

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：33602

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K17009

研究課題名（和文）修復象牙質形成時の象牙芽細胞分化および血管新生における解糖系の意義

研究課題名（英文）The role of glycolysis in odontoblast differentiation and angiogenesis during reparative dentin formation

研究代表者

西田 大輔（Nishida, Daisuke）

松本歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：00843608

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：修復象牙質形成を担う象牙芽細胞の分化における解糖系の重要性は不明である。そこで本研究では、マウスの歯に刺激を加え、この時に誘導される修復象牙質形成における解糖系の役割を解析した。結果として、外傷後の修復象牙質を形成する象牙芽細胞で解糖系酵素が高発現しており、同時に血管新生も増加することを確認した。そして、解糖系酵素の阻害薬を投与し、修復象牙質形成を誘導すると、象牙芽細胞の減少に伴う修復象牙質の形成抑制が起こることを確認した。これらの結果から、解糖系およびこれに続くエネルギー代謝経路が修復象牙質形成において重要な働きを示すことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

修復象牙質形成時の象牙芽細胞分化において解糖系が関与するかは未解明の状態であった。実際の臨床に則した損傷モデルを用いて修復象牙質形成の誘導実験をおこなったところ、修復象牙質形成における解糖系の重要性が示唆された。そのため、象牙芽細胞における解糖系は治療標的として歯の治療に応用できる可能性がある。具体的には、歯の侵襲時に解糖系を効率的に上昇させることで修復象牙質を誘導し歯を保存させることができ、歯の再生においては、解糖系亢進により象牙芽細胞分化を促し、象牙質形成を効率的に行うことができる。本研究において、象牙芽細胞における解糖系は治療標的であり、歯の保存・再生療法に応用できる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The importance of glycolysis in the differentiation of odontoblasts, which are responsible for reparative dentin formation, is unclear. In this study, we applied stimulation to mouse teeth and analyzed the role of glycolysis in the formation of reparative dentin induced by this stimulation. As a result, we confirmed that glycolytic enzymes were highly expressed in odontoblasts, which form reparative dentin after trauma, and that angiogenesis was also increased at the same time. We also confirmed that when reparative dentin formation was induced by administering a glycolytic enzyme inhibitor, the formation of reparative dentin was suppressed with a decrease in odontoblasts. These results suggest that glycolysis and the subsequent energy metabolic pathway play an important role in reparative dentin formation.

研究分野：口腔組織

キーワード：象牙芽細胞 解糖系 血管新生

1・研究開始当初の背景

歯はエナメル質、象牙質、セメント質の3種類の硬組織から成り、内部には歯髄という線維性結合組織が存在する。歯髄には、線維芽細胞、免疫細胞、血管・神経系細胞、間葉系幹細胞(MSC)などが存在し、歯の恒常性を維持することが知られている。そして、歯髄の最外層には、象牙質形成を行う象牙芽細胞が存在する。しかし、う蝕、摩耗、咬耗、外傷などの侵襲が歯に加わり、象牙芽細胞が死滅すると、歯髄 MSC が新たに象牙芽細胞へと分化し、防御反応として、死滅した部位に修復象牙質という新たな象牙質が形成される。一方、骨形成を担う骨芽細胞は、骨髄 MSC から分化する。骨芽細胞分化には、エネルギー代謝機構の一つである解糖系が重要であることが示されている。具体的には、骨髄 MSC および骨芽前駆細胞における低酸素誘導因子(HIF-1)の発現増加が解糖系を亢進し、骨芽細胞分化を促進させ、骨量が増加する(PNAS 111:8673-8678, 2014)。また、骨芽細胞分化を促進させることが知られている Wnt や副甲状腺ホルモン(PTH)のシグナル伝達も骨芽細胞分化において、解糖系を亢進させることが報告されている(Cell Metabolism 17:745-755, 2013, J Bone Miner Res. 30(11):1956-1958, 2015)。骨芽細胞と象牙芽細胞は、共に骨基質、象牙基質の主要成分であるⅠ型コラーゲンを産生する硬組織形成細胞である。そして、骨芽細胞分化に必須の転写因子である RUNX2 と Osterix は、象牙芽細胞分化にも必要であり(J Dent Res 88(10):904-909, 2009)、Wnt や PTH は象牙芽細胞の分化も促進させる(J Dent Res 99(5):544-551, 2020, Stem Cells Int 14:5128128, 2020)など、共通の分子機構が多いが、修復象牙質形成を担う象牙芽細胞の分化における解糖系の重要性は不明である。

また、骨形成において、血管も重要な因子であることはよく知られている。骨髄内の血管内皮細胞も骨髄 MSC から分化する。加えて、骨芽細胞分化と同様に、血管内皮細胞前駆細胞における解糖系の亢進が、血管新生における血管内皮細胞分化を促進させることが報告されている(J Physiol 599(1):23-37, 2021)。そして、修復象牙質の形成も、歯髄内の血管新生と関連していることが報告されている(J Dent Res 92(6):524-531, 2013)。しかし、歯髄の血管新生のメカニズムはよく分かっていない。以上のように修復象牙質形成時の象牙芽細胞分化および血管新生において解糖系が関与することが示唆されるが、未解明の状態である。

2・研究の目的

本研究では、外部刺激によって誘導される修復象牙質形成を担う象牙芽細胞の分化および血管新生における解糖系の意義を明らかにする。また、解糖系誘導メカニズムの解析も行い、最終的には、解糖系による象牙芽細胞分化、血管新生のコントロールにより、修復象牙質形成を誘導する歯の保存・再生療法の確立へと繋げることを目的とする。

3・研究の方法

マウスの歯に外傷(脱臼、窩洞形成)を加え、修復象牙質形成を促す。この時、解糖系酵素

の阻害剤を投与し、解糖系が関与するかを解析し、象牙芽細胞の分化に必要である転写因子 RUNX2、Osterix の発現、象牙芽細胞マーカーである DMP-1、DSPP の発現に差があるかを免疫組織化学、リアルタイム PCR にて評価する。加えて、in vitro 培養系でも確認を行う。また、血管内皮細胞のマーカーである CD31、エンドムチンの発現に差があるかを免疫組織化学、リアルタイム PCR にて評価し、血管新生への影響を確認する。

骨芽細胞分化を促進させ、この際に解糖系を誘導する因子として HIF-1、Wnt、PTH が報告されていることから、これらのリコンビナントタンパク質または促進剤を用いて、修復象牙質形成が亢進するかを確認する。またこの時に解糖系阻害剤の有無で、修復象牙質の形成量、象牙細胞分化、血管新生に影響があるかを確認し、解糖系誘導機構を解析する。

4・研究成果

外傷後の組織における解糖系酵素 PDK1、HK2 の発現を確認したところ、修復象牙質を形成する象牙芽細胞でこれらの解糖系酵素が発現しており、解糖系酵素を誘導する因子である HIF-1 の発現部位と同様であることを確認した。外傷後の歯髄では血管新生が亢進することを確認した。修復象牙質形成における解糖系の役割を解析するため、解糖系酵素 HK2 の阻害薬である 2-デオキシ-D-グルコースを投与し修復象牙質形成を誘導したところ、象牙芽細胞の減少に伴う修復象牙質の形成抑制が起こることを確認した。解糖系から続くエネルギー代謝経路であるヘキサミン生合成経路(HBP)を介して生合成される UDP-GlcNAc を利用して行われる、N-アセチルグルコサミン修飾(O-GlcNAcylation)が修復象牙質形成時の象牙芽細胞で増加することを確認した。そして、O-GlcNAcylation を増加させる N-アセチルグルコサミンを外部から投与して修復象牙質を誘導したところ、修復象牙質の形成量が増加することが分かった。～の結果から、解糖系およびこれに続くエネルギー代謝経路が修復象牙質形成において重要な働きを示すことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ohyama Sadao, Ouchi Takehito, Kimura Maki, Kurashima Ryuya, Yasumatsu Keiko, Nishida Daisuke, Hitomi Suzuro, Ubaidus Sobhan, Kuroda Hidetaka, Ito Shinichirou, Takano Masayuki, Ono Kentaro, Mizoguchi Toshihide, Katakura Akira, Shibukawa Yoshiyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Piezo1-pannexin-1-P2X3 axis in odontoblasts and neurons mediates sensory transduction in dentinal sensitivity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 891759
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphys.2022.891759	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 堀部 寛治、西田 大輔、中村 浩彰
2. 発表標題 PTHrP および PTH1 受容体の遺伝子発現
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

〔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
---------	---------