

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：32665

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06648

研究課題名(和文) 矯正治療中に生じる歯根吸収のNotchシグナルとWntシグナルの関連性

研究課題名(英文) Relationship between Notch signaling and Wnt signaling of root resorption occurring during orthodontic treatment

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) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：In vivoにおいて強い矯正力を負荷してから7日目で圧迫側歯根膜にJagged1陽性細胞の発現を認めた。また至適矯正力を付加してから7日目で圧迫側歯根膜にWnt5a陽性細胞の発現を認めた。In vitroにおいては1 gのcompression forceを加えた群(1 g群)ではWnt5aの遺伝子発現が4 gのcompression forceを加えた群(4 g群)ではJagged1の遺伝子発現が増加した。以上のことから強い矯正力を負荷した際はNotchシグナル関連遺伝子が、至適矯正力を負荷した際はWntシグナル関連遺伝子が多く発現することが示唆された。

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 for 7 days. In the 10g group, immunoreactivity for Wnt5a was detected in the PDL tissue subjected to the orthodontic force on the 7 days. In contrast, in the 50g group, Jagged1-positive cells were observed in the PDL tissues. In vitro study, the expression of wnt5a mRNA in the CF (1g) group was significantly increased compared with the control group. In the CF (4 g) group, the expression of Jagged1 mRNA was significantly increased compared with the control group. The result this study suggest that excessive orthodontic force induces Notch signaling, in contrast, optimum orthodontic force induces Wnt signaling.

研究分野：歯科矯正学

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

## 1. 研究開始当初の背景

歯科矯正学的歯の移動中に生じる歯根吸収は偶発症のひとつである。過去の研究では、矯正治療を受けたことのある人ほとんど全ての歯根にある程度の短小化が認められ、歯根長の1/4を超える重度の歯根吸収は上顎中切歯では全体の3%に認められると報告されている。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1つであることが示唆されている。当講座では、歯根吸収発生のメカニズムの解明をメインテーマとして研究してきており、今までに以下のことを報告した。

(1) ヒト歯根膜線維芽細胞 (HPDL cells) に持続的圧迫力 (compression force) を与えると RANKL 産生が増加することを明らかにした。Nishijima et al. *Orthod Craniofac Res*, 2006.

(2) ラットに過度の矯正力を加えて歯根吸収を惹起させた時に、破骨細胞、破歯細胞、歯根膜線維芽細胞に RANKL の発現を認めることを明らかにした。Nakano et al. *Eur J Orthod*, 2010.

(3) 過度な矯正力により T helper 17 cell (Th17 細胞) から interleukin (IL) -17 が産生され、IL-6 を介して破骨/破歯細胞の分化・活性を促進することで、歯根吸収を惹起することを明らかにした。Hayashi et al. *Oral Dis*, 2011.

(4) 強い矯正力を作用させた hPDL cells において、Jagged1 と Notch2 の Notch シグナルを介して RANKL と IL-6 が誘導され、破歯細胞分化を促進することにより歯根吸収を惹起させることを明らかにした。Kikuta et al. *J Dent Res*, 2014.

以上のことより、歯根吸収の発生には歯根膜における RANKL や IL-6 等の炎症性サイトカインの発現が関与しており、Notch シグナル伝達ที่それらのサイトカインの発現を制御していることを明らかにした。

## 2. 研究の目的

本研究では、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 Notch シグナルと Wnt シグナルに焦点を当て、歯根吸収時の歯根膜線維芽細胞と破骨前駆細胞における Notch とそのリガンドである Jagged1、Wnt とそのリガンドである Ror2 発現について、細胞生物学的、病理組織学的に検討する。*In vivo* においては、ラットを用いた実験的歯根吸収モデルにて吸収部位の Jagged1 及び Wnt5a 陽性細胞の発現を観察する。*In vitro* では、歯根膜線維芽細胞に圧迫刺激を加え、Jagged1 と Wnt5a 遺伝子の発現を観察し、歯根吸収発生機構の解明を行う。

## 3. 研究の方法

平成 27 年度：

(1) *In vivo* でラットの上顎第一大臼歯を 10

g (至適矯正力) と 50 g (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 シグナル伝達関連因子の発現の検討を行う。平成 28 年度：

(1) *In vitro* において、培養した hPDL cells に矯正力として 1 g (至適矯正力) と 4 g (強い矯正力) の compression force を加え PCR 法にて Notch シグナル伝達、Wnt シグナル伝達関連因子である Jagged1、Wnt5a の遺伝子発現を検討する。

## 4. 研究成果

*In vivo* において、ラットの歯牙移動 7 日目の HE 染色にて 10 g 群と比較して 50 g 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 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 陽性細胞の発現が認められた。*In vitro* においては、コントロール群と比較して、1 g の compression force を加えた群 (1 g 群) では Wnt5a の遺伝子発現が 6 時間で発現が増加し 12 時間でピークに達した。4 g の compression force を加えた群 (4 g 群) では Jagged1 の遺伝子発現が 1 時間で発現が増加し 6 時間でピークに達した。

以上の結果から、*In vivo* では 7 日目で、強い矯正力を加えた群で多核の TRAP 陽性の破歯細胞が生じ歯根吸収が惹起され、その圧迫側歯根膜部には Jagged1 が発現し、Notch シグナル伝達による炎症性サイトカインの誘導が認められた。一方、至適矯正力を加えた群では多核の TRAP 陽性の破骨細胞が生じ骨吸収が惹起され、その圧迫側歯根膜部には Wnt5a が発現し、Wnt シグナル伝達による炎症性サイトカインの誘導が認められた。また、*in vitro* でも矯正力を負荷した hPDL cells で Notch シグナル、Wnt シグナルの発現が生じ、4 g 群では Jagged1 が、1 g 群では Wnt5a の発現が増加した。

これらのことから強い矯正力を負荷した際は Notch シグナル関連遺伝子が、至適矯正力を負荷した際は Wnt シグナル関連遺伝子が多く発現することが示唆された。

また、強い矯正力を負荷した群では歯根吸収が多く認められ、さらに歯根膜細胞での Notch シグナル発現も増加していたことから歯根吸収と Notch シグナルには関連性があると考えられる。同様に至適矯正力を負荷した群では骨吸収が認められ、さらに歯根膜細胞での Wnt シグナル発現も増加していたことから骨吸収と Wnt シグナルには関連性があると考えられる。今後は矯正治療中の歯根吸収の発生におけるシグナル伝達経路について Wnt、Notch 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および抑制メカニズムを各シグナルの阻害実験等で詳しく検討する予定である。

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7件)

石川 友子、山口 大、疋田 拓史、菊田 純、清水 真美、高橋 桃子、村上嘉規、葛西 一貴. ラットの実験的歯の移動においてジグリングはIL-17を介して歯根吸収を重篤化する。日大口腔科学、印刷中(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. International Journal of Oral-Medical Sciences 2017, in press. (査読あり)

Yao-Umezawa E, Yamaguchi M, Shimizu M, Kikuta J, Suzuki K, Kasai K. An energy dispersive x-ray microanalysis study in root apex of human cementum. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2017, in press. (査読あり)

Yamaguchi M, Yao-Umezawa E, Tanimoto Y, Shimizu M, Kikuta J, Hikida T, Takahashi-Hikida M, Horihata S, Suzuki K, Kasai K. Individual Variations in the Hardness and Elastic Modulus of the Human Cementum. Journal of Hard Tissue Biology Vol. 25(2016) No. 4. p.345-350, <http://doi.org/10.2485/jh.tb.25.345> (査読あり)

Tanaka K, Yamaguchi M, Hikida T, Yoshino T, Kikuta J, Shimizu M, Takahashi M, Kasai K. Jiggling force aggravates orthodontic root resorption via TNF- during rat experimental tooth movement. International Journal of

Oral-Medical Sciences, 14(4):82-90, 2016. <http://doi.org/10.5466/ijoms.14.82> (査読あり)

Hikida T, Yamaguchi M, Shimizu M, Kikuta J, Yoshino T, Kasai K. Comparison of orthodontic root resorption under heavy and jiggling forces during experimental tooth movement. Korean J Orthod. 46(4):228-241, 2016. doi: 10.4041/kjod.2016.46.4.228. Epub 2016 (査読あり)

Ohashi M, Yamaguchi M, Hikida T, Kikuta J, Shimizu M, Goseki T, Kasai K. Jiggling Force Induces Orthodontic Root Resorption during Tooth Movement in Rats. International Journal of Oral-Medical Sciences, 14(1):13-20, 2015. <http://doi.org/10.5466/ijoms.14.13> (査読あり)

[学会発表](計9件)

Kikuta J, Yamaguchi M, Shimizu M, Hikida T, Hikida M, Iwane T, Kasai K, Notch signaling aggravates root resorption by suppressing Wnt signaling. 95th General Session & Exhibition of the IADR, San Francisco, Calif, USA, Mar22-25, 2017.

Saito H, Yamaguchi M, Shimizu M, Kikuta J, Murakami Y, Kasai K, Compression Force Induces Wnt Signaling in Periodontal Ligament Cells. 95th General Session & Exhibition of the IADR, San Francisco, Calif., USA, Mar22-25, 2017.

Hikida T, Yamaguchi M, Shimizu M, Kikuta J, Hikida M, Kasai K, Jiggling force aggregates root resorption via production of inflammatory cytokines. 95th General Session & Exhibition of

the IADR, San Franciaco, Calif., USA, Mar22-25, 2017.

斉藤 瞳、山口 大、菊田 純、疋田 拓史、高橋 桃子、清水 真美、村上 嘉規、吉野 智一、葛西 一貴、持続的圧迫力がヒト歯根膜線維芽細胞のWnt5a発現に及ぼす影響について、第75回日本矯正歯科学会大会、2016年11月7日~9日、アスティとくしま(徳島県徳島市)

湊 友香里、山口 大、清水真美、菊田 純、高橋 桃子、吉野 智一、葛西 一貴、歯の移動による歯根吸収とセメント細胞のアポトーシスの関与、第75回日本矯正歯科学会大会、2016年11月7日~9日、アスティとくしま(徳島県徳島市)

杉森 匡、山口 大、清水 真美、菊田 純、疋田 拓史、高橋 桃子、村上 嘉規、吉野 智一、葛西 一貴、歯の移動速度は皮質骨切除術により歯根膜細胞周期の活性化を介して促進する、第75回日本矯正歯科学会大会、2016年11月7日~9日、アスティとくしま(徳島県徳島市)

Hikida T, Yamaguchi M, Shimizu M, Kikuta J, Yoshino T, Takahashi M, Kasai K, Light jigging force aggregates orthodontic root resorption via production of inflammatory cytokines, 8th International Orthodontic Congress 2015, London, UK, Sep27-30, 2015.

Kikuta J, Yamaguchi M, Shimizu M, Yoshino T, Kasai K. The Notch signaling response to an excessive orthodontic force stimulates orthodontically-induced inflammatory root resorption via RANKL and IL-6 production from hPDL cells, 8th International Orthodontic Congress

2015, London, UK, Sep27-30, 2015.

Yamaguchi M, Kikuta J, Shimizu M, Hikida T, Takahashi M, Kasai K, Low-energy laser irradiation accelerates the velocity of tooth movement via the expression of osteopontin in tension side, 8th International Orthodontic Congress 2015, London, UK, Sep27-30, 2015.

〔図書〕(計 0件)

なし

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

なし

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

なし

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

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

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし