

令和元年5月17日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K11333

研究課題名(和文) 矯正学的持続的機械ストレス環境におけるポドプランニン依存性骨再生機構に関する研究

研究課題名(英文) Podoplanin -dependent bone formation mechanism with orthodontic mechanostress.

研究代表者

金井 壮律 (Kanai, Takenori)

北海道大学・歯学研究院・助教

研究者番号：20344517

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：伸展負荷した培養骨芽細胞でのポドプランニンの発現は、負荷のない細胞に比べて有意に多く、発現は伸展の持続時間と共に増加した。非石灰化培地で負荷をかけた状態で培養した骨芽細胞でのポドプランニンのmRNA量は、石灰化培地で負荷をかけない状態で培養した細胞に比べて有意に多かった。伸展負荷の持続時間が長いほどポドプランニン産生が増加し、3～5日以内にプラトーに達した。ポドプランニン抗体とともに培養した骨芽細胞は、石灰化産物が有意に少なくなった。以上の結果は、機械的ストレスがポドプランニンの産生を誘導し、ポドプランニンは機械的ストレスのある状況下で骨中の骨芽細胞の石灰化に寄与することを示唆する可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

矯正治療患者の高齢化が進んでおり、歯の後戻りと動揺が喫緊の問題になっている。骨芽細胞と骨細胞が産生するポドプランニンは極めて粘性の高いシアル酸結合型のムチン型タンパクで、骨の強度を維持すること、また血小板膜蛋白C-type lectin-like receptor 2 (CLEC-2)のリガンドとして血小板を凝集することが報告されている。そこで、ポドプランニン標品を矯正治療に、また顎骨骨折や抜歯窩における骨の補強剤として応用することで、歯の後戻りと動揺の予防、また血餅の形成と治癒促進に有用であると考えた。

研究成果の概要(英文)：The expression of podoplanin in cultured osteoblasts subjected to elongation straining was significantly larger than that in cells without straining, and the expression increased with duration of elongation time. The podoplanin mRNA amount in cultured osteoblasts subjected to straining in non-mineralization medium was significantly larger than in unstrained cells in mineralization medium. The cultured osteoblasts increased podoplanin production with longer durations of elongation straining and reached a plateau within 3-5 days. There are significantly less of mineralization products in osteoblasts cultured with antibodies for podoplanin, as well as in cells with both antibodies for osteopontin, and osteocalcin as positive controls. These findings may suggest that mechanostress induces the production of podoplanin, and that podoplanin may contribute to the mineralization in osteoblasts in bone under the circumstances with mechanostress.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：ポドプランニン 機械的ストレス 骨再生機構

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

矯正治療患者の高齢化が進んでおり、歯の後戻りと動揺が喫緊の問題になっている。骨芽細胞と骨細胞が産生する podoplanin (PDPN)は極めて粘性の高いシアル酸結合型のムチン型タンパクで、骨の強度を維持すること、また血小板膜蛋白 C-type lectin-like receptor 2 (CLEC-2) のリガンドとして血小板を凝集することが報告されている。そこで、PDPN 標品を矯正治療に、また顎骨骨折や抜歯窩における骨の補強剤として応用することで、歯の後戻りと動揺の予防、また血餅の形成と治癒促進に有用ではないかと考えた。

2. 研究の目的

矯正学的ストレス環境下の骨・骨芽細胞がポドプラニン産生を促進することで、ムチン型タンパク質の特性により骨基質の強度に貢献すること、血小板凝集効果が血餅形成と骨再生を促進することで、骨再生における PDPN の有用性を明らかにする。

3. 研究の方法

マウス骨髄由来骨芽細胞を Bio Flex plate (Flexcell International Co.)にて培養した後に、FX-3000 Flexercell strain unit (Flexcell International, Hillsborough, NC, USA) を使用して、頻度 2 往復/1 分間、5%伸展率で機械的ストレスを 5 日間作用させた。非刺激と機械的ストレス負荷後に骨芽細胞が産生した PDPN、OC および OPN を免疫染色し比較検討を行った。また、mRNA 発現量の変化を Real Time PCR 法で定量した。さらに、骨形成培地にて培養した骨芽細胞に各々の特異抗体を加え、骨芽細胞の石灰化過程にどのような影響を与えるか検討した。評価にはアリザリンレッド S を成分とした石灰化評価セット (PG リサーチ) を用い、また MTT アッセイは Cell Counting Kit-8 (同仁化学) を用いた。

4. 研究成果

マウス骨髄由来骨芽細胞の PDPN mRNA は、機械的ストレス環境下においてストレス負荷 3days まで発現が有意に増加した。OC mRNA は 3days、また、OPN mRNA は 2days までそれぞれ有意に増加した後に減少した。機械的ストレス環境下のマウス骨髄由来骨芽細胞は OC および OPN 産生の増加に伴い PDPN 産生も増加したことから、PDPN が OC および OPN と協働して骨形成に働く可能性が示された。また、骨形成培地で 20 days 培養したマウス骨髄由来骨芽細胞の石灰化物産生は PDPN 特異抗体によって細胞死することなく抑制された。これより、PDPN 抗体で石灰化が阻害されたことから PDPN は石灰化に関与することが示唆された。

機械的ストレス環境下においてマウス骨髄由来骨芽細胞は、PDPN を産生し、また、OC および OPN と同期的に亢進することより、これらが相互的に関係する可能性が示された。PDPN は骨形成において重要な役割を果たすと考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

著者名: T. Takenawa, T. Kanai, T. Kitamera, Y. Yoshimura, Y. Sawa, J. Iida
論文標題: Expression and Dynamic of Podoplanin in Cultured Osteoblasts with
Mechanostress and Mineralization Stimulus.

雑誌名: Acta Histochem. Cytochem.

巻: 51(1)

発行年: 2018 年

最初と最後の頁: 41-52

査読: 有

[学会発表](計 6 件)

発表者名: T. Kim, T. Takenawa, T. Kitamera, Y. Sato, J. Iida, Y. Sawa

発表標題: The Dynamic of podoplanin in the bone formation.

学会等名: IADR (国際学会)

発表年: 2018 年

発表者名: 竹縄 智紘、金 壮律、北村 哲也、佐藤 嘉晃、沢 禎彦、飯田 順一郎

発表標題: 培養骨芽細胞の石灰化における podoplanin の役割

学会等名: 第 77 回日本矯正歯科学会大会

発表年: 2018 年

発表者名: T. Takenawa, T. Kim, T. Kitamera, Y. Sato, J. Iida, Y. Sawa

発表標題: The influence of podoplanin in the bone formation.

学会等名: IADR (国際学会)

発表年: 2017 年

発表者名: 竹縄 智紘、金 壮律、北村 哲也、佐藤 嘉晃、沢 禎彦、飯田 順一郎

発表標題: 骨形成における Podoplanin の影響

学会等名: 北海道歯学会 秋季学術大会

発表年: 2017 年

発表者名: T. Takenawa, T. Kim, T. Kitamera, Y. Sato, J. Iida, Y. Sawa

発表標題: The expression of podoplanin and bone-associated proteins after
mechanical stress

学会等名: IADR (国際学会)

発表年：2016年

発表者名：竹縄 智紘、金 壮律、北村 哲也、佐藤 嘉晃、沢 禎彦、飯田 順一郎

発表標題：持続的機械ストレス環境下での podoplanin 発現

学会等名：第75回日本矯正歯科学会大会

発表年：2016年

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：飯田 順一郎

ローマ字氏名：Junichiro Iida

所属研究機関名：北海道大学

部局名：大学院歯学研究院

職名：名誉教授

研究者番号(90151232)：

研究分担者氏名：北村 哲也

ローマ字氏名：Tetsuya Kitamura

所属研究機関名：北海道大学

部局名：大学院歯学研究院

職名：助教

研究者番号(00451451)：

研究分担者氏名：沢 禎彦

ローマ字氏名：Yoshihiko Sawa

所属研究機関名：岡山大学

部局名：大学院医歯薬学総合研究科

職名：教授

研究者番号(70271666)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：竹縄 智紘

ローマ字氏名：Tomohiro Takenawa

研究協力者氏名：佐藤 嘉晃

ローマ字氏名：Yoshiaki Sato

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、研究者個人に帰属されます。