

令和元年6月16日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17339

研究課題名(和文) 重度歯根吸収発生機構におけるシグナル経路間クロストークの解明

研究課題名(英文) Elucidation of cross talk between signaling pathway of occurring mechanism in severe root resorption.

研究代表者

菊田 純 (KIKUTA, Jun)

日本大学・松戸歯学部・助手(専任扱)

研究者番号：10759632

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：In vivoにおいて矯正力を負荷した結果、圧迫側歯根膜にJagged1、Notch2、Wnt5a、Ror2陽性細胞の発現を認めた。In vitroではcompression force (CF)及びNotchシグナル、Wntシグナル阻害剤を加えたhPDL cellsにおいて、CF1g群、CF4g+Notch阻害剤群ではWnt5aの遺伝子発現の増大が認められた。また、CF4g群、CF1g+Wnt阻害剤群ではJagged1の遺伝子発現の増大が認められた。以上のことから矯正学的歯の移動時における歯根吸収にNotchシグナル伝達及びWntシグナル伝達が相互に関連している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果から、歯根吸収の発生には歯根膜における炎症性サイトカインの発現が関与しており、NotchとWntシグナル伝達がそれぞれ炎症性サイトカインの発現を制御していることが明らかになった。また、NotchシグナルとWntシグナルのクロストークが炎症性サイトカインの発現に関与していることが示唆され、矯正学的歯の移動による歯根吸収の発生について新たな知見が得られた。これらのことより、各シグナル阻害剤が歯根吸収の抑制に有効であることが証明できれば、将来的に歯根吸収の増悪に対する抑制薬を作製することが期待でき、歯科矯正臨床の今後一層の発展が望めるものとなった。

研究成果の概要(英文)：In vivo study, rats were subjected to an orthodontic force of 10 or 50 g to induce a mesially tipping movement of the upper first molars. In the PDL tissue subjected to the orthodontic force, Jagged1, Notch2, Wnt5a and Ror2-positive cells were observed. In vitro study, the expression of wnt5a mRNA in the CF1g group and CF4g+Notch inhibitor group were significantly increased compared with the control group. In the CF4g group and CF1g+Wnt inhibitor group, the expression of Jagged1 mRNA was significantly increased compared with the control group. The result in this study suggest that orthodontic force induces root resorption via cross talk between Notch signaling and Wnt signaling.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：歯根吸収 歯根膜細胞 矯正力 Notchシグナル Wntシグナル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

矯正歯科治療における偶発症の一つとして歯根吸収が存在する。歯根吸収は歯の移動に伴って歯根尖部に生じ、その程度の差はあれほとんどの症例で認められ、固定式矯正装置を使用した場合2-5%の患者で根尖より5mm以上の歯根吸収が発生する事がわかっている。その予測は難しく、一旦進行してしまうと不可逆的で修復不可能であるため、歯根吸収の発生・進行を抑制する対策は矯正歯科医にとって急務である。当講座では、歯根吸収は矯正力における炎症プロセスに基づき、矯正力により骨吸収性サイトカインの産生が増大し、破歯細胞が誘導されることが歯根吸収の原因の一つであることを明らかにした¹⁾。また、hPDL cellsにおける破骨細胞形成支持にNotchシグナル伝達が関与していることを報告した²⁾。最近の研究からhPDL cellsにおける骨形成支持にWntシグナル伝達が関与していることが示唆されているが、Notchシグナル伝達との関連については明らかにされていない^{3,4)}。歯根吸収を抑制するためには、hPDL cellsにおける発生メカニズムの解明が必要である。そこで本研究ではNotchシグナルとWntシグナル経路間のクロストークに着目し、矯正治療中に生じる歯根吸収の発生メカニズムについて検討した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、矯正治療による歯根吸収発生メカニズムを解明するために、歯根膜線維芽細胞と破骨前駆細胞におけるシグナル伝達、特にWnt、Notchシグナル経路間のクロストークに焦点を当て、矯正治療による歯根吸収発生メカニズムを解明するとともに、その抑制方法を検討することである。In vivoにおいては、ラットの実験的歯の移動において人為的に歯根吸収を惹起させ、歯根吸収部の歯根膜線維芽細胞と破骨前駆細胞におけるRor2とそのリガンドであるWnt5a、Notch2とそのリガンドであるJagged1、およびRANK/RANKL陽性細胞の発現について検討する。In vitroでは、歯根膜線維芽細胞に圧迫刺激を加え、Jagged1とWnt5a遺伝子・タンパク質の発現を観察する。さらにそれぞれのシグナル阻害因子を培地に添加し、上記因子のタンパク質産生量と遺伝子発現の変化を検討する。

3. 研究の方法

ラットの上顎第一大臼歯10g(至適矯正力)と50g(強い矯正力)の矯正力にて牽引し、当該部の切片はH.E染色、免疫組織化学染色にてNotchシグナル伝達、Wntシグナル伝達関連陽性細胞の発現を検討する⁵⁾。

In vitroにおいて、培養したhPDL cellsに矯正力として1g(至適矯正力:CF1g群)と4g(強い矯正力:CF4g群)のcompression forceを加え、Jagged1、Notch2、Ror2、Wnt5aの遺伝子発現及びタンパク質産生量を検討する^{6,7)}。

In vitroにおいて、Notchシグナル、Wntシグナル伝達阻害剤をそれぞれ培地に添加し、CFを作用させた群をCF+阻害剤群とし、上記因子のタンパク質産生量と遺伝子発現の変化を検討する⁸⁾。

4. 研究成果

In vivoではラットの歯牙移動7日目のHE染色にて10g群と比較して50g群 圧迫側歯根に歯根吸収が認められ、吸収した歯根表面に多核のTRAP陽性細胞が認められた。また、免疫組織化学染色において、10g群では圧迫側歯根膜にWnt5a、Ror2陽性細胞の発現が認められた。一

方 50g 群では圧迫側歯根膜に Jagged1、Notch2 陽性細胞の発現が認められた。In vitro では hPDL cells において、CF1g 群・CF4g 群共に Jagged1、Notch2、Ror2、Wnt5a の遺伝子・タンパク発現の増大が認められた。また、CF1g 群、CF4g+Notch 阻害剤群では Wnt5a の遺伝子発現の増大が認められた。また、CF4g 群、CF1g+Wnt 阻害剤群では Jagged1 の遺伝子発現の増大が認められた。このことから、矯正学的歯の移動時における歯根吸収に Notch シグナル伝達と Wnt シグナル伝達が相互に関与している可能性が推察された。

(引用文献)

- 1) Yamaguchi M, Aihara N, Kojima T, Kasai K. RANKL in compressed periodontal ligament cells from root resorption. J Dent Res 85:751-756, 2006.
- 2) Kikuta J, Yamaguchi M, Shimizu M, Yoshino T, Kasai K. Notch signaling induces root resorption via RANKL and IL-6 from hPDL cells. J Dent Res. 94:140-7, 2014.
- 3) Westendorf JJ, Kahler RA, Schroeder TM. Wnt signaling in osteoblasts and bone diseases. Gene. 341:19-39, 2004.
- 4) Hartmann C. Skeletal development--Wnts are in control. Mol Cells. 24:177-184, 2007.
- 5) Fujita S, Yamaguchi M, Utsunomiya T, Yamamoto H, Kasai K. Low-energy laser stimulates tooth movement velocity via expression of RANK and RANKL. Orthod Craniofac Res. 11:143-55, 2008.
- 6) Asano M, Yamaguchi M, Nakajima R, Fujita S, Utsunomiya T, Yamamoto H, Kasai K. IL-8 and MCP-1 induced by excessive orthodontic force mediates odontoclastogenesis in periodontal tissues. Oral Dis 17:489-498, 2011.
- 7) Hirate Y, Yamaguchi M, Kasai K. Effects of relaxin on relapse and periodontal tissue remodeling after experimental tooth movement in rats. Connect Tissue Res, 53(3): 207-219, 2012.
- 8) Yamaguchi M, Ozawa Y, Nogimura A, Aihara N, Kojima T, Hirayama Y, Kasai K. Cathepsins B and L increased during response of periodontal ligament cells to mechanical stress in vitro. Connect Tissue Res. 45:181-189, 2004.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 9 件)

Kikuta J, Saito-Goto H, Iwane T, Shimizu M, Hikida T, Nakayama E, Hikida M, Kasai K. Wnt5a stimulates bone resorption during orthodontic tooth movement, Int J Oral-Med Sci 17(3-4):62-68, 2019. (査読あり)

Saito-Goto H, Kikuta J, Shimizu M, Hikida T, Kasai K. Heavily induced root resorption stimulates Wnt5a expression in cementoblasts. Int J Oral-Med Sci 17(3-4):69-80, 2019. (査読あり)

Sugimori T, Yamaguchi M, Shimizu M, Kikuta J, Hikida T, Hikida M, Murakami Y, Kasai K. Micro-osteoperforations accelerate orthodontic tooth movement by stimulating periodontal ligament cell cycles. Am J Orthod 154:788-796, 2018. (査読あり)

Minato Y, Yamaguchi M, Shimizu M, Kikuta J, Hikida T, Hikida M, Suemitsu M, Kuyama K, Kasai K. Effect of caspases and RANKL induced by heavy force in orthodontic root resorption. Korean J Orthod, 48(4):253-261, 2018. (査読あり)

Yamaguchi M, Nakayama E, Shimizu M, Kikuta J, Horihata S, Kasai K. Effects of daidzein on the production of type I collagen and matrix metalloproteinase1 by stretched human periodontal ligament cells. Int J Oral-Med Sci, 17(1):27-32, 2018. (査読あり)

Nakayama E, Yamaguchi M, Kikuta J, Shimizu M, Hikida M, Hikida M, Murakami Y, Suemitsu M, Kuyama K, Kasai K. Daidzein inhibits relapse after rat experimental tooth movement. Int J Oral-Med Sci, 17(1):18-26, 2018. (査読あり)

Yamaguchi M, Minato Y, Shimizu M, Kikuta J, Hikida T, Kasai K. Caspase-mediated Apoptosis by Compressive Force Induces RANKL in Cementoblasts. Int J Oral-Med Sci, 16(2):31-38, 2017. (査読あり)

Yao-Umezawa E, Yamaguchi M, Shimizu M, Kikuta J, Suzuki K, Kasai K. Relationship between root resorption and individual variation in the calcium/phosphorous ratio of cementum. Am J Orthod Dentofacial Orthop 152:465-70, 2017. (査読あり)

Kohno R, Yamaguchi M, Hikida T, Kikuta J, Shimizu M, Takahashi-Hikida M, Murakami Y, Kasai K. Expressions of IL-34 in root resorption by excessive orthodontic force. Int J Oral-Med, Sci, 16(1):8-15, 2017. (査読あり)

〔学会発表〕(計 8 件)

齋藤瞳, 菊田純, 清水真美, 疋田拓史, 中山瑛加, 湊友香里, 葛西一貴. 歯根吸収発生におけるヒト歯根膜繊維芽細胞の Wnt シグナル発現の関与, 第 77 回日本矯正歯科学会 2018.

岩根健大, 菊田純, 中山瑛加, 葛西一貴. ヒト歯根膜繊維芽細胞の持続的圧迫力に対する Notch シグナルと Wnt シグナルの相互関係, 第 77 回日本矯正歯科学会 2018.

塚田美智子, 菊田純, 清水真美, 疋田拓史, 葛西一貴. 科矯正治療中に生じる歯根吸収とヒト歯根膜繊維芽細胞の TGFβ シグナルの関係性について, 第 77 回日本矯正歯科学会 2018.

中山瑛加, 山口大, 疋田拓史, 清水真美, 菊田純, 村上嘉規, 疋田桃子, 葛西一貴. Daidzein はコラーゲン代謝を活性化し後戻りを抑制する, 第 76 回日本矯正歯科学会 2017.

齋藤瞳, 山口大, 菊田純, 疋田拓史, 疋田桃子, 清水真美, 葛西一貴. メカニカルストレスによる歯根膜の Wnt シグナル発現が、歯根吸収を増悪する, 第 76 回日本矯正歯科学会 2017.

湊友香里, 山口大, 清水真美, 菊田純, 疋田拓史, 疋田桃子, 村上嘉規, 葛西一貴. 圧迫力負荷によるセメント芽細胞のアポトーシスと歯根吸収の関係性, 第 76 回日本矯正歯科学会 2017.

岩根健大, 山口大, 菊田純, 疋田拓史, 疋田桃子, 清水真美, 葛西一貴, 村上嘉規. ヒト歯根膜線維芽細胞の持続的圧迫力に対する Notch シグナルと Wnt シグナルの相互関係, 第 76 回日本矯正歯科学会 2017.

杉森匡, 山口大, 清水真美, 菊田純, 疋田拓史, 疋田桃子, 村上嘉規, 葛西一貴.
Micro-osteoperforations は歯槽骨の骨密度の減少を介して歯の移動速度を促進させる,
第 76 回日本矯正歯科学会 2017.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。