

平成22年7月16日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20791352
 研究課題名（和文） 歯周組織特異的構成細胞による口腔顎顔面領域の疼痛制御機序の解明
 研究課題名（英文）
 Study for oral-facial pain control mechanism by periodontal specific cells.
 研究代表者
 岡 広子 (OKA HIROKO)
 広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・特任助教
 研究者番号：60452588

研究成果の概要（和文）：歯根周囲で歯周組織を構成する細胞において、痛みの受容に関わる受容体や疼痛を抑制することで知られる因子が発現していることが明らかとなった。培養細胞を用いた検討から、歯周組織を構成する細胞が、骨破壊に関与する破骨細胞の誘導を抑制する物質を分泌している可能性が示唆された。また、歯周靭帯細胞をセメント芽細胞へ分化させる特異的な因子が炎症や免疫を制御する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：In this study, it was indicated that some kinds of component cells in periodontal tissue have receptors for pain and factors known to inhibit pain. The data in this study suggested the possibility that the component cells in periodontal tissue secrete inhibitors for osteoclastogenesis. Moreover, this study suggested that a factor, which is known to differentiate periodontal ligament cells into cementoblasts, has the ability to control inflammation and immunity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・機能系基礎歯科学

キーワード：炎症，組織破壊

1. 研究開始当初の背景

(1) 歯科臨床において、疼痛を伴うことが稀な辺縁性歯周炎で、歯根吸収が認められることはほとんどない。その一方で、歯の再移

植や咬合性外傷など歯根吸収（セメント質・象牙質の吸収）が生じる場合には疼痛伴うことが多い。

(2) 骨組織においては、骨破壊にかかわる

破骨細胞が炎症刺激によって引き起こされる疼痛に部分的に関与することが報告されていた。

(3) 申請者らのそれまでの研究の中で、歯根表面に存在するセメント質の形成・維持に関わるセメント芽細胞が、一般に骨組織の形成、維持に関わる骨芽細胞と類似の起源・機能を有する細胞と考えられているにもかかわらず、炎症に大きく関わるプロスタグランジンの受容体のうち骨芽細胞に発現がほとんど認められないEP3を強く発現していることが明らかとなった。EP3は胃や十二指腸において炎症性の痛みに関与する酸とアルカリ分泌の調節に関わっていると報告されていた。

(4) 歯由来の単一細胞にも熱や酸刺激を受容する受容体TRPV1をはじめ、痛み刺激を受容する受容体の存在が報告されていた。

(5) 歯周靭帯細胞をセメント芽細胞へ分化させる特異的な因子として近年報告されたF-spondinは、後根神経節細胞や脊髄細胞の軸索成長の誘導の促進や神経前駆細胞から神経様細胞への分化の促進に関与する因子でもある。

以上のことから、セメント芽細胞や歯根周囲の細胞など歯周組織を構成する細胞による環境調節が、歯周組織の疼痛の制御に関与している可能性が示唆され、特にセメント芽細胞およびセメント芽細胞に分化する細胞が歯周組織における疼痛の制御の注目すべき担い手であると考えられた。

2. 研究の目的

歯髄炎や根尖性歯周炎など口腔における炎症性疼痛をコントロールする新たな治療法の開発と全身への応用を目指して、口腔領域における炎症性疼痛の制御に歯牙および歯周組織構成細胞が担う役割について以下の

点を明らかにすることを目的とした。

(1) 歯牙および歯周組織構成細胞における痛み受容体の発現

(2) セメント芽細胞および歯周靭帯細胞の疼痛制御における役割

(3) 破骨細胞・破歯細胞が関与する疼痛に及ぼすセメント芽細胞および歯周靭帯細胞の役割

(4) 炎症性疼痛およびその他疼痛性疾患に対する新たな鎮痛薬の開発への応用

3. 研究の方法

(1) 歯周組織構成細胞における痛み受容体(TRPV1, TRPV2, TRPV4)の発現について、RT-PCRを用いて検討した。

(2) 歯周組織構成細胞における神経伝達物質および疼痛抑制因子の放出についてPCRを用いて検討した。

(3) 破骨細胞培養系で破骨細胞・破歯細胞形成・維持に対する歯周組織特異的な因子の存在の影響を検討した。

(4) アジュバンド炎症モデルにおいて、炎症性疼痛抑制作用の指標因子の確立と骨破壊の評価に適用しうるか否かをPCRおよび組織切片の病理組織像を用いて検討した。

4. 研究成果

(1) 歯周組織構成細胞における痛み受容体の発現：骨芽細胞としてST2(マウス骨髄由来ストローマ細胞株)およびマウス骨髄細胞、歯周靭帯細胞としてマウス臼歯部より採取培養した細胞を用いて痛み受容体の発現を検討した。その結果、ST2、骨髄由来細胞および歯周靭帯細胞において浸透圧や機械的刺激の受容に関わるTRPV4 mRNAが発現していた。また、ST2および骨髄由来細胞においてTRPV2が発現していた。

さらに、TLR4を介したLPSの刺激と疼痛の関

連が指摘されていることから、培養細胞におけるTLR4の発現を検討した。骨芽細胞系細胞株MC3T3-E1およびST2においてTLR4が強く発現していた。セメント芽細胞と骨芽細胞系細胞間における発現量の違いは明らかでなかった。

(2) 疼痛抑制因子の発現：歯周靭帯細胞では疼痛抑制因子として知られるNGFの発現も認められた。

(3) 歯周組織構成細胞の分泌する物質が破骨細胞・破歯細胞誘導に及ぼす影響：破骨細胞・破歯細胞が関与する疼痛の及ぼす歯周組織構成細胞の役割の検討に際し、歯周組織構成細胞が分泌する物質の影響を調べるため、破骨細胞培養系に歯周組織構成細胞の培養上清を添加した。その結果、破骨細胞の誘導抑制が観察された。

(4) マクロファージ遊走阻止因子の発現に及ぼすF-spondinの影響：歯周靭帯細胞の炎症・免疫を惹起することで知られるマクロファージ遊走阻止因子の放出を検討した。F-spondinを歯周靭帯細胞培養系に添加したところ、濃度依存的にマクロファージ遊走阻止因子の発現が上昇する傾向が認められた。

(5) 炎症モデルにおける炎症性疼痛抑制作用の指標の確立：歯周組織構成細胞の疼痛制御における役割を検討するため、まず、アジュバント炎症モデルにおいて、炎症細胞抑制作用が報告されている物質の脊髄後根神経節細胞のカルシトニン遺伝子関連ペプチドおよびサブスタンスPの発現に及ぼす影響を検討した。炎症細胞抑制作用を有する物質を皮下投与することにより、脊髄後根神経節におけるカルシトニン遺伝子関連ペプチドおよびサブスタンスmRNA発現が抑制される傾向が見られた。

(6) 炎症モデルにおける炎症抑制作用と骨破壊の関連：アジュバント炎症モデルにおい

て、骨周囲にTRAP陽性の破骨細胞が多数出現していた。しかし、(5)で用いた抗炎症作用を有する物質の皮下投与では、アジュバント炎症モデルで観察される破骨細胞の出現に対する有意な影響は確認できず、炎症性疼痛抑制と骨破壊の関連を評価するためのモデルの確立にはいたらなかった。

(7) 歯周靭帯細胞におけるカルシトニン遺伝子関連ペプチドおよびサブスタンスPの発現：炎症細胞が遊走する状態を想定し、マクロファージコロニー刺激因子を添加して、歯周靭帯細胞におけるサブスタンスPおよびカルシトニン遺伝子関連ペプチドのmRNAの発現を検討した。しかしながら、歯周靭帯細胞へのマクロファージコロニー刺激因子の添加の有無でサブスタンスPおよびカルシトニン遺伝子関連ペプチドの発現に一定の変化は認められなかった。

(8) 破骨細胞誘導に及ぼすF-spondinの影響：破骨細胞培養系を用いて破骨細胞誘導における歯周組織構成細胞由来因子の影響を検討するため、F-spondinを破骨細胞誘導培養系に添加した。その結果、破骨細胞の誘導が抑制される傾向が認められたものの、用いた濃度の範囲で有意な差は見られなかった。破骨細胞前駆細胞からの破骨細胞誘導・維持に関わるNFATc1、カテプシンK、TRAP、インテグリン αv および $\beta 3$ の発現に及ぼす影響を検討したが、添加群と非添加群で発現量に有意な差は認められなかった。

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0件)

[学会発表] (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡 広子 (OKA HIROKO)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科

・特任助教

研究者番号：60452588

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし