

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 11 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24792291

研究課題名(和文) アレルギーで誘導される矯正の歯の移動時の歯根吸収亢進メカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanisms of allergy-induced external root resorption during orthodontic tooth movement

研究代表者

村田 直久 (NAOHISA, MURATA)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：70614303

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：矯正歯科治療により生じる歯根吸収は、その機構が十分に解明されていない。そこで本研究では、アレルギー疾患が矯正の歯の移動時の歯根吸収を亢進させるという仮説を立て、その機構を明らかにすることを目的に動物実験を行った。ラットアレルギー疾患モデルを作製し、上顎第一臼歯(M1)に矯正力を負荷し、24時間後にM1周囲歯槽骨を採集し、タンパク質、RNAおよび脂質抽出を行い発現量を解析した。その結果、破骨細胞分化促進因子である炎症性サイトカイン(IL-1, IL-6)に加え、Th17細胞関連サイトカインや、アレルギー性炎症を亢進させる脂質メディエーターであるロイコトリエンB4および受容体の発現量が増加した。

研究成果の概要(英文)：Root resorption is one of the most popular iatrogenic problems during orthodontic tooth movement, while onset mechanisms and progression of root resorption has not been elucidated. In this study, we investigated the mechanisms of allergy-induced root resorption. We used Brown-Norway rats as allergy model, which are known as high IgE producers after sensitization by ovalbumin (OVA). After the sensitization, a stretched closed-coil spring as an orthodontic appliance was placed between the maxillary right first molar and the incisors moving the molar mesially. The expression levels of pro-inflammatory cytokines such as IL-1 and IL-6 and Th17 cytokines were increased in periodontal tissues of OVA-sensitized animals subjected to orthodontic movement, compared with non sensitized rats. Furthermore, the LTB4 level and the mRNA levels of the LTB4 receptors were also increased in OVA-sensitized animals subjected to orthodontic movement.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：歯根吸収 矯正の歯の移動 アレルギー ロイコトリエン 破骨細胞 骨吸収 脂質メディエーター  
骨代謝学

1. 研究開始当初の背景

(1) 矯正歯科治療に伴う歯根吸収は、歯の動揺による咬合力の低下をもたらし、将来の歯の喪失にもつながる。重度な場合には歯根の1/3から1/2が吸収することもあるため、歯根吸収は歯科矯正治療において克服すべき重要な課題であるにもかかわらず、その機構は未だ明らかになっておらず予防法も確立されていない。

(2) 1927年に、Ketchamが矯正治療に伴い歯根吸収が発症することがあることを報告して以降、歯根吸収には、矯正力の強さ、治療期間などの治療手技に伴うリスクだけでなく、遺伝的要因やホルモンバランスなどの患者の内在性のリスクファクターが呈示されてきた。2000年にDavidovitchが、喘息やアレルギーが矯正治療に関係している可能性について総説に初めて記述しているが、明確な科学的証拠は得られていない。

(3) 近年、喘息やアトピー性皮膚炎といったアレルギー疾患に罹患する患者は日本のみならず世界的に増加し、これらアレルギー疾患を持つ矯正歯科受診患者も増加している。これまでアレルギー疾患患者における歯科治療のリスクはほとんど注目されてこなかったが、申請者のグループでは、九州大学病院矯正歯科における歯根吸収を起こした患者のアレルギー既往と歯根吸収の関連性を検討し、喘息などのアレルギー疾患が歯根吸収を亢進するリスクファクターである可能性を明らかにした(Nishioka, et al. Angle Orthod. 2006)。

(4) ロイコトリエンなどの脂質メディエーターと骨代謝の関連性について、これまでほとんど報告がなかったが、LTB<sub>4</sub>が破骨細胞形成や骨吸収を促進するという報告(Garcia C, et al. J Bone Miner Res. 1996)や、BLT1やBLT2のノックアウトマウスが、卵巣摘出やリウマ

チに伴う骨吸収に抵抗性を示すという報告(Hikiji H, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2009; Mathis, et al. L Immunol. 2010)が最近次々となされ、脂質メディエーターと骨代謝との関連性を示す研究が注目されてきている。

引用文献

Ketcham, A. H (1927) A radiographic study of orthodontic tooth movement; a preliminary report, J. Amer. Dent. Ass., 14: 1577-1598.

Davidovitch Z, Lee XJ, Counts AL, Park YG (2000). The immune system possibly modulates orthodontic root resorption. In: Biological mechanisms of tooth movement and craniofacial adaptation. Davidovitch Z, Mah J, editors. Boston, MA: Harvard Society for the Advancement of Orthodontics, pp. 207-217.

Nishioka M, Ioi H, Nakata S, Nakasima A, Counts A (2006). Root resorption and immune system factors in the Japanese. Angle Orthod 76:103-108.

Garcia C, Boyce BF, Gilles J, Dallas M, Qiao M, Mundy GR, et al. (1996). Leukotriene B<sub>4</sub> stimulates osteoclastic bone resorption both in vitro and in vivo. J Bone Miner Res 11:1619-1627.

Hikiji H, Ishii S, Yokomizo T, Takato T, Shimizu T (2009). A distinctive role of the leukotriene B<sub>4</sub> receptor BLT1 in osteoclastic activity during bone loss. Proc Natl Acad Sci USA 106:21294-21299.

Mathis SP, Jala VR, Lee DM, Haribabu

B (2010) Nonredundant roles for leukotriene B<sub>4</sub> receptors BLT1 and BLT2 in inflammatory arthritis. J Immunol. 1;185(5):3049-56.

## 2. 研究の目的

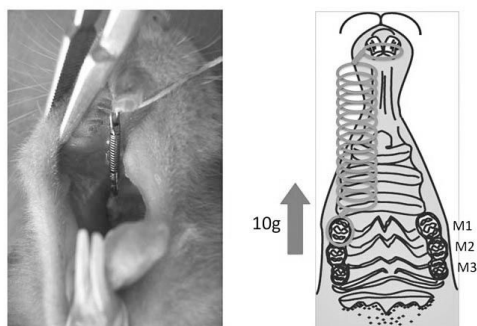
(1)我々は疫学調査や動物実験により、アレルギー疾患自体が歯根吸収のリスクを高める可能性を示唆する証拠を積み重ねてきているが、その原因究明は依然として不十分である。本研究では、ラットアレルギーモデルを用い、アレルギーで誘導される歯根吸収に関わる分子の網羅的検索を行い、その機構の分子レベルでの解明を目指す。

(2) (1)によりアレルギーで誘導される歯根吸収に関わると推定された分子について、歯の移動時の分子の局在について調べる。

## 3. 研究の方法

(1) 高IgE血症を示し喘息や食物アレルギーモデルとして知られているBrown Norway (BN)ラット(6週齢雄性)に2回の卵白アルブミン感作を行い、アレルギー疾患モデルを作製した。作製したアレルギーモデルラットに対して上顎切歯と第一臼歯(M1)間にニッケルチタン製コイルスプリングを装着して矯正力を負荷し、矯正的歯の移動を行った。矯正力負荷24時間後にM1周囲歯槽骨を採集し、RNA抽出を行い、採取したRNAに対してマイクロアレイ解析を行い、発現の変化する分子群を網羅的に解析する。

コイルスプリングによる歯の移動



(2) (1)のスクリーニングで注目したタンパクや脂質について、Real-time PCR法やELISA法、免疫組織学的解析によって、歯の移動局所における発現動態を解析する。

## 4. 研究成果

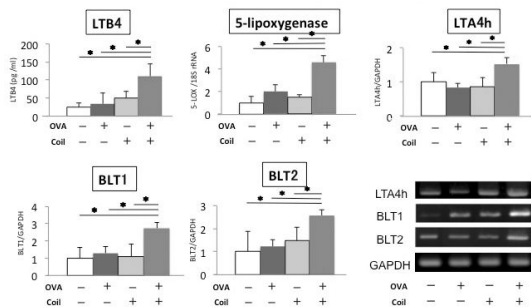
BNラットをアレルギーおよび上顎第一臼歯(M1)への24時間の矯正力負荷群、アレルギー群、矯正力負荷のみの群、無処置群の4群に分けて実験を行い、M1の歯周組織のRNA解析および組織解析を行った。

実験動物のグループ分け

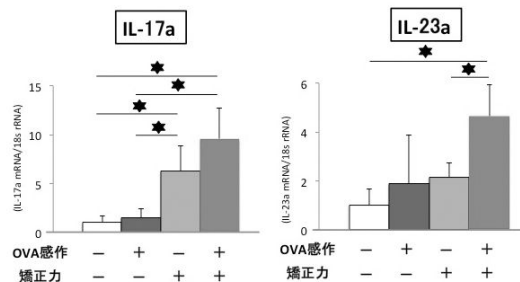
アレルギー群 (OVA group)	2度の卵白アルブミン(OVA)感作を行った群 (アレルギー疾患モデル)
矯正装置群 (OF group)	コイルスプリングによる歯の移動を行った群
アレルギー+矯正装置群 (OVA with OF group)	2度の卵白アルブミン感作後に歯の移動を行った群
対照群 (Control group)	無処置群

まず、DNAマイクロアレイによるRNAの網羅的発現解析を行った結果、アレルギーおよび矯正力負荷群では他の群と比較して、RANKL、IL-1、TNF、Th17細胞関連サイトカイン(IL-17a、IL-23a)およびプロスタグランジン、ケモカインの発現が上昇していた。さらに、炎症性脂質メディエーターであるロイコトリエン(LT)群の発現が上昇していた。

さらにRNAサンプルによるReal-time PCR解析やconventional PCR解析を行った結果、炎症性サイトカインであるIL-1やIL-6とともに、LTB<sub>4</sub>関連因子(5-lipoxygenase, LTA<sub>4</sub>h)やLTB<sub>4</sub>受容体であるBLT1やBLT2 mRNAの発現が、アレルギーおよび矯正力負荷群において他の群と比較して上昇していることが確認された。併せてELISA法にてLTB<sub>4</sub>の局所における発現量を調べたところ、アレルギーおよび矯正力負荷群では他の群と比較して発現量の増加が認められた。また、IL-17aやIL-23a mRNAの発現も上昇しており、Th17細胞との関連性が示唆された。



\*p < 0.05 by one-way ANOVA with Tukey's multiple-comparison test (n = 4 animals per group)



\*p < 0.05 by one-way ANOVA with Tukey's multiple-comparison test (n = 6 animals per group)

歯の移動局所における発現動態を調べるため、免疫組織染色も行った。LT合成酵素である5-lipoxygenaseおよびLTB<sub>4</sub>受容体であるBLT1が矯正力負荷により圧迫された歯根膜に集積して発現していることが示唆された。

## 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1件)

Murata N, Ioi H, Ouchi M, Takao T, Oida H, Aijima R, Yamaza T, Kido MA. Effect of allergen sensitization on external root resorption. J Dent Res. 2013 Jul;92(7):641-647. doi: 10.1177/0022034513488787

[学会発表](計2件)

村田 直久、五百井 秀樹、大内 雅博、合島 怜央奈、山座 孝義、高橋 一郎、城戸 瑞穂「矯正的歯の移動時におけるアレルギー誘導性歯根吸収促進機構」第55回歯科基礎医学会学術大会 2013/9/20 岡山コンベンショ

ンセンター(岡山県岡山市)

村田 直久、五百井 秀樹、大内 雅博、合島 怜央奈、山座 孝義、高橋 一郎、城戸 瑞穂「矯正的歯の移動時におけるアレルギー誘導性歯根吸収促進メカニズムの解明」第73回日本矯正歯科学会大会 2014/10/20 幕張メッセ(千葉県千葉市)

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

村田 直久(MURATA NAOHISA)  
九州大学・大学病院・医員  
研究者番号: 70614303