

**研究者：宗正 隆明**（所属：鶴見大学小児歯科）

**研究題目：亜鉛トランスポーター Slc39a13/Zip13 の KO マウス臼歯のコラーゲンの異常について**

**目的：**

Slc39a13/Zip13 の KO マウス（以下 KO マウスとする）は成長遅延をはじめ、骨、歯、目、皮膚などの硬組織および結合組織の異常をきたす。これらの表現系はヒトの骨形成不全症などの結合組織疾患と類似していることが示されている。申請者がこれまでに行ってきた KO マウス口腔内の形態学的観察から象牙細管の異常や象牙質の細胞外基質の異常を観察し、ヒトで見られる象牙質形成不全症 I 型に著しく関連していることを見出した。

今回申請者は象牙質形成不全症 I 型のモデルマウスになり得るかを検討するために、I 型コラーゲンの異常を免疫染色より確認し、また、コラーゲンの質的欠陥を確認するために透過型電子顕微鏡観察し KO マウスにみられた象牙質形成異常の発症メカニズムを解明する事を目的に、組織形態学的ならびに免疫組織学的検討を行った。

**対象および方法：**

供試動物：理化学研究所より分与された Zip13 マウス（+/+：WT マウス， -/-：KO マウス）を試料とした。

実験方法：生後 2, 4, 6, 12 週齢において、ジメチルエーテル麻酔下で安楽死させ、下顎骨を摘出し、パラフィン包埋し、第一臼歯部を頬舌方向に切断した。歯根象牙質を観察するために H.E. 染色、象牙質の基質線維を観察するために鍍銀染色、そして透過型電子顕微鏡により象牙質の基質線維の微細構造について観察をおこなった。歯根象牙質のコラーゲン分子についてコラーゲン I 型抗体を用いて免疫染色を施して検討をおこなった。

**結果および考察：**

組織形態学的観察：H. E. 染色で WT マウスは、均一な象牙質が形成されていた。一方、KO マウスは、4 週齢までの象牙質は薄く、不規則な成長線を認めた。4 週齢以降に形成された象牙質は、量的には、WT マウスと同等の象牙質が形成されていた。コラーゲンの形態学的変化：鍍銀染色では、4 週齢までに形成された象牙質とそれ以降に形成された象牙質のコラーゲンの形態学的観察を行うため、6 週齢と 12 週齢の WT と KO マウスで比較検討したところ、WT マウスでは、象牙質に均一な線維が確認できた。一方、KO マウスは、4 週齢までの象牙質は細く周期的コラーゲン線維の沈着を認めたが、4 週齢以降に形成された象牙質においては、均一なコラーゲン線維であった。透過型電子顕微鏡では、WT マウスの象牙質中のコラーゲン線維は、切片上で種々の方向に錯走しており、太さもほぼ均一であり密集していた。一方、KO マウスは、12 週齢まで形成された象牙質では、コラーゲン線維の密度が少なく線維の太さにばらつきがみられた。

免疫組織学的観察：WT マウスは、生後2週齢から12週齢のすべての週齢の象牙質において、I型コラーゲンに対する免疫反応は弱かった。一方、KO マウスは、4週齢までに形成された象牙質において強い免疫反応が認められたが、4週齢以降に形成された象牙質では、WT マウスと同様な発現パターンであった。

今回の結果からWT マウスと比較してKO マウスでは、H. E. 染色で4週齢までの象牙質は薄く、不規則な成長線が認め、鍍銀染色、I型コラーゲン免疫反応で異常が観察された。これらの結果から4週齢までの歯根象牙質の形成過程においては、Zip13 遺伝子が大きく関わっていることが示唆された。12週齢のWT・KO マウスでは、H.E. 染色で観察すると量的・質的な差異は認められないが、詳細に観察するとコラーゲン線維の密度が少なく線維の太さにばらつきのあることがわかった。以上のことから、4週齢までに生じた歯根象牙質の形成異常はZip13の直接的な影響を受けている可能性が高いが、4週齢以降に形成される象牙質の量的・質的变化に対するZip13の影響については不明な点も多く今後さらなる検討が必要と考えられる。

**成果発表：**（予定を含めて口頭発表，学術雑誌など）

第27回日本小児歯科学会 関東地方会大会

第51回日本小児歯科学会大会（予定）