

令和元年6月4日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11796

研究課題名(和文) 矯正治療後の後戻り抑制に対するdaidzeinの有効性の検討

研究課題名(英文) Effects of daidzein on relapse after orthodontic tooth movement.

研究代表者

葛西 一貴 (KASAI, Kazutaka)

日本大学・松戸歯学部・教授

研究者番号：30169396

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：In vivoで、daidzeinをラット歯根膜に注射により投与した結果、矯正力を負荷した後の歯の後戻り量は減少し、歯根膜細胞の細胞増殖能が高まり、コラーゲンI型(COL-I)、マトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)1の発現量が増加した。In vitroでは、伸展力がかかっている歯根膜細胞で、COL-IおよびMMP1発現量がdaidzeinにより増加した。このことから、daidzeinは歯根膜細胞の細胞増殖を活発化し、コラーゲン代謝を促進させることで、矯正治療後の後戻りの抑制に有用である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果から、daidzeinがヒト歯根膜の細胞増殖を活発化し、それに伴いコラーゲン代謝を促進させることで、矯正歯科治療後の後戻りの一因と考えられる歯根膜の伸展を抑制するのに有用であることが明らかとなり、矯正学的歯の移動後の後戻りに対するdaidzeinの抑制効果について新たな知見が得られた。これらのことより、矯正治療後のリテーナー(保定装置)の使用を患者に委ねることなく、歯の後戻りを抑制することができ、再治療のリスクが減少することによって患者のQOLが向上することが期待でき、歯科矯正臨床の今後一層の発展が望めるものとなった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to investigate the effects of daidzein on relapse after orthodontic tooth movement by in vitro and in vitro studies.

Results; In vivo study, the distances and ratio of relapse after orthodontic tooth movement in the daidzein-treated group were significantly lower than control group. Immunohistochemistry showed marked positive staining of collagen type I (COL-I) and matrix metalloproteinase (MMP) 1 in the daidzein-treated group. The ratio of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) positive cells in the daidzein-treated group increased at day 7. In vitro study, in daidzein-treated stretched human periodontal ligament (hPDL) cells enhanced their gene expressions of COL-I and MMP1, and their proteins in culture medium in a time-dependent manner. Conclusions; The daidzein may enhance the collagen metabolism in the hPDL, suggesting that it may be useful for preventing orthodontic relapse after orthodontic treatment.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：後戻り Daidzein 歯の移動 コラーゲン代謝

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

矯正歯科治療において治療後移動した位置に歯を維持するために保定処置を施し、歯周組織の適応を図るが、しばしば後戻りすることがある。特に、前歯部叢生や捻転歯の治療後の後戻りが生じやすく、患者に長期にわたる保定装置の装着や接着剤による永久的な固定を強いることになる。しかしながら、その原因は明らかにされていない。

Yoshida らはラットの歯牙移動を用いた研究で歯根膜線維の伸展収縮が後戻りの原因であるとし、その過程には歯根膜線維のリモデリングが関与していると報告している¹⁾。歯根膜組織は主に collagen type I (COL-I) から成り、その組織中の human Periodontal ligament cells (hPDL) cells が放出する matrix proteinase (MMP) によりリモデリングが行われる。MMPs は組織のリモデリングに関係し、細胞外器質の構成成分の多くを分解している酵素であり、歯根膜の恒常性の維持は COL-I と MMPs の相互作用によると考えられる²⁾。

本講座では、矯正治療後の後戻りにも COL-I、MMP-1 などのコラーゲン代謝が深く関係し、女性ホルモンのひとつである relaxin を伸展した hPDL cells に作用させた結果、COL-I と MMP-1 の産生量が増加し、hPDL cells のコラーゲン代謝が促進し、歯根膜線維の伸展が解放され矯正治療後の後戻り抑制に有効であることを報告している^{3,4,5,6)}。しかしながら、relaxin は分子量が大きいことから歯根膜組織に浸透させることが難しい。そこで relaxin と同様の作用を持ち分子量が小さく、安全性が高い daidzein に注目した。

2. 研究の目的

本研究は、矯正治療後の歯の後戻りの抑制に焦点を当て、イソフラボンの一種で大豆、エンドウマメなどのマメ科植物に多く含まれる daidzein がコラーゲン代謝を活性化させる特性に着目し、伸展された歯根膜組織に対する daidzein の効果を細胞生物学的・組織病理学的に検討し、歯の後戻りの抑制薬としての可能性を探求することを目的とする。具体的には、ラットの実験的歯の移動後に、歯根膜に daidzein を注入して、マイクロ CT にて後戻り量を計測し、daidzein の後戻り抑制効果を検討する。さらに歯根膜組織のコラーゲン代謝関連因子のタンパク・遺伝子発現について検討する。In vitro では歯根膜細胞伸展モデルにて歯根膜細胞を伸展させ、daidzein を添加し、上記因子のタンパク産生量と遺伝子発現の変化を検討する。

3. 研究の方法

- ① In vivo でラットを用いた実験的歯の移動モデルにて、矯正力を 14 日間加えたのち装置を除去し、実験群には daidzein を対照群には生理食塩水を 7 日間歯肉注射し、臼歯の後戻り量をマイクロ CT にて測定する。
- ② In vivo で歯根膜組織の H.E 染色で組織学的特徴を観察し、COL-I、MMP-1 及び増殖性細胞核抗原 (PCNA) を用いて免疫組織化学的特徴について検討する。
- ③ In vitro で STREX チャンバーを用いて 12 時間伸展した hPDL 細胞に daidzein を添加し 48 時間作用させ、COL-I、MMP-1 のタンパク産生量と遺伝子発現量について検討する。

4. 研究成果

本研究では、*in vivo*にてラットの実験的歯の移動後の daidzein の後戻り抑制効果を検討するために、micro-CT を用いて後戻り距離比率を比較した結果、daidzein 注射群では非投与群に比べ、後戻りの比率が有意に低かった(図1)。

また、後戻りにおける PCNA 陽性率を daidzein の注射の有無で検討した結果、daidzein 注射群での PCNA 陽性率は、コントロール群と比較して有意に増加した(図2)。Mabuchi ら⁷⁾は、歯根膜細胞はメカニカルストレスを加えると、細胞増殖が活発になり、PDL の再構築と関連していることを PCNA 陽性率が増加することで証明している。このことから、daidzein 注射による後戻り抑制効果は、daidzein による PDL 細胞増殖能の亢進と、それに伴うコラーゲン代謝の活性化に起因する可能性が推察された。

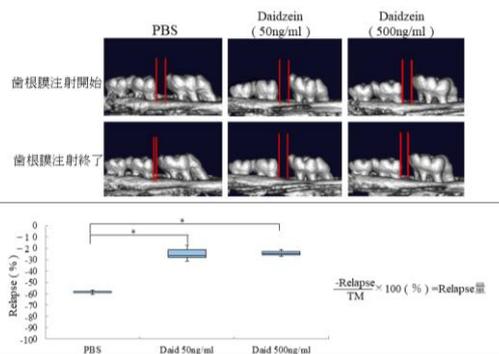


図1. daidzein 注射による後戻り距離比率

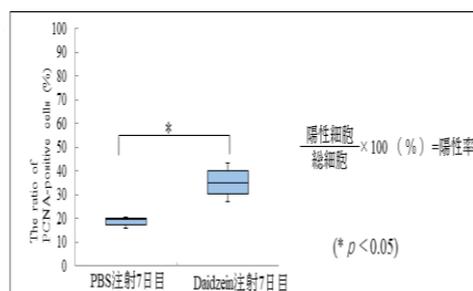


図2. PCNA 陽性細胞率

In vitro 実験では、daidzein 添加により hPDL 細胞における COL-I および MMP1 の遺伝子発現とタンパク産生量の増加が共に認められた。これより、daidzein は歯根膜に対してコラーゲン代謝を活性化していることを裏づけているものと推察された(図3)。

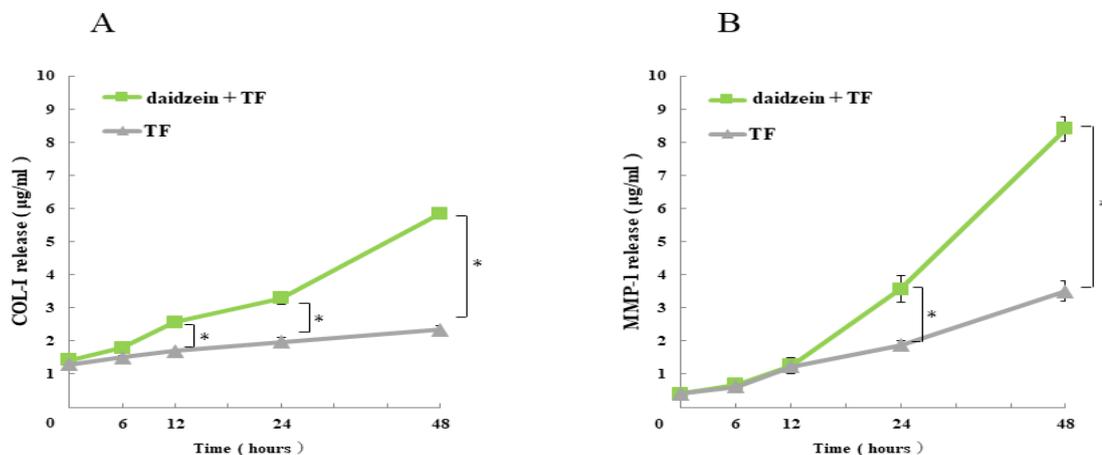


図3. 伸展した hPDL 細胞における daidzein 添加におけるタンパク質産生量に対する時間経過 (A ; COL-I , B ; MMP1) daidzein+ TF : daidzein+伸展力, TF : 伸展力のみ。

これらの知見から、daidzein は hPDL の細胞増殖を活発化し、それに伴いコラーゲン代謝を促進させることで、矯正治療後の後戻りの抑制に有用である可能性が示唆された。

PDL は、COL-I および COL-III、を主体とし、さらに V, VI, XII および XIV など様々なタイプのコラーゲンで構成されており、今後は他のタイプのコラーゲンおよび MMP / TIMP 複合体の調節に対する daidzein の影響について調査が必要である。さらに、daidzein は破骨細胞形成を抑制し、骨形成を促進する作用をもつことが知られており矯正治療後の骨代謝にも関与し後戻りを抑制する可能性が推察され、さらなる研究が必要である。

(引用文献)

- 1)Yoshida Y, Sasaki T, Yokoya K, Hiraide T, Shibasaki Y, Cellular roles in relapse processes of experimentally-moved rat molars, J Electron Microsc, 48, 1999, 147-157.
- 2)Hin B, Matrix mechanics and regulation of the fibroblast phenotype, Periodontol 2000, 63, 2013,14-28.
- 3)Takano M, Yamaguchi M, Nakajima R, Fujita S, Kojima T, Kasai K. Effects of relaxin on collagen type I released by stretched human periodontal ligament cells. Orthod Craniofacial Res, 12(4), 2009, 282-288.
- 4)Takano M, Yamaguchi M, Nakajima R, Kojima T, Kasai K. Relaxin modulates collagen type I and metalloproteinase-1 expression by human periodontal ligament cells. J Oral Bioscience, 50 (4), 2008, 222-229.
- 5)Hirate Y, Yamaguchi M, Utsunomiya T, Yamamoto H, Kasai K. Effects of Relaxin on Relapse After Experimental Tooth Movement in Rats. International Journal of Oral-Medical Sciences, 10 (3), 2011, 200-210.
- 6)Hirate Y, Yamaguchi M, Kasai K. Effects of relaxin on relapse and periodontal tissue remodeling after experimental tooth movement in rats. Connect Tissue Res, 53(3), 2012, 207-219.
- 7) Mabuchi R, Matsuzaka K, Shimono M, Cell proliferation and cell death in periodontal ligaments during orthodontic tooth movement, J Periodontal Res, 37, 2002, 118-124.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

- ① Erika Nakayama, Masaru Yamaguchi, Jun Kikuta, Mami Shimizu, Takuji Hikida, Momoko Hikida, Yoshiki Murakami, Masaaki Suemitsu, Kayo Kuyama, Kazutaka Kasai, Daidzein Inhibits Relapse after Rat Experimental Tooth Movement, Int J Oral-Med Sci 17(1):18-26, 2018. (査読あり)
- ② Masaru Yamaguchi, Erika Nakayama, Mami Shimizu, Jun Kikuta, Satoshi Horihata, Kazutaka Kasai, Effects of Daidzein on the Production of Type I Collagen and Matrix Metalloproteinase-1 by Stretched Human Periodontal Ligament Cells, Int J Oral-Med Sci 17(1):27-32, 2018. (査読あり)

〔学会発表〕(計 4 件)

- ① 鹿野瑞貴, 清水真美, 疋田拓史, 杉森匡, 中山瑛加, 葛西一貴, Daidzein が伸展されたヒト歯根膜線維芽細胞の骨形成因子に及ぼす影響, 第 77 回日本矯正歯科学会 2018.
- ② 中山瑛加, 山口大, 疋田拓史, 清水真美, 菊田純, 村上嘉規, 疋田桃子, 葛西一貴, Daidzein はコラーゲン代謝を活性化し後戻りを抑制する, 第 76 回日本矯正歯科学会 2017.
- ③ Erika Nakayama, Masaru Yamaguchi, Jun Kikuta, Takuji Hikida, Momoko hikida, Kazutaka Kasai, Daidzein inhibits relapse after experimental tooth movement, International Association for Dental Research, 2017.
- ④ 中山瑛加, 山口大, 高橋桃子, 疋田拓史, 清水真美, 菊田純, 村上嘉規, 吉野智一, 葛西一貴, 歯の移動後の daidzein の後戻り抑制効果の検討, 第 75 回日本矯正歯科学会, 2016.

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 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 0 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

なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：清水 真美

ローマ字氏名：(SHIMIZU, mami)

所属研究機関名：日本大学

部局名：松戸歯学部

職名：助手（専任扱）

研究者番号（8桁）：50732856

（平成30年5月10日より研究分担者に追加）

(2) 研究分担者

研究分担者氏名：山口 大

ローマ字氏名：(YAMAGUCHI, masaru)

所属研究機関名：日本大学

部局名：松戸歯学部

職名：准教授

研究者番号（8桁）：60333100

（平成30年5月10日より研究分担者から削除）

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※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。