

研究者：棚瀬 稔貴（所属：東京歯科大学 小児歯科学講座）

研究題目：アルカリフォスファターゼ高発現による低ホスファターゼ症モデルマウスの歯と下顎骨への構造の影響

目的：

低ホスファターゼ症（hypophosphatasia, HPP）は組織非特異的アルカリフォスファターゼ遺伝子（*TNALP*）の変異により生じる先天性疾患で、骨形成不全や乳歯の早期脱落を主徴とする。病型は様々で、周産期重症型のような致死性のもから軽症の歯限局型のものまで幅広くみられる。HPPには有効な治療法がないとされていたが、酵素補充療法（enzyme replace therapy, ERT）の有効性が認められ、2015年、日本で初めてHPP治療薬が承認された。しかし、ERTで治療効果を得るためには週3回の皮下への長期反復投与が必要となる。したがって本研究では、下顎骨に分布するALP濃度を上昇させるための至適アデノ随伴ウイルス（recombinant adeno-associated virus, AAV）ベクター投与量を検討し、乳歯の早期脱落の改善が可能な遺伝子治療を課題とする。

そこで我々はこれまでに、単回投与で安全に治療可能なアデノ随伴ウイルス（recombinant adeno-associated virus, AAV）ベクターを用いた遺伝子治療の検討を行ってきた。その結果、延命効果と大腿骨の伸長不全を改善する結果を得た。一方、顎骨や歯に対する治療効果に関しては不明な点が多かった。そこで本研究の目的は、大腿骨の伸長不全が改善された治療マウスの顎骨および歯への治療効果を評価することとした。

対象および方法：

出生直後のHPPマウス（*Akp2*^{-/-}）に治療用AAVベクター（scAAV8-CB-TNALP-D₁₀） 4.5×10^{12} vector genome/body (v.g./body)を筋肉注射し、90日後に下顎骨の放射線画像解析を行った（n=5）。ネガティブコントロールとして、骨の治療不全が残存する血清ALP濃度となる 1.5×10^{11} v.g./body投与群、ポジティブコントロールとして同日齢の*Akp2*^{+/+}マウス群を用いた（n=5）。

結果：

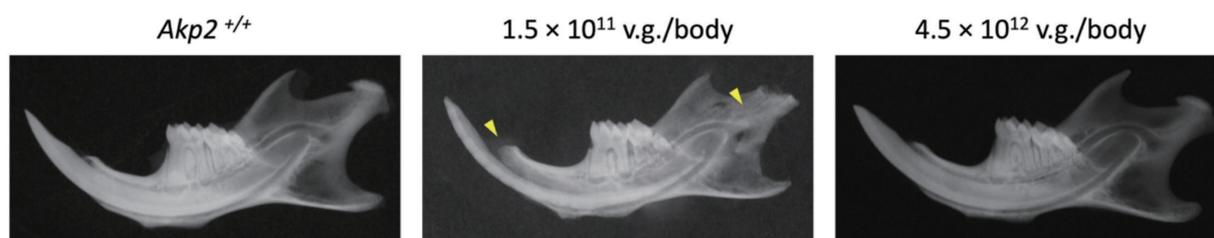


図1

下顎骨エックス線画像から、 1.5×10^{11} v.g./body 投与群は前歯槽骨頂の形態が変わり、下顎骨体では透過性が不均一で石灰化不良が認められました。 4.5×10^{12} v.g./body 投与群はポジティブコントロールである *Akp2*^{+/+} マウス群と変わらない石灰化が認められた (図1)。

前歯槽骨頂から下顎頭最後方点を結ぶ下顎骨長径は、 4.5×10^{12} v.g./body 投与群は 1.5×10^{11} v.g./body 投与群よりも改善の傾向が認められた。下顎頭最後方点から下顎角最後方点を結ぶ下顎骨高径は 4.5×10^{12} v.g./body 投与群は 1.5×10^{11} v.g./body 投与群よりも有意に改善が認められた (図2)。

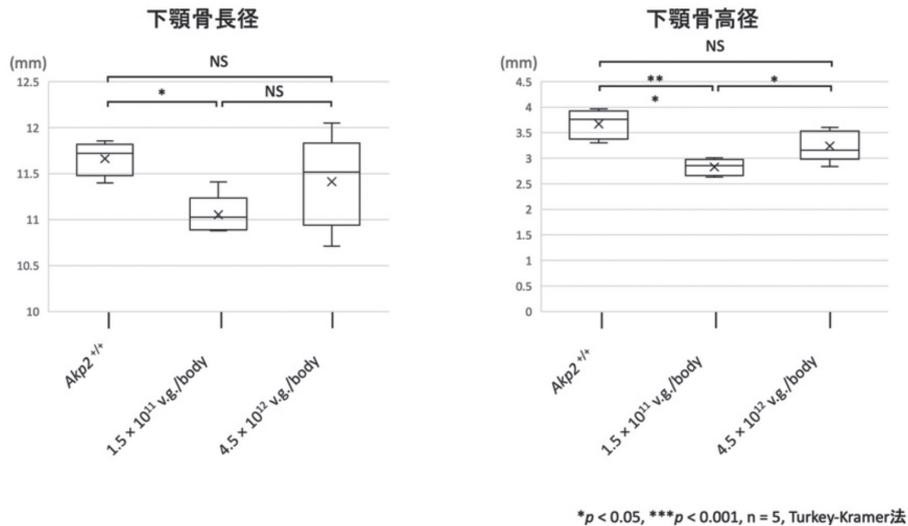


図2

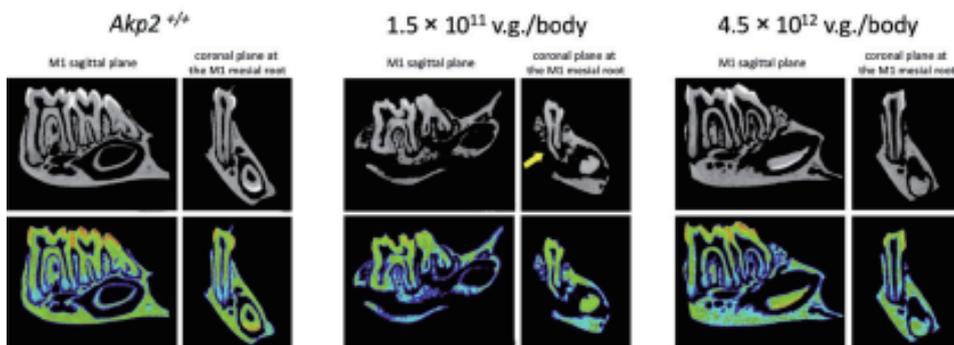
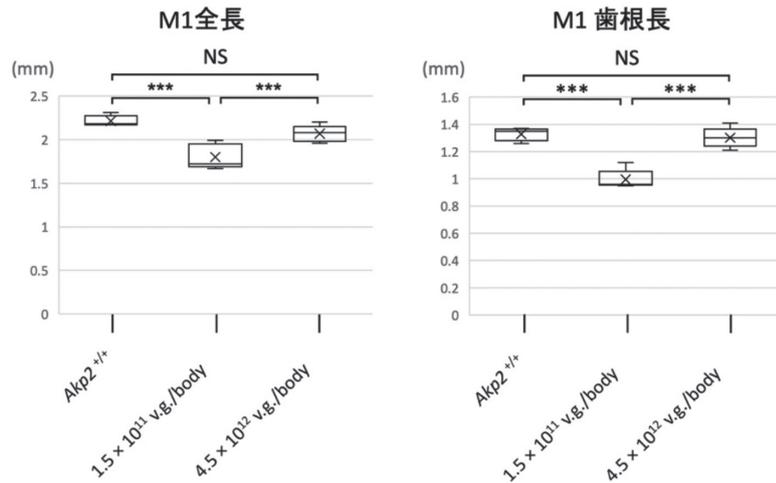


図3 マイクロCT画像

冠状断像で、 4.5×10^{12} v.g./body 投与群は *Akp2*^{+/+} マウス群と変わらない歯根の形態を示した。さらに視覚的に石灰化度を観察できる BMD 画像においても歯槽骨石灰化程度も類似していた (図3)。

マイクロCT画像を用いて第一臼歯を計測したところ、M1全長、歯根長ともに、 4.5×10^{12} v.g./body 投与群は *Akp2*^{+/+} マウス群と比較し、歯根の形成が改善されていた (図4)。



* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$, $n = 5$, Turkey-Kramer法

図4

考察：

低ホスファターゼ症患者において主な歯科所見は乳歯の早期脱落、歯周疾患が挙げられる。乳歯の早期脱落の主な原因は無細胞セメント質の形成不全により、歯根膜線維の欠如が生じ、その結果正常な咬合圧でさえも過重負荷となるためにおこるのではないかとされている。そのため、セメント質の欠如が残存するという事は、歯の早期脱落が改善されない可能性を示している。

セメント質の欠如や歯槽骨の石灰化不全を改善するため、*Akp2*^{-/-}マウスに治療用ベクター scAAV8-CB-TNALP-D₁₀ を 4.5×10^{12} v.g./body 筋肉内投与した。そして、延命効果が得られる最低濃度治療群である 1.5×10^{11} v.g./body 群と正常群である *Akp2*^{+/+}群と比較し検証した。下顎骨全体をみるためにレントゲン撮影での下顎骨長径・高径の測定を行った（図2）。その結果、下顎骨長径・高径ともに 4.5×10^{12} v.g./body 群は *Akp2*^{+/+}群と変わりがないほど改善した（図2）。しかし、 1.5×10^{11} v.g./body 群は *Akp2*^{+/+}群と比較して有意に短く、正常な成長が認められなかった（図2）。

次に、Micro CTにて歯の形態を解析したところ、 1.5×10^{11} v.g./body 群では歯根が短く、彎曲し、根尖部の肥大が認められた。それに対し、 4.5×10^{12} v.g./body 群では、*Akp2*^{+/+}群と比較しても変わりなく、根の長さが正常であり根尖部の彎曲が認められなかった（図3）。実際にM1全長およびM1歯根長を測定した結果、共に 4.5×10^{12} v.g./body 群では正常な長さが確認され、 1.5×10^{11} v.g./body 群では *Akp2*^{+/+}群と比較し有意に低値となった（図4）。

結論として、十分量のAAVベクターを投与することでTNALPが補充され、正常なセメント質が形成され、乳歯の早期脱落や成人の歯周疾患を防ぐ可能性があることが示唆された。

成果発表：（予定を含めて口頭発表、学術雑誌など）