

平成 26 年 5 月 6 日

平成 25 年度共同研究報告書

京都大学再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：東北大学大学院歯学研究科

職名：教授

氏名：山本 照子

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：歯根膜における **Scleraxis** の発現制御と機能
2. 再生医科学研究所共同研究者：開 祐司 教授
3. 研究期間： 短期研究課題 ・ 長期研究課題  
(平成 25 年 4 月 1 日～平成 26 年 3 月 31 日)
4. 研究経過及び研究成果：

これまでに我々の研究グループは、腱・靭帯細胞の分化・成熟を制御している b-HLH 型の転写因子である **Scleraxis(Scx)** が歯根膜でも発現していることを見出している。また、**Scx** の発現を **Green Fluorescent Protein (GFP)** で可視化できる **ScxGFP**Tg マウスを樹立している。歯根膜におけるメカニカルストレスと **Scx** の関係を解析するために、**ScxGFP**Tg マウスを応用して歯に矯正力を負荷し、川本法を用いて非脱灰凍結切片を製作して観察した。その結果、歯根膜における **Scx** の発現は、牽引側で上昇し、圧迫側で低下していた。また、牽引側の歯根膜では、**Scx** の発現上昇に先立って、活性型 **TGF-β** の高い発現が誘導され、**TGF-β** 受容体のシグナル分子である **Smad3** のリン酸化の亢進が認められた。従って **Scx** は歯根膜に負荷されるメカニカルストレスに応答性を示す転写因子であり、歯根膜における **Scx** の発現制御には **TGF-β-Smad2/3** シグナリングが関与していることが示唆された。歯根膜細胞における **Scx** の発現制御メカニズムについて解析するために、ラットの抜去歯牙からのアウトグロース法によって得られた歯根膜細胞を培養し、各種の **growth factor (GF)** (**TGF-β2**、**BMP4**、**FGF2** および **GDF5**) を添

加することにより、どの GF に反応して *Scx* の発現が上昇するのかを検討した。*Scx* の発現レベルの解析にはリアルタイム PCR を用いた。その結果、ラット培養歯根膜細胞では TGF- $\beta$ 2 の添加により *Scx* の発現レベルが最も上昇することが明らかとなった。さらに、マウス歯根膜細胞由来の細胞株として樹立されている PDL-L2 においても同様の結果が得られた。

一方、歯根膜細胞での *Scx* の機能について検討するため、レンチウイルスを利用してラット培養歯根膜細胞において *Scx* の過剰発現を行い、石灰化誘導に対する反応性及び遺伝子発現の変化を解析した。石灰化誘導開始後 21 日目において培養細胞をアリザリンレッドで染色した結果、*Scx* を過剰発現した細胞では、コントロールと比較して顕著に石灰化が抑制されていた。更に培養 10 日目の歯根膜細胞における遺伝子発現を解析した結果、*Scx* の過剰発現により、*Osteocalcin* 及び *Osteopontin* の発現低下と、*Matrix Gla Protein* 及び *Periostin* の発現上昇が誘導された。

以上の結果から、牽引力に応答して発現上昇が誘導される *Scx* は、歯根膜の石灰化に対して抑制的に作用することにより、歯根膜の恒常性の維持に寄与していることが示唆された。

## 5. 研究成果の公表

※発表論文リスト（掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可）、学会発表等

### ・論文

タイトル（仮）：Tensile force upregulates the expression of Scleraxis that has inhibitory action on mineralization of the periodontal ligament fibroblasts

著者（仮）：Aki Takimoto, Masayoshi Kawatsu, Yuki Sugimoto, Tadafumi Kawamoto, Masahiro Seiryu, Etsuko Ikeda, Teruko Takano-Ymamoto, Yuji Hiraki, and Chisa Shukunami

投稿予定：Stem Cells

タイトル（仮）：Expression of Scleraxis in the periodontal ligament during tooth movement in mice

著者（仮）：Masayoshi Kawatsu, Chisa Shukunami, Aki Takimoto, Masanari Iwasaki, Masahiro Seiryu, Etsuko Ikeda, Yuji Hiraki, and Teruko Takano-Yamamoto

投稿予定：Journal of Dental Research

### ・その他の研究成果

講演

#### 1) 山本照子

:矯正歯の移動モデルを用いた歯根膜幹細胞ニッチの解析. 2012.03.12、京都、平成23年度共同研究会「再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点」口演発表

#### 2) 山本照子

:矯正的歯の移動モデルを用いた歯根膜幹細胞ニッチの解析. 2013.03.15、京都、平成24年度共同研究会「再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点」口演発表

#### 国内の学会発表

1) 滝本晶、宿南知佐、川津正慶、清流正弘、山本照子、開祐司

: 歯根膜における Scleraxis の発現とその制御 Regulation of Scleraxis expression in the periodontal ligament. 2012.07.19-21、東京、第30回日本骨代謝学会にて口演発表

2) 川津正慶

: 歯根膜における Scleraxis の発現と矯正的歯の移動による変化の解析. 2012.09.14-15、京都、第13回運動器科学研究会にて口演発表

3) 川津正慶、岩崎将也、清流正弘、池田悦子、滝本晶、宿南知佐、山本照子

: 矯正的歯の移動モデルを用いた歯根膜における Scleraxis の機能解析 Functional analysis of Scleraxis in the periodontal ligament during experimental tooth movement. 2012.09.26-28、盛岡、第71回日本矯正歯科学会大会にて口演発表 学術大会優秀発表賞受賞

4) 川津正慶

: 歯根膜における Scleraxis の発現と矯正的歯の移動による変化の解析. 2012.11.10、京都、第9回 Skeletal Research Meeting にて口演発表

5) 川津正慶、岩崎将也、清流正弘、池田悦子、滝本晶、宿南知佐、山本照子

: 歯根膜細胞における伸展刺激に応答した Scleraxis 発現調節メカニズムの解析 Mechanical stretch increases Scleraxis expression in periodontal ligament cells via the TGF-beta signaling pathway. 2013.10.07-09、松本、第72回日本矯正歯科学会大会にてポスター発表