

(※書式：明朝 11 ポイント，用紙サイズ A4)

大学院口腔科学教育部研究奨励賞研究成果報告書

口腔科学教育部口腔科学専攻 3 年
小児歯科学分野 宮寄 彩

研究課題名 歯髄間葉系幹細胞における象牙質形成メカニズムの解析

1. 研究目的と成果内容（800字程度）

象牙芽細胞は外来の様々な刺激に対し，第二象牙質，第三象牙質を形成し，歯髄保護の役割を担う。象牙芽細胞は象牙質の象牙細管中に細胞突起を伸ばしており，外来刺激によって変化する微弱な組織液の移動刺激を介して応答していると考えられているが，その詳細な分子機構については不明な点が多い。また，乳歯や幼若永久歯の歯髄中には間葉系幹細胞が存在し，これらの細胞も修復象牙質の形成に関与すると考えられている。これまでにわれわれは間葉系幹細胞の分化運命決定機構に，機械的圧受容体の 1 つである Piezo1 が重要な役割を担っていることを明らかにしてきた (Sugimoto et al. 2017)。この Piezo1 は脱落乳歯歯髄幹細胞 (SHED) にも強い発現がみられることから，外因刺激による SHED の分化にも関与している可能性が考えられた。また，こうした象牙芽細胞の機械的刺激に応答する因子の 1 つとして，一次繊毛 (Primary cilia) が重要な役割を担っていることが示唆されていることから，本研究では，静水圧負荷刺激に対する SHED の応答に対し，Piezo1 および Primary cilia がどのように関与しているのかその詳細な分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

今回，300ml メスシリンダーの底に 35mm ディッシュを静置し，培養液の高さを 5～25cm と変えることにより，約 0.5～2.5kPa の圧を細胞に負荷し，SHED を培養をすることとした。そして，Alizarin red 染色，BrdU 法，PCR 法，免疫組織学的検討を行い，増殖および分化を評価した。

SHED を 5～25cm の高さの培地下で培養し，Alizarin red 染色を行うと，静水圧を負荷した群で対照群と比較し，石灰化が促進した。観察すると，5cm (約 0.5kPa) 圧という微弱な圧を負荷するだけで石灰化の促進がみられた。さらに，象牙芽細胞の分化マーカーの発現の上昇，また増殖については抑制されることがわかった。また，静水圧負荷により細胞増殖の停止に関わる Primary cilia の発現が誘導されたが，Primary cilia の阻害薬を用いると，石灰化が抑制された。そして，主要な圧受容体のうち，PIEZO1 が静水

圧により誘導され、ヒトの歯の象牙芽細胞の突起に存在することがわかった。加えて、分化マーカーである Wnt シグナルの誘導や RUNX2 の核移行の促進も、その過程で明らかとなり、静水圧により、PIEZO1 が反応し、Primary cilia を介して、増殖の抑制、さらには分化の促進が行われることが示唆された。

2. 自己評価

本研究では、間葉系幹細胞において、静水圧負荷により Piezo1 が制御され、primary cilia の発現を誘導し、増殖の停止と分化の開始が促進されることが明らかとなった。

細胞において、静水圧負荷により歯根完成後に形成される象牙質の形成を制御するメカニズムを解明し応用することは、歯科の治療に大きく貢献すると考えられる。今後はさらに細胞内シグナル伝達機構の解明を進め、そこで得られた知見を基にマウスを用いた *in vivo* での解析も予定しており、さらに新規の覆髄材の開発につなげたい。

3. 学会発表

※発表題目，学会名，開催地，開催年月日，共著名，
発表方法（口頭発表/ポスター），発表者には下線。

4. 論文

※発表題目，発表誌名，巻，号，頁，年月，共著名，発表者には下線。

※ 学会発表と論文発表は、奨励賞と関連のあるもののみを記載すること。

（例：奨励費の支援で行った論文・学会発表，

奨励費で購入した消耗品を用いて行った研究の論文・学会発表 等）