

## 論文の内容の要旨

氏名：李 昌弘

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Micromolar Levels of Sodium Fluoride Promote Osteoblast Differentiation Through Runx2 Signaling

（低濃度フッ化物による Runx2 シグナルを介した骨分化の促進）

フッ化物は自然界に普遍的に存在し、必須微量元素のひとつであると考えられている。硬組織に対して高い親和性を有し、欠乏と過剰になる量の範囲が狭いことで知られている。国によってはう蝕予防として水道水に混入しているが、フッ素の過剰摂取は骨硬化症、脂質代謝障害、糖質代謝障害と関連があるとの報告がある。また、フッ化ナトリウムの  $\mu\text{M}$  レベルの上皮細胞に対する投与では、細胞増殖が認められるが、 $\text{mM}$  レベルの投与では逆にアポトーシスによる細胞死が報告されている。さらに骨リモデリングは、破骨細胞と骨芽細胞による連関した制御システムである。破骨細胞が古い骨を破壊し、骨芽細胞がその欠失部分に骨基質を充填し骨形成を行う現象のことを指す。このバランスの破綻がさまざまな骨疾患につながるということが知られている。低濃度フッ化ナトリウムは骨芽細胞に対して、細胞増殖、分化を促進すること、脊椎、非脊椎骨折に対するフッ化ナトリウムの効果は、メタ分析により  $20\text{ mg/day}$  以下の投与量で有意にリスクを減少させること、さらに水道水の添加地区において、 $4\text{ mm}$  以上の歯周ポケットを有する者の割合が有意に低いことなどが報告されている。

本研究では、*in vitro* 実験として、骨芽細胞様細胞である MC3T3-E1 細胞を用いて、細胞増殖および骨形成分化に対する  $\mu\text{M}$  レベルのフッ化ナトリウムの効果を検証した。その結果、低濃度フッ化ナトリウムは、MC3T3-E1 細胞の細胞増殖を有意に増加させ、アルカリホスファターゼ（ALP）活性および石灰化を有意に増強した。定量的リアルタイム PCR を用いて、骨芽細胞への分化に関連する転写因子 Runx2 や osterix、並びに、成熟した骨芽細胞が産生する osteopontin および osteocalcin の遺伝子発現を調べたところ、すべての遺伝子において、低濃度フッ化ナトリウムの濃度依存的に、それらの遺伝子発現が上昇することを明らかにした。さらに siRNA による Runx2 の RNA 干渉を行い、Runx2 タンパク質の翻訳を制御すると、分化過程の下流で働く osterix タンパク質発現が抑制を受けること、また、低濃度フッ化ナトリウムは Runx2 タンパク質の産生を高めることをウェスタンブロット解析により示した。さらに、*in vivo* 実験では、*P. gingivalis* 感染ラットにおいて、フッ化ナトリウムが *P. gingivalis* の感染により誘発された炎症を抑制し、歯槽骨吸収を抑制したことを組織学的に示した。以上の結果から、低濃度フッ化ナトリウムが Runx2 / osterix 転写因子の発現を遺伝子発現レベルで上げることにより、幹細胞から骨芽細胞への分化を促進し、石灰化を促すこと、及び、ラットを用いた *in vivo* 実験から、低濃度フッ化ナトリウムは歯肉の炎症を抑制することで歯槽骨吸収を抑える可能性を示唆し、低濃度フッ化ナトリウムの投与が、歯周病を含めた骨関連疾患の治療に有効である可能性をもつと示唆される。