

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11929

研究課題名(和文) 矯正歯の移動時における振動刺激の骨リモデリング亢進に対するTGF- β 1の機能解析研究課題名(英文) Vibration-induced TGF- β 1 expression in osteocytes promotes osteoclastogenesis and accelerates experimental tooth movement.

研究代表者

佐々木 紀代 (Sasaki, Kiyo)

東北大学・大学院・助教

研究者番号：70746958

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)：本研究では、骨リモデリングを制御する分子の一つとして知られているtransforming growth factor- β 1(TGF- β 1)に着目して、振動刺激が歯の移動に伴う骨リモデリングに及ぼす影響を分子レベルで解明することを目的とした。ラットを用いた歯の移動実験では、圧迫側骨細胞でTGF- β 1も発現が増加した。TGF- β 1阻害剤の投与により歯の移動量が減少し、破骨細胞数も減少した。MLO-Y4細胞に振動刺激を負荷する実験では、振動刺激後TGF- β 1タンパク質の発現が上昇した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、振動刺激に応答した骨細胞がTGF- β 1を介して破骨細胞分化を促し、骨吸収を促進し、歯の移動が亢進する分子メカニズムが明らかになった。これらの成果は、新たな矯正歯の移動促進法開発へとつながる基盤的知見となりうる。

研究成果の概要(英文)：I examined effect of TGF- β 1 on vibration-induced acceleration of experimental tooth movement and its underlying mechanisms. In the rat experimental tooth movement, expression of TGF- β 1 increased on the compression side in osteocyte. Administration of TGF- β 1 inhibitor in a rat periodontal tissue attenuated the vibration-induced experimental tooth movement. The vibration-increased osteoclast number on the compression sides was decreased by administration of TGF- β 1 inhibitor. Vibration increased phosphorylation of TGF- β 1 in MLO-Y4 cells after loading vibration.

研究分野：矯正歯科

キーワード：歯の移動 振動刺激 TGF- β 1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

矯正歯科治療の問題の一つは、治療期間が長期に及ぶことである。それにより齲蝕、歯周病、および歯根吸収などのリスクが高まる。そのため、歯の移動の加速による、治療期間の短縮が切望されている。

これまで歯の移動促進を目指して、矯正的歯の移動における振動刺激、超音波刺激、磁場など様々な刺激の骨リモデリングへの影響が解析されてきた。我々のグループは振動刺激を用いた歯の移動促進について研究を行ってきた。その結果、ラット実験的歯の移動モデルにおいて、振動刺激が破骨細胞分化を誘導して歯槽骨吸収を誘導し、歯の移動を促すことを明らかにした (Takano-Yamamoto et al., Sci Rep, 2017)。

矯正的歯の移動中は、歯周組織で矯正力という機械的刺激を感知し、それを生物学的な刺激に変換することで破骨細胞と骨芽細胞による骨リモデリングが行われている。骨組織における機械的刺激は、主に骨組織に最も多く存在している骨細胞がメカノセンサーとして感知し、骨内部での骨細胞および骨表面の破骨細胞や骨芽細胞との細胞性ネットワークを介して骨リモデリングを調節している。これまで我々の研究グループでは、矯正的歯の移動時の骨リモデリングに関連して、歯周組織における多くの遺伝子とタンパク質の作用と発現レベルの変化について国際誌に報告し (Takeshita, Sasaki, Seiryu et al., J Bone Miner Metab in press, Hoshi, Seiryu et al., J Bone Miner Res 2014, Yamashiro, Fukunaga et al., J Dent Res 2001 他)、機械的刺激負荷時の骨リモデリングについて、その分子メカニズムを解明するための研究を継続してきた。近年、骨細胞が破骨細胞分化のマスター制御因子である RANKL を強く発現することが明らかとなった。我々の研究グループは、振動刺激により骨細胞様細胞株 MLO-Y4 における RANKL 発現が NF- κ B を介して上昇し、破骨細胞分化を促進することを初めて発見した (Sakamoto et al., Bone, 2019)。しかし、振動刺激により骨細胞の RANKL 発現が増加する分子生物学的メカニズムの全容は不明である。

一方、TGF β は破骨細胞、骨芽細胞、骨細胞いずれにも作用し、骨吸収と骨形成のバランスを直接制御し、骨リモデリング時のこれらの細胞の協調、相互作用に関わることで、骨の恒常性を維持していることが示唆されている (Janssens et al., Endocr Rev 2005)。さらに、機械的刺激により TGF β の発現が骨芽細胞や歯根膜で増加することが報告されている (Manokawinchoke et al., J Dent Res 2015, Kobayashi et al., J Bone Miner Res 2000)。

以上のことから、矯正的歯の移動は、振動刺激により活性化された破骨細胞、骨芽細胞、骨細胞、歯根膜細胞が骨リモデリングを亢進することにより促進され、この骨リモデリングの亢進の制御に TGF β が関与している可能性が高いと推察できる。振動刺激を負荷した矯正的歯の移動時の骨リモデリングに対する TGF β の分子制御メカニズムを明らかにし、振動刺激が矯正的歯の移動を促進する分子基盤が確立できれば、振動装置を用いた新規の効果的な歯の移動方法の確立に繋がると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、振動刺激が矯正的歯の移動を促進する分子基盤の確立を目指し、振動刺激を負荷した矯正的歯の移動時の骨リモデリングに対する TGF β の分子制御メカニズムを解明することである。

3. 研究の方法

(1)ラット実験的歯の移動モデルを用いた、歯槽骨中の骨細胞における TGF 発現に対する、振動刺激の影響の解析

25 週齢 Wistar ラットの顎右側第一臼歯に、直径 0.014 インチのニッケル・チタンワイヤーを用いて 15 g の矯正力を口蓋側の方向へ 負荷し、さらに、口蓋に振動装置をワイヤーにて結紮固定し、3 g、70 Hz、3 分間の振動刺激を負荷し、実験的歯の移動を行う。9 日後、臼歯を含む上顎歯槽骨を採取し、歯槽骨の骨細胞での TGF の発現を免疫組織化学により解析する。

(2) 振動刺激が負荷された培養骨細胞における破骨細胞分化に対する TGF の機能の解析

TGF をノックダウンした骨細胞様細胞株 MLO-Y4 細胞に振動刺激を負荷後、それらの細胞上にマクロファージ様破骨細胞前駆細胞株 RAW264.7 を播種する共培養破骨細胞誘導実験を行い、TGF が破骨細胞分化に及ぼす影響を TRAP 染色、リアルタイム PCR、western blot により解析する。

(3) TGF 阻害が、振動刺激による歯の移動促進効果に及ぼす影響の解析

上記動物実験モデルにおいて、TGF 1 阻害剤を局所投与し、振動刺激が矯正的歯の移動に及ぼす影響に対する TGF の役割を in vivo で検討する。

4. 研究成果

(1) 実験的歯の移動および振動刺激負荷による骨細胞における TGF 発現の変化を解析するために、免疫染色を行い、組織化学的検討および計測領域における定量的解析を行った。第一臼歯近心根圧迫側計測領域において、全骨細胞数に占める TGF 陽性骨細胞数の割合を計測した結果、歯の移動および振動刺激負荷群では、46.5 %と他の群より有意に TGF 陽性骨細胞の割合が増加した。このことから、歯の移動および振動刺激により、圧迫側歯槽骨の骨細胞において TGF の発現が増加することが示された。牽引側計測域においては、大きな変化はみられなかった。

(2) 振動刺激が負荷された培養骨細胞における破骨細胞分化に対する TGF の機能を解析するために、振動刺激を負荷した MLO-Y4 cell と RAW264.7cell の共培養を 6 日間行った。TRAP 陽性多核細胞数を計測した結果、振動刺激を負荷した群では、対照群と比較して有意に TRAP 陽性多核細胞数が増加した。一方、MLO-Y4 cell に TGF 1 阻害剤を添加し共培養を行った群では、対照群と比較して TRAP 陽性多核細胞数が減少した。

(3) TGF 阻害剤が歯の移動量に及ぼす影響を確認するため、歯の移動距離の計測を行った。その結果、TM/PBS 群は、歯の移動開始 1 日目から歯の移動がみられ、移動開始 7 日目には 0.13mm、9 日目には 0.20mm 移動した。TM+振動/PBS 群は、1 日目および 7 日目には TM/PBS 群に対して有意な差はみられなかったが、7 日目から 9 日目にかけて歯の移動距離が急激に増加し、歯の移動動態を示すカーブに著しい変化が認められ、9 日目には 0.33 mm に達し、TM/PBS 群の移動距離の 160 % (1.6 倍) となった。TM/TGF 阻害群は 1 日目には TM/PBS 群に対して有意な差はみられなかったが、7 日目以降では歯の移動が有意に抑えられ、9 日目に 0.14mm となり、TM/PBS 群の移動距離に対して 31 %減少した。TM+振動/TGF 阻害群は、TM/TGF 阻害群とほぼ同様の移動動態を示し、TM+振動/PBS 群の歯の移動 7 日~9 日目で認められた急激な増加は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Wei Jiang, Nobuo Takeshita, Toshihiro Maeda, Chisumi Sogi, Toshihito Oyanagi, Seiji Kimura, Michiko Yoshida, Kiyo Sasaki, Arata Ito, Teruko Takano-Yamamoto	4. 巻 11
2. 論文標題 Connective tissue growth factor promotes chemotaxis of preosteoblasts through integrin 5 and Ras during tensile force-induced intramembranous osteogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-2
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-82246-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ikuko Takano, Nobuo Takeshita, Michiko Yoshida, Daisuke Seki, Toshihito Oyanagi, Seiji Kimura, Wei Jiang, Kiyo Sasaki, Chisumi Sogi, Masayoshi Kawatsu, Teruko Takano-Yamamoto	4. 巻 236
2. 論文標題 Ten-m/ Odz3 regulates migration and differentiation of chondrogenic ATDC5 cells via RhoA-mediated actin reorganization	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of cellular Physiology	6. 最初と最後の頁 2906-2919
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jcp.30058	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Mayuri Sakamoto, Tomohiro Fukunaga, Kiyo Sasaki, Masahiro Seiryu, Mitsuhiro Yoshizawa, Nobuo Takeshita, Teruko Takano-Yamamoto	4. 巻 123
2. 論文標題 Vibration enhances osteoclastogenesis by inducing RANKL expression via NF- B signaling in osteocytes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 56-66
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bone.2019.03.024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Teruko Takano-Yamamoto, Kiyo Sasaki, Goudarzi Fatemeh, Tomohiro Fukunaga, Masahiro Seiryu, Takayoshi Daimaruya, Nobuo Takeshita, Hiroshi Kamioka, Taiji Adachi, Hiroto Ida & Atsushi Mayama	4. 巻 7
2. 論文標題 Synergistic acceleration of experimental tooth movement by supplementary high-frequency vibration applied with a static force in rats	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-017-13541-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kiyo Sasaki, Nobuo Takeshita, Tomohiro Fukunaga, Masahiro Seiryu, Mayuri Sakamoto, Teruko Takano-Yamamoto
2. 発表標題 Vibration-induced TGF- β 1 expression in osteocytes promotes osteoclastogenesis and accelerates experimental tooth movement.
3. 学会等名 The 9th International Orthodontic Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐々木紀代、福永智広、坂本麻由里、清流正弘、竹下信郎、山本照子
2. 発表標題 振動刺激による歯の移動促進効果における破骨細胞に対するTGF の役割
3. 学会等名 日本矯正歯科学会
4. 発表年 2018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
研究分担者	福永 智広 (Fukunaga Tomohiro) (70362994)	東北大学・大学病院・講師 (11301)	
研究分担者	清流 正弘 (Seiryu Masahiro) (80510023)	東北大学・歯学研究科・非常勤講師 (11301)	

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
---------	---------