

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K10154

研究課題名（和文）外傷性咬合による骨吸収におけるHMGB1の関与

研究課題名（英文）Effect of HMGB1 on bone resorption induced by traumatic occlusion

研究代表者

鶴飼 孝 (UKAI, TAKASHI)

長崎大学・病院（歯学系）・教授

研究者番号：20295091

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：歯周病はプラーク中の細菌により起るが、外傷性咬合という噛み合わせの異常があると促進される。今回の研究でマウスの歯に外傷性咬合を与えたときに歯根膜でHMGB1という分子が強く発現することが免疫組織学的手法を用いて病理組織学的に確認できた。さらにこの分子の働きをHMGB1の抗体を全身に投与して抑制することで、外傷性咬合による骨吸収を減少させることができることも確認した。この際に、骨吸収を起こす破骨細胞の分化誘導を促進する因子の発現を減少させることも確認した。HMGB1を抑制することで破骨細胞の分化誘導因子の発現を抑制し、外傷性咬合で見られる骨吸収を抑制でき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

成人の多くが歯周病により歯を失っている。その促進要因の一つである外傷性咬合による骨吸収を抑制することは歯を守るための戦略の一つとなるであろう。今回、外傷性咬合を付与した際に増加するHMGB1という分子に注目し、これが促進的に関与することを確認した。今回の結果から考えると外傷性咬合による歯肉の腫れや骨吸収が進行した際に、HMGB1を抑制する製剤を歯肉に注入することで骨吸収の進行を抑えられる可能性がある。今回の研究では全身投与の効果を示したのみであるので、局所投与でも効果があることを示し、臨床応用に向けて研究を進めていくのは国民の歯を守ることに役立つものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Periodontal disease is caused by bacteria in plaque and is accelerated by an abnormal bite called traumatic occlusion. In the present study, it was confirmed histopathologically using immunohistological techniques that the molecule HMGB1 is strongly expressed in the periodontal ligament when the teeth of mice are subjected to traumatic occlusion. It was also confirmed that the function of this molecule could be suppressed by systemic administration of antibodies to HMGB1, thereby reducing the bone resorption caused by traumatic occlusion. It was also confirmed that the expression of factors that promote the induction of osteoclast differentiation, which causes bone resorption, was reduced. It is suggested that suppressing HMGB1 may suppress the expression of factors that induce osteoclast differentiation, thereby reducing the bone resorption seen with traumatic occlusion.

研究分野：歯周病学

キーワード：HMGB1 破骨細胞 外傷性咬合

1. 研究開始当初の背景

歯周炎は成人の抜歯の一番の原因となっている。外傷性咬合は歯周炎による骨吸収を促進する因子の一つである。この骨吸収を効果的に抑制する方法が確立できれば歯の保存に役立つと考えられる。研究代表者らはこれまでの研究でラットに外傷性咬合を付与した時の根分岐部組織では、破骨細胞出現時に破骨細胞誘導因子 (RANKL) 陽性細胞が増加することを報告した (J Periodontal Res, Yoshinaga Y, Ukai T et.al. 2007)。歯に外傷力が加わった際の骨吸収に RANKL の関与が重要と考えられる。また、この咬合性外傷モデルにおいて、外傷付与後に根間中隔の骨細胞の消失が見られ、その周囲に多くの破骨細胞が観察されていた。そこで細胞がダメージを受けた際に細胞から放出される High Mobility Group Box 1 (HMGB1) に注目した。HMGB1 は破骨細胞の活性化に関与することが報告されている。外傷性咬合によりダメージを受けた根分岐部歯根膜ならびに根間中隔の骨細胞から放出される HMGB1 が、外傷性咬合付与時の骨吸収に促進的に関与しているのではないかと考えた。そこで、外傷力付与による骨吸収への RANKL や HMGB1 の促進的作用を検討し、効果的抑制方法の確立に活かすことを考えた。

2. 研究の目的

歯に外傷力を加えた時に発現増加する RANKL や HMGB1 が、骨吸収や破骨細胞形成に及ぼす影響を明らかにするとともに、それらの関連を検討することを目的とした。

これを明らかにすることで、効果的な抑制方法の確立につなげられるのではないかと考えられる。

3. 研究の方法

(1) 外傷性咬合付与

マウス下顎第一大臼歯に外傷性咬合を付与するために上顎第一大臼歯咬合面にワイヤーを装着して 1, 2, 3, 5 日後に屠殺して下顎骨を摘出した。一部のマウスは抗 HMGB1 抗体を投与し、同様に外傷性咬合を付与して 1, 5 日後に屠殺して下顎骨を摘出した。

(2) 過剰な矯正力付与

マウス下顎第一大臼歯にスプリングを装着して歯根膜に外傷力を付与し、歯を近心に 21 日間移動をさせた。一部のマウスには抗 RANKL 抗体を投与して、同様に矯正力を付与した後に下顎骨を摘出した。

(3) 骨吸収の評価

摘出した下顎第一大臼歯の病理組織切片を作製し、HE 染色並びに酒石酸耐性酸ホスファターゼ (TRAP) 染色を行い、歯槽骨の破壊状態、破骨細胞の出現状態を調べた。

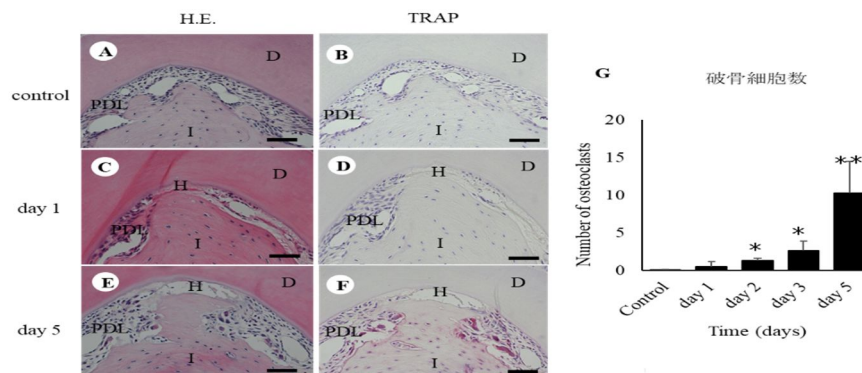
(4) 免疫組織学的評価

外傷性咬合を付与したマウスでは作製した連続切片を用いて免疫染色により、RANKL, HMGB1 の検出を行い、歯根膜細胞、骨細胞における陽性細胞の割合を調べた。

4 . 研究成果

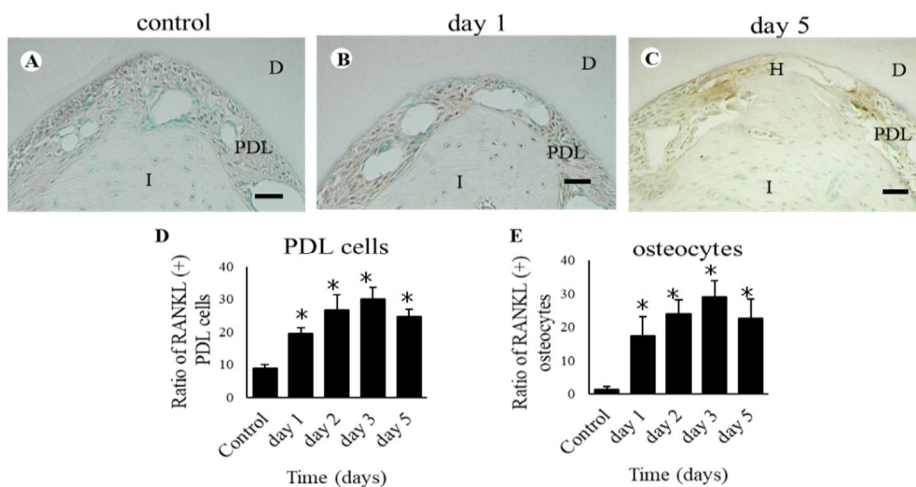
(1) 外傷性咬合付与後の骨破壊、破骨細胞の出現状態

1 日後の歯根膜組織に硝子様変性がみられ、2 日後より有意に破骨細胞数が増加した。
5 日後には強い骨破壊が確認された。



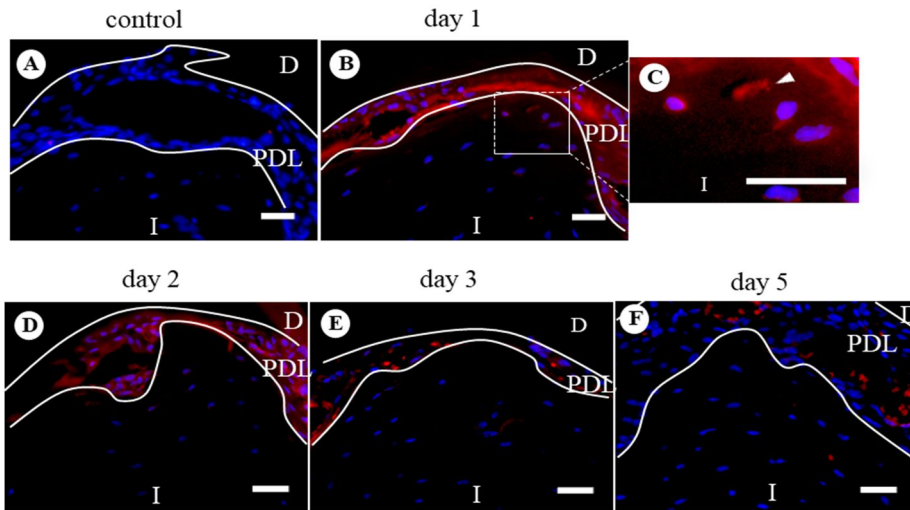
(2) RANKL 陽性細胞

0 , 1 , 2 , 3 , 5 日後の RANKL 陽性細胞を免疫染色で検出した。
歯根膜細胞、骨細胞ともに 1 日後より有意の陽性細胞が増加した。



(3) HMGB1 発現状態

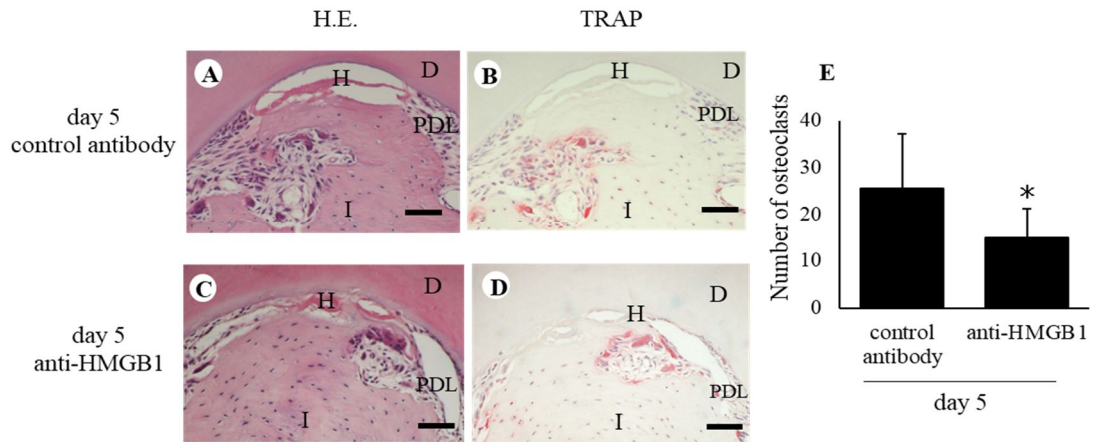
蛍光免疫染色により根分岐部の HMGB1 陽性細胞を検出した。1 , 2 日後の歯根膜細胞に強い陽性像が確認された。一部骨細胞にも陽性像が認められた。
赤色 : HMGB1 陽性像、青色 : DAPI(核を染色)



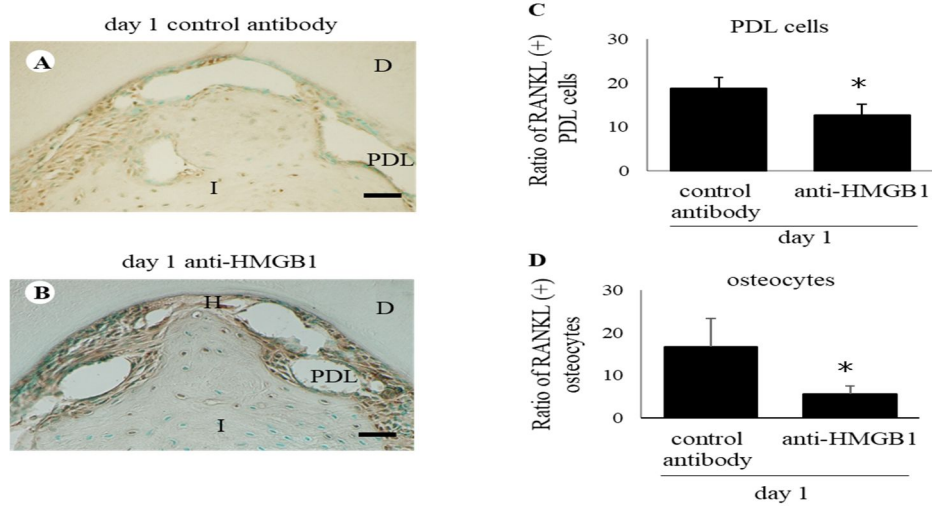
(4) 抗 HMGB1 抗体の影響

抗 HMGB1 抗体投与時の破骨細胞数と RANKL 陽性細胞の割合を調べた。

抗体投与により 5 日後の破骨細胞、1 日後の RANKL 陽性細胞ともに割合が有意に減少した。

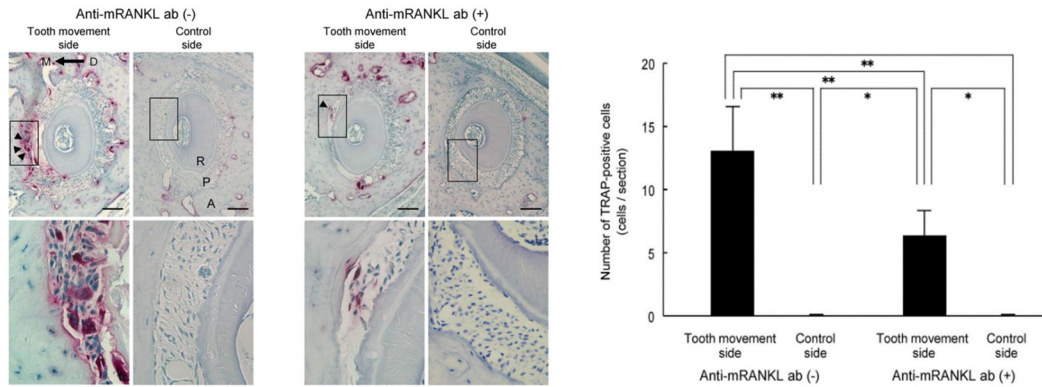


TRAP 陽性細胞：破骨細胞



(5) 矯正力付与後の破骨細胞の出現状態

矯正力付与 2 1 日後の圧迫側の骨吸収状態と破骨細胞の出現数の計測の結果、Tooth movement side において抗 RANKL 抗体非投与マウス (Anti-mRANKL ab(-)) では強い骨吸収と破骨細胞の出現が確認できたが、抗体投与マウス (Anti-mRANKL ab(+)) では硝子様変性は見られるものの破骨細胞の出現数は減少した。破骨細胞の計画状態は右図の通りで有意な差が認められた。



まとめ

外傷性咬合付与により根間中隔に破骨細胞が増加し、骨破壊が進行した。そして免疫組織学的に RANKL と HMGB1 の発現増加が確認された。また抗 HMGB1 抗体により HMGB1 の働きを抑制すると RANKL の発現や破骨細胞の出現が減少した。これらの結果から外傷性咬合によって HMGB1 が RANKL の発現が増加し、破骨細胞形成が促進されて骨破壊を起こしている可能性が示された。また、歯に矯正的外傷力付与した際に見られる骨吸収は、抗 RANKL 抗体投与により抑制されることも確認した。以上より歯に外傷力を付与した際には RANKL により破骨細胞形成や骨吸収が促進されるがこの RANKL の発現は HMGB1 によりコントロールされていることが示唆された。今後、外傷力による歯槽骨吸収をコントロールのために RANKL や HMGB1 の抑制薬の局所投与による効果的な骨吸収抑制方法を検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

〔学会発表〕 計0件

〔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	吉村 篤利 (YOSHIMURA ATSUTOSHI) (70253680)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・教授 (17301)	

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