

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：17301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21045

研究課題名（和文）硝子様変性と歯根吸収におけるストレス性炎症因子cPLA2の役割

研究課題名（英文）Role of stress-induced inflammatory factor cPLA2 in hyaline degeneration and tooth root resorption

研究代表者

一瀬 悠依華 (ichinose, yuika)

長崎大学・医歯薬学総合研究科（歯学系）・客員研究員

研究者番号：80967589

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：矯正力負荷時の圧迫側の歯根膜組織は、血管が圧縮され血流の供給が減少することから低酸素環境になる。近年、歯根吸収発症の過程には、その低酸素環境に起因する硝子様変性（虚血性細胞死）と、破骨・破歯細胞の分化・活性化が深く関与していることが明らかになってきた。そこで、本研究では、cPLA2阻害剤を用いて、歯根吸収へのcPLA2の関与を検証した。cPLA2阻害剤投与により歯根吸収が抑制される傾向が認められ、cPLA2は歯根吸収の発症に関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯科矯正治療において、歯根吸収は最も頻繁に認められる副作用の一つであり、歯根吸収が甚だしい場合には抜歯に至ることもあるため、多くの歯科医師は、一刻も早い歯根吸収の予防法の確立を求めている。しかし、世界的にもその原因やメカニズムはほとんど解明されておらず、歯根吸収の予測法や、その予防法もないのが現状である。よって、本研究においてcPLA2阻害による歯根吸収への抑制効果が立証され、そのメカニズムの一端が解明されれば、歯根吸収の研究において大きな一歩となる。

研究成果の概要（英文）：When orthodontic force is applied, the periodontal ligament tissue on the compression side becomes a hypoxic environment because the blood vessels are compressed and the blood supply is reduced. Recently, it has become clear that hyaline degeneration (ischemic cell death) caused by the hypoxic environment and the differentiation and activation of osteoclasts and odontoclasts are deeply involved in the process of root resorption. Therefore, we used a cPLA2 inhibitor in this study to know whether cPLA2 is involved in root resorption. Administration of cPLA2 inhibitors tended to suppress root resorption, suggesting that cPLA2 is involved in the initiation of root resorption.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：歯根吸収 cPLA2

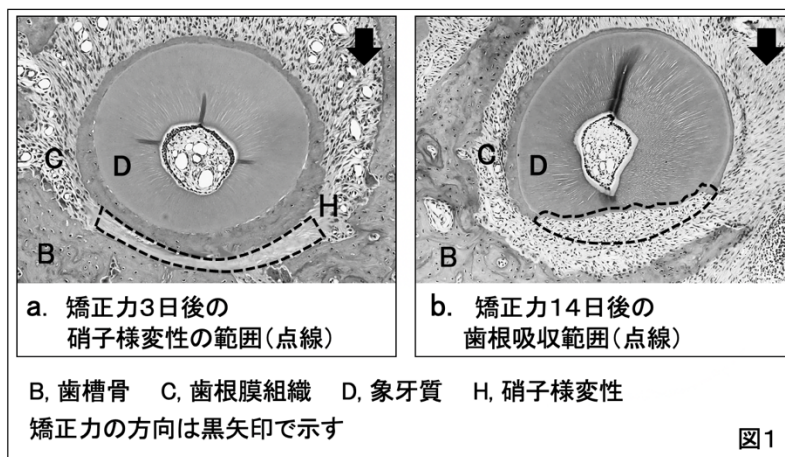
※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

矯正治療において、歯根吸収は最も頻繁に認められる副作用の一つである。一般に、歯根吸収は次の様な過程で進行すると言われている。(1) 血管が圧迫され血流の供給が減少することから、圧迫側の歯根膜組織が血行障害や低酸素環境になり、硝子様変性(虚血性細胞死)が出現する。その後、(2)それに近接した領域に炎症性サイトカインやマクロファージ細胞が出現し、

(3)破骨・破歯細胞により骨吸収や歯根吸収が起こる、という過程である。研究代表者は、ラットに矯正力を負荷する実験を行い硝子様変性と歯根吸収への関係を検討した。すると、硝子様変性(a

の点線部)の場所に一致して、歯根吸収(bの点線部)が起こっていた(図1)。このことは、硝子様変性(虚血性細胞死)が歯根吸収を誘導する因子である可能性を示しているが、その成因についての詳細は不明である。



cPLA2 は細胞膜のリン脂質代謝調節に関わり、特にリン脂質 sn-2 結合部位を選択的に加水分解して アラキドン酸を遊離する酵素としてよく知られている。しかしながら、近年、cPLA2 は直接的に細胞増殖や周囲環境からのストレス応答に深く関与していることが示され、cPLA2 は細胞外からの刺激に対して、アポトーシスを誘導する役割を担っている事が明らかになった(Pros. Natl. Acad. Sci. USA 97,11280-5, 2000)。また、cPLA2 欠損マウスを用いた研究により、化学発がん剤を投与した時、cPLA2 欠損マウスでは正常マウスと比較して発がん性が増強していること、さらに、がん病巣においてアポトーシスが顕著に減少していることが報告されている(Cancer Res.65, 2636-2643,2005)。これらの結果は、cPLA2 が一種のアポトーシス促進蛋白(proapoptotic protein)である可能性を示唆している。さらに、cPLA2 の細胞死への関与は、脳虚血病巣においても確認されている。一過性の脳虚血を起こさせた cPLA2 欠損マウスは正常マウスと比較して、脳虚血により引き起こされる脳梗塞領域が有意に減少しているため、cPLA2 は脳虚血による細胞死を助長する働きをしていると結論されている(Nature, 390, 622-5; 1997)。

cPLA2 の破骨細胞の分化・活性化における役割についてはこれまで相反する結果が報告されている。cPLA2 欠損マウスでは、骨吸収の強い促進作用を持つ Prostaglandin E (PGE)2 が骨芽細胞からほとんど産生されなくなり、骨髄細胞からの破骨細胞形成が認められないという報告 [A] (J Exp Med 197:1303-1310; 2003)があ

る一方で、cPLA2 阻害剤を用いた実験では cPLA2 の抑制は破骨細胞の形成を促進するという報告 [B] (PLEFA 90:117-123;2014) がある。このように相反する結果がみられる大きな要因は、これらの研究がごく特殊な条件下での実験であったことが大きいと思われる。例えば、[A] の論文は薬剤により誘発された炎症反応環境下であること、[B] の論文は阻害剤のみを用いた *in vitro* での研究であったことがあげられる。したがって、現時点では、*in vivo* における破骨細胞の分化と活性化における cPLA2 の役割についてはまだ結論に達していないといえる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、矯正力による歯根吸収への cPLA2 の関与を硝子様変性（虚血性細胞死）と破骨、破歯細胞の分化・活性化機構の両面から検討し、cPLA2 阻害による歯根吸収抑制の立証とそのメカニズム解明に迫ることである。

本研究は、矯正治療における副作用である歯根吸収に対して、cPLA2 の制御という新しい観点から取り組むことが特色である。さらに、cPLA2 阻害剤を使用し、虚血性細胞死の抑制と破骨・破歯細胞の不活性化という異なる 2 つの働きを検討し、cPLA2 の作用を多角的に評価するところが独創的な点である。

3. 研究の方法

(1)実験 1、cPLA2 の硝子様変性帯での発現を中心に検討する。同時に、細胞死、骨の変化および歯根吸収の発症を観察する。

Wistar 系ラット雌（10 週齢）を用い、上顎第 1 臼歯-切歯間に矯正装置（クローズドコイルスプリング）を装着し、上顎第 1 臼歯を近心に牽引する。牽引後経時的に、マイクロ CT 撮影、組織染色、骨組織の動態検出、および歯根標本の走査型顕微鏡撮影を行う。詳細は以下の通りである。

マイクロ CT—小動物用 CT にて撮影し、歯牙の動きや周囲骨の骨形態計測を行う。
組織染色—組織標本を作製し、HE 染色（硝子様変性の同定）、TUNEL 染色（細胞死判定）、および、免疫染色（cPLA2 発現判定）を行う。

骨組織の動態検出—アルカリフォスファターゼ染色（骨芽・セメント芽細胞の動態検出）、TRAP（酒石酸耐性酸性フォスファターゼ）染色（破骨・破歯細胞の動態検出）を行う。

走査型顕微鏡—歯根を摘出し、走査型電子顕微鏡（SEM）にて歯根吸収面積を、走査型レーザー顕微鏡（SLM）にて歯根吸収深さを測定する。両者を乗じて歯根吸収体積を求める。

(2)実験 2、cPLA2 阻害剤をラットに投与し、cPLA2 阻害剤の効果を解析する。

実験 1 と同様の方法を用いて比較検討する。cPLA2 阻害剤の濃度と投与時期を変化させて腹腔内注射を行う。阻害剤は、FTY720 (Merck 社)を使用した。

4. 研究成果

(1)Wistar系ラット(10週齢雄)を用い、上顎第1臼歯-切歯間に矯正装置(クローズドコイルスプリング)を装着し、上顎第1臼歯を近心に牽引した。牽引後経時的に、マイクロCT撮影を行った。また、組織標本を作製し、HE染色、TRAP染色およびTUNEL染色を行った。牽引後に、歯根標本の走査型顕微鏡撮影を行った。

以下の結果が分かった。

- ①歯の移動と歯槽骨の減少が観察された。
- ②歯根吸収の発症が認められた。
- ③硝子様変性は矯正力が強く作用する歯根膜の圧迫部位でおこっていた。
- ④TUNEL陽性細胞は歯根膜の圧迫部位に認められた。
- ⑤TRAP陽性細胞は歯根吸収部位で顕著に認められた。

(2)上記の確立された実験系で、cPLA2 阻害剤 FTY720 (Merck 社) をラットに腹腔内投与し、cPLA2 阻害の効果を検討した。

以下の結果が分かった。

- ①TRAP染色において破骨・破歯細胞の出現を評価したところ、FTY720投与により減少傾向が見られた。
- ②歯根吸収量を測定したところ、FTY720投与により抑制傾向が認められた。
- ③硝子様変性や歯根膜細胞死についてはまだ研究中である。

これらの結果から、cPLA2 inhibitorであるFTY720は歯根吸収の発症を抑制する可能性が示唆された。今後は、硝子様変性や歯根膜細胞死における研究を進め、FTY720の歯根吸収におけるメカニズムをさらに探求する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中村 琢也、佛坂 斉祉、佛坂 由可、一瀬 悠依華、西岡 紀栄、名城 由香子、吉田 教明
2. 発表標題 歯根膜腔の狭小化と歯根吸収の関連性
3. 学会等名 第18回九州矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 一瀬 悠依華、佛坂 斉祉、宮崎 敏博、森石 武史、佛坂 由可、有蘭 ケイラ、中村 琢也、吉田 教明
2. 発表標題 矯正力による歯根吸収のリチウムによる抑制と硝子様変性(虚血性細胞死)との因果関係
3. 学会等名 第81回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 名城 友香子、佛坂 斉祉、佛坂 由可、井野-近藤 愛理、森田 幸子、中村 琢也、一瀬 悠依華、西岡-坂本 紀栄、舟木 真梨子、吉田 教明
2. 発表標題 矯正力による歯根吸収発症における炎症性因子12／15－LOXの関与
3. 学会等名 第18回九州矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中村 琢也、佛坂 斉祉、佛坂 由可、一瀬 悠依華、坂本 紀栄、黒濱 武士、近藤 愛理、吉田 教明
2. 発表標題 ラット歯根膜の矯正力負荷初期段階における狭小化が歯根吸収に及ぼす影響
3. 学会等名 第82回 日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 舟木，土肥真梨子，佛坂斉祉，佛坂由可，一瀬悠依華，坂本紀栄，名城，親川友香子，森田幸子，中村琢也，井内陽介，大濱瑞貴，近藤愛理，黒濱武士，吉田教明
2. 発表標題 リチウム短期投与の矯正力による歯根吸収抑制効果
3. 学会等名 第82回 日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 名城友香子，佛坂由可，佛坂斉祉，一瀬悠依華，西岡-坂本紀栄，舟木真梨子，中村琢也，森田幸子，井野-近藤愛理，吉田教明
2. 発表標題 12/15 - LOX特異的阻害剤による歯根吸収抑制とその作用機序の解明 ―ラットを用いた実験―
3. 学会等名 第19回九州矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 舟木-土肥真梨子，佛坂 斉祉，佛坂 由可，一瀬悠依華，坂本紀栄，名城-親川友香子，森田幸子，中村琢也，井内陽介，大濱瑞貴，黒濱武士，近藤愛理，吉田教明
2. 発表標題 リチウムは矯正力負荷初期の短期間投与でも歯根吸収抑制効果を示すのか？
3. 学会等名 第19回九州歯科矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 一瀬悠依華，佛坂斉祉，宮崎敏博，森石武史，佛坂由可，有菌ケイラ，中村琢也，吉田教明
2. 発表標題 矯正力による歯根吸収のリチウムによる抑制の組織量的解析-ラットを用いた実験-
3. 学会等名 第19回九州歯科矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

—

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------