

学位審査結果報告書

学位申請者氏名 井上 愛沙子

学位論文題目 VNUT/SLC17A9, a vesicular nucleotide transporter, regulates osteoblast differentiation

審査委員 (主査) 竹内 弘



(副査) 有吉 渉



(副査) 中道 郁夫



学位審査結果の要旨

矯正歯科治療では、歯を介した歯周組織への機械的負荷によって歯を移動する。骨芽細胞は機械的負荷により細胞外に ATP を放出し、P2 受容体 (P2Y₂ 受容体、P2X₇ 受容体) を介して骨代謝に影響を及ぼすことが知られているが、骨芽細胞からの ATP 放出機構の詳細は明らかとなっていない。近年、ATP の小胞貯蔵を行う vesicular nucleotide transporter (VNUT/SLC17A9) が同定された。VNUT は様々な細胞で発現しているが、骨芽細胞における発現の報告はない。そこで申請者の井上氏らは本研究において、VNUT の骨芽細胞における発現と骨代謝機構に果たす役割について検討した。

C57BL/6J マウスにおける VNUT の発現をリアルタイム PCR および免疫組織染色にて検索したところ、骨組織および骨芽細胞で VNUT の高い発現が確認された。前骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞に遠心力による圧迫力 (9.0 g/cm², 12 時間) を付与すると、Slc17a9、P2Y₂ 受容体、P2X₇ 受容体の mRNA 発現、およびルシフェリンルシフェラーゼ法によって測定した細胞外 ATP 量の増加を認めた。圧迫力付与 7 日後の骨芽細胞分化マーカー (Osterix、Runx2、Collagen 1a1、Alkaline phosphatase) の発現および ALP 活性はコントロール細胞より低かった。一方、Slc17a9 遺伝子発現を shRNA によって抑制すると、圧迫力付与による細胞外 ATP 量の増加、骨芽細胞分化マーカーの発現および ALP 活性の上昇効果はいずれも消失した。また、P2Y₂ 受容体ではなく P2X₇ 受容体の発現抑制によって、圧迫力付与後の骨分化マーカーの発現低下が解除された。

以上の結果は、機械的圧迫力負荷は VNUT の発現を誘導し、細胞外 ATP 増加と P2X₇ 受容体の活性化を介して骨芽細胞の分化を調節することを示唆しており、骨芽細胞への機械的圧迫力負荷による骨代謝の調節には、VNUT を介した ATP 放出が重要な役割を果たす可能性を示すものである。

本研究内容について申請者の井上氏に対し、個々の実験手法、結果の解釈および当該分野における意義と臨床応用への展望や今後の課題等について主査と 2 名の副査による試問を行い、概ね適切な回答を得た。機械的圧迫力負荷による骨芽細胞分化の抑制とその機序として VNUT を介した ATP 放出が果たす役割を明らかにした本研究成果は、矯正歯科治療時の歯の移動の機序について理解を深め、新たな治療法開発や問題解決にも寄与するものが多いことから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。