

平成21年 4月 27日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2007～2008

課題番号：19890030

研究課題名（和文） 矯正歯の移動時の歯周組織における CTGF とアポトーシスの役割

研究課題名（英文） Roles of CTGF and apoptosis in periodontal tissues during orthodontic tooth movement.

研究代表者 酒井 雄一（SAKAI YUICHI）

東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：00451609

研究成果の概要：

矯正歯の移動時の骨リモデリングについて究明するため、歯槽骨の骨細胞における CTGF の発現とアポトーシスに着目して実験を行った。その結果、機械的刺激による CTGF の発現とそれに続くアポトーシスの亢進により、歯の移動の際認められる骨のリモデリングが引き起こされることが示唆された。得られた研究成果を *Journal of dental research* に投稿し、既に受理され、現在印刷中である。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,290,000	0	1,290,000
2008年度	1,270,000	381,000	1,651,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,560,000	381,000	2,941,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・矯正小児系歯学

キーワード：歯の移動、機械的刺激、骨リモデリング、骨細胞、CTGF、アポトーシス

1. 研究開始当初の背景

矯正歯科治療において、歯に機械的刺激を付加した際、圧迫側歯槽骨においては破骨細胞による骨吸収が認められ、牽引側歯槽骨においては骨芽細胞による骨形成が認められる。機械的刺激による骨リモデリングにおいて、種々のタンパク質と遺伝子の発現レベルの変化が認められる。

CTGFは、CCNファミリーに属し、繊維芽細胞の増殖や遊走、軟骨細胞や骨芽細胞の増

殖や分化、血管内皮細胞の接着、増殖、遊走に関わることが報告されている。また、実験的歯の移動の際、骨細胞がCTGFを発現することが報告されており、CTGFが機械的刺激の骨への伝達に関与することが示唆されている。

アポトーシスはプログラムされた細胞死であり、種々の細胞死をコントロールする因子によって厳密に制御されている。機械的刺激付加による骨細胞のアポトーシスに関する報告がなされており、機械的刺激は骨細胞

のアポトーシスを調節する可能性が示唆されている。

これまで、ヒトのメサンギウム細胞に静水圧を付加することにより、CTGFの発現が上昇し、またアポトーシスの亢進が知られている。しかし、実験的歯の移動において、歯槽骨骨細胞におけるCTGFとアポトーシスとの関係については、未だ明らかになっていない。

本研究では、実験的歯の移動によるマウスの機械的刺激モデルを作製し、歯槽骨の骨リモデリングへのCTGFとアポトーシスの関与について検討した。

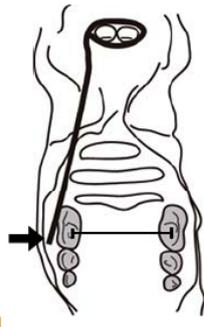
2. 研究の目的

矯正歯の移動時の歯槽骨骨細胞におけるCTGFとアポトーシスの発現の関係について明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 実験的歯の移動モデルの作製

生後6週齢マウスの上顎切歯に、直径0.012インチのニッケルチタンワイヤーを接着し、その先端を右側上顎第一臼歯に掛け、歯を口蓋側に移動させた。歯に付加される力は10gとした。上顎の印象を取り、石膏模型を作製し、模型上で両側第一臼歯の口蓋咬頭の距離を測定することにより、歯の移動距離を求めた。



(2) in situ hybridization

CTGF mRNAを検出するため、ジゴキシジェニンによって標識されたプローブを作製した。in situ hybridizationは過去の報告(Takano-Yamamoto et al., 1994)に従って行われた。

(3) TRAP染色

TRAP染色はacid phosphatase leukocyte kit (Sigma Chemical社製)を用いて行った。3個あるいはそれ以上の核を有するTRAP陽性細胞を破骨細胞とした。

(4) TUNEL染色

TUNEL染色は、Apoptosis detection kit(Wako社製)を用いて行った。

(5) In situ okigoligation (ISOL)

ISOLはApopTag in situ Oligo Ligation kit (Intergen社製)を用いて行われた。

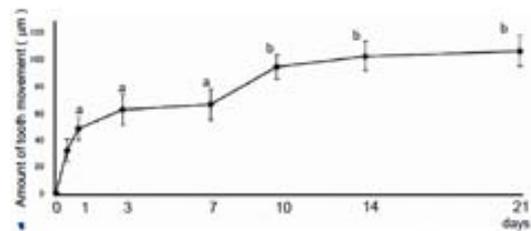
(6) 免疫化学染色

CTGFタンパク質の発現を検討するために行った免疫化学染色では、Avidin-biotin peroxidase detection system(Vector Laboratories社製)が用いられた。また抗体として、抗ラビットポリクロナールIgG抗体を用いた。

4. 研究成果

(1) 歯の移動量の経時的変化

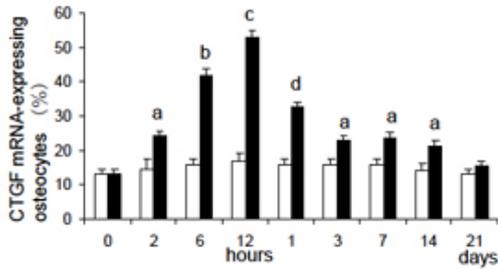
歯の移動量は、矯正力付加後1日まで著しく上昇した。矯正力付加後1日から7日において歯の移動量はわずかに上昇した。その後、7日目から10日目にかけて歯の移動量は著しく上昇したが、10日から21日まで顕著な歯の移動は認められなかった。



(2) CTGFを発現する骨細胞数の経時的変化

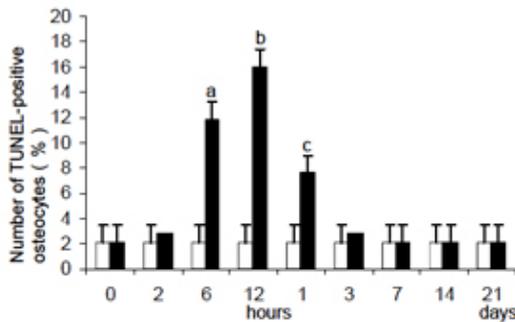
In situ hybridizationの結果、CTGF mRNAを発現する圧迫側歯槽骨の骨細胞の数は、矯正力付加後経時的に上昇し、12時間にピークを迎えた。

その後、CTGF mRNA を発現する骨細胞は減少し、21 日後には対照群とほぼ同じレベルとなった。また、骨細胞により産生される CTGF タンパク質は機械的刺激により亢進した。



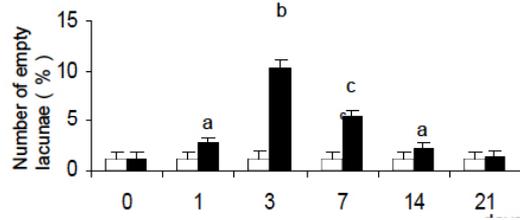
(3) 機械的刺激による骨リモデリングにおけるアポトーシス

TUNEL 染色の結果、圧迫側歯槽骨における TUNEL 陽性骨細胞の数は、機械的刺激付加後 2 時間まで顕著な変化は認められなかった。機械的刺激付加後 6 時間では陽性細胞の著しい上昇が認められ、12 時間でその数はピークに達し、以後経時的に減少した。アポトーシス陽性骨細胞は、ISOL によって確認された。牽引側歯槽骨における TUNEL 陽性骨細胞の数は、機械的刺激により変化しなかった。



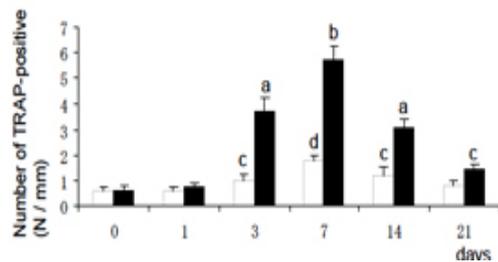
(4) 空の骨小腔数の経時的変化

圧迫側歯槽骨における空の骨小腔の数を H-E 染色にて検索したところ、機械的刺激付加後 1 日で上昇し、3 日でピークを迎えたが、以後経時的に減少し、21 日には対照群とほぼ同じレベルとなった。牽引側歯槽骨における空の骨小腔の数は、機械的刺激により変化しなかった。



(5) 破骨細胞数の経時的変化

TRAP 染色を行った結果、圧迫側歯槽骨における破骨細胞の数は、機械的刺激付加後 3 日で著しく上昇し、7 日でピークを迎えた。その後破骨細胞の数は、経時的に減少した。



(6) これまで、機械的刺激により、CTGF の発現は、細胞の種類によって促進あるいは抑制されることが報告された。また、過去の報告から、CTGF が各種細胞のアポトーシスに関与すると考えられている。しかし、矯正の歯の移動時の骨リモデリングにおける CTGF およびアポトーシスの役割は明らかでなかった。

本研究では、実験的歯の移動において、機械的刺激付加後、圧迫側歯槽骨の骨細胞で CTGF mRNA 発現が上昇し、続いてアポトーシスが亢進した。その後、圧迫側歯槽骨において空の骨小窩の発現が上昇し、さらに破骨細胞の発現が亢進した。これらの結果は、機械的刺激に反応して骨細胞における CTGF mRNA の発現とアポトーシスが亢進し、それらが骨リモデリングを引き起こす重要な役割を担っていることを示唆している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Yuichi Sakai, Tarek A. Balam, Shingo Kuroda,
Nagato Tamamura, Tomohiro Fukunaga,
Masaharu Takigawa, Teruko Takano-Yamamoto.
CTGF and Apoptosis in Mice Osteocytes
Induced by Tooth Movement. Journal of
Dental Research. 2009. 印刷中、査読有り

6. 研究組織

(1) 研究代表者

酒井 雄一 (SAKAI YUICHI)
東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤
講師
研究者番号：00451609

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし