

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21792060

研究課題名（和文） 歯科矯正力作用時の歯槽骨リモデリングにおける
セルサイクルファクターの機能解析研究課題名（英文） Functional analysis of the cell cycle factors in the
alveolar bone remodeling by the orthodontic force

研究代表者

大久保 和美 (OHKUBO KAZUMI)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10396715

研究成果の概要（和文）：

セルサイクルファクターは、骨形成・骨吸収の両方で重要な機能を果たしていることが報告されている。しかしながら、矯正力が作用した際の骨のリモデリングに対する、セルサイクルファクターの関与については、ほとんど報告例がなかった。そこで、本研究では歯科矯正力が作用した部位に存在する骨芽細胞・破骨細胞内でのセルサイクルファクターの発現変動パターンの検討、ならびにそれらを利用した新規歯科矯正治療技術開発のための基礎的検討を行うことを目的とした。まず、安定した歯の移動が実現出来る歯の移動実験モデル確立を目指した。続いて、DNA マイクロアレイによって、骨芽細胞分化が亢進している条件で発現変動しているセルサイクルファクターを網羅的に解析し、これまでに骨形成と関連があると思われていなかった複数の転写因子の発現レベルが変動していること、ならびにサイクリン B1、サイクリン E1、p21 の発現上昇ならびに p57 の発現低下を発見した。

研究成果の概要（英文）：

It has been reported that cell cycle factors play important roles in both bone generation and bone resorption. The aim of this study was (1) to investigate the change of expression patterns of cell cycle factors in osteoblasts and osteoclasts in alveolar bone, where orthodontic force was applied and (2) to develop a new orthodontic treatment method by regulating cell cycle factors. First, an experimental model of tooth movement by orthodontic force was established. Second, I tried to investigate change of gene expression patterns of cell cycle factors in osteoblasts stimulated by orthodontic force. For this purpose, DNA micro array was performed to analyze cell cycle factors of which expression changed when osteoblast differentiation was promoted. Consequently, the expression levels of some transcription factors changed, whose role in osteogenesis had not been reported before. In addition, it was revealed that expressions of cyclin B1, cyclin E1 and p21 increased, and that of p57 decreased.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：歯科矯正学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：歯科矯正、セルサイクル

1. 研究開始当初の背景

歯科矯正治療は、(1) 圧迫側における破骨細胞による骨吸収、(2) 牽引側における骨芽細胞による骨形成、この両者のバランスを制御することで成立している。したがって、これらの制御メカニズムを解明することは、歯科矯正学の究極目標である、安全で効率良い歯の移動を実現する一助となる。ところで、骨吸収を担う破骨細胞と骨形成を担う骨芽細胞の分化あるいは、その機能制御機構を説明しうる候補因子のひとつとして、セルサイクルファクターが想定される。細胞は、細胞周期 (Cell cycle) という一定の規則 (G1、S、G2、M の順) に従って分裂・増殖する。この細胞周期はセルサイクルファクターであるサイクリン、サイクリン依存性キナーゼ (cyclin-dependent kinase; Cdk)、およびサイクリン依存性キナーゼ阻害因子 (CKI) といった3種類の分子によって調節されている。各分子の機能としては、サイクリンとCdkは複合体を形成することでキナーゼ活性を有し細胞周期を進行させるのに対し、CKIはその活性を阻害し細胞周期の進行を止める働きを持っている。また、細胞周期の進行は同一細胞の単なる複製を意味し、細胞が分化などの新たな性質を獲得するためには、細胞周期が一度G1期で停止 (G1 arrest) しなければならないため、細胞周期のG1期は、細胞が増殖を繰り返すか、分化やアポトーシスなどの新たな形質を獲得するかを最終決定を行う場であると位置付けられている。これらの事実から、G1期に機能するセルサイクルファクターは細胞増殖のみならず、細胞分化の制御にも重要な役割を果たしていると考えられる。事実、これまでも、サイクリン依存性キナーゼ6 (Cdk6) が骨芽細胞および破骨細胞分化を阻害することや、サイクリン依存性キナーゼ阻害因子であるp21やp27の骨系細胞分化への関与が指摘されている。このように、セルサイクルファクターが骨吸収ならびに骨形成を制御していることを示唆する知見が、次々に報告されており、そのメカニズムの解明は、骨吸収と骨形成を利用する歯科矯正学の発展に大きく貢献する可能性が高い。しかしながら、矯正力が作用した際の骨のリモデリングに対する、セルサイ

クルファクターの関与については、ほとんど報告例がなかった。そのため、歯科矯正力が作用した部位での骨芽細胞・破骨細胞におけるG1期で機能するセルサイクルファクターの発現変動パターンの検討、ならびにそれらを利用した新規歯科矯正治療法開発のための基礎的検討を行うことは有意義であると思われた。

2. 研究の目的

歯科矯正力が作用した場合、歯の周囲の微小環境に引き起こされる現象としては、(1) 圧迫側における破骨細胞前駆細胞から破骨細胞への分化促進 (あるいは成熟破骨細胞の機能亢進) による骨吸収、(2) 牽引側における骨芽細胞分化能促進による骨形成、が絶妙のバランスで同時に起こっており、上記(1)、(2)のどちらにおいても細胞分化が重要な鍵を握っている。ところで、細胞分化では、細胞周期がきわめて重要な働きを担っているが、その細胞周期の研究は、主として酵母を対象に、分子レベルの解明が進んでおり、その知見が続々と真核細胞の研究へと応用されている。間葉系細胞から骨系細胞への分化調節機構に関しては複数のセルサイクルファクターが、骨芽細胞ならびに破骨細胞の分化を制御していることが示されており、単一の分子が複数の細胞の分化を制御する可能性も示唆されている。これらの報告と矯正力による歯槽骨のリモデリング過程で、骨芽細胞・破骨細胞分化のバランスが重要であることを考え合わせると、セルサイクルファクターは、矯正力による骨のリモデリング過程において、骨吸収と骨形成を同時に制御している可能性がある。ところが、それを具体的に示した報告はほとんど皆無であり、矯正力による骨のリモデリング過程における、セルサイクルファクターの機能は全く解明されていないに等しかった。そこで、本研究では、歯科矯正力が作用した部位—作用点周囲の歯槽骨内という微小環境—に存在する骨芽細胞・破骨細胞内のセルサイクルファクターの発現変動パターンの検討、ならびにそれらを利用した新規歯科矯正治療技術開発のための基礎的検討を目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、歯の移動実験モデルの確立と歯の移動にともない周囲の微小環境が変化した場合に起こる遺伝子の発現変化を網羅的に検索した。歯の移動実験モデルとしては、(1) 生後 8 週齢のマウス上顎左側第一臼歯 (M1) と第二臼歯 (M2) 間に Waldo 法に準じてゴム片を挿入し、相反的な歯の移動を行なう (反対側にはゴム片は挿入せずコントロールとする) 方法、および、(2) 生後 8 週齢のマウス上顎切歯を固定源とし、クローズドコイルスプリングにより、M1 を近心に移動させる (反対側では矯正力を作用させずにコントロールとする) 方法の二種類を候補とし、両者における歯の移動度、実験の簡便さ等を比較検討した後に、応用すべき歯の移動モデルを選択した。また、矯正力 (分化誘導) の作用時間の選択に関しては、先行研究を参考に、細胞分化が起こると考えられている G1 期に機能するセルサイクルファクターの発現レベルに着目し、もっとも有力な情報を得られる可能性が高いと思われた 48 時間後にサンプルを回収し RNA を抽出、マイクロアレイに供した。

4. 研究成果

歯の移動実験モデルとしては、(1) 生後 8 週齢のマウス上顎左側第一臼歯 (M1) と第二臼歯 (M2) 間に Waldo 法に準じてゴム片を挿入し、相反的な歯の移動を行なう (反対側にはゴム片は挿入せずコントロールとする) 方法、および、(2) 生後 8 週齢のマウス上顎切歯を固定源とし、クローズドコイルスプリングにより、M1 を近心に移動させる (反対側では矯正力を作用させずにコントロールとする) 方法の二種類を候補として検討したが、両者における歯の移動度、実験の簡便さ等を比較検討した結果、(1) および (2) の両方ともに本実験に応用可能であることが分かった。そのため、基本的には、より歯科矯正治療に近いと思われる (2) を用いることとし、実験の種類によっては補助的に (1) を使用することとした。

歯科矯正力が働いている歯槽骨牽引側においては骨芽細胞分化能が亢進している。そのため、骨芽細胞分化が亢進している条件下で発現変動するセルサイクルファクターを網羅的に解析するために、DNA マイクロアレイを行った。その結果、サイクリン B1、サイクリン E1、p21 が発現上昇し、p57 が発現低

下していることを見出した。さらに、これまでに骨形成と関連があると思われていなかった複数の転写因子の発現レベルが変動しているという結果も得られた。

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 4 件)

1. Kazumi Okubo, Takafumi Susami, Yoshiyuki Mori, Kouhei Nagahama, Naoko Takahashi, Hideto Saijo, Tsuyoshi Takato. Treatment of ankylosed maxillary central incisors by single-tooth dento-osseous osteotomy and alveolar bone distraction. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010 Nov 10. [Epub ahead of print] (査読有)

2. Daichi Cikazu, Yuko Fujihara, Hisako Fujihara, Hideyuki Suenaga, Hideto Saiko, Kazumi Ohkubo, Toru Ogasawara, Yoshiyuki Mori, Mitsuyoshi Iino, Tsuyoshi Takato. Cyclooxygenase-2 activity is important in craniofacial fracture repair. J. Oral. Maxillofac. Surg. 2010 Nov 14. [Epub ahead of print] (査読有)

3. 大久保和美, 須佐美隆史, 森山啓司: 下顎枝矢状分割術を用いた外科的矯正治療を行った顔面非対称症例. 東京矯正歯科学会雑誌 20(1), 6-10, 2010. (査読有)

4. 大久保和美, 須佐美隆史, 高戸 毅: 歯ならびの異常、不正咬合 小児内科 Jpn J Pediatr Med Vol. 42 (6) 特集; 小児科医が知っておきたい境界領域疾患: 1013-1015, 2010 (査読無)

[学会発表] (計 4 件)

1. 大久保和美, 須佐美隆史, 長濱浩平, 市川直子, 上床喜和子, 森良之, 高戸毅: 顎矯正手術時の前歯歯軸傾斜 第 68 回日本矯正歯科学会総会・学術集会 平成 21 年 11 月 16-18 日 福岡

2. Kazumi OHKUBO, Takafumi SUSAMI, Kouhei NAGAHAMA, Natsuko UCHINO, Naoko ICHIKAWA, Masako MATSUZAKI, Yoshiyuki MORI, Tsuyoshi TAKATO. Occlusion after orthodontic treatment in patients with unilateral alveolar cleft. 11th International Congress on Cleft Lip and Palate and Related Craniofacial Anomalies 2009; SEPTEMBER 10-13, Fortaleza, Brazil

3. Takafumi SUSAMI, Yoshiyuki MORI,

Kazumi OHKUBO, Madoka SUGIYAMA, Kouhei NAGAHAMA, Naoko ICHIKAWA, Natsuko UCHINO, Tsuyoshi TAKATO. Orthognathic Surgery in the Management of Occlusion for Patients with Cleft Lip and Palate. 11th International Congress on Cleft Lip and Palate and Related Craniofacial Anomalies 2009; SEPTEMBER 10-13, Fortaleza, Brazil
4 . T. Susami, Y. Mori, K. Ohkubo, M. Sugiyama, K. Nagahama, N. Ichikawa, N. Uchino, T. Takato. Orthognathic Surgery in the Management of Occlusion for Patients with Cleft Lip and Palate. 11th International Congress on Cleft Lip and Palate and Related Craniofacial Anomalies 2009; SEPTEMBER 10-13, Fortaleza, Brazil

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

<http://www.h.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大久保 和美 (OHKUBO KAZUMI)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：10396715

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし