

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19592374
 研究課題名（和文） 歯科矯正学的観点からの顎骨・歯周組織の改造現象における細胞分化の分子調節機構
 研究課題名（英文） Molecule regulation mechanism of the cytodifferentiation in the remodeling of a maxillo-periodontal tissues from a view point of orthodontics.
 研究代表者
 岡藤 範正（OKAFUJI NORIMASA）
 松本歯科大学・歯学部・教授
 研究者番号：50194379

研究成果の概要：主たる研究成果は以下の通りである。

1. 実験的歯の矯正治療時における歯周組織等における種々の細胞の反応

牽引側歯根膜線維芽細胞には刺激を受けた直後から細胞反応が起こる事が明らかになり、また Runx 2 の促進因子として Msx2 が働いている事が明らかになった。

2. 下顎頭軟骨の初期発生の調節機構

マウスの下顎頭軟骨の初期発生には Notch シグナルが重要な役割を果たしていることを明らかにした。

これらの内容は数回の学会発表を行うとともに、論文として印刷公表した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：メカニカルストレス、細胞分化、免疫組織化学、遺伝子発現、シグナリング、Runx2, Msx2, 歯周組織

1. 研究開始当初の背景

矯正治療を行う時には、歯に対して種々の方法によってメカニカルストレスを掛ける。そのストレスは歯周組織、すなわち線維芽細胞

や歯根膜線維に伝えられる。その結果として同部にある種々の細胞の活性化が惹起され、破骨細胞によって骨組織の吸収がおこる。一方、反対側では骨芽細胞が活性化され、骨

の添加が起こる。結果として“歯の移動”が起こる事は周知の事実である。さて、この“場”となる重要な役割を果たす“歯根膜”について、最近、骨芽細胞への分化を促す重要な転写因子である Runx2 が歯根膜細胞に恒常的に発現している事が明らかになった。この事実は、われわれ研究グループにおいても確認している。Runx2 が発現しているにも関わらず骨化しないと言う矛盾する事象が起こっているのである。これには、Msx2 が Runx2 に拮抗する大きな役割を担っていることが明らかになりつつある (Yoshizawa et al. *Molecul Cell Biol*: 3460-3472, 2004)。

さて、Notch シグナルでは、リガンド“Jagged 1, 2”と結合した Notch が膜貫通部位で切断され、その細胞内ドメイン“Notch intracellular domain: NICD”が細胞核へと移行してシグナルを伝達することが知られ、最近ではリガンドと結合した Notch が切断される際には、幾つかの段階を経ることが判ってきた。顎骨の形態形成と改造においても、上記の Notch シグナルが密接に関与していることが明らかになり、我々研究グループもその結果を報告してきた。

2. 研究の目的

歯根膜細胞の増殖、分化、細胞外基質形成、および血管形成などのイベントに影響を与える様々な因子に加え、Runx2 や Msx2 などその候補に検討し、その主役が何であるのかを明らかにする。

骨の吸収矢添加を司る因子の発現により、種々の変化が起こるのであるが、その際 Notch シグナリングがどの様に関与しているのかを、その因子発現の局在レベルにおいて明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 動物実験

実験には ddY (♂) マウスを使用する。エーテルの吸入による全身麻醉下に実験的矯正装置装着用基盤に固定した状態にて、“歯の移動を惹起させるメカニカルストレス”を与える器材の装着を行う。装着時から経時的に歯周組織を採取し固定する。また、胎生期マウスの下顎頭を経時的に採取し固定する。

(2) 組織学的、免疫組織化学的検討

通常のパラフィン包埋 4 ミクロン連続切片を作製し、メカニカルストレスを受けた歯周組織を確認する。確認された適切な組織切片標本に対して、各種の因子『BMP, FGF, PDGF, ILGF, TGF- β , Runx2, Msx2, OPG, RANKL, Notch および HSP』について、免疫組織化学的検討を行う。下顎頭組織においても同様にパラフィン切片を作製し、各種の因子『Runx2, Msx1, Msx2, Notch および Jagged』などについてその発現状況について、免疫組織化学的検討を行う。特に優位差が認められた因子に対しては、再検討を行うと共に、染色結果の統計的処理を行う。

4. 研究成果

(1) マウスを用いた実験的歯の矯正治療時における歯周組織等における種々の細胞の反応上記事象の惹起には歯根膜線維芽細胞の分化が密接に関与していることは、昨年度の研究成果で明らかになっていたが、今年度のデータからいわゆる牽引側歯根膜線維芽細胞には刺激を受けた直後から細胞反応が起こる事が明らかになり、刺激後 20 分で既に Runx2 の活性化が起こる。そしてその促進因子として Msx2 が働いている事が明らかになった。また、これらの確認の為に ALP についても同様な検索を行ったところ、同様な挙

動を示した事から、これらの細胞分化の方向性が“骨芽細胞の方向を向いている”ことが確認された。このことについては、数回の学会発表と1篇の論文として印刷公表した。

また、傷害刺激因子に対する反応としてHSPについても着目し、若干の基礎データが得られた。これについても数回の学会発表を行った。

(2) 下顎頭軟骨の初期発生の調節機構
マウスの下顎頭軟骨の初期発生にはNotchシグナルが重要な役割を果たしていることを明らかにし、その内容は数回の学会発表を行うとともに、論文としても2編印刷公表した。すなわち、その初期分化、軟骨外骨化における骨芽細胞の分化、肥大軟骨細胞層での細胞分化などに積極的に働いている事などである。

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 5 件)

① Watanabe T, Nakano N, Muraoka R, Shimizu T, Okafuji N, Kurihara S, Yamada K and Kawakami T. Role of Msx2 as a promoting factor for Runx2 at the periodontal tension sides elicited by mechanical stress. Eur J Med Res. 2008; 13: 425-31. 査読有

② Shimizu T, Okafuji N, Nakano K, Kurihara S, and Kawakami T. Jagged1 peptide appearing in mandibular condylar cartilage development. Eur J Med Res. 2008; 13: 4-6. 査読有

③ Shimizu T, Tsujigiwa H, Nagatsuka H, Nakano K, Okafuji N, Kurihara S, Nagai N and Kawakami T. Gene expression of Jagged2

in mandibular condylar cartilage development. Eur J Med Res. 2008; 13: 1-3. 査読有

④ Shimizu T, Nakano K, Tsujigiwa H, Nagatsuka H, Watanabe T, Okafuji N, Kurihara S, Hasegawa H, Nagai N and Kawakami T. Notch signaling in mandibular condylar cartilage development. Eur J Med Res. 2007; 12: 515-9. 査読有

⑤ Watanabe T, Okafuji N, Nakano K, Shimizu T, Muraoka R, Kurihara S, Yamada K and Kawakami T, Periodontal tissue reaction to mechanical stress in mice. J Hard Tissue Biol. 2007; 16: 71-4. 査読有

[学会発表] (計 9 件)

① 渡邊武寛, 村岡理奈, 清水貴子, 中野敬介, 岡藤範正, 栗原三郎, 山田一尋, 川上敏行. メカニカルストレスが引き起こすマウス歯根膜細胞におけるRunx2とMsx2の免疫組織化学的变化. 歯科基礎医学会総会(第50回), 2008年9月23日, 東京都

② 中野敬介, 村岡理奈, 渡邊武弘, 川上敏行. 実験的矯正力を受けた後のマウス歯髓組織内におけるHSPの発現変化. 歯科基礎医学会総会(第50回), 2008年9月23日, 東京都

③ 村岡理奈, 渡邊武寛, 中野敬介, 岡藤範正, 栗原三郎, 山田一尋, 川上敏行. メカニカルストレスが引き起こすマウス歯根膜組織におけるHSPの局在変化. 歯科基礎医学会総会(第50回), 2008年9月23日, 東京都

④ 渡邊武寛, 村岡理奈, 清水貴子, 中野敬介, 岡藤範正, 栗原三郎, 山田一尋, 川上敏行. 歯科矯正力が引き起こすマウス歯根膜細胞におけるRunx2とMsx2の免疫組織化学的研究. 日本矯正歯科学会大会(第67回), 2008

年9月16日, 千葉市

⑤ 村岡理奈, 渡邊武寛, 中野敬介, 岡藤範正, 栗原三郎, 山田一尋, 川上敏行. マウス歯根膜組織におけるメカニカルストレスが引き起こすHSP発現の免疫組織化学的検討.

硬組織再生生物学会総会 (第17回) 2008年8月31日, 徳島市

⑥ 渡邊武寛, 村岡理奈, 清水貴子, 中野敬介, 岡藤範正, 栗原三郎, 山田一尋, 川上敏行. 歯科矯正力が惹起するマウス歯周組織におけるRunx2 とMsx2 の免疫組織化学的变化.

硬組織再生生物学会総会 (第17回) 2008年8月31日, 徳島市

⑦ 中野敬介, 渡邊武寛, 村岡理奈, 清水貴子, 岡藤範正, 栗原三郎, 山田一尋, 川上敏行. メカニカルストレスの惹起する矯正学的牽引側歯周組織における骨芽細胞分化因子の役割.

硬組織再生生物学会総会 (第17回) 2008年8月31日, 徳島市

⑧ Okafuji N, Shimizu T, Nakano K and Kawakami T. Role of Jagged-Notch signaling in mouse developing mandibular condylar cartilage. International congress of oral pathology and medicine, 14th IAOP, 62nd AAOMP. June 23, 2008, San Francisco, USA

⑨ Nakano K, Watanabe T, Muraoka R and Kawakami T. Expression of heat shock protein in mouse periodontal ligament after receiving mechanical stress. International congress of oral pathology and medicine, 14th IAOP, 62nd AAOMP. June 23, 2008, San Francisco, USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡藤 範正 (OKAFUJI NORIMASA)

松本歯科大学・歯学部・教授

研究者番号: 50194379

(2) 研究分担者

川上 敏行 (KAWAKAMI TOSHIYUKI)

松本歯科大学・大学院歯学独立研究科・教授

研究者番号: 80104892

中野 敬介 (NAKANO KEISUKE)

松本歯科大学・総合歯科医学研究所・講師

研究者番号: 10325095

栗原 三郎 (KURIHARA SABURO)

松本歯科大学・総合歯科医学研究所・教授

研究者番号: 70126225