

平成 22 年 5 月 10 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20791335

研究課題名（和文） リン酸・ピロリン酸代謝による骨・セメント質形成機序の解明

研究課題名（英文） Study of bone and cementum formation through phosphate/pyrophosphate balance

研究代表者

佐藤 淳 (SATO SUNAO)

大阪大学・大学院歯学研究科・講師

研究者番号：70335660

研究成果の概要（和文）：リン酸・ピロリン酸代謝異常状態を模倣したリン酸の添加実験によりセメント芽細胞株と骨芽細胞株の細胞増殖活性は抑制されていたが、細胞の分化能への影響では、石灰化物形成能が促進されることが明らかとなった。セメント芽細胞株と骨芽細胞株における遺伝子発現への影響の検索では、リン酸・ピロリン酸代謝異常状態を模倣したリン酸添加により同じ変化を示す遺伝子と異なる変化を示す遺伝子が存在することが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：We revealed that phosphate/pyrophosphate imbalance inhibit the proliferation of cementoblast and osteoblast cell line but enhanced the differentiation of cementoblast and osteoblast cell line with the experiment of additional phosphate mimicking phosphate/pyrophosphate imbalance. Moreover, we revealed that phosphate/pyrophosphate imbalance changes some of the same gene in cementoblast and osteoblast cell line, but some other genes were different between cementoblast cell line and osteoblast cell line.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・形態系基礎歯科学

キーワード：硬組織・リン酸・ピロリン酸・骨・セメント質

1. 研究開始当初の背景

生体の硬組織形成において、リン酸は、リン酸カルシウム結晶の基質としての役割を有し、ピロリン酸は石灰化の阻害に働いている。さらに最近、リン酸やピロリン酸の代謝に関与する各種の酵素が硬組織形成に重要

な役割を果たしていることが明らかにされつつある。

ヌクレオシド 3 リン酸の加水分解からピロリン酸を産生する酵素である PC-1 に遺伝子異常を有するために、PC-1 の活性低下を引き起こし、ピロリン酸の産生が減少する

tiptoe walking マウスと呼ばれる実験動物においては、骨形成の促進、異所性石灰化を示すことが報告されている。

またピロリン酸を細胞内から細胞外へと輸送するトランスポーターである ANK に遺伝子異常を有するマウスでは関節に石灰沈着を伴う炎症が引き起こされ、骨の過成長と関節破壊が起こることが報告されている。

さらにヌクレオシド3リン酸やピロリン酸の加水分解により、リン酸を産生する組織非特異的アルカリホスファターゼ(TNSALP)に遺伝子異常を有するマウスではピロリン酸の増加が観察され、二次性骨化中心の出現不良、くる病および骨軟化症様変化、骨量の減少、骨折、骨変形を来することが報告されている。

歯牙を構成する硬組織において、セメント質は形態的に骨に似ており、歯槽骨との結合組織性付着を介して、歯牙の機能発現や歯周組織再生に、重要な役割を果たしている。PC-1 と ANK 遺伝子異常を有し、ピロリン酸の低下を伴うマウスにおいて、骨の異常に加えてセメント質にも高度な肥厚が認められている。

セメント芽細胞株 OCCM-30 を用いた実験で、リン酸は、単にリン酸カルシウムの基質として機能しているだけでなく、石灰化に関連した遺伝子の発現を直接コントロールしていることをこれまでに明らかにしている。これらの *in vitro* と *in vivo* の結果から、リン酸とピロリン酸の代謝は骨形成と同様にセメント質形成にも非常に重要な役割を果たしていることが伺える。

しかしながら、セメント質肥厚が観察される PC-1、ANK 遺伝子異常マウスの歯周組織の歯槽骨では、全身の骨で認められたような石灰化の異常は観察されない。このことは、少なくとも歯周組織ではセメント質形成と骨形成へのリン酸・ピロリン酸代謝による調節機序は全く同じではないことを示している。

2. 研究の目的

歯周組織でのセメント質形成と骨形成におけるリン酸・ピロリン酸代謝による調節機構の違いを明らかにする。

3. 研究の方法

平成 20 年度では、セメント芽細胞株と骨芽細胞株を用いて、リン酸・ピロリン酸代謝を変化させることにより、各細胞株の増殖能や石灰化能がどう変化するかを検索した。さらにリン酸・ピロリン酸代謝を変化させることにより、細胞間でどのような遺伝子に発現の違いがあるかの検索を行った。

平成 21 年度では歯小囊細胞株を用いて、リン酸・ピロリン酸の代謝を変化させると、

石灰化能や遺伝子発現にどのような変化が起きるかを検索した。さらに歯小囊細胞株での変化をセメント芽細胞株と骨芽細胞株での結果と比較・検討した。

4. 研究成果

(1) リン酸、ピロリン酸を投与した細胞群はコントロール群と比較して細胞増殖が抑制されていた。

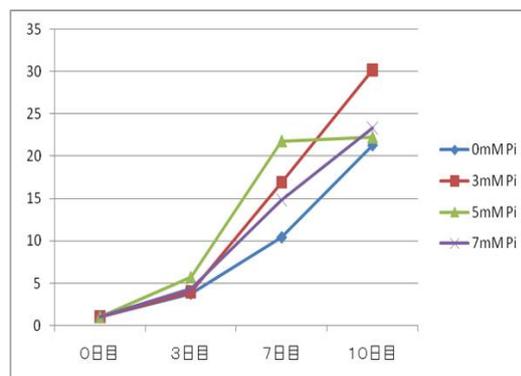


図1 リン酸添加による骨芽細胞株の増殖能の変化

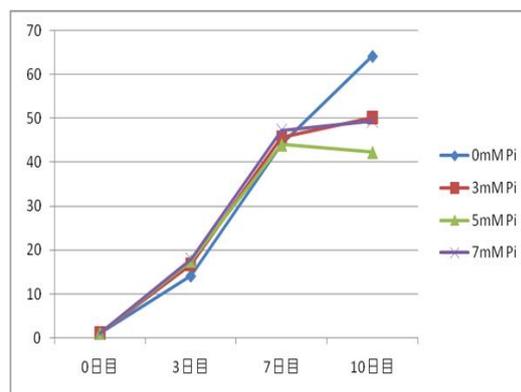


図2 リン酸添加によるセメント芽細胞株の増殖能の変化

(2) リン酸を添加し石灰化促進培地で細胞を培養し、アリザリン染色で石灰化物形成の評価を行うとコントロール群と比較して早期に石灰化物形成が行われていることが明らかとなった。

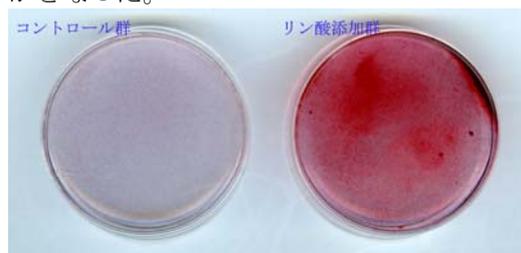


図3 リン酸添加による石灰化の促進

(3) セメント芽細胞株と骨芽細胞株において、リン酸添加により同じ変化を示す遺伝子(オステオポンチン、デンチンマトリックスプロテイン1)と異なる変化を示す遺伝子(オステオカルシン)が存在することが明らかとなった。

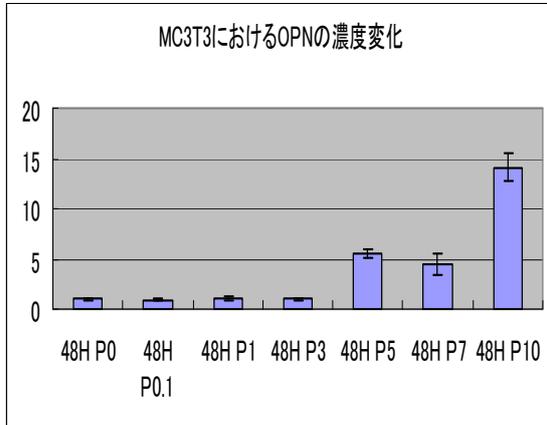


図4 骨芽細胞株へのリン酸添加によるオステオポンチン遺伝子発現の変化

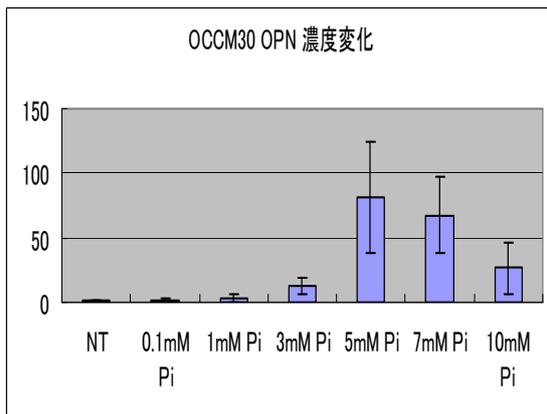


図5 セメント芽細胞株へのリン酸添加によるオステオポンチン遺伝子発現の変化

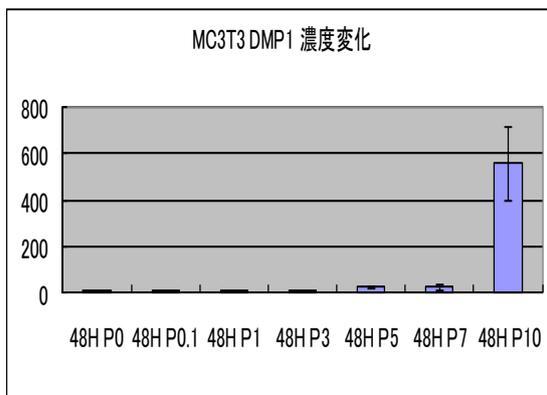


図6 骨芽細胞株へのリン酸添加によるデンチンマトリックスプロテイン1遺伝子発現の変化

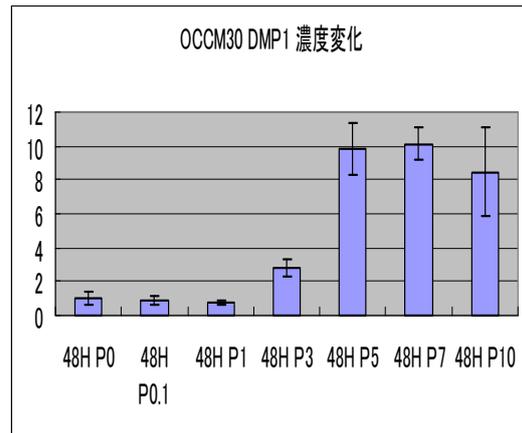


図7 セメント芽細胞株へのリン酸添加によるデンチンマトリックスプロテイン1遺伝子発現の変化

(4) リン酸・ピロリン酸代謝異常へのセメント質と骨の形成機構での反応性の違いは、遺伝子発現変化の違いによりもたらされている可能性が示唆された

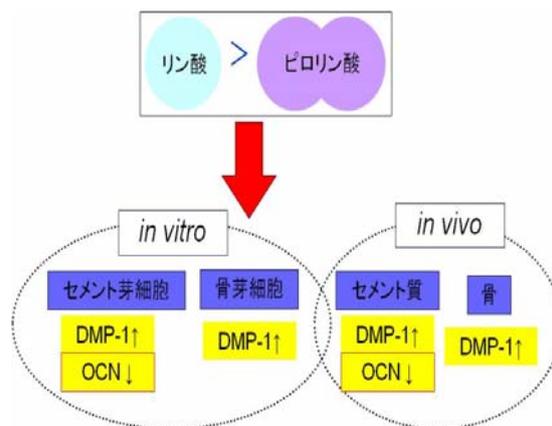


図8 遺伝子発現の違いによる反応性の違い

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計2件)

① 山元有里・佐藤 淳・香川良介・豊澤 悟、リン酸による歯周組織を構成する細胞への影響、2009年7月23-25日、第27回日本骨代謝学会学術集会

② 山元有里・佐藤 淳・岸野万伸・小川裕三・豊澤 悟、リン酸による歯小囊細胞の石灰化関連遺伝子発現について、2008年8月20-22日、第19回日本臨床口腔病理学会学術大会

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 淳 (SATO SUNAO)

大阪大学・大学院歯学研究科・講師

研究者番号：70335660