

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：32650

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24156

研究課題名(和文) 歯髄組織を用いた破骨細胞前駆細胞のキャラクター解析

研究課題名(英文) Characterization of osteoclast progenitor cells using dental pulp tissue

研究代表者

西田 大輔(Nishida, Daisuke)

東京歯科大学・歯学部・PF

研究者番号：00843608

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：破歯細胞は、外傷によるダメージや、う蝕(虫歯)などにもない歯の内側(歯髄腔側)に出現し、歯を吸収する。この疾患を内部吸収というが、その発症メカニズムはよくわっていない。本研究において、ダメージを受けた歯の歯髄では、破歯細胞を誘導するランクル(RANKL)が上昇し、抑制に働くオステオプロテゲリン(OPG)が低下した。その結果、OPGに対するRANKLの量が多くなり、歯髄で破歯細胞形成が誘導されることが解明された。この時、前駆細胞には違いは認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、歯が内側から吸収される疾患である、内部吸収における破歯細胞の調節に、破歯細胞を誘導するランクル(RANKL)、抑制に働くオステオプロテゲリン(OPG)が重要であることが明らかとなったが、内部吸収の発症メカニズムは未だ明確ではなく、破歯細胞の分化機構の解明が、その予防および治療法の確立に繋がると期待される。

研究成果の概要(英文)：odontoclast appear on the inside of the tooth (pulp cavity side) due to damage caused by trauma or caries (cavity) and resorb the tooth. This disease is called internal absorption, but the mechanism of its onset is not well understood. In this study, in the pulp of damaged teeth, RANKL, which induces odontoclast, increased, and osteoprotegerin (OPG), which acts as a suppressor, decreased. As a result, it was clarified that the amount of RANKL relative to OPG increased and the odontoclast formation was induced. At this time, no difference was observed in the progenitor cells.

研究分野：口腔解剖学

キーワード：破歯細胞 内部吸収 歯髄

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

破骨細胞は、単球・マクロファージ系の前駆細胞が分化した多核の骨吸収細胞である。破骨細胞の形成は、破骨細胞分化因子である、receptor activator NF-kappa B ligand (RANKL) とそのデコイ受容体である、osteoprotegerin (OPG) の相対比によって厳密に調節されている。破骨細胞による骨吸収は継続的に行われ、骨芽細胞による骨形成と相まって、骨量の維持に寄与している。

一方、歯を構成する硬組織(エナメル質・象牙質・セメント質)を吸収する細胞は、破歯細胞と呼ばれる。歯は骨とは異なり、正常時では、一度形成されると吸収されることはないが、外傷などの炎症性環境では破歯細胞が誘導され、歯質の吸収が起こる。この時、歯の内側に存在する歯髄側の象牙質から起こる吸収を内部吸収という。正常な歯髄に破歯細胞は存在しないが、内部吸収において破歯細胞形成が誘導されるメカニズムはよくわかっていない。

2. 研究の目的

破歯細胞の特性と調節因子は、破骨細胞と同様であると考えられているが、歯髄の微小環境における RANKL/OPG の相対比が、破歯細胞分化の重要な調節因子であるかについては定かではない。そこで本研究は、OPG 欠損 (KO) マウスを用いて、歯髄組織の破歯細胞調節における OPG の役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 歯髄における破歯細胞調節因子の確認

破歯細胞調節因子である RANKL, OPG の歯髄における発現を、免疫染色、リアルタイム PCR を行い野生型マウスにて確認した。

(2) OPG 欠損マウスにおける歯髄の破歯細胞の確認

野生型、OPG 欠損マウスに破歯細胞染色 (TRAP 染色、カテプシン K) を行い、歯髄での破歯細胞を確認した。

(3) 外傷における破歯細胞の誘導の確認

野生型、OPG 欠損マウスに外傷を加え、破歯細胞染色 (TRAP 染色、カテプシン K) を行い、歯髄での破歯細胞を確認した。

(4) 外傷における破歯細胞前駆細胞の確認

野生型マウスに外傷を加え、破歯細胞前駆細胞のマーカーである F4/80, CSF1R の免疫染色を行い、破歯細胞前駆細胞を確認した。

(5) 外傷における破歯細胞調節因子の確認

野生型マウスに外傷を加え、破歯細胞調節因子である RANKL, OPG の発現を、免疫染色、リアルタイム PCR を行い確認した。

4. 研究成果

(1) 歯髄における破歯細胞調節因子の確認

野生型マウス歯髄における破骨細胞調節因子を確認したところ、正常時の歯髄組織では、RANKL、および OPG が検出され、OPG の発現は骨髄と比較して有意に高値を示した。このことから、歯髄では OPG が、破歯細胞形成を負に調節することが予想された。

(2) OPG 欠損マウスにおける歯髄の破歯細胞の確認

野生型、OPG 欠損マウスに破歯細胞染色 (TRAP 染色、カテプシン K) を行い、歯髄での破歯細胞を確認したところ、野生型、OPG 欠損ともに歯髄には、破歯細胞は認められなかった。正常時の歯髄では、OPG は破歯細胞細胞の抑制には関与しないことがわかった。

(3) 外傷における破歯細胞の誘導の確認

野生型、OPG 欠損マウスに外傷を加え、破歯細胞染色 (TRAP 染色、カテプシン K) を行い、歯髄での破歯細胞を確認したところ、野生型、OPG-KO マウス共に歯髄組織に破歯細胞を誘導したが、その数は OPG-KO マウスで顕著に増加した。

(4) 外傷における破歯細胞前駆細胞の確認

野生型マウスに外傷を加え、破歯細胞前駆細胞のマーカーである F4/80, CSF1R の免疫染色を行い、破歯細胞前駆細胞を確認したところ、F4/80, CSF1R 陽性細胞は外傷においても違いは認められなかった。

(5) 外傷における破歯細胞調節因子の確認

野生型マウスに外傷を加え、破歯細胞調節因子である RANKL, OPG の発現を確認したところ、RANKL の発現は、損傷を受けていないコントロールよりも有意に高く、OPG は低下傾向を示した。その結果、歯髄の RANKL/OPG の相対比は有意に増加した。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Daisuke Nishida, Atsushi Arai, Lijuan Zhao, Mengyu Yang, Yuko Nakamichi, Kanji Horibe, Akihiro Hosoya, Yasuhiro Kobayashi, Nobuyuki Udagawa, Toshihide Mizoguchi	4. 巻 11(1)
2. 論文標題 RANKL/OPG ratio regulates odontoclastogenesis in damaged dental pulp	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4575
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-84354-y.	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 0件）

1. 発表者名 西田 大輔
2. 発表標題 破歯/破骨細胞形成を負に制御する歯髄環境の解析
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西田 大輔
2. 発表標題 破歯/破骨細胞形成を負に制御する歯髄環境の解析
3. 学会等名 第5回日本骨免疫学会ウィンタースクール
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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