

# 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 4年

小児歯科学分野 宮寄 彩

## 研究課題名 静水圧刺激による象牙質形成メカニズムの解析

### 1. 研究目的と成果内容

生体に加わる機械的な刺激の種類はさまざま存在するが、個々の細胞や組織は細胞外液に取り囲まれているため、その刺激は必ず、細胞外液を介して細胞に伝わると考えられる。歯においても、象牙芽細胞はう蝕や咬合、摩耗など外界からの様々な刺激に対し、歯の発生後に第二象牙質、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、象牙細管中に突起を伸ばしており、それが刺激によって変化する微弱な組織液の移動と内圧の変化を介して、痛みを知覚するという動水力学説が広く知られている。そして、その内圧の変化が、象牙質の形成にも関与していると考えられるが、そのメカニズムの詳細は未だに解明されていない。そこで、われわれは組織液の動きを介した細胞外の刺激伝達が、静水圧と強く関連していると考え、静水圧が歯髄間葉系幹細胞において静水圧刺激により誘導される象牙質形成メカニズムを解明することを目的とした。

細胞培養は、300ml メスシリンダーの底に細胞を播種した 35mm ディッシュを静置し、培養液の高さを 5, 10, 15, 20, 25cm と変えることで、静水圧負荷環境下での培養を行なった。細胞は、脱落乳歯歯髄幹細胞 (SHED) を用いて、静水圧負荷による増殖および象牙芽細胞分化への影響を qPCR 法、アリザリンレッド染色法、免疫組織学的染色法を用い解析を行った（徳島大学病院臨床研究倫理委員会の承認を得て実施 受付番号 1799-3）。

結果は、わずか 5cm の高さの静水圧を負荷することで、象牙芽細胞への分化が促進された。その過程では、圧受容体として PIEZO1 が機能し、Primary cilia の発現誘導に関与している可能性を見出した。一方で、PIEZO1 は WNT 分子の発現および RUNX2 の核移行を調整し、これらが協調的に機能することで、象牙芽細胞の分化が促進していることが示唆された。

現在、これまでに *in vitro* で得られた知見を応用し、マウスを用いて *in vivo* で、PIEZO1 や Wnt16 を活性剤を用いて直接覆髄や間接覆髄を行っている。これにより、さらなる象牙質形成のメカニズムを明らかにするだけでなく、新たな修復材や裏層材の開発につなげ、歯科の治療に大きく貢献すると考えられる。

## 2. 自己評価

今年度の目標であった、学位論文をアクセプトさせることができた。しかし、時間配分ができていなかった、分析力が不足している等、反省すべき点も認められた。来年度からは、そういった箇所を改善し、より真摯に研究に取り組んでいきたい。

## 3. 学会発表

1. **Aya Miyazaki**, Asuna Sugimoto, Tsutomu Iwamoto. Expression and function of PIEZO1 in human mesenchymal stem cells, *DENTISPHERE International Scientific Meeting 5<sup>th</sup> ASEAN Plus and Tokushima Joint International Conference* Dec 2019 Surabaya. (口頭発表)
2. **宮崎 彩**, 杉本明日菜, 岩本 勉. 脱落乳歯歯髄幹細胞におけるメカノトランスダクションの分子制御機構, *令和元年度先端歯学スクール 2019* 2019. 8 吹田市. (口頭発表)
3. **宮崎 彩**, 杉本明日菜, 岩本 勉. 静水圧負荷刺激により誘導される象牙質形成機転の解明, *第57回日本小児歯科学会大会* 2019. 6 札幌市. (口頭発表)

## 4. 論文

**Aya Miyazaki**, Asuna Sugimoto, Keigo Yoshizaki, Keita Kawarabayashi, Kokoro Iwata, Rika Kurogoushi, Takamasa Kitamura, Kunihiro Otsuka, Tomokazu Hasegawa, Yuki Akazawa, Satoshi Fukumoto, Naozumi Ishimaru, Tsutomu Iwamoto. Coordination of WNT signaling and ciliogenesis during odontogenesis by piezo type mechanosensitive ion channel component 1, *Scientific Reports* 9 : 14762, 2019.