

学位申請論文

星状網における Filamin A 依存的 EMT の
歯の形態形成への影響

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯科矯正学分野

小佐見 昂宏

指導教授

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯科矯正学分野

上岡寛

星状網における Filamin A 依存的 EMT の歯の形態形成への影響

小佐見 昂宏

緒言

歯の発生は、口腔上皮の局所的肥厚と内方への陥入により歯堤 (dental lamina) が形成されることに始まり、歯堤はさらに発達して外エナメル上皮、内エナメル上皮、星状網 (stellate reticulum: SR) からなる層構造へと分化・確立される¹⁾。SR は歯胚全体の形態を機械的に支持するとともに、内エナメル上皮への栄養供給およびシグナル伝達の間として機能する^{2,3)}。SR は外エナメル上皮と内エナメル上皮の間に位置する上皮性の細胞集団であり⁴⁾、細長い細胞突起で互いに連結し網目状構造を形成し、間葉細胞様の外観を呈する。すなわち、SR には上皮の形態と間葉の形態の双方が認められ、この点は同部位での上皮-間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition: EMT) の関与を示唆する。

EMT は、上皮細胞が極性と細胞間接着を減弱させ、間葉様の性質と運動性を獲得する発生プログラムであり、形態形成のみならず創傷治癒や病態にも関与する⁵⁾。その際、上皮マーカーである E-cadherin の低下とともに間葉系マーカーである N-cadherin の発現が亢進

することが観察され、細胞間接着様式と細胞移動能の再構築に寄与するとされる⁶⁾。また、CD90 は EMT を経て上皮細胞が間葉様の性質を獲得した状態を示す間葉系マーカーの 1 つとして用いられている⁷⁾。さらに、EMT 誘導性転写因子である SNAI1 は E-cadherin などの上皮系マーカー遺伝子の転写を抑制し⁸⁾、N-cadherin などの間葉系マーカー発現誘導を介して EMT を制御する代表的な因子である^{9,10)}。顎顔面形成では、口蓋突起の癒合過程で正中縫合上皮が EMT を経て間葉様へ転換し、上皮層の消失と連続した間葉組織の形成を介して癒合が完了する^{11,12)}。同様の EMT 依存的機構は鼻突起と上顎突起の癒合にも報告されている¹³⁾。さらに、歯の形成は口腔上皮と神経堤由来間葉の緊密な相互作用により進行し¹⁴⁾、一部の過程では上皮細胞が部分的に間葉様の特徴を獲得する partial EMT が報告されており、とくにエナメル質形成を担うアメロブラストへの分化過程では、細胞移動や形態変化と並行して EMT 様の変化が観察される¹⁵⁾。

Filamin A (FLNA) はアクチン細胞骨格に結合する大型タンパク質であり、細胞形態の維持、遊走、力学刺激への応答、ならびに受容体・転写経路の統合に関与する^{16,17)}。FLNA をコードする遺伝子は X 染色体上に位置する X 連鎖遺伝子である¹⁸⁾。発生期には中枢神経系、心臓、骨格、口蓋などで細胞移動と形態形成を制御することが示され、ヒトでは FLNA 変異により脳室周囲結節性異所性灰白質、骨格異常、心血管病変、口蓋裂など多彩な先天異常が報告されている^{19,20)}。全身性 *Flna* 欠損マウスは胎生致死となり、生存に必須の臓器形成に致命的な障害を生じる²¹⁾。これらの知見は、FLNA が発生過程における細胞の形態変化

や移動などの挙動を上流段階で制御する調節因子であることを示唆する²²⁾。さらに、近年では FLNA は上皮細胞の間葉様形質の獲得や細胞接着の再構築といった EMT の制御にも関与することが報告されている²³⁾。

一方で、顎顔面および歯の発生過程に EMT の関与は報告されているものの、SR において EMT が実際に生じていることを示す直接的な証拠や、その現象が担う機能的役割については、いまだ十分に明らかにされていない。さらに、FLNA は細胞骨格とシグナル伝達を介して細胞接着や転写制御を調節し得る分子であるが^{16,24)}、発生期エナメル器においてどのような役割を果たすかは明らかでない。したがって、本研究では、発生期マウス歯胚の SR において EMT が生じるかを検証し、FLNA が SR の EMT を調節するかを明らかにするとともに、その結果が歯の形態形成、とくにエナメル質厚および関連形態指標に及ぼす影響を評価することを目的とした。

材料ならびに方法

1.動物と遺伝子型

すべての動物実験は、岡山大学動物実験委員会の承認（OKU-2022840）のもとで実施した。上皮特異的 *Flna* 遺伝子欠損マウスを作出するために、*Flna* flox マウス (Flnatm1.1Caw/J, The Jackson Laboratory, Stock No.010907) および KRT14-cre マウス (Tg(KRT14-cre)1Amc/J, The Jackson Laboratory, Stock No.004782) を The Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA) より購入し使用した。これらのマウスを交配することにより、*Flna* コンディショナルノックアウト雄マウス (K14-Cre⁺ *Flna* flox/y; 以下 cKO) およびコントロール雄マウス (K14-Cre⁻ *Flna* flox/y; 以下 Cont) を作出し、今回の実験に用いた。

ジェノタイピングにはマウス尾部組織を採取し、Tail Lysis Buffer (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) を用いて DNA 抽出を行った後、プライマーセットを用いた PCR により Cre および *Flna* flox アレル、Y 染色体の有無を判定した。PCR 反応は T100 Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) を用いて行った。胎齢は膈栓を確認した日を E0.5 と定義し、免疫蛍光 (immunofluorescence: IF) 解析には胎齢 E13.5~E15.5 の胎仔歯胚を用いた。Micro-CT 解析には、同系統から得られた生後 1 年~1 年 2 か月齢の成体マウスを用いた。母マウスおよび成体マウスは二酸化炭素吸入後に断頭することにより安楽死させた。E13.5-E15.5 のマウス胎児に関しては、断頭法にて安楽死させ、頭部を摘出した。

2.組織固定・包埋・切片作製

固定は、既報の方法に準じて、リン酸緩衝生理食塩水で希釈した 4 %パラホルムアルデヒド溶液にて固定後、スクロース置換し、Tissue-Tek O.C.T. compound (Sakura Finetek, Torrance, CA, USA) で凍結包埋した。CM3050 S cryostat (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) を用い、フィルム法²⁵⁾にて厚さ 10 μ m の切片を作製した。切片はスライドへ回収し、封入まで低温暗所で保管した。

3.免疫蛍光染色

作製した切片をランダムに選出し、リン酸緩衝生理食塩水で希釈した 0.3 % Triton X にて処理後、PBS で希釈した 4 % パラホルムアルデヒドで後固定した。Blocking One Histo (Nacalai Tesque) で 10 分間ブロッキングし、一次抗体を 4 °Cで一晩反応させ、二次抗体を室温で 1 時間反応させた。核染色には DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole; Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) を 10 分間用いた。フィルムをスライドガラス (Matsunami, Osaka, Japan) に回収し、Dako Fluorescence Mounting Medium (Agilent, Santa Clara, CA, USA) で封入し、カバーガラス (Matsunami) で被覆した。

一次抗体は FLNA (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA; PA5-82043), SNAI1 (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA; sc-271977), E-cadherin (Thermo Fisher

Scientific, Waltham, MA, USA; 14-3249-82), N-cadherin (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA; 33-3900), CD90/Thy1 (Abcam, Cambridge, UK; ab225) を用いた。二次抗体は Alexa Fluor 488/594 標識 goat anti-rabbit/mouse/rat IgG (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) を使用した。

撮影は共焦点レーザー顕微鏡 LSM780 (Carl Zeiss, Jena, Germany) で行い, ImageJ (NIH, Bethesda, MD, USA) で画像解析した。FLNA, SNAI1, CD90 の平均蛍光強度を算出し, 細胞密度の影響を補正するため DAPI 陽性核数で規格化した相対蛍光強度を用いた。群間比較ではコントロールの平均を 1 に正規化し (Cont=1), cKO を相対値で表記した。

4. Micro-CT 撮像と解析

Micro-CT は Skyscan 1174 (Bruker, Kontich, Belgium) を用いて撮像し, 再構成後に SkyScan ソフトウェア (NRecon, CTAn, Dataviewer, Belgium) を用いてエナメル質の体積と厚みを解析した。造影剤は使用せず, VOI (volume of interest) はエナメル質に対応する領域として事前に定義した。しきい値はエナメル質に対する固定値を用いて二値化し, 厚みは CTAn に実装されたソフトウェア標準アルゴリズム (構造厚さ/平均厚さ) で算出した。

撮影条件は再構成ボクセルサイズ 12.93 μm (全データ共通), ピーク電圧 50 kV, ピーク電流 800 mA, 0.5 mm アルミニウムフィルター使用とした。水平断 (axial) で咬頭頂から 30 スライス進めた位置を起点に, 連続 10 スライス (総厚さ 129.3 μm) を VOI として解

析した。

5.統計解析

各データは平均±標準偏差（SD）で表した。2 群間の比較は対応のない t 検定（両側）を用い，等分散が成り立たない場合は Welch 補正を適用した。解析単位は個体平均とし，有意水準は $p < 0.05$ とした。

結果

SR における FLNA および間葉系マーカー／EMT 転写因子の発現

SR 領域における間葉系細胞の発現を明らかにするために、E14.5 コントロールマウスの歯胚で免疫蛍光染色を行った。その結果、SR 領域に間葉系マーカーである CD90 および N-cadherin の発現を認めた（図 1A）。このことから、上皮由来の組織である SR において間葉性性質を有する細胞の存在が示唆された。次に、SR における間葉系細胞の発現と FLNA の関係を調べるために免疫蛍光染色を行った結果、これら間葉系マーカーの発現領域に FLNA の共局在を確認した（図 1B）。さらに、EMT 転写因子である SNAI1 の染色でも SR 領域で FLNA との共局在を認めた（図 1C）。これらの結果から、SR において EMT が発現しており、同領域に FLNA が局在していることが明らかとなった。さらに、発生期における FLNA の発現時期を把握するために、E13.5~E15.5 歯胚の代表像を比較した。その結果、SR 領域の FLNA シグナルは E13.5 および E14.5 で明瞭に認められたのに対し、E15.5 では散在的で弱いシグナルにとどまった（図 2）。このことから、FLNA の発現は歯胚の発生初期に限られた時期に認められることが示された。

上皮特異的 *Flna* 欠損による SR での EMT への影響

上皮特異的 *Flna* 欠損が SR 領域の EMT 関連シグナルに及ぼす影響を検証するために、

E14.5 cKO およびコントロールマウスの歯胚で FLNA, SNAI1, CD90 の免疫蛍光シグナルを取得し、画像解析ソフトにて定量した。その結果、cKO はコントロールと比較して間葉系マーカーおよび EMT 転写因子のいずれの発現も有意に低下していた(図 3)。このことから、FLNA が SR における EMT の進行を制御している可能性が示された。

上皮特異的 *Flna* 欠損による歯の形態形成への影響

FLNA による EMT 制御が歯の形態形成に与える影響を評価するために、cKO およびコントロール成体マウスの下顎第一臼歯を用いて micro-CT 解析を行った。CT 撮影および解析では、エナメル質の厚みの差異を検出でき、かつ歯根や周囲骨の影響を受けにくい歯冠部の領域を VOI として設定した。その結果、cKO 個体においてエナメル質の厚みは有意に低下していた。一方、VOI に基づく体積指標では明確な差を認めなかった (図 4)。このことから、FLNA が局所的な歯の形態形成、とくにエナメル質厚の制御に影響を与える可能性が示唆された。

考察

顎顔面の発生は、上皮組織と神経堤由来間葉組織との緊密な相互作用によって進行する形態形成過程であり、複数の突起が成長し癒合することで上顎・下顎や口蓋などの構造が形成される^{11,12)}。また、歯の発生も、この顎顔面発生の一部として歯堤領域で開始され、口腔上皮の一部が肥厚して歯堤を形成し、蕾状期、帽状期、鐘状期へと段階的に移行する¹⁾。この過程では、上皮-間葉相互作用とそれに伴う細胞の変化により、歯胚の発生が進行する。各ステージでは、上皮細胞と間葉細胞が増殖能や分化状態、配置を変化させながら最終的な歯の形態を形成していく。鐘状期の歯胚では、エナメル器は外エナメル上皮、内エナメル上皮、中間層およびSRからなる構造を呈する。SRは内外エナメル上皮の間に位置する上皮由来の細胞集団であり、細胞同士が長い細胞突起で連結し、その間隙に豊富な細胞外マトリックスが蓄積することで、疎な星状配列と広い細胞間空間を特徴とする⁴⁾。この特異な形態から、上皮由来でありながら間葉系細胞様の外観を示す領域であり、EMTが生じている可能性が考えられる。本研究では、SR領域においてCD90やN-cadherinなどの間葉系マーカーに加え、EMT誘導性転写因子であるSNAI1の発現が確認されたことから、SR領域の細胞が間葉様性を獲得している可能性が高く、SRにおいてEMTあるいはEMT様の現象が生じていることが示唆された。こうした特徴により、SRは歯胚内部の機械的支持と栄養・シグナル分子の拡散経路として働くとともに、エナメル芽細胞の分化やエナメル質形成時

の形態維持に寄与する可能性が推察される。SR における EMT を直接的に扱った報告はなく、本研究は初めてその可能性を支持するものとなった。

本研究が FLNA に着目した理由は、EMT では接着・アクチン骨格・力学応答が同時に変化するため、それらを統合的に制御し得る足場分子が求められ、FLNA がその条件を満たすと考えられるからである。FLNA はアクチンを束ねつつ、インテグリンおよびカドヘリン複合体と機能的に連携し¹⁶⁾、Wnt/ β -catenin や TGF- β など主要シグナルの出力と連動し得ることが報告されており²⁶⁾、これらのシグナルはいずれも EMT において中心的な役割を果たすことが知られている²⁷⁾。本研究では、SR において FLNA と同一領域に、CD90, N-cadherin, SNAI1 が共局在し、さらに、FLNA をノックアウトすることにより、SNAI1, CD90 の発現がいずれもコントロールと比較して有意に低下した。これらの所見は、SR において上皮細胞が間葉系細胞へ切り替わる EMT が生じている可能性を示すとともに、FLNA がその制御因子として機能し得ることを示唆する。また、SR における FLNA の発現は E13.5~E14.5 に顕著で、E15.5 では相対的に減弱したことから、SR における FLNA 活性は歯胚発生初期の限られた時期に生じる可能性が示唆された。以上より、SR における EMT 制御を説明するうえで FLNA は重要な役割を担う分子であり、歯胚発生初期の一過性の発現を通じて EMT プログラムを制御している可能性があると考えられる。

形態学的解析では、micro-CT により cKO 個体のエナメル質の厚みは有意に低下した一方、VOI に基づくエナメル質の体積には明確な差を認めなかった。この結果から、FLNA に

よる EMT 制御が歯全体の形成量よりも、局所的なエナメル質厚の形成に寄与する可能性が示された。本研究では、FLNA の機能が減弱していても歯冠形態やエナメル質体積などの歯の形態形成に大きな影響は認められなかった。既報論文では、FLNA 欠損時に共発現する Filamin B (FLNB) が細胞移動や形態維持を部分的に代償し得ることが報告されており^{28,29)}、本研究においても、FLNA と類似した構造と機能をもつ FLNB や Filamin C (FLNC) が、FLNA の欠損あるいは低下した機能を部分的に代償し、歯胚における細胞骨格維持やシグナル伝達を支えている可能性が示唆される。すなわち、SR における EMT 制御には FLNA が重要な役割を果たしつつも、Filamin ファミリー内の補償により、歯の全体的な形態形成は一定程度保たれている可能性があり、今後、歯胚における FLNB/FLNC の発現動態と機能を含めて詳細に検討する必要がある。

さらに、本研究では、SR における EMT 関連マーカーの発現と歯の形態形成に対する FLNA の関与を明らかにしたが、組織レベルの解析のみでは、FLNA がどの程度細胞自律的に EMT プログラムを制御しているか、あるいは周囲組織との相互作用を介して間接的に作用しているかを明らかにすることは難しい。今後は、SR 由来あるいは歯胚上皮系の細胞を用いた *in vitro* 実験により、FLNA の発現操作に伴う EMT マーカー発現変化、細胞形態や移動能等を評価することが有用と考えられる。

結論

SRにおいてFLNAが歯胚発生初期(E13.5~E14.5)のEMTに関与し、上皮特異的*Flna*欠損はEMT関連指標を低下させた。Micro-CT解析ではcKO個体のエナメル質厚が低下しており、SRにおけるEMT制御が歯の形態形成に及ぼす影響が支持された。以上より、FLNA依存的な細胞骨格・接着制御がSRのEMT特性を介して、エナメル質厚を含む歯の最終的な形態を規定する可能性が示唆される。

謝辞

稿を終えるにあたり、懇篤なるご指導、御校閲を賜りました岡山大学学術研究院医歯薬学域歯科矯正学分野の上岡寛教授に心より感謝の意を評します。また、本研究の遂行に際し、御指導、御協力いただきました岡山大学学術研究院医歯薬学域歯科矯正学分野の早野暁講師に謹んで感謝の意を表します。最後に、本研究を行うにあたり多くの貴重な御援助と御協力をいただきました岡山大学学術研究院医歯薬学域歯科矯正学分野の諸先生に厚く御礼申し上げます。

文献

- 1) Thesleff I, Tummers M. Tooth organogenesis and regeneration. StemBook, 2009.
- 2) Liu H, Yan X, Pandya M, Luan X, Diekwisch TGH. Daughters of the Stratum Intermedium, Stellate Reticulum, and Outer Enamel Epithelium. Stem Cells Dev 25:1580-1590, 2016.
- 3) Asrar H, Fons JM, Tucker AS. Vascular Invasion of the Dental Epithelium Is Essential for Ameloblasts. J Dent Res 104:1547-1555, 2025.
- 4) Novacescu D, et al. The Morphogenesis, Pathogenesis, and Molecular Regulation of Ameloblastoma. Int J Mol Sci, 2025.
- 5) Thiery JP, Acloque H, Huang RYJ, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. Cell 139:871–890, 2009.
- 6) Maeda M, Johnson KR, Wheelock MJ. Cadherin switching: essential for behavioral but not morphological changes during an epithelium-to-mesenchyme transition. J Cell Sci 118:873–887, 2005.
- 7) Pirozzi G, et al. Epithelial to mesenchymal transition by TGF β -1 induction increases stemness characteristics in primary non small cell lung cancer cell line. PLoS One 6:e21548, 2011.
- 8) Batlle E, Sancho E, Francí C, Domínguez D, Monfar M, Baulida J, García De Herreros A:

The transcription factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells. *Nat Cell Biol* 2:84–89, 2000.

9) Dong C, Wu Y, Yao J, Wang Y, Yu Y, Rychahou PG, Evers BM, Zhou BP: G9a interacts with Snail and is critical for Snail-mediated E-cadherin repression in breast cancer. *J Clin Invest* 122:1469–1486, 2012.

10) Cano A, Pérez-Moreno MA, Rodrigo I, Locascio A, Blanco MJ, del Barrio MG, Portillo F, Nieto MA: The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat Cell Biol* 2:76–83, 2000.

11) Kang P, Svoboda KKH. PI-3 kinase activity is required for epithelial-mesenchymal transformation during palate fusion. *Dev Dyn* 225:316–321, 2002.

12) Fitchett JE, Hay ED. Medial edge epithelium transforms to mesenchyme after embryonic palatal shelves fuse. *Dev Biol* 131:455–474, 1989.

13) Sun D, Baur S, Hay ED. Epithelial-mesenchymal transformation is the mechanism for fusion of the craniofacial primordia involved in morphogenesis of the chicken lip. *Dev Biol* 228:337–349, 2000.

14) Kettunen P, Laurikkala J, Itäranta P, Vainio S, Itoh N, Thesleff I: Associations of FGF-3 and FGF-10 with signaling networks regulating tooth morphogenesis. *Dev Dyn* 219:322–332, 2000.

- 15) Bazina F, Brouxhon SM, Kyrkanides S. Partial epithelial-mesenchymal transition during enamel development. *Clin Exp Dent Res* 8:513–518, 2022.
- 16) Razinia Z, Mäkelä T, Yläne J, Calderwood DA. Filamins in mechanosensing and signaling. *Annu Rev Biophys* 41:227–246, 2012.
- 17) Feng Y, Walsh CA. The many faces of filamin: a versatile molecular scaffold for cell motility and signalling. *Nat Cell Biol* 6:1034–1038, 2004.
- 18) Hehr U, Hehr A, Uyanik G, et al. A filamin A splice mutation resulting in a syndrome of facial dysmorphism, periventricular nodular heterotopia, and severe constipation reminiscent of cerebro-fronto-facial syndrome. *J Med Genet* 43:541–544, 2006.
- 19) Robertson SP, Twigg SRF, Sutherland-Smith AJ, et al. Localized mutations in the gene encoding the cytoskeletal protein filamin A cause diverse malformations in humans. *Nat Genet* 33:487–491, 2003.
- 20) Fox JW, Lamperti ED, Ekşioğlu YZ, et al. Mutations in filamin 1 prevent migration of cerebral cortical neurons in human periventricular heterotopia. *Neuron* 21:1315–1325, 1998.
- 21) Hart AW, Morgan JE, Schneider J, et al. Cardiac malformations and midline skeletal defects in mice lacking filamin A. *Hum Mol Genet* 15:2457–2467, 2006.
- 22) Yue J, Huhn S, Shen Z. Complex roles of filamin-A mediated cytoskeleton network in cancer progression. *Cell Biosci* 3:7, 2013.

- 23) Wieczorek K, Utech M, Pospiech K, et al. Filamin A upregulation correlates with Snail-induced epithelial to mesenchymal transition (EMT) and cell adhesion but its inhibition increases the migration of colon adenocarcinoma HT29 cells. *Exp Cell Res* 359:163–170, 2017.
- 24) Loy CJ, Sim KS, Yong EL. Filamin-A fragment localizes to the nucleus to regulate androgen receptor and coactivator functions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:4562–4567, 2003.
- 25) Kawamoto T. Use of a new adhesive film for the preparation of multi-purpose fresh-frozen sections from hard tissues, whole-animals, insects and plants. *Arch Histol Cytol* 66:123-43, 2003.
- 26) Sasaki A, Masuda Y, Ohta Y, Ikeda K, Watanabe K: Filamin associates with Smads and regulates transforming growth factor- β signaling. *J Biol Chem* 276(21): 17871–17877, 2001.
- 27) Lamouille S, Xu J, Derynck R: Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15(3): 178–196, 2014.
- 28) Sheen VL, Dixon PH, Fox JW, et al.: Filamin A and Filamin B are co-expressed within neurons during periods of neuronal migration and can physically interact. *Hum Mol Genet* 11(23): 2845–2854, 2002.
- 29) Greiten JK, Smeets B, Moeller MJ, et al.: The role of filamins in mechanically stressed podocytes. *FASEB J* 35(5): e21560, 2021.

図表の説明

図 1

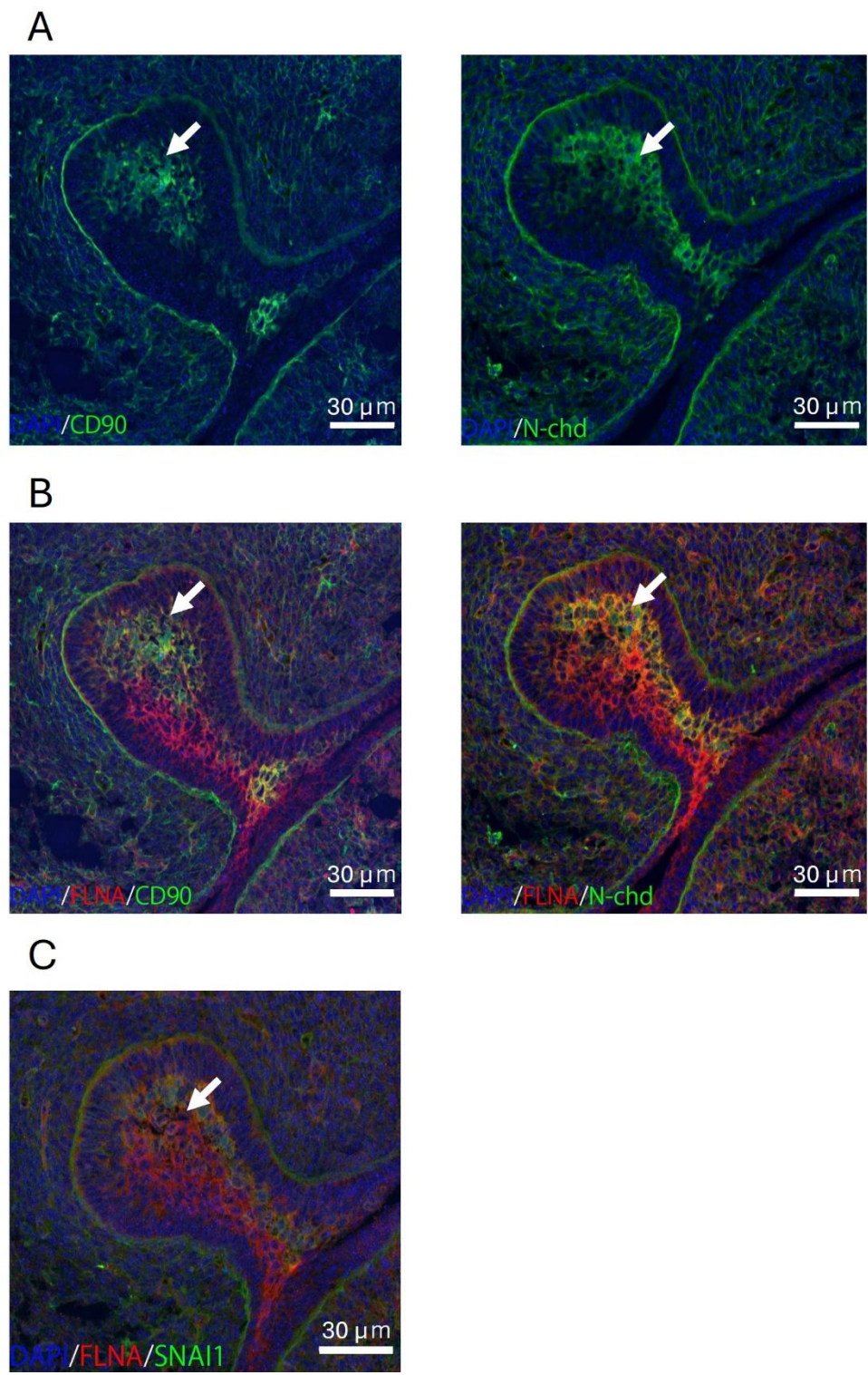


図 1. SR における間葉系マーカーおよび EMT 誘導性転写因子の免疫蛍光染色

A: E14.5 コントロールマウスの歯胚前頭断における DAPI/CD90 (左図) および DAPI/N-cadherin (右図) の免疫蛍光染色像。矢印は陽性領域を示す。

B: E14.5 コントロールマウスの歯胚前頭断における DAPI/FLNA/CD90 (左図) および DAPI/FLNA/N-cadherin (右図) の免疫蛍光染色像。矢印は陽性領域を示す。

C: E14.5 コントロールマウスの歯胚前頭断における DAPI/FLNA/SNAI1 の免疫蛍光染色像。矢印は陽性領域を示す。

図 2

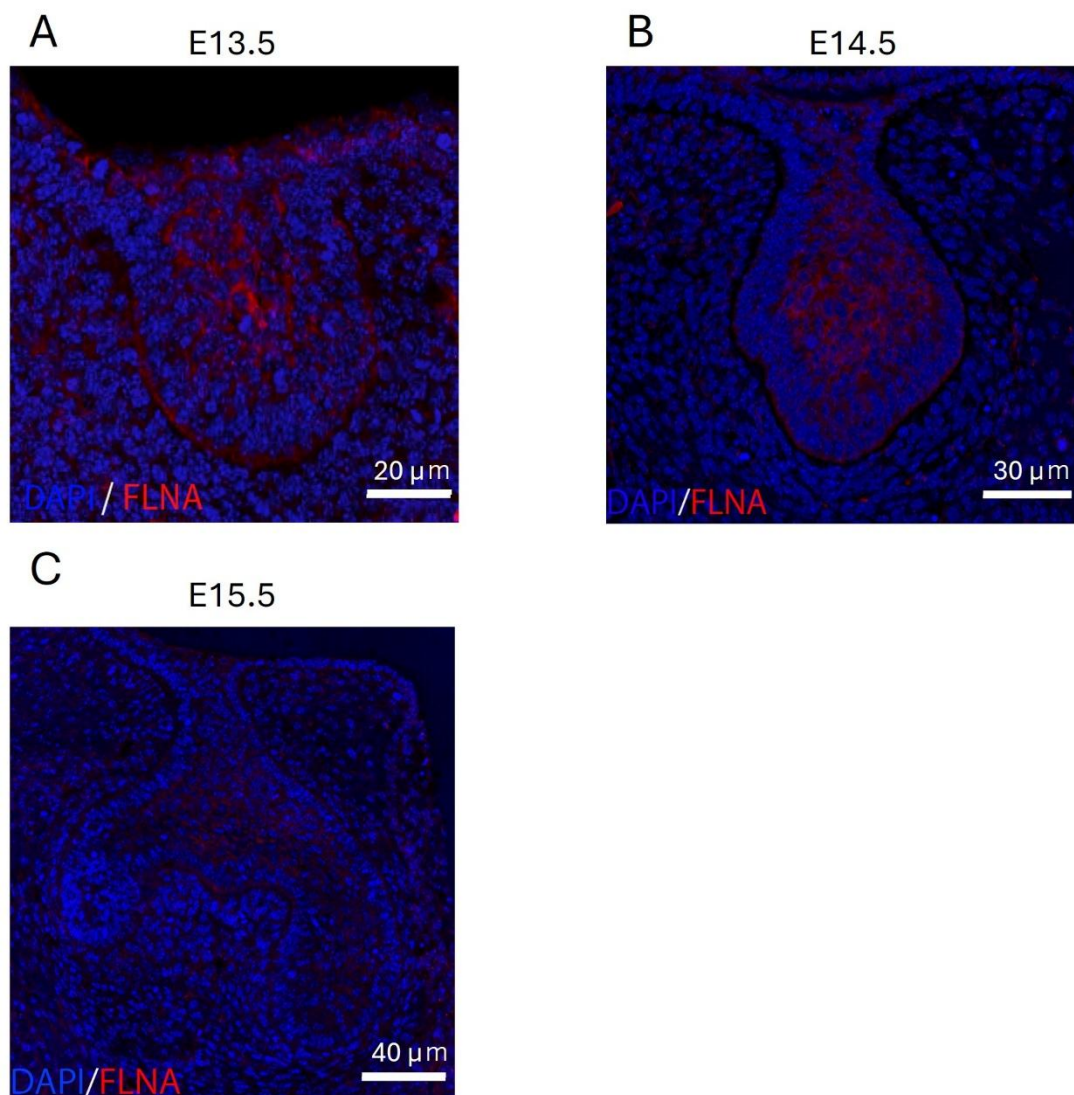


図 2. 正常マウスにおける歯の発生時期と FLNA 発現との関連

A: E13.5, B: E14.5, C: E15.5 胎仔の歯胚前頭断における, DAPI/FLNA の免疫蛍光染色像を示す。

3

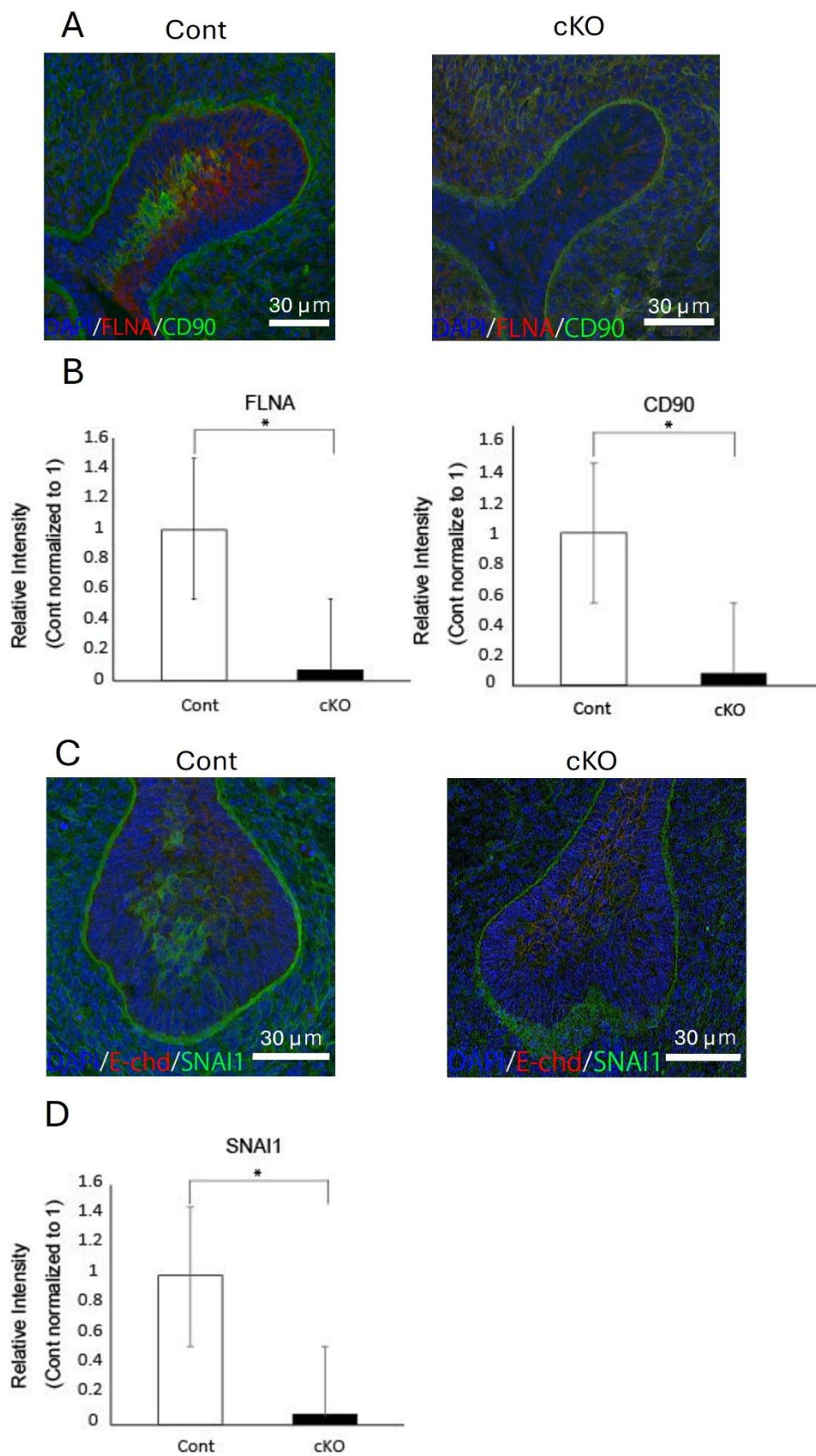


図 3. *Flna*-cKO の SR における EMT への影響

A: E14.5 マウス胎仔の歯胚前頭断における DAPI/FLNA/CD90 の免疫蛍光染色像。左はコントロール (Cont) 群, 右は cKO 群を示す。

B: SR における FLNA および CD90 の平均蛍光強度を算出し, DAPI 陽性核数で規格化した相対蛍光強度を棒グラフで比較した。(* $p < 0.05$, エラーバーは標準偏差, 各群 $n=3$)

C: E14.5 マウス胎仔の歯胚前頭断における DAPI/E-cadherin/SNAI1 の免疫蛍光染色像。左はコントロール (Cont) 群, 右に cKO 群を示す。

D: SR における SNAI1 の平均蛍光強度を算出し, DAPI 陽性核数で規格化した相対蛍光強度を棒グラフで比較した。(* $p < 0.05$, エラーバーは標準偏差, 各群 $n=3$)

図 4

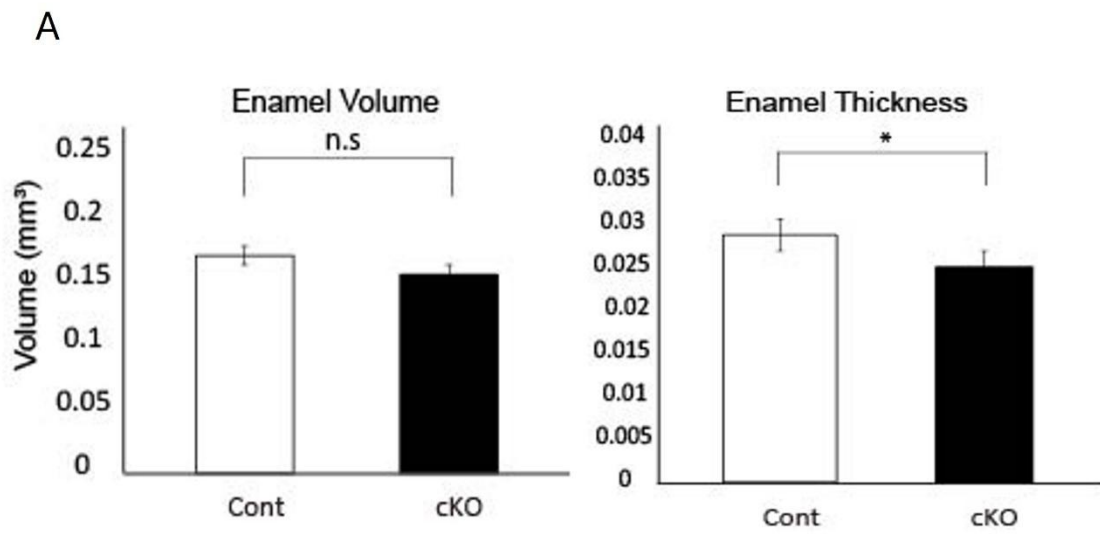


図 4. *Flna*-cKO による歯の形態形成への影響

成体マウス（生後 1 年～1 年 2 か月）の下顎第一臼歯をコントロール（Cont）群および cKO 群それぞれについて micro-CT にて撮影し，エナメル質の体積および厚みを計測して比較した。左に体積，右にエナメル質厚の結果を示す。（* $p < 0.05$ ，エラーバーは標準偏差，各群 $n = 3$ ）