

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：32665
 研究種目：若手研究
 研究期間：2020～2023
 課題番号：20K18467
 研究課題名(和文) 歯根吸収発生におけるヘッジホッグシグナルと骨代謝関連シグナルのクロストークの検討

研究課題名(英文) Investigation of crosstalk between hedgehog and bone metabolism-related signalings in root resorption

研究代表者
 菊田 純 (KIKUTA, Jun)
 日本大学・松戸歯学部・専修医

研究者番号：10759632
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：In vivoにおいて矯正力を加えた結果、圧迫側歯根膜にはTGF- β 1、SHH、RANKL、IL-6陽性細胞の発現を認めた。

In vitroではcompression force(CF)及びHedgehogシグナル阻害剤を加えたhPDL cellsにおいて、CF4g群ではSHH、RANKL、IL-6の遺伝子発現の増大を認めた。CF1g群、CF4g+阻害剤群ではCF4g群と比較し、RANKL及びIL-6の遺伝子発現の減少が認められた。以上のことから、矯正学的歯の移動時における歯根吸収にTGF- β 1シグナル伝達及びHedgehogシグナル伝達が関与してい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、歯根吸収の発生には歯根膜における炎症性サイトカインの発現が関与していること、TGF- β 1とHedgehogシグナル伝達が炎症性サイトカインの発現を制御していることが明らかとなり、矯正学的歯の移動による歯根吸収の発生について新たな知見が得られた。

また以前の研究結果より、NotchシグナルやWntシグナルなどの骨代謝関連シグナルのクロストークが炎症性サイトカインの発現に関与していることが示唆されており、各シグナルの制御が歯根吸収の抑制に有効であることが証明できれば、将来的に歯根吸収の増悪に対する抑制薬を作製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)：In vivo study, rats were subjected to an orthodontic force of 10 or 50 g to induce a mesially tipping movement of the upper first molars. In the PDL tissue subjected to the orthodontic force, TGF- β 1, SHH, RANKL and IL-6-positive cells were observed.

In vitro study, weights were placed on human periodontal ligament cells (hPDL cells) as the optimal orthodontic force (CF 1g) group and the heavy orthodontic force (CF 4g) group that leads to root resorption. Expression of SHH, RANKL, IL-6 mRNA in the CF4g group were significantly increased compared with the control group. In the CF1g group and CF4g+Hedgehog inhibitor group, the expression of RANKL and IL-6 mRNA was significantly decreased compared with the CF4g group.

The result in this study suggest that orthodontic force induces root resorption via TGF- β 1 signaling and Hedgehog signaling.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：歯根吸収 歯根膜細胞 矯正力 TGF- β 1シグナル Hedgehogシグナル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

矯正歯科治療における偶発症の一つとして歯根吸収が存在する。歯根吸収は歯の移動に伴って歯根尖部に生じ、その程度の差はあれほとんどの症例で認められ、固定式矯正装置を使用した場合 2-5%の患者で根尖より 5mm 以上の歯根吸収が発生する事がわかっている。その予測は難しく、一旦進行してしまうと不可逆的で修復不可能であるため、歯根吸収の発生・進行を抑制する対策は矯正歯科医にとって急務である。当講座では、歯根吸収は矯正力における炎症プロセスに基づき、矯正力により骨吸収性サイトカインの産生が増大し、破歯細胞が誘導されることが歯根吸収の原因の一つであることを明らかにした¹⁾。また、hPDL cells における破骨細胞形成支持に Notch シグナル伝達が関与していることを報告した²⁾。さらに、強い矯正力を負荷し、歯根吸収を発生させたラットでは、Wnt5a 陽性細胞が歯根吸収窩に認められ、Wnt5a と Ror2 の Wnt シグナルが矯正学的歯の移動時に歯根吸収を誘導することを報告した³⁾。最近の研究から、hPDL cells における破骨細胞形成支持に TGF- β シグナルが関与していることが示唆されている⁴⁾。また、Hedgehog シグナルが腫瘍細胞の形成において、Notch、Wnt、TGF- β シグナルとクロストークを生じ、腫瘍形成プログラムを維持しているとの報告がある⁵⁾。歯根吸収を抑制するためには、hPDL cells における発生メカニズムの解明が必要である。そこで本研究では TGF- β シグナルと Hedgehog シグナル経路間のクロストークに着目し、矯正治療中に生じる歯根吸収の発生メカニズムについて検討した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、矯正治療による歯根吸収発生メカニズムを解明するために、歯根膜細胞と破骨前駆細胞におけるシグナル伝達、特に TGF- β 、Hedgehog シグナル経路間のクロストークに焦点を当て、矯正治療による歯根吸収発生メカニズムを解明するとともに、その抑制方法を検討することである。In vivo においては、ラットの実験的歯の移動において人為的に歯根吸収を惹起させ、歯根吸収部の歯根膜細胞と破骨前駆細胞における TGF- β 1、SHH、RANKL、IL-6 陽性細胞の発現について検討する。In vitro では、歯根膜線維芽細胞に圧迫刺激を加え、TGF- β 1、SHH、RANKL、IL-6 遺伝子・タンパク質の発現を観察する。さらに Hedgehog シグナル阻害因子を培地に添加し、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) ラットの上顎第一大臼歯 10g(至適矯正力)と 50g(強い矯正力)の矯正力にて牽引し、当該部の切片は H.E 染色、免疫組織科学染色にて TGF- β シグナル伝達、Hedgehog シグナル伝達関連陽性細胞の発現を検討する⁶⁾。
- (2) In vitro において、培養した hPDL cells に矯正力として 1g(至適矯正力: CF 1g 群)と 4g(強い矯正力: CF 4g 群)の compression force を加え、TGF- β 1、SHH、RANKL、IL-6 の遺伝子発現及びタンパク産生量を検討する^{7,8)}。
- (3) In vitro において、Hedgehog シグナル伝達阻害剤を培地に添加し、CF を作用させた群を CF+阻害剤群とし、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⁹⁾。

4 . 研究成果

In vivo ではラットの歯牙移動 7 日目の HE 染色にて 10g 群と比較して 50g 群 圧迫側歯根に歯根吸収が認められ、吸収した歯根表面に多核の TRAP 陽性細胞が認められた。また、免疫組織化学染色において、50g 群では圧迫側歯根膜に TGF- 1、SHH、RANKL、IL-6 陽性細胞の発現が認められた。 In vitro では hPDL cells において、CF4g 群で TGF- 1、SHH、RANKL、IL-6 の遺伝子・タンパク発現の増大が認められた。また、CF4g+Hedgehog 阻害剤群では RANKL、IL-6 の遺伝子発現の減少が認められた。このことから、矯正学的歯の移動時における歯根吸収に TGF- シグナル伝達と Hedgehog シグナル伝達が関与している可能性が推察された。

(引用文献)

- 1) Yamaguchi M, Aihara N, Kojima T, Kasai K. RANKL in compressed periodontal ligament cells from root resorption. *J Dent Res* 85:751-756, 2006.
- 2) Kikuta J, Yamaguchi M, Shimizu M, Yoshino T, Kasai K. Notch signaling induces root resorption via RANKL and IL-6 from hPDL cells. *J Dent Res.* 94:140-7, 2014.
- 3) Kikuta J, Hitomi Saito-Goto, Takehiro I, Mami S, Takuji H, Erika N, Kazutaka K. Wnt5a Stimulates Bone Resorption during Orthodontic Tooth Movement. *Int J Oral-Med Sci*, 17(3-4), 2019.
- 4) Itonaga I, Sabokbar A, Sun SG, Kudo O, Danks L, Ferguson D, Fujikawa Y, Athanasou NA. Transforming growth factor-beta induces osteoclast formation in the absence of RANKL. *Bone*, 34: 57-64, 2004.
- 5) Maria P, Sabrina Z, Francesca N, Saula C, Isabella S and Diana B. Wnt, Notch, and TGF- Pathways Impinge on Hedgehog Signaling Complexity: An Open Window on Cancer. *M. Front Genet*, 21:10, 2019.
- 6) Fujita S, Yamaguchi M, Utsunomiya T, Yamamoto H, Kasai K. Low-energy laser stimulates tooth movement velocity via expression of RANK and RANKL. *Orthod Craniofac Res.* 11:143-55, 2008.
- 7) Asano M, Yamaguchi M, Nakajima R, Fujita S, Utsunomiya T, Yamamoto H, Kasai K. IL-8 and MCP-1 induced by excessive orthodontic force mediates odontoclastogenesis in periodontal tissues. *Oral Dis* 17:489-498, 2011.
- 8) 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): 207-219, 2012.
- 9) Yamaguchi M, Ozawa Y, Nogimura A, Aihara N, Kojima T, Hirayama Y, Kasai K. Cathepsins B and L increased during response of periodontal ligament cells to mechanical stress in vitro. *Connect Tissue Res.* 45:181-189, 2004.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamashita Erika, Negishi Shinichi, Kikuta Jun, Shimizu Mami, Senpuku Hidenobu	4. 巻 12
2. 論文標題 Effects of Improper Mechanical Force on the Production of Sonic Hedgehog, RANKL, and IL-6 in Human Periodontal Ligament Cells In Vitro	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Dentistry Journal	6. 最初と最後の頁 108 ~ 108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/dj12040108	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Senpuku Hidenobu, Yoshimura Kazuhisa, Takai Hideki, Maruoka Yutaka, Yamashita Erika, Tominaga Akira, Ogata Yorimasa	4. 巻 12
2. 論文標題 Role of Macrophage Colony-Stimulating Factor for Staphylococcal Infection in the Oral Cavity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 5825 ~ 5825
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm12185825	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ueda M, Hikida T, Shimizu M, Kikuta J, Takagi K, Tsukada M, Yamaguchi M.	4. 巻 9(2)
2. 論文標題 Involvement of interleukins-17 and -34 in exacerbated orthodontic root resorption by jiggling force during rat experimental tooth movement.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the world federation of orthodontists	6. 最初と最後の頁 47-55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwane T, Kikuta J.	4. 巻 3-4
2. 論文標題 Notch Signaling Response to Heavy Compression Force Induces Orthodontic Root Resorption via RANKL and IL-6 from Cementoblasts.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Oral- Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 287-295
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5466/ijoms.18.287	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kikuta J, Tsukada M, Takagi K, Shimizu M, Hikida T, Nakayama E, Kasai K.	4. 巻 3
2. 論文標題 TGF- 1 Stimulates Bone Resorption during Orthodontic Tooth Movement.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Oral- Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 193-199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5466/ijoms.19.193	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsukada M, Kikuta J, Shimizu M, Hikida T, Nakayama E, Iwane T, Kasai K.	4. 巻 4
2. 論文標題 TGF- 1 induces orthodontic root resorption through RANKL and IL-6 production in hPDL cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Oral- Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 278-287
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5466/ijoms.19.278	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ueda M, Hikida T, Shimizu M, Kikuta J, Takagi K, Tsukada M, Yamaguchi M.	4. 巻 9
2. 論文標題 Involvement of interleukins-17 and -34 in exacerbated orthodontic root resorption by jiggling force during rat experimental tooth movement.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the world federation of orthodontists	6. 最初と最後の頁 47-55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejwf.2020.04.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山下えりか、菊田純、清水真美、泉福英信、根岸慎一
2. 発表標題 矯正歯科治療中に生じる歯根吸収とHedgehogシグナルの関連性についての検討
3. 学会等名 第82回日本矯正歯科学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Erika Yamashita, Jun Kikuta, Mami Shimizu, Hidenobu Senpuku, Shinichi Negishi
2. 発表標題 Observation of the relationship between root resorption and Hedgehog signaling that occurs during orthodontic treatment
3. 学会等名 52th Annual Meeting & Exhibition of the AADOCR, 47th Annual Meeting of the CADR
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山下えりか、菊田純、清水真美、泉福英信、根岸慎一
2. 発表標題 矯正歯科治療中に生じる歯根吸収とHedgehogシグナルの関連性についての検討
3. 学会等名 第81回日本矯正歯科学会学術大会 & 第9回日韓ジョイントシンポジウム 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 船崎紅緒、清水真美、菊田純、疋田拓史、根岸慎一
2. 発表標題 歯科矯正治療中に生じる歯根吸収におけるセメント芽細胞のアポトーシスとWntシグナルの関連について
3. 学会等名 第81回日本矯正歯科学会学術大会 & 第9回日韓ジョイントシンポジウム 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉森匡、山口大、菊田純、清水真美、根岸慎一
2. 発表標題 Micro-osteoperforationsは歯根吸収の進行を増悪せずに矯正学的歯の移動速度を促進させる
3. 学会等名 第81回日本矯正歯科学会学術大会 & 第9回日韓ジョイントシンポジウム 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Erika Yamashita, Jun Kikuta, Mami Shimizu, Hidenobu Senpuku, Shinichi Negishi
2. 発表標題 Observation of the relationship between root resorption and Hedgehog signaling that occurs during orthodontic treatment
3. 学会等名 AAODOCR/CADR Annual Meeting & Exhibition2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Michiko Tsukada, Jun Kikuta, Takuji Hikida, Kazutaka Kasai
2. 発表標題 TGF- signaling induces orthodontic root resorption from hPDL cells
3. 学会等名 The 9th International Orthodontic Congress,
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
---------	---------