

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 27 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861782

研究課題名(和文)小胞体ストレス応答のメカニズムの解明

研究課題名(英文)Understanding of ER stress response in tooth movement.

研究代表者

磯貝 由佳子 (ISOGAI, yukako)

大阪大学・歯学部附属病院・助教

研究者番号：20724743

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、矯正力によって圧迫される歯周組織に低酸素状態が惹起され、小胞体ストレスと小胞体ストレス応答が生じるかを検討した。その結果、歯槽骨中で、低酸素マーカーであるピモニダゾールが示す低酸素状態となる組織部位を特定した。さらに、小胞体ストレスマーカーであるXbp1およびChopのmRNAの発現をin situ hybridizationによって確認した。さらに詳細な解析が進めば、これまで明らかにされていない歯の移動における小胞体ストレスのメカニズムが解明されることが期待され、矯正治療のリスクとされている歯根吸収や歯槽骨レベルの低下等の解決の糸口となる基盤的所見が得られることが期待される。

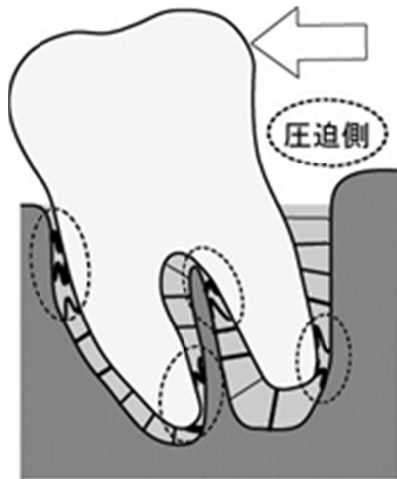
研究成果の概要(英文)：The aims of the present study were to evaluate if the hypoxia is induced at the pressured periodontal ligament in response to experimental tooth movement, and if ER stress and the subsequent stress response appears associated with hypoxia. Hypoxic area was determined by pimonidazole staining. ER stress was evaluated by the distribution of Xbp1 and Chop mRNA. We found that pimonidazole staining was specifically evident at the bone-forming regions and the pressured periodontal ligaments. We also found that Xbp1, Chop and ATF4 mRNA expression was specifically detected in osteoblasts and PDL cells in the pressured side. Further evaluation would clarify the close association between the hypoxia and the ER stress during bone formation and during orthodontic tooth movement. Understanding such cellular and molecular mechanism of ER stress in orthodontic tooth movement could contribute a lot to minimize the unwanted and/or iatrogenic response during orthodontic treatment.

研究分野：歯科矯正学

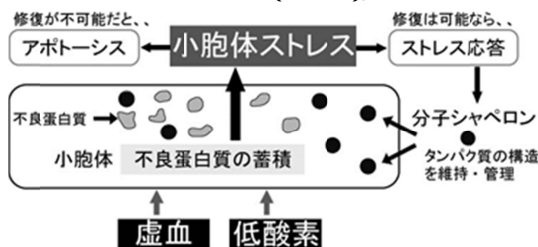
キーワード：ERストレス 低酸素

1. 研究開始当初の背景

歯に矯正力が加わると歯根膜は圧迫され虚血状態を経て硝子様変性が生じる(下図)。矯正力は一時的に歯周組織に障害を与えるにもかかわらず、その細胞・分子機構や、障害に対する細胞の生体防御反応について、十分検討されてこなかった。



細胞に虚血、酸化ストレス、感染などの様々な異常環境が曝露されると、不良タンパク質が小胞体に蓄積し、細胞へダメージが加わる(小胞体ストレス)。同時に、細胞は障害を回避し、異常タンパク質の修復や分解を行うシステムを積極的に駆動させ、細胞傷害から身を守り、恒常性を維持する(小胞体ストレス応答)。これが破綻すると、癌、糖尿病などの代謝性疾患、神経変性疾患、動脈硬化性疾患が誘導されることも報告されている。しかしながら、矯正力が小胞体ストレスを引き起こすのか、また、小胞体ストレス応答が生じるかどうかは検討されることがなかった(下図)。



そこで、低酸素状態を惹起すると考えられる、矯正力による歯根膜細胞への圧迫とその後の虚血状態によって、歯根膜および周辺歯槽骨において、時間的・空間的に

のような局在で小胞体ストレスと小胞体ストレス応答が生じるのかを検討しようという着想にいたった。

2. 研究の目的

圧迫側において、組織の変性が見られる領域とその周辺において、ER ストレス応答のマーカ分子の発現動態を観察することで、歯の移動による歯根膜の圧迫は低酸素などの刺激を介して、小胞体ストレス応答が歯根膜や歯槽骨の生じることを明らかにする。

低酸素プローブを用いて、実験的歯の移動による歯根膜の圧迫が組織の低酸素状態を惹起するか明らかにする。また、低酸素状態の組織が時間的・空間的にどのように出現するのかを明らかにする。

3. 研究の方法

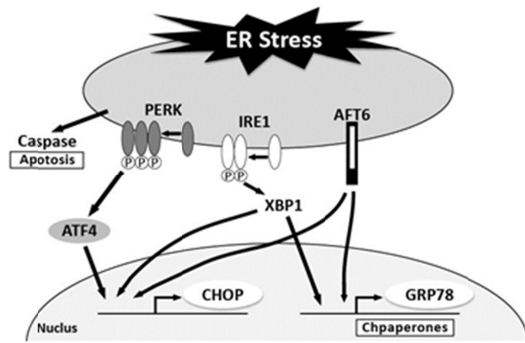
本研究では、矯正力の付加によって圧迫された歯根膜や骨組織において、小胞体ストレス応答が生じるかどうかを検討する。

・低酸素部位の特定

低酸素マーカーとしてピモニダゾールを用いる。組織の低酸素領域は、ピモニダゾールを特異的に認識する抗体を用いて認識する。歯根膜の圧迫が生じている部位に低酸素領域が出現すると予想されるため、そのような部位の連続組織切片を用意する。

・ER ストレス応答のマーカ分子の mRNA 発現動態の観察

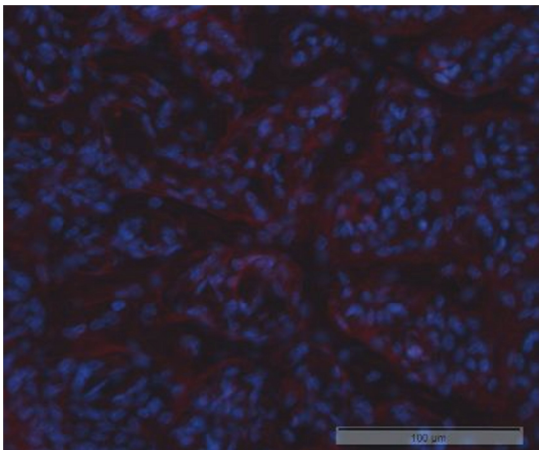
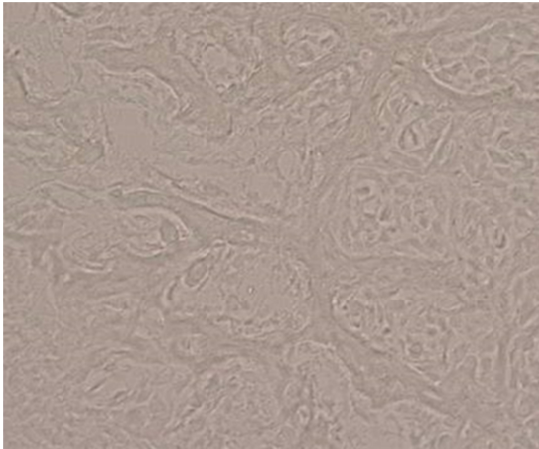
小胞体(ER)ストレスマーカーである Xbp1, Chop, ATF4 の mRNA の発現レベルを in situ hybridization で観察する(下図)。



4. 研究成果

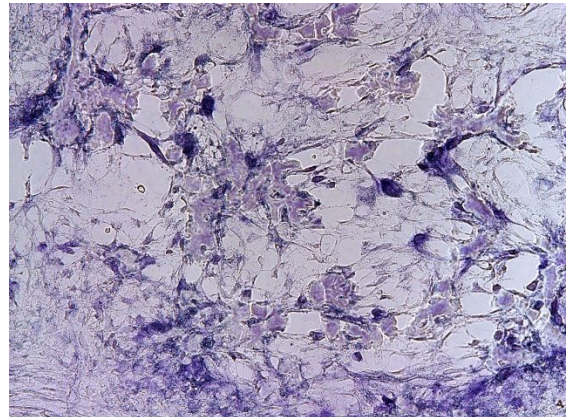
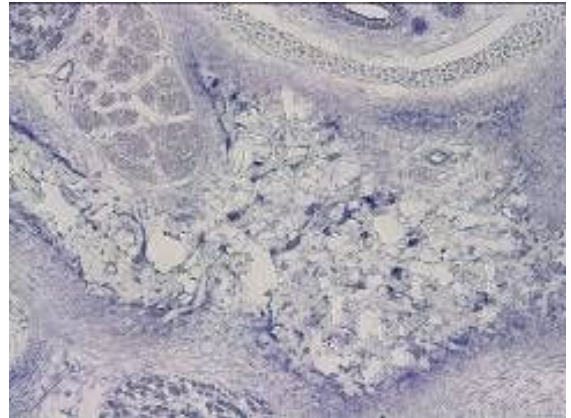
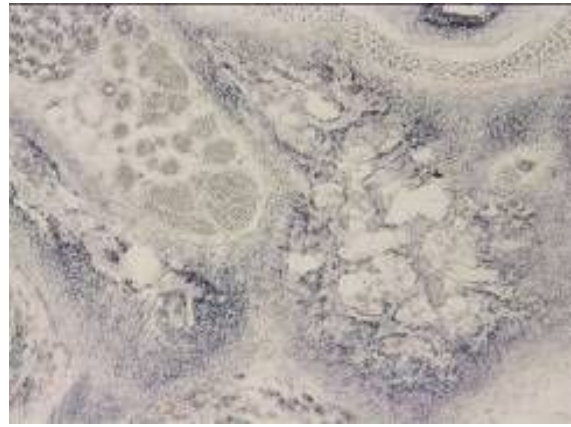
・低酸素部位の特定

骨の添加部位において、低酸素部位が生じることを明らかにした(下図;上、明視野;下、赤色、ピモニダゾール、青、ヘキスト)。



・ER ストレス応答のマーカ分子の mRNA 発現動態

骨の添加部位において、*Xbp1* mRNA および *CHOP* mRNA が発現することを明らかにした(下図;上、*Xbp1* mRNA;中、*Chop* mRNA、下、*ATF4* mRNA)。



さらに、この結果を踏まえて、詳細な解析を進めることによりこれまで明らかにされていない歯の移動における小胞体ストレスのメカニズムが解明されることで、矯正治療のリスクとされている歯根吸収や歯槽骨レベルの低下等に対する問題の解決の糸口となる基盤的所見が得られることが期待される。

5. 主な発表論文等 現在作成中

〔産業財産権〕
出願状況

なし
取得状況
なし

〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

磯貝 由佳子 (ISOGAI, Yuka)
大阪大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号：20724743