

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17155

研究課題名（和文）矯正力に誘導される破歯細胞の供給ならびに分化成熟動態の解明

研究課題名（英文）Elucidating the supply and differentiation maturation kinetics of odontoblast induced by orthodontic force

研究代表者

水越 優（Mizukoshi, Masaru）

新潟大学・歯学総合病院・医員

研究者番号：20882731

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、過剰な矯正力によって歯根表面に生じた破歯細胞を光変換型蛍光マウスによる細胞追跡法と分化マーカーの発現を解析することにより、破歯細胞の由来と分化成熟過程を明らかにすることを目的とした。使用する光変換型蛍光マウスは購入時にヘテロ個体であったため、より強い蛍光強度を得るためにホモ個体で系統維持させるよう繁殖を行った。マウス口腔内に青紫光を照射し歯根膜細胞の蛍光色の変換を試みた。光源から近い表層部の細胞は変換されたが、光源から離れた歯根尖付近の細胞は一部変換されなかった。現在照射条件の検討を継続している段階である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯根吸収は矯正歯の移動に際しておきる偶発症として代表的なもののひとつであり、発症メカニズムの解明と予防法の確立が急務である。歯根吸収を生じさせる破歯細胞は、破骨細胞と同様に造血幹細胞に由来すると考えられているが、細胞の由来と分化成熟についての基礎的情報は極めて乏しい。さらなる研究が必要であるが、破骨細胞と破歯細胞の類似性/相違点を明らかにすることは、歯根吸収を回避するための方法の探索へと繋がる。期待される研究成果は細胞生物学的エビデンスに基づく矯正歯科学の臨床術式の確立へとつながる研究である。

研究成果の概要（英文）： This study aimed to elucidate the origin and differentiation/maturation process of odontoclast generated on the root surface by excessive orthodontic force by cell tracking method using light-converting fluorescent mice and by analyzing the expression of differentiation markers. The obtained fluorescence-expressing mice were heterozygous at the time of purchase, so they were bred to be homozygous to obtain stronger fluorescence intensity. We attempted to convert the fluorescent color of periodontal ligament cells by irradiating blue-violet light into the oral cavity of the mice. The cells on the surface near the light source were fully converted, but those near the apex of the root were insufficient. We are currently optimizing the irradiation conditions.

研究分野：細胞組織学

キーワード：歯根膜 矯正歯の移動 破歯細胞 歯根吸収

1. 研究開始当初の背景

矯正歯科治療の偶発症としての歯根吸収

歯根膜は歯と歯槽骨を結合する線維性結合組織であり、多様な細胞成分を含んでいる。歯根膜は咬合機能に重要な役割をもつだけでなく、力学的刺激に対し鋭敏に反応する細胞特性により、矯正歯の移動を可能としている。歯根膜の圧迫側における破骨細胞の誘導と骨の吸収は矯正歯の移動の第一段階であるが、偶発症として歯根吸収が起きることがある。その原因として、力の強さや方向、遺伝的要因、喘息などのアレルギー疾患など様々な要因が関連しているとされる(Nishioka et al. 2006)がその発症メカニズムは未だ不明な点が多い。

破骨細胞/破歯細胞は血行性に供給される

骨改造に寄与する破骨細胞は造血幹細胞に由来することから、矯正力によって誘導される歯根膜の破骨細胞についても同様に血行性に供給されると考えられている。実際に、矯正力により血行性の細胞が歯根膜に誘導されること(Tomida et al. 2013)、また歯根膜中の血行性細胞の一部は破骨細胞であること(Kaku et al. 2017)、血行性細胞の誘導因子の一つである SDF-1/CXCL12 の阻害剤の投与により、矯正力によって歯根膜に生じる破骨細胞数が減少し、歯の移動量が低下することが報告されている(Hatano et al. 2018) (Rintanalert et al. 2024)。我々の予備実験の結果においても歯根膜には遠隔骨髄由来の破骨細胞が存在する。一方、歯根吸収を生じさせる破歯細胞についての基礎的情報は著しく乏しいが、破骨細胞と同様の硬組織分解能を持ち、形態的にも類似していることから、破骨細胞と同じく血行性に誘導されると考えられている。しかしながら歯根吸収を惹起する条件下において、破歯細胞がどのように根面に誘導され、どのような成熟過程をえているのか、また、破骨細胞とは異なるのか、その時空間的な細胞動態と細胞特性の詳細は依然として明らかではない。

そこで本研究では、過剰な矯正力により血行性に歯根膜へと誘導される細胞の追跡と、破歯細胞に特有な遺伝子発現パターンを解析することにより、矯正歯科治療の偶発症として問題となる根面吸収の抑制を可能とする知見が得られるのではないかと着想した。

2. 研究の目的

本研究では、細胞追跡法を用いて過剰な矯正力によって歯根膜に誘導される破歯細胞の供給/分化成熟動態を、網羅的遺伝子発現解析により破骨細胞と破歯細胞の遺伝子発現パターンの差異を、それぞれ明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

矯正力により歯根膜に誘導される破歯細胞の供給/分化成熟動態の解析

青紫光照射により緑色から赤色に変化する光変換型蛍光色素 (kikGR) を全身に発現する kikGR マウス (Tsutsui et al. 2005)を用いた細胞追跡法と、分化マーカーによる解析により、過剰な矯正力によって歯根表面に出現する破歯細胞が、歯根膜に定着した前駆細胞が成熟しているのか、または血行性の前駆細胞が新たに誘導されているのかを明らかにする。

矯正力に誘導される破骨細胞と破歯細胞の遺伝子発現パターンの差異を明らかにする

破歯細胞と破骨細胞を分別して網羅的遺伝子解析を行い、破骨細胞に対する破歯細胞の特異性を明らかにする。

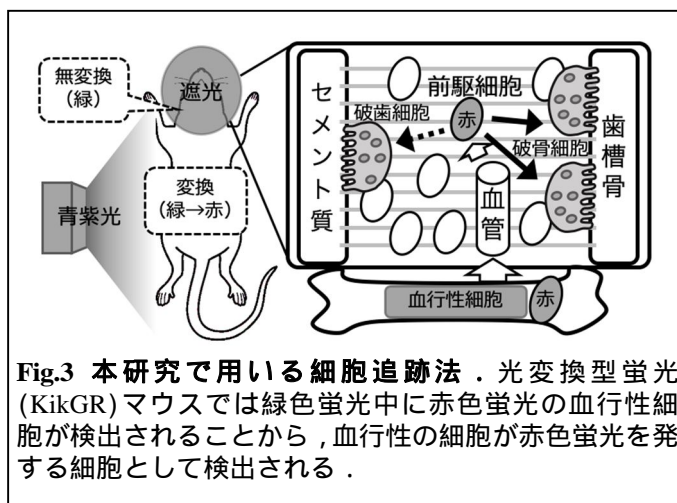


Fig.3 本研究で用いる細胞追跡法。光変換型蛍光 (KikGR) マウスでは緑色蛍光中に赤色蛍光の血行性細胞が検出されることから、血行性の細胞が赤色蛍光を発する細胞として検出される。

4 . 研究成果

kikGR マウス

購入した kikGR マウスはヘテロ個体であったため、安定して個体数を確保できるようホモ個体で系統維持することとし、繁殖を行なった。Wild type マウスと比較し妊娠しにくく、1回の出産数も少なかったためここで多くの期間を使う必要が生じた。

kikGR マウスを用いた光変換

kikGR マウスは青紫光を照射した部位のみ蛍光色素が変化するため、頭部以外の全身を遮光し口腔内に照射することで限定的に光変換を行い、歯根膜細胞が赤色蛍光を発する条件を探索した。当初は Fig.3 に示すように頭部のみ遮光して全身の細胞を光変換する予定であったが、光照射器の照射範囲が小さかったことと、成体マウスでは深部まで光が到達しなかったため変更した。

口腔内への青紫光照射時間を 1, 3, 10 分で行い細胞の蛍光変換についてそれぞれ観察した。1分では光源に近い歯冠側の細胞に赤色蛍光を認め、根尖に向かって徐々に緑色蛍光の割合が増加した。3分ではより根尖側まで赤色蛍光の割合が増加した。10分照射では根尖付近までほぼすべての細胞が赤色蛍光を示した (Fig.4)。今回の解析では屠殺後のマウスを使用したため、今後は青紫色光が細胞死に及ぼす影響についての検討も必要である。

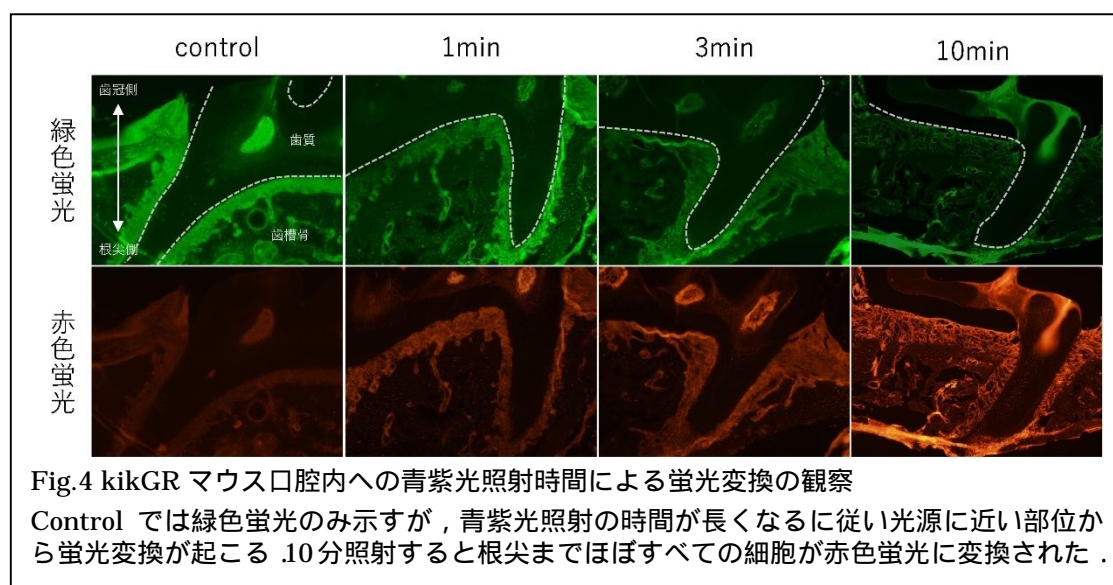


Fig.4 kikGR マウス口腔内への青紫光照射時間による蛍光変換の観察

Control では緑色蛍光のみですが、青紫光照射の時間が長くなるに従い光源に近い部位から蛍光変換が起こる。10分照射すると根尖までほぼすべての細胞が赤色蛍光に変換された。

今後さらなる研究が必要であるが、本研究はジェネティックな細胞標識法と細胞追跡により、血行性の破歯細胞の高精度な検出を可能とするだけでなく、網羅的遺伝子発現解析により破骨細胞と破歯細胞の違いを明らかにしようとするものであり、独自性と新規性が非常に高い。全身的な破骨/破歯細胞の誘導は、矯正歯科治療のリスクファクターとしての全身的状态を理解する基礎的情報として重要であると考えられる。

参考文献

- Hatano K, Ishida Y, Yamaguchi H, Hosomichi J, Suzuki J-i, Usumi-Fujita R, Shimizu Y, Shibutani N, Kaneko S, Ono T. 2018. The chemokine receptor type 4 antagonist, amd3100, interrupts experimental tooth movement in rats. *Arch Oral Biol.* 86:35-39.
- Kaku M, Kitami M, Rosales Rocabado JM, Ida T, Akiba Y, Uoshima K. 2017. Recruitment of bone marrow-derived cells to the periodontal ligament via the stromal cell-derived factor-1/c-x-c chemokine receptor type 4 axis. *J Periodontal Res.* 52(4):686-694.
- Nishioka M, Ioi H, Nakata S, Nakasima A, Counts A. 2006. Root resorption and immune system factors in the Japanese. *Angle Orthod.* 76(1):103-108.
- Rintanalert D, Ishida Y, Huang AC-s, Hatano-sato K, Li K, Chantarawatit P-o, Usumi-fujita R, Hosomichi J, Ono T. 2024. Sdf-1 involvement in orthodontic tooth movement after tooth extraction. *Sci Rep.* 14(1):5048.
- Tomida M, Tsujigiwa H, Nakano K, Muraoka R, Nakamura T, Okafuji N, Nagatsuka H,

Kawakami T. 2013. Promotion of transplanted bone marrow-derived cell migration into the periodontal tissues due to orthodontic mechanical stress. *Int J Med Sci.* 10(10):1321-1326.

Tsutsui H, Karasawa S, Shimizu H, Nukina N, Miyawaki A. 2005. Semi-rational engineering of a coral fluorescent protein into an efficient highlighter. *EMBO Rep.* 6(3):233-238.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0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
--	---------------------------	-----------------------	----

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