

■モリタ優秀発表賞審査（ポスター）（MP）

日時：9月5日（金）12:50～18:30

会場：ポスター会場（会議場1階 イベントホール）

モリタ優秀発表賞審査「解剖・組織・発生学部門」（MP1-01～07）

MP1-01 「Na⁺/H⁺ 交換輸送体 Slc9a5 の欠失がエナメル質形成に及ぼす影響の解析」高野 隼人¹、大熊 理紗子²、山本 竜司²、片岡 伶惟³、小林 冴子¹、山越 康雄²、朝田 芳信¹(¹ 鶴大 歯 小児歯、² 鶴大 歯 生化学、³ 鶴大 歯 歯周病)

Na⁺/H⁺交換輸送体であるSolute carrier family 9a5 (Slc9a5) は、エナメル芽細胞にも発現し、エナメル質形成において重要な役割を果たしていると考えられている。

【目的】Slc9a5遺伝子ノックアウトマウスを作製し、エナメル質形成過程におけるSlc9a5の役割を明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】野生型 (Slc9a5^{+/+})、ヘテロ接合体 (Slc9a5^{+/-})、ホモ接合体 (Slc9a5^{-/-}) の生後5日、11日、70日の下顎骨を対象とし、免疫染色による組織学的解析、走査型電子顕微鏡 (SEM)、及びマイクロCT (μCT) による形態学的解析を行なった。

【結果】Slc9a5抗体を用いた免疫染色では、Slc9a5^{+/+}マウスの成熟期エナメル芽細胞および象牙芽細胞にお

いて陽性反応が認められた。SEM観察では、Slc9a5^{-/-}マウスの臼歯側面エナメル質に亀裂を認めた。また、μCT観察では、Slc9a5^{+/+}は臼歯咬頭部を中心に石灰化像が滑らかで連続しているのに対し、Slc9a5^{-/-}ではエナメル質形成不全が顕著で、連続性の断裂及び臼歯部エナメル質体積の減少が確認された。切歯においても、Slc9a5^{-/-}マウスエナメル質厚の減少傾向及び表層の高密度領域が著しく減弱しており、エナメル質形成が早期に進行している可能性が観察された。

【考察】Slc9a5遺伝子を欠損したマウスでは、臼歯及び切歯においてエナメル質の形成不全を生じ、Slc9a5がエナメル質の形成制御に関与することが示唆された。

MP1-02 「骨発生初期における間葉系凝集周囲 Hes1 陽性未分化間葉系細胞の骨格への貢献」

中村 彰吾¹、松下 祐樹¹(¹ 長大 院医歯薬 硬組織発生再生)

骨発生初期では未分化間葉系細胞が凝集し、その後、軟骨原基と周囲の軟骨膜を形成し、その軟骨原基の細胞や軟骨膜細胞が肥大軟骨細胞・骨髄間質細胞・骨芽細胞などの骨格系細胞へと分化する。この一連の過程では、初期の凝集内部の未分化間葉系細胞にSOX9が発現し、ほぼ全ての骨格系細胞の起源となることが知られている。しかし、凝集部を取り囲んでいる未分化間葉系細胞が骨の形成にどのように関与しているかは未だ解明されていない。

今回、われわれは間葉系凝集を取り囲むように、Hes1が発現していることを見出し、Hes1陽性細胞およびその系譜細胞をtdTomatoで標識するHes1-creER; R26RtdTomatoノックインマウスを使用して、細胞系譜

追跡を行った。胎生10.5日、12.5日、14.5日でタモキシフェンを投与し、Hes1陽性細胞の細胞系譜を追跡したところ、胎生10.5日ではHes1陽性細胞は間葉系凝集を取り囲むように存在しており、生後ではHes1陽性系譜細胞は骨髄全体に分布し、骨幹端と骨幹骨髄腔の両方で骨芽細胞や網状間質細胞へと分化していた。一方、胎生12.5日のHes1陽性細胞は軟骨膜を標識し、生後では骨幹部の骨格細胞にのみに寄与した。一方胎生14.5日のHes1陽性細胞の骨格への貢献はわずかだった。

これらのことから、骨発生初期では間葉系凝集を取り囲むようにHes1を発現する未分化間葉系細胞存在しており、骨の発生・成長における骨格前駆細胞の新たな供給源であることが示唆された。

MP1-03 「機械的ストレスは軽症型低ホスファターゼ症モデルマウスにおける局所的な骨の吸収を増強する」

石束 叡¹、高橋 有希²、松永 智¹、阿部 伸一¹、笠原 正貴²
(¹ 東歯大 解剖、² 東歯大 薬理)

【目的】低ホスファターゼ症（HPP）は、組織非特異的アルカリホスファターゼ（TNALP）遺伝子の変異により、硬組織の石灰化不全や乳歯の早期脱落を特徴とする先天性疾患である。軽症型HPP（小児型、成人型、歯限局型）は症状が不明瞭で診断が難しく、歯科矯正力を加えた際の顎骨の変化も明らかでない。そこで本研究は、軽症型HPPマウス（Akp2+/-マウス）に歯科矯正力を加えた際の顎骨の変化を評価し、HPP患者に対する歯科矯正力の影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】50日齢の雄性Akp2+/-マウスに10 gfのニッケルチタン製クローズドコイルスプリングを装着し、正常マウス（Akp2+/+マウス）と比較した。14日間の第一後臼歯（M1）の近心移動後、上顎骨を採取し、

micro-CT撮影、骨質の計測を実施した。組織学的解析にはH-E染色、TRAP染色、免疫組織化学染色を行なった。

【結果】Akp2+/-マウスでは、歯の移動距離に差は認めなかったが、圧迫側の歯槽骨において有意に骨吸収が増加し、海綿骨の骨質が低下していた。さらに、破骨細胞が有意に増加していることが確認された。

【考察】臨床において軽症型HPP患者に矯正治療を行っても、表面上は歯の移動距離や骨密度に異常は見られない。しかし本研究結果から、圧迫側では破骨細胞の増加による骨吸収が顕著に進行しており、歯の喪失などの予期せぬ事象が生じる可能性が示唆された。この結果は、歯科矯正治療前に軽症型HPPを鑑別診断することの重要性を裏付けていると考えられる。

MP1-04 「SCN1A regulates the cell cycle of mesenchymal stem cells」

Mhd Fouad Zakaria¹、Hiroki Kato¹、Mohammed Majd Sharifa¹、Liting Yu¹、
Lisha Dai¹、Arwa Mohamed Aboelmaged¹、Ying Liu¹、Soichiro Sonoda¹
Yukari Kyumoto-Nakamura¹、Takayoshi Yamaza¹
(¹ Kyushu Univ Fac Dent Sci, Sect Mol Cell Biol Oral Anat)

[Background] Sodium voltage-gated channel alpha subunit type 1 (SCN1A) is expressed primarily in excitable cells such as neurons. Meanwhile, SCN1A is also expressed in mesenchymal stem cells (MSCs), suggesting its non-canonical functions. In this study, we aim to analyze the cell cycle regulation of SCN1A in MSCs.

[Methods] Human MSCs were treated with siRNA to functionally knock down SCN1A (siSCN1A). The cell cycle was analyzed using flow cytometry. The expression of cell cycle regulators was analyzed using western blotting and RT-qPCR. The protein degradation was also examined using

cycloheximide-chase assay.

[Results] MSCs expressed SCN1A gene and protein. siSCN1A delayed the cell cycle in the S phase associated with reduced AKT, CDK2 and CDK6. Moreover, siSCN1A induced the protein degradation of CDK2.

[Conclusion] In this study, we have unveiled a novel function of SCN1A in regulating the cell cycle in MSCs via AKT, CDK2 and CDK6. This finding provides new insight into the non-canonical function of SCN1A and suggests the potential for further research into its role in stem cell biology.

MP1-05 「Enhancement of osseointegration after placement of immobilized recombinant osteopontin-coated implants in mouse maxillae.」

Mauricio Andre Zapata-Sifuentes¹、Angela Quispe-Salcedo¹、大島 勇人¹

(¹Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, Div Anat Cell Biol Hard Tissue)

Purpose: This study analyzed the effects of immobilized recombinant osteopontin (irOPN)-coated implants on osseointegration in mouse maxillae.

Methods: After extraction of upper right first molars from 4-week-old ICR mice under deep anesthesia, implant cavities were drilled, and titanium implants coated with irOPN expressed in mammalian cells (irOPN group) or untreated (control) were immediately placed. Samples were collected at 3-, 5-, 7-, 14-, and 28-days after implantation, decalcified, and processed for paraffin sections. Osseointegration dynamics were evaluated by immunohistochemistry for OPN,

Ki67, Cathepsin-K, and Osteonectin.

Results: By day 14, the irOPN group showed a positive osseointegration trend with a significantly higher osteopontin-positive perimeter. Early-stage osteoclastic activity and cell proliferation tended to be higher in the irOPN group.

Conclusion: These results suggest that protein immobilization for irOPN on titanium implant surfaces could positively affect osseointegration by increasing cell proliferation and OPN deposition at the bone-implant interface 14 days after implantation. This study is collaborated with Dr. Tomohiko Yamazaki (NIMS).

MP1-06 「テトラサイクリン歯におけるコラーゲンの分子構造解析：顕微ラマン分光法と赤外二色性イメージングによる評価」

村尾 美羽¹、木村-須田 廣美¹

(¹千歳科技大 院理工)

【背景】テトラサイクリン系抗生物質の歯の形成期における服用は、歯の変色や形成異常を引き起こす。我々はこれまで、変色部においてアパタイトの結晶性が低下していることを報告してきたが、これには同部位のコラーゲンの構造的変化が関与している可能性がある。本研究では、テトラサイクリン歯における歯質異常のうち、コラーゲンに着目し、その分子構造レベルでの変化を明らかにすることを目的とした。

【方法】14歳で歯痛治療のためにテトラサイクリン系抗生物質（ミノサイクリン塩酸塩）を服用した患者（22歳女性）および服用歴のない患者（26歳女性）から抜去した上顎第3大臼歯は、頬-口蓋側方向に切断した。それぞれEDTAによる脱灰処理を行い、顕微ラマン分光法と赤外二色性イメージングにより象牙質を評価し

た。

【結果・考察】赤外二色性イメージから、正常歯とテトラサイクリン歯のコラーゲン線維は、いずれも象牙細管に沿って配向していることが確認された。一方、テトラサイクリン歯変色部のラマンスペクトルには、終末糖化産物（AGEs）と思われるバンドが観察され、テトラサイクリンの沈着がコラーゲン分子の構造にも影響を及ぼす可能性が示された。

【結論】テトラサイクリンの象牙質への沈着は、変色部のアパタイトの結晶性低下に加え、コラーゲンの分子構造の変化および老化を引き起こす可能性が示唆された。

会員外共同研究者：中村郁哉、横関健治、村田勝、東藤正浩、赤澤敏之

MP1-07 「歯髄傷害後における α -平滑筋アクチン陽性細胞の局在と分化能の検討」

野口 裕季子^{1,2}、建部 廣明¹、岸本 有里¹、溝口 利英³、細矢 明宏¹、
 (¹北医療大 歯 組織、²北医療大 歯 矯正、³東歯大 口腔科学研究セ)

【目的】 α -平滑筋アクチン (SMA) は未分化間葉系細胞に発現し、様々な臓器で創傷後の治癒過程に見いだされる。本研究では細胞系譜解析的手法を用い、歯髄における α -SMA陽性細胞の局在ならびに分化能を検討した。

【方法】実験には4週齢 α -SMA-Cre^{ERT2}/ROSA26-loxP-stop-loxP-tdTomato (α -SMA/Tomato) マウスを用いた。(1) タモキシフェン投与後0、3、14日に、上顎臼歯歯髄における α -SMA/Tomato陽性細胞の局在を観察した。(2) タモキシフェン投与後に上顎臼歯を抜歯し、ただちに野生型マウス皮下へ移植した。0、3、14日後に α -SMA/Tomato、Runx2、Osterixの局在を検討した。

【結果および考察】(1) 4週齢 α -SMA/Tomatoマウスの

歯髄において、血管周囲に限局して α -SMA/Tomato陽性細胞が認められた。この α -SMA/Tomato陽性細胞の数は3、14日後の歯髄においてほとんど変化しなかった。(2) 皮下移植歯の歯髄では、移植3日後に多数の α -SMA/Tomato陽性細胞が認められた。この細胞の一部はRunx2とOsterixの陽性反応を示した。14日後、既存の象牙質に接する修復象牙質と、歯髄中央部に骨様組織が形成された。これら2種類の硬組織表面に局在する細胞は α -SMA/Tomato陽性であり、Runx2およびOsterixと共局在を示した。以上より、 α -SMA陽性歯髄細胞は非刺激時ではほとんど増殖しないが、歯髄傷害後に増殖し、象牙芽細胞と骨芽細胞へ分化することが明らかとなった。