を占めるのはI型コラーゲンである。その他に少量成分として非コラーゲン性タンパク質と総称されるタンパク質群が存在する。

象牙質のコラーゲンはI型コラーゲンのみよりなることが特徴である。III型コラーゲンは、幼若な場合をのぞいてほとんど存在しない。この点で皮膚のコラーゲンとは異なる。少量のV型コラーゲンも存在するようである。その他に $\alpha 1(I)$ 鎖3本よりなる $\alpha 1$ トライマーの存在も報告されている。物理化学的性質に関しては、不溶性が高いことが象牙質コラーゲンの特徴である。酸抽出をおこなっても、軟組織コラーゲンのように膨潤することもなく、原型を保ったままで、抽出されない。象

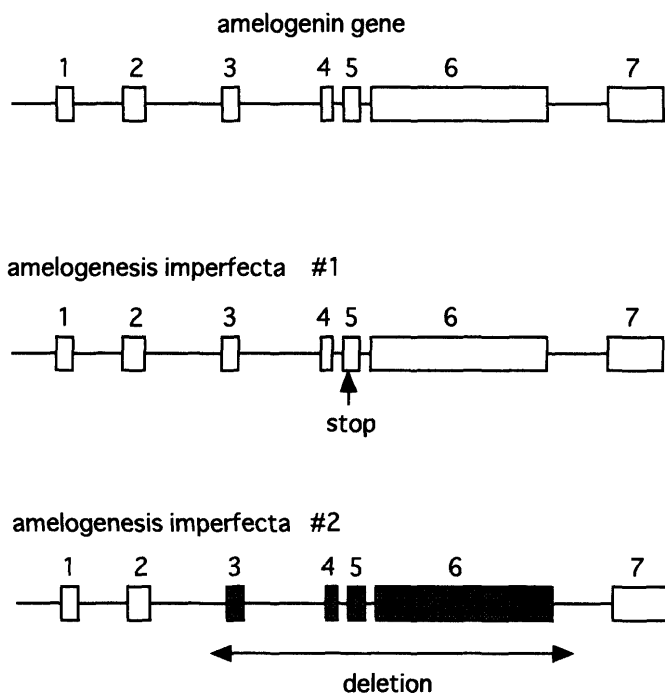


図2 エナメル質形成不全とアメロジェニン遺伝子

アメロジェニン遺伝子は7つのエクソンよりなり、XおよびY染色体上にある。エナメル質形成不全のいくつかの症例では、アメロジェニン遺伝子に異常があることがわかっていて、1例ではエクソン5の途中でナンセンス変異が生じている。他の1例では複数のエクソンにわたる欠失が生じている。

## 歯の細胞外マトリックス

表2 象牙質の基質タンパク質

|                        |                                         |
|------------------------|-----------------------------------------|
| フォスフォフォリン              | 象牙質に特有のリン・タンパク質。P-Ser, Asp に富む。150 kDa. |
| 象牙質シアロ・プロテイン (DSP)     | 象牙質に特有のシアロ糖タンパク質。53 kDa.                |
| DMP-1                  | BAG 75 と同じか?                            |
| オステオカルシン (BGP)         | Gla タンパク質。6 kDa.                        |
| オステオネクチン               | Ca 結合タンパク質。40 kDa.                      |
| 骨シアロ・プロテイン (BSP)       | 細胞接着性シアロ糖タンパク質。                         |
| オステオポンチン               | 細胞接着性シアロ糖タンパク質。                         |
| バイグリカン                 | CS プロテオグリカン                             |
| デコリン                   | CS プロテオグリカン                             |
| $\alpha 2$ HS グリコプロテイン | 血清タンパク質                                 |
| 血清アルブミン                | 血清タンパク質                                 |

牙質コラーゲンのもう1つの特徴は、2分子をつなぐ架橋結合であるジヒドロキシリジノールロイシン (DHLNL) の割合が多いことである。この架橋はコラーゲン分子のC末端テロペプチド部分を、4Dずれたもう1つの分子のコラーゲンに結合している。また、後に述べるように、非コラーゲン性タンパクの一部もまたコラーゲンに結合している。

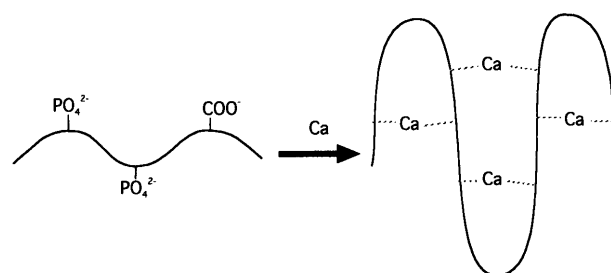
象牙質の非コラーゲン性タンパク質は、量的にはコラーゲンの1/10以下であるが、石灰化との関連から注目されている<sup>4),5)</sup>。このグループに属するタンパク質の多くは、酸性の糖タンパク質である(表2)。骨にも共通して存在するタンパク質もあるが、次に述べるフォスフォフォリンのように象牙質に特有なものもある。

象牙質の非コラーゲン性タンパク質のうちで最大量を占めるのは、象牙質リン・タンパク質、フォスフォフォリンである。フォスフォフォリンは象牙質に特有のタンパク質であり、骨基質中にはこれに類似したタンパク質さえ見いだされていない。きわめて特徴的な組成を持っており、多量のリン酸基を持つことから、フォスフォフォリンの名がついている<sup>6),7)</sup>。

フォスフォフォリンは大量のマイナス荷電を持つタンパク質である。全アミノ酸の40~50%はセリンよりなり、その大部分はリン酸化されている。また、全アミノ酸の30~40%はアスパラギン酸である(図3)。したがって、分子のほとんどは酸性アミノ酸によって構成されるということになる。等電点は1.1であると報告されている。中性pHでは、これらの酸性アミノ酸はほとんどイオン化しているので、分子は大量のマイナス荷電を持つことになる。

フォスフォフォリンの1次構造は、最近そのcDNAがクローニングされて、明らかになった。それによると、フォスフォフォリンは、後述の象牙質シアロ・タンパク質(DSP)と一続きのmRNAとして転写される。このmRNAは、おそらくタンパク質に翻訳後、プロテアーゼによって切断されて、そのC末端側の断片がフォスフォフォリンとして遊離されると考えられている(図4)。フォスフォフォリン分子は488残基のアミノ酸よりなる。分子のほとんどはセリンとアスパラギン酸よ

A



B

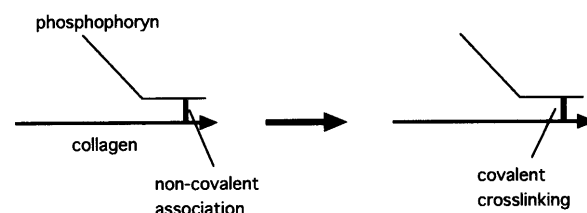


図3 象牙質に特有のリン・タンパク質、フォスフォフォリン

フォスフォフォリンはP-Ser, Aspに富むタンパク質であり、分子内に多量のリン酸基とカルボキシル基を含む。これらの酸性基はCaイオンを結合し、タンパク質のコンフォメーション変化をおこす(A)。フォスフォフォリンはコラーゲンに対して親和性を持つ。さらに、象牙質中で長時間経過するうちに、両タンパク質の間に共有結合性の架橋が形成される(B)。

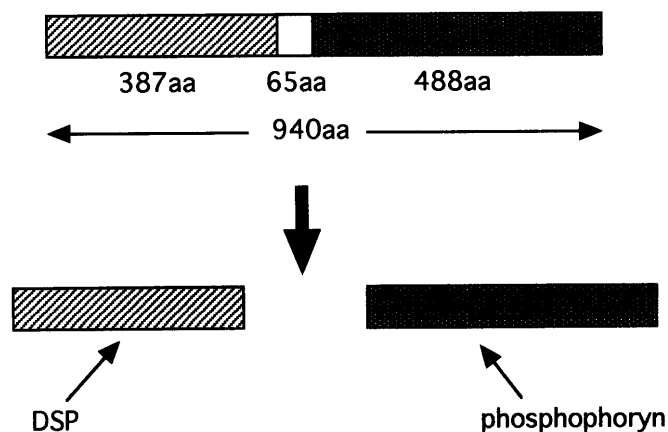


図4 象牙質シアロ・タンパク質(DSP)とフォスフォフォリンの産生

DSPとフォスフォフォリンは一続きのタンパク質として合成された後、プロテアーゼによって分解されて両タンパク質が形成されると考えられている。

りになっている。特徴的な配列は、 $(\text{Asp-Ser-Ser})_n$  のくりかえし配列である。実際にはこのセリンはリン酸化されているので、 $(\text{Asp-Ser(P)-Ser(P)})_n$  という配列になる。

酸性アミノ酸を多数含むことから予想されるように、フォスフォセリンは多量のカルシウム・イオンを結合する能力を持つ。カルシウム・イオンは、フォスフォセリンのリン酸基およびアスパラギン酸のカルボキシル基に結合する。カルシウム・イオンの結合によって、フォスフォセリンはコンフォーメーション変化をおこし、電子顕微鏡で観察すると、直径 25 nm の顆粒状を呈するようになる (図 3)。さらにカルシウム・イオンを結合すると沈殿を形成する。この現象は、フォスフォセリンの簡単な精製法としても利用されている。

フォスフォセリンは象牙芽細胞によって合成される。この合成は十分成熟した象牙芽細胞によっておこなわれる。mantle dentin とよばれる、未成熟な象牙芽細胞によって形成される象牙質には、フォスフォセリンは存在しない。象牙芽細胞の成熟とともにフォスフォセリンの合成量は上昇する。また、損傷に対する修復として形成される、修復象牙質にもフォスフォセリンは見られない。

フォスフォセリンの合成は粗面小胞体でおこなわれ、合成された分子はゴルジ体を経て分泌顆粒にとりこまれる。セリン残基のリン酸化はカゼイン・キナーゼ II 類似の酵素によっておこなわれるらしい。完成したフォスフォセリンは、象牙芽細胞の突起中を運ばれて象牙前質を通過し、石灰化前線で分泌される。この分泌経路はコラーゲンとは異なる。コラーゲンは象牙芽細胞から直接に象牙前質に分泌される。細胞外に分泌された後、フォスフォセリンはコラーゲンに結合した状態で存在すると推定される。試験管内の結合実験でも両タンパク質の間の親和性が確認されている。フォスフォセリンはコラーゲン分子の C 末端付近に選択的に結合する。コラーゲン線維の場合はホールゾーンの領域内の e-band とよばれる部分に結合する。

象牙質は、骨とは異なり吸収を受けない組織なので、分泌されたフォスフォセリンは象牙質内に長期間とどまることになる。この間にさまざまな修飾反応を受ける。その 1 つは、ポリペプチド主鎖の切断による分子の低分子化である。この切断は、分泌直後では酵素的反応によるが、その後の長期間の間には非酵素的反応が主体となっておこなわれる。主要な非酵素的反応経路としては、フォスフォセリンの  $\beta$  脱離反応があげられる。 $\beta$  脱離反応によってリン酸基がはずれ、その後ポリペプチド鎖の断裂がおこる。

$\beta$  脱離反応後、断裂がおこる一方で、リジンの  $\epsilon$  アミノ基が反応すると分子間架橋が形成される。おそらく

このような機構によって、フォスフォセリンの一部は基質の不溶性コラーゲンに強固に結合すると考えられている。フォスフォセリンの一部は、いかなる方法を用いても、基質コラーゲンから分離されないことは、古くから知られていた。その後、基質コラーゲンを分解する処理によって、これを可溶化することが可能になったが、得られた可溶化物は、フォスフォセリン部分とコラーゲン部分を含むペプチドであった。このペプチドの分析により、フォスフォセリンはコラーゲンの C 末端近くに結合していることがわかった (図 3)。

フォスフォセリンの機能としては、第一に、石灰化への関与が考えられている<sup>8)</sup>。フォスフォセリンはカルシウム・イオンおよびハイドロキシアパタイトに対して親和性を持ち、試験管内での石灰化に影響をあたえることができる。このタンパク質は、ハイドロキシアパタイト結晶の特に (100) 面に対して特異的に結合する (図 5)。その結果、この面に垂直方向への結晶成長が阻害される。一方、固体表面上に固定された状態では、フォスフォセリンはリン酸カルシウム結晶の核生成を促進する。このように、遊離状態では結晶成長を抑制し、固定された状態では核生成を促進することは、他の石灰化組織の酸性タンパク質でも観察されている。象牙質内では、フォスフォセリンは不溶性のコラーゲン線維に結合して存在すると考えられる。これは、固体表面上に固定された状態に相当し、したがって、石灰化を誘発するのではないかとわれわれは考えている。このほかに、コラーゲン線維の形成をコントロールする能力もこのタンパク質は持っている。

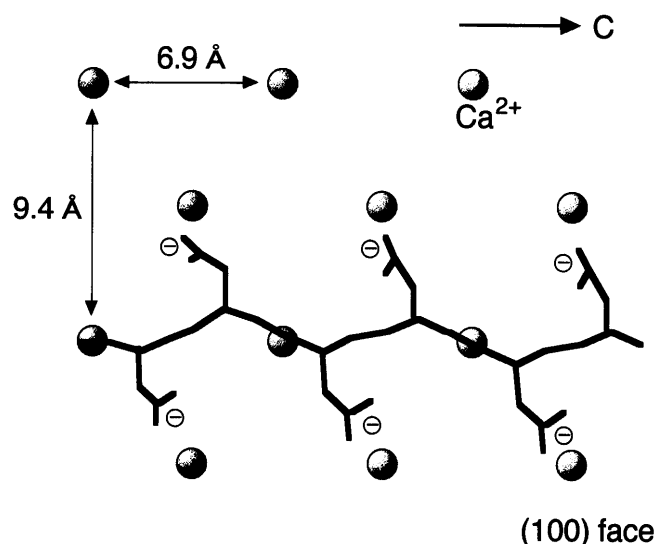


図5 ハイドロキシアパタイト結晶の (100) 面上へのフォスフォセリンの吸着の模式図

フォスフォセリンはアパタイト結晶の (100) 面に選択的に吸着する。結晶表面上では  $\beta$ -シート構造に似た伸展した構造をとっている。図ではアパタイト結晶のカルシウム原子のみを示している。フォスフォセリンの酸性アミノ酸の酸性側鎖の間隔は、カルシウム原子の間隔にほぼ一致する。

## 歯の細胞外マトリックス

先天性の象牙質形成障害である象牙質形成不全 (DI) では、フォスフォフォリンの減少が報告されている。遊離のフォスフォフォリンおよび基質結合性のフォスフォフォリンが、ともに減少している。ただし、これらのタンパク質の変化が、象牙質形成不全の一次的な病因であるのか、二次的な変化であるのかは明らかではない。II 型象牙質形成不全に関する遺伝的解析によると、その病因遺伝子はヒト第 4 染色体長腕の 4q21 付近に位置することが明らかになった。この部位はフォスフォフォリン遺伝子の位置と一致する。したがって、II 型象牙質形成不全とフォスフォフォリン遺伝子との関係が注目されているが、まだ原因遺伝子を特定するには至っていない。

象牙芽細胞の cDNA ライブラリーから、フォスフォフォリンと似た組成を持つタンパク質の cDNA がクローニングされている。Dentin matrix protein-1 (DMP-1) と名づけられたこのタンパク質は、シグナル配列をのぞいて 473 残基のアミノ酸よりなり、分子量は 53,000 と計算される。このタンパク質はアスパラギン酸とセリンに富み、この意味でフォスフォフォリンと似ているが、別のタンパク質である。セリンの多くはカゼインキナーゼ II でリン酸化可能なアミノ酸配列中にあり、リン酸化されていると考えられる。DMP-1 は基質形成期の象牙芽細胞によって合成される。このタンパク質は、はじめ象牙質に特有のタンパク質であると考えられたが、その後、骨にも存在することが確認され、骨のタンパク質である BAG-75 に類似したタンパク質ではないかと考えられている。

もう 1 つの象牙質に特有な非コラーゲン性タンパク質は、象牙質シアロ・タンパク質 (DSP) である。シアロ・タンパク質としては、骨基質中に骨シアロ・タンパク質 (BSP) およびオステオポンチンが存在する。これらのタンパク質は Arg-Gly-Asp 細胞接着配列を持ち、細胞の基質への接着を促進する。BSP もオステオポンチンも象牙質中にも存在するが、その量は骨中の 1/10 以下である。そのかわりに、象牙質中には DSP が存在する。DSP はラットの象牙質中ではフォスフォフォリンに次ぐ量を占める。

DSP は分子量 53,000 で、重量比で約 30% の糖鎖を含む。この糖鎖はシアル酸に富んでいる。アミノ酸としてはグルタミン酸、アスパラギン酸のような酸性アミノ酸およびセリンに富んでいる。全体で 366 残基のアミノ酸よりなり、N-グリコシル化部位およびリン酸化部位を含んでいる。BSP やオステオポンチンとは異なり、Arg-Gly-Asp 細胞接着配列を含んでいない。既述のように、DSP はフォスフォフォリンと同じ遺伝子上にあり、フォスフォフォリンと一続きのタンパク質として合成されて、その後、分解されて独立したタンパク質とし

て遊離するらしい (図 5)。このタンパク質は象牙芽細胞によって合成・分泌される。象牙質以外の組織では DSP およびその mRNA は検出されていない。

以上に述べた、フォスフォフォリン、DSP は象牙質に特有なタンパク質であるが、象牙質中にはこのほかに、骨にも共通して存在する非コラーゲン性タンパク質がいくつか存在する。その 1 つが骨 Gla タンパク質 (BGP/オステオカルシン) である。BGP は Gla すなわち  $\gamma$ -カルボキシグルタミン酸を 1 分子あたり 3 残基含む、カルシウム結合タンパク質である。アミノ酸 50 残基程度よりなる小さなタンパク質である。象牙質では象牙芽細胞によって合成・分泌される。 $\gamma$ -カルボキシグルタミン酸は、翻訳後修飾によってグルタミン酸から合成されるアミノ酸で、この合成にはビタミン K が必要である。象牙質では、BGP は象牙芽細胞によって合成・分泌される。分子の末端部分の切断による複数の分子種の存在が報告されている。

オステオネクチンは骨の酸性糖タンパク質の 1 つであるが、このタンパク質も象牙質中に存在する。オステオネクチン (SPARC) は分子量約 4 万の糖タンパク質で、EF-ハンド型のカルシウム結合部位を 1~2 か所持っている。ハイドロキシアパタイト結晶に親和性を持ち、結晶表面に吸着して、結晶成長を抑制する。また、細胞が基質へ接着・伸展するのを阻止する効果がある。象牙質中でのこのタンパク質の含有量は、骨中よりも少ない。オステオネクチンは象牙芽細胞によって合成・分泌され、象牙質だけでなく、象牙芽細胞突起中および象牙前質にも検出される。オステオネクチン含有量は成熟した象牙質では減少しており、この点でフォスフォフォリンの成熟にともなう変化とは異なる。

象牙質の非コラーゲン性タンパク質のもう 1 つのグループは、プロテオグリカンである。骨にはバイグリカン (PG I)、デコリン (PG II) と呼ばれるプロテオグリカンが存在する。これらは、軟骨の会合型プロテオグリカンよりずっと小さなプロテオグリカンであり、グリコサミノグリカン鎖も 1~2 本しか結合していない。これらのプロテオグリカンは象牙質にも存在すると考えられる。これ以外のプロテオグリカンも象牙質中に検出されている。未石灰化領域である象牙前質には、象牙質とは異なり、コンドロイチン-6-硫酸を含むプロテオグリカンが存在する。石灰化とともにこのプロテオグリカンは消失するので、石灰化との関連から注目されている。

## ま と め

歯のエナメル質は石灰化以前にはタンパク質を含んでいるが、石灰化とともにこのタンパク質は分解除去される。完全に石灰化したエナメル質には、ほとんどタンパ

ク質は残っていない。未石灰化エナメル質の主要なタンパク質は、アメロジェニンと呼ばれる、Pro に富む疎水性のタンパク質である。このタンパク質は会合してエナメル質基質を構成し、石灰化前に特有のプロテアーゼによって分解される。

歯の象牙質は骨と同様に、コラーゲンを主体とする基質を持っている。石灰化はコラーゲン線維の中および周囲に起こり、コラーゲンは石灰化が完了した後も残存する。コラーゲンの他に、非コラーゲン性タンパク質と総称される少量成分が存在する。このグループの1つは、フォスフォフォリンと呼ばれる、象牙質に特有のリン・タンパク質である。このタンパク質は大量の P-Ser と Asp を含む強酸性タンパク質である。コラーゲン線維に結合して、リン酸カルシウム結晶の核形成をおこなうことができるので、象牙質石灰化に関与するのではないかと考えられている。

## 文 献

- 1) Fincham, A. G., Leu, E. C., Simmer, J., and Zeichner-David, M. (1992) Amelogenin biochemistry—Form and function. In: Slavkin, H. (ed) Chemistry and Biology of Mineralized Tissues. Excerpta Medica, pp. 187-202
- 2) Robinson, C., Brookes, S. J., Shore, R. C., and Kirkham, J. (1998) The developing enamel matrix : nature and function. *Eur. J. Oral Sci.* **106** (supp.), 252-291
- 3) Wright, J. T., Robinson, C., and Kirkham, J. (1992) Enamel protein in the different types of amelogenesis imperfecta. In: Slavkin, H. (ed) Chemistry and Biology of Mineralized Tissues. Excerpta Medica, pp. 441-450
- 4) Butler, W. T., and Ritchie, H. (1995) The nature and functional significance of dentin extracellular matrix proteins. *Int. J. Develop. Biol.* **39**, 169-179
- 5) Butler, W. T. (1998) Dentin matrix proteins. *Eur. J. Oral Sci.* **106** (supp.), 204-210
- 6) 藤沢隆一, 佐々木哲 (1983) 歯の高リン酸化 Ca 結合タンパク質—ホスホリン. *蛋白質核酸酵素 別* **26**, 333-344
- 7) Veis, A. (1985) Phosphoproteins of dentin and bone : Do they have a role in matrix mineralization? In: Butler, W. T. (ed) The Chemistry and Biology of Mineralized Tissues. Ebsco Media, pp. 170-176
- 8) 久保木芳徳, 藤沢隆一 (1992) 石灰化, 細胞外マトリックスのバイオサイエンスとバイオテクノロジー (藤本大三郎編), アイピーシー, 東京, pp. 220-238
- 9) 久保木芳徳 (1995) 骨形成と細胞外マトリックス. *蛋白質核酸酵素* **40**, 475-491
- 10) 久保木芳徳 (1996) 石灰化マトリックスとは何か. 海洋生物の石灰化と硬組織 (和田浩爾, 小林巖雄編) 東海大学出版会, 東京, pp. 165-176