

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 14 日現在

機関番号：32710
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2010 ～ 2011
 課題番号：22792072
 研究課題名（和文）歯の移動を行った圧迫側歯根膜細胞から発現する新たな化骨細胞分化調整因子の解明
 研究課題名（英文）The elucidation of the new osteoclast differentiation factor revealed from the pressure zone of periodontal ligament cells during tooth movement
 研究代表者 新井 千博 (ARAI CHIHIRO)
 鶴見大学・歯学部・助教
 研究者番号：10460221

研究成果の概要（和文）：

矯正力により歯を移動した際の圧迫側歯根膜に発現する遺伝子を経時的に解析したところ、初期の圧迫側歯根膜領域に Heat Shock Protein A1A (HSPA1A)の発現が著しく増加することが明らかになった。このことは、圧迫や酸欠などのストレスに対して歯根膜細胞を保護し、恒常性を維持するだけでなく、その後にかかる変性と炎症にも HSPA1A が関与する可能性を示唆するものである。

研究成果の概要（英文）：

Gene expression of the pressure zone of periodontal ligament cells (PDL) during orthodontic tooth movement *in vivo* was observed. Heat shock protein A1A (HSPA1A) in the pressure zone of the PDL was higher during 6 h of tooth movement than that in the control group. These results strongly suggest that expression of HSPA1A in the PDL during the early stage of tooth movement is a critical factor for tissue reaction.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

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：歯科矯正学・歯の移動・Heat Shock Protein

1. 研究開始当初の背景

矯正的に歯を移動した際の圧迫側歯根膜細胞は、移動開始直後に分子レベルで様々な

変化が生じることが推察されるが、詳細については不明である。我々は過去にレーザーマ

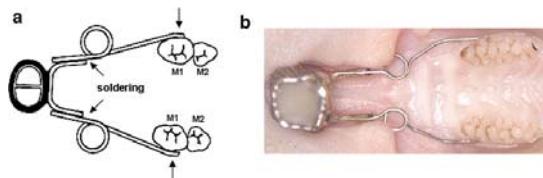
マイクロディセクションを用いて、ラット臼歯凍結切片から歯根膜細胞だけを取り出し、mRNA レベルで発現遺伝子を解析できることを報告した。次に、矯正的に歯の移動を行った圧迫側歯根膜細胞の発現遺伝子を同様の手法とマイクロアレイにより網羅的に解析した結果、歯の移動開始早期に Heat shock protein (HSPs) の発現に大きな変化が生じる所見を得た。

2. 研究の目的

熱ショックタンパク質 (HSPs) は分子シャペロンとして機能し、熱刺激や酸欠など様々なストレスから細胞を保護し、恒常性を維持するタンパク質である。歯に持続的な矯正力を負荷すると、圧迫側の歯根膜は歯の移動に伴い虚血状態に陥ることが考えられている。したがって、この領域でも当然 HSPs の関与が考えられるが、これまで *in vivo* において検討された研究はない。そこで、ラット圧迫側歯根膜領域における HSPs 発現について詳細な検討を行った。

3. 研究の方法

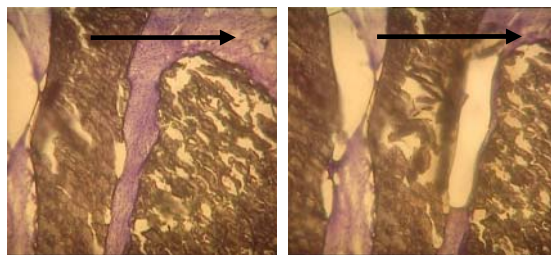
12週齢 Wistar 系雄性ラット (n=24) を使用。実験群は歯の移動 6 時間、24 時間、5 日の 3 群に分けた。歯の移動は、上顎臼歯を口蓋側方向に約 10g の力で移動した (図 1)。



(図 1a. 装置の模式図 b. 口腔内写真)

すべての検討は非脱灰凍結切片を使用した。形態観察はトルイジンブルー染色にて、発現遺伝子の解析は Laser microdissection により採取した組織 (図 2) から RNA を抽出

し、マイクロアレイおよび real-time RT-PCR にて行った。また、免疫染色によりタンパクレベルで解析を行った。



(図 2. a. 圧迫側歯根膜領域 b. レーザーにて歯根膜採取後 R: 歯根 B: 歯槽骨 矢印: 移動方向)

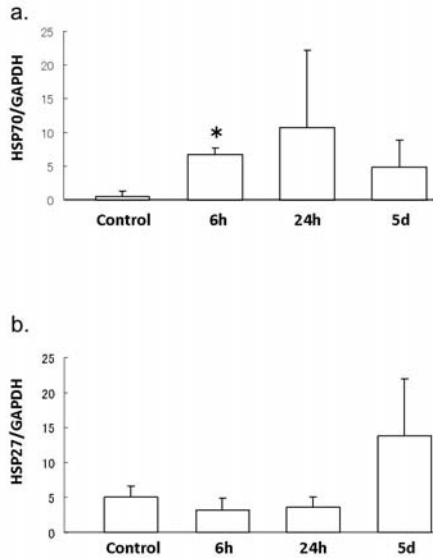
4. 研究成果

マイクロアレイ解析により、17 の HSPs の発現量を経時的に解析したところ、HSPB1 (HSP27) と HSPA1A (HSP70) の発現が歯の移動開始 6 時間後に増加する傾向が認められた

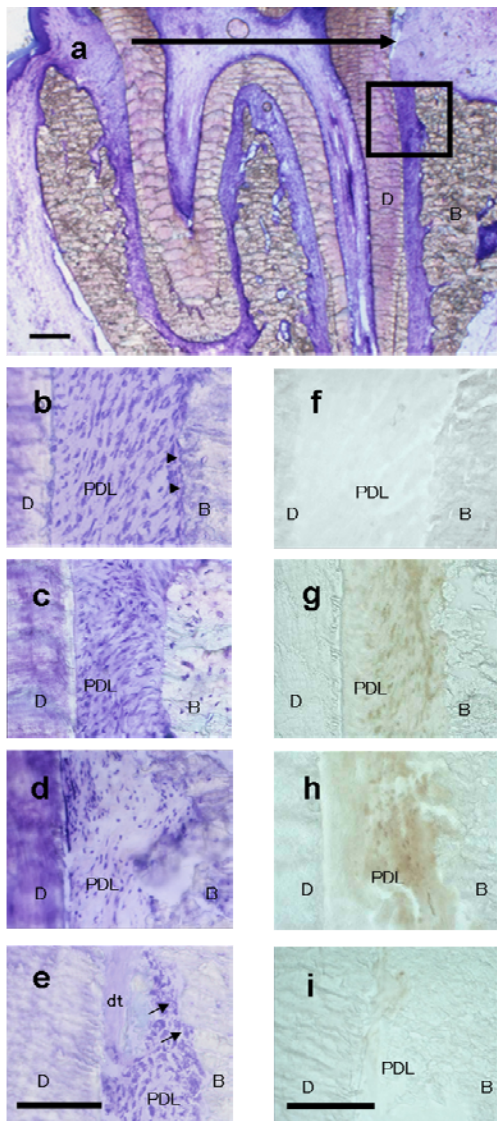
(表)。次に real-time RT-PCR を用いて mRNA 発現量を詳細に検討したところ、HSPA1AmRNA 発現量が歯の移動開始 6 時間後に有意に増加した。一方、HSPB1mRNA 発現量は歯の移動開始 5 日後に増加する傾向が見られたが、有意差は認められなかった (図 3)。

Genes	6 hr	24 hr	5 days	Accessions
Hspa1a	29.12	1034	1.17	NM_031971
Hspa1b	0.85	0.86	0.95	NM_212504
Hspa14	1.26	0.74	1.74	NM_001004257
Hspa5bp1	1.53	1.14	0.43	NM_178021
Hspa5	1.03	7.87	1.38	NM_013083
Hspa2	1.38	7.85	3.57	NM_021863
Hspb1	0.36	0.72	0.32	NM_139261
Hspcb	1.27	3.28	1.00	NM_001004082
Hspb1	5.93	3.20	1.00	NM_031970
Hspb2	1.23	1.18	0.98	NM_130431
Hspb3	0.83	0.84	0.99	NM_031750
Hspb8	1.11	1.52	1.00	NM_053612
Hspe1	0.82	1.98	1.92	NM_012966
Hspbap1	1.31	1.75	1.18	NM_134419
Hspca	0.97	3.14	0.89	NM_175761
Hspe8	1.36	2.90	0.93	NM_024351
Hspb6	1.08	0.36	0.97	NM_138887

(表)



(図 3. a. HSPA1A mRNA 発現量 b. HSP27 mRNA 発現量 *:p<.005)



[図 4. トルイジンブルー染色(a-e)HSPA1A 免疫染色(f-i)を行った歯根膜 a: 歯の移動 6 時間後の全体像, 矢印は歯の移動方向, □は観察部位 (bar= 100µm) b: 対照群 c: 6h d: 24h e: 5days f: 対照群 g: 6h h: 24h i: 5days 象牙質 (D), 歯根膜 (PDL), 歯槽骨 (B), bar=50µm]

歯の移動開始 6 時間後の圧迫側歯頸部領域の歯根膜は明らかに圧縮された所見が認められた(図 4c)。24 時間後には同部位の一部に無細胞様の所見が認められ、5 日後には穿下性骨吸収が認められた(図 4 d. e)。また、免疫染色の結果も同様に、HSPA1A の発現が歯の移動開始 6 時間後、24 時間後の圧迫側歯根膜に強く認められた(図 4 g. h)。

以上より、歯の移動開始初期では、移動により生じる歯根膜腔の狭窄による歯根膜細胞の圧迫や酸欠などのストレスに対して HSPA1A が歯根膜細胞を保護し、恒常性を維持する反応が生じている可能性が示唆された。

また近年では、HSPA1A が破骨細胞の分化誘導に深くかかわる因子の調整に関与していることが報告されていることから、圧迫側歯根膜で、その後に起こる変性と炎症にも HSPA1A が関与する可能性が示唆される。したがって、現在は HSPA1A の破骨細胞分化への影響について検討中である。

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 6 件)

以下、すべての論文で査読有

1. Noda K, Arai C, Nakamura Y.

Root resorption after experimental tooth movement using superelastic forces in the rat

Eur J Orthod. 2010 Dec;32(6):681-7.

2. **Arai C** · Nomura Y · Ishikawa M · Noda K
Choi J W · Yashiro Y · Hanada N · Nakamura Y.
HSPA1A is upregulated in periodontal
ligament at early stage of tooth movement
in rats. Histochem Cell Biol. 2010 Oct;
134(4):337-343.
3. Oikawa T, Nomura Y, **Arai C**, Noda K,
Hanada N and Nakamura Y.
Mechanism of active eruption of molars
in adolescent rats. Eur J Orthod. 2011
Jun; 33(3):221-227
4. Baba S, Kuroda N, **Arai C**, Nakamura Y,
Sato T.
Immunocompetent cells and cytokine
expression in the rat periodontal
ligament at the initial stage of
orthodontic tooth movement. Arch Oral
Biol. 2011 May;56(5):466-473
5. Choi J W, **Arai C**, Ishikawa M, Shimoda
S, Nakamura Y.
Fiber system degradation, and periostin
and connective tissue growth factor
level reduction, in the periodontal
ligament of teeth in the absence of
masticatory load.
J Periodontal Res. 2011 October;
46(5):513-521

[学会発表] (計 11 件)

1. 新井千博、野村義明、野田晃司、石川
美佐緒、崔齊原、八城祐一、花田信弘、
中村芳樹
圧迫側歯根膜に発現する熱ショックタン
パク質について
第 69 回日本矯正歯科学会学術大会、2010
横浜
2. **C.Arai**, Y.Nomura, M.Ishikawa,
J-W.Choi, K.Noda, S.Imai, N.Hanada,
Y.Nakamura
HSP70 is Highly Expressed in PDL
During the Tooth Movement.

88th General Session & Exhibition of the IADR 2010 Barcelona

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新井 千博 (ARAI CHIHIRO)

鶴見大学・歯学部・助教

研究者番号: 10460221

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

無し