**研 究 者：陳　　彦呈**（所属：松本歯科大学小児歯科学講座・助手）

## 研究題目：歯根膜におけるビタミンＤレセプターの局在とビタミンＤの作用について

**目　的：**

歯根膜細胞は骨芽細胞，セメント芽細胞および線維芽細胞に分化することが知られているが，その分化調節機構については不明な点が残されている。一方，セメント芽細胞はビタミンＤレセプター（VDR）を発現すること，活性型ビタミン $D_3$ はヒト歯根膜細胞の RANKL 発現上昇作用を持つことが報告されているものの，歯根膜細胞の骨芽細胞への分化に対する作用については明らかにされない。本研究では，歯根膜細胞における VDR 局在と $VD_3$ の役割について，形態学的手法および細胞生物学的手法により検討した。

**対象および方法：**

胎生 14，17 日，生後 1，14，28 日齢の ddy マウスを 4%パラホルムアルデヒドで固定し，脱灰，脱水，パラフィン包埋後，VDR 局在を免疫組織化学的に検索した。また，マウス臼歯から酵素処理により歯根膜細胞を採取し，活性型ビタミン $D_3$ を添加した骨芽細胞分化誘導培地にて培養した。培養 7 日後に骨芽細胞マーカーであるアルカリフォスファターゼ（ALP）染色，培養 21 日後に石灰化の指標であるアリザリンレッド染色を行った。さらに，培養 7 日目の歯根膜細胞より RNA を抽出し，骨芽細胞分化マーカーおよび石灰化抑制因子マーカーの遺伝子発現を real time-PCR 法により解析した。

**結果および考察：**

蕾状期，帽状期および鐘状期の歯小嚢には VDR 局在はみられなかったが，歯根形成期および歯根完成期の歯根膜の骨芽細胞，セメント芽細胞，線維芽細胞の核に VDR 局在が認められた。また，歯根膜細胞に活性型 $VD_3$ を添加して培養すると，濃度依存的に ALP 活性および石灰化が抑制された。さらに，real-time PCR 法による遺伝子発現解析により，骨芽細胞マーカーである ALP, osterix, runx2 発現は活性型 $VD_3$ 添加により低下し，石灰化抑制因子のうち MSX-2 発現に変化はみられないものの，periodontal ligament-associated protein-1（PLAP-1）の遺伝子発現が $VD_3$ 濃度に依存して上昇することが明らかとなった。歯根膜の骨芽細胞，セメント芽細胞および線維芽細胞は VDR を発現していること，$VD_3$ は歯根膜細胞の骨芽細胞への分化および石灰化を抑制する可能性が示唆された。

**成果発表：**

2010 年 9 月 22 日 ･･･ 第 52 回歯科基礎医学会（口頭発表）