

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：27102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19135

研究課題名（和文）重力環境制御装置実験モデルを用いた骨細胞間クロストークの解明

研究課題名（英文）Elucidation of cross-talk between primary osteocytes using gravity environment control device experimental model

研究代表者

田村 暁子（Tamura, Akiko）

九州歯科大学・歯学部・特別研修員

研究者番号：30762067

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：リアルタイムPCR法によりIDG-SW3細胞の分化段階で認められるマーカー（DMP1, PhEX, SOST, FGF23）の発現を確認した。その結果、Gravite搭載群でコントロール群と比較して、DMP1は3日目からの発現上昇は緩やかであったが継続的な発現上昇を認め、PHEXは、3日目まではコントロール群と変わらない発現上昇を認めたが、それ以降発現の低下を認めた。またSOSTは、両群ともに9日目以降に発現の上昇を認めたが、その発現は、Gravite搭載群で約半分となった。またFGF23は、0日からその発現が認められ、9日目、12日目でもコントロール群と比較して有意に発現の上昇を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重力環境制御装置は、マウス体外受精胚やES細胞、骨芽細胞などの研究に活用され、その応用範囲の広さは実証されているが、プライマリー骨細胞を用いた研究、さらに、回収したコンディションメEDIUMの影響を研究したものは初めてで、詳細なメカニズムの解明が期待できる。また、マウスに尾部懸垂を施しインプラント埋入を介入させることで新たな実験モデルの構築が期待できる。本研究が端緒となり、骨吸収のメカニズムがより明らかになれば、歯を失った患者のみでなく、外傷によって失われた顎骨再建術などの移植骨の術後吸収を防ぐ画期的な薬物療法も可能になることが予想され、その波及効果は極めて大きなものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We tried to identify gene expression (DMP1, PHEX, SOST, FGF23) of IDG-SW3 cells in several differentiation state under microgravity by Real-time PCR. Compared to control group, expression of DMP1 under microgravity was slow but continuous. Expression of PHEX was significantly low compared to control group after day7. Expression of FGF23 was significantly high under microgravity after day9 and day12.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：歯科インプラント 骨 微小重力

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

歯科インプラント治療において、歯の喪失に起因する顎骨の欠損や骨造成術後の骨量減少、インプラント周囲炎による周囲骨吸収は、インプラントの長期安定をしばしば困難にする。絶えずリモデリングする骨における骨吸収亢進のメカニズムは未だ完全には解明されていない。特に、インプラント周囲炎はインプラント周囲の骨吸収を伴う炎症性疾患で、インプラント埋入後の合併症として比較的高頻度に見られる。過剰な咬合力によるインプラント周囲歯槽骨吸収が原因の一つとして考えられているが、機械的圧力と骨吸収の関連については不明な点が多く、分子レベルでのメカニズム解明が求められている。



重力制御装置「Gravite®」  
株式会社スペース・バイオ・ラボラトリーズ  
ホームページより

かねてより微小重力環境下における実験を実現させるための方法は試みられており、その最も現実に則した方法としてスペースシャトルや国際宇宙ステーションが用いられてきたが、その方法には制約が多いのも事実である。重力環境制御装置「Gravite®」は微小重力環境のみでなく過重力環境を1G環境とほぼ同じ条件下で実現させて実験を行うことができ、学術的に極めて特色があると言える。

### 2. 研究の目的

骨細胞は、骨リモデリングの司令塔として多くの役割を担うことが知られてきており、本研究は、骨細胞が骨に加わるメカニカルストレスを細胞内や細胞間シグナルに変換し、そのリモデリングをコントロールする機序の解明を目的とした。

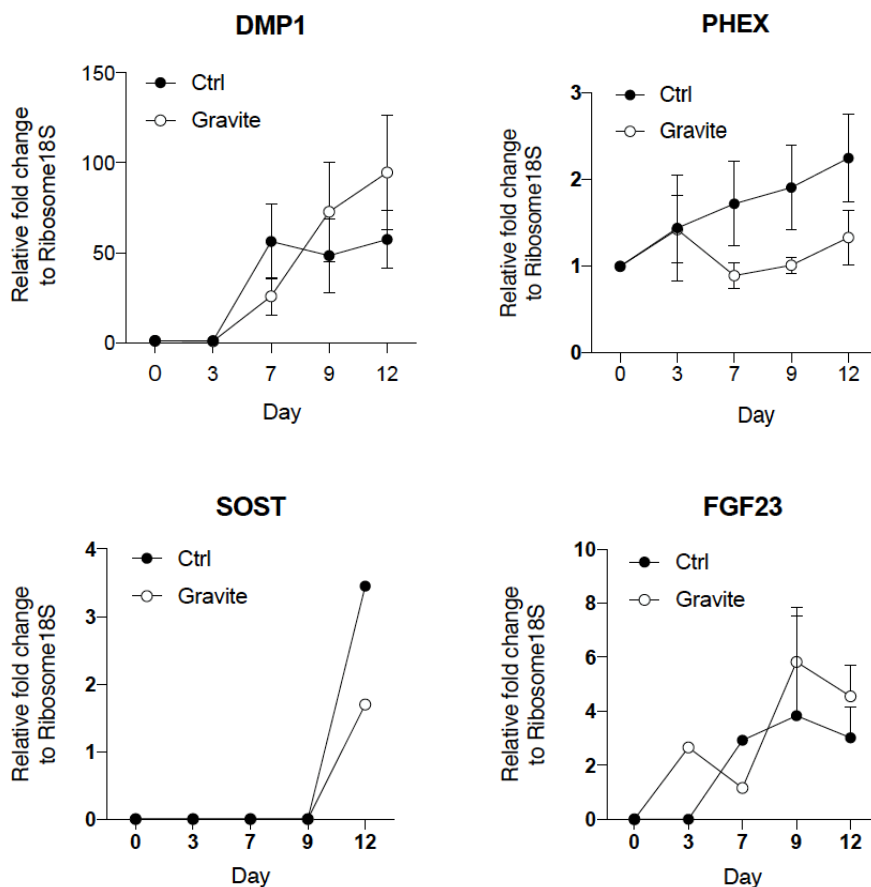
### 3. 研究の方法

骨細胞は、長期の培養が可能で骨細胞として複数の分化段階を発現する株化細胞 IDG-SW3 (*J Bone Miner Res.* 26(11): 2634-2646, 2011.) を用いて、通常1G重力環境下における実験を実施した。1x10<sup>6</sup>で凍結した IDG-SW3 を通法に従い解凍し、コラーゲンコートした直径150mm ディッシュを用いて増殖培地 (-MEM, 10% FBS, 100U/ml penicillin, 50µg/ml streptomycin, 50U/ml INF-) に播種し、増殖させた。次に、実験用にコラーゲンコートしたベントキャップ付き12.5T培養フラスコ (FALCON社) に4 x 10<sup>4</sup> cells/cm<sup>2</sup>にて播種し、5% CO<sub>2</sub>, 33℃環境下にて培養し、コンフルエントに達した後、培地を、分化培地 (INF- を含まず、50 µg/ml ビタミンCおよび4mM グリセロリン酸を含む) に交換し、コントロールはインキュベータ内に平置きし、実験群はGraviteに搭載して、5% CO<sub>2</sub>, 37℃環境下にて培養した。培地を分化用の培地に交換した日を実験のDay0とし、コントロール群に関しては3日ごとに培地交換した。0日お

よび 7, 14, 21, 28 日での N=3 でサンプルを回収し, Gravite 群に関しては, サンプル採取と同時に培地を交換した. 各回収日に total RNA の抽出を行い, IDG-SW3 細胞の分化段階で認められるマーカーを解析した. 具体的には, リアルタイム PCR 法による RNA (DMP1, PHEX, SOST, FGF23) 発現の確認を行った.

#### 4. 研究成果

リアルタイム PCR の結果を示す. 骨細胞で特異的に発現する DMP1 は, Gravite 搭載群でコントロール群と比較して 3 日目から緩やかな発現上昇を認めましたが, コントロール群と比較して継続的な発現上昇を認めた. 骨芽細胞でも骨細胞でも発現を認める PHEX は, Gravite 搭載後 3 日目まではコントロール群と変わらない発現上昇を認めましたが, それ以降発現の低下を認めた. 成熟骨細胞で発現が認められる SOST は, Gravite 搭載群およびコントロール群でともに 9 日目以降に発現の上昇を認めましたが, その発現は, Gravite 搭載群でコントロール群と比較して半分程度となった. また, 同じく成熟骨細胞で発現が認められる FGF23 は, Gravite 搭載群で 0 日からその発現が認められ, 9 日目, 12 日目でもコントロール群と比較して有意に発現の上昇を認めた.



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------