

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21054

研究課題名（和文）転写制御因子Mkxの歯科矯正学的な歯の移動における機能の解明

研究課題名（英文）Function of the transcription regulator Mlx in orthodontic tooth movement.

研究代表者

宮崎 貴行（Miyazaki, Takayuki）

東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・特任助教

研究者番号：60964971

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）：歯根膜は歯科矯正学的な歯の移動に重要な役割を果たしているが、その分子メカニズムはいまだ不明である。我々はこれまでに、CRISPR / Cas9システムを用いて作製されたMlx欠失ラットを用いて、歯根膜に特異的な転写因子であるMohawk homeobox（Mlx）がRANKLや破骨細胞分化の誘導を介して、歯科矯正力を介した歯の移動におけるメカノセンサとして機能している可能性を報告してきた。本研究では、多様な細胞から構成される歯根膜の複雑性、組織に関わる遺伝子間の関係性を明らかにするため、シングルセル解析を行い、Mlxがメカニカルストレスによる骨改造に及ぼす作用を解明することを目的とした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Mlxのにおける恒常性維持、骨リモデリングへの作用を解明することは、歯科矯正学的な歯の移動が阻害される骨性癒着などの歯根膜の病的状態に対する新たな治療法への新領域開発の礎となると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The periodontal ligament plays an important role in orthodontic tooth movement, but its molecular mechanism is still unknown. We have previously reported that Mohawk homeobox (Mlx), a transcription factor specific to the periodontal ligament, may function as a mechanosensor in orthodontic force-mediated tooth movement via induction of RANKL and osteoclast differentiation, using Mlx deletion rats generated with the CRISPR / Cas9 system. We have reported the possibility that Mlx functions as a mechanosensor in tooth movement via induction of RANKL and osteoclast differentiation. In this study, we aimed to elucidate the complexity of the periodontal ligament, which is composed of diverse cells, and the relationships among genes involved in the organization, and to elucidate the effects of Mlx on mechanical stress-induced bone remodeling by single cell analysis.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：シングルセル解析 OTM PDL Mohawk homeobox Mlx

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

歯根膜は歯科矯正学的な歯の移動に重要な役割を果たしているが、その分子メカニズムはいまだ不明である。我々はこれまでに、腱に特異的な転写因子である *Mohawk homeobox* (*Mkx*) が PDL に発現し、骨形成関連遺伝子を制御することで、歯根膜の石灰化を抑制し、歯根膜の恒常性に関与していることを報告してきた。さらに CRISPR / Cas9 システムを用いて作製された *Mkx* 欠失ラットを用いた歯の移動実験により *Mkx* が RANKL や破骨細胞分化の誘導を介して、歯科矯正力を介した歯の移動におけるメカノセンサとして機能している可能性を世界に先駆けて報告してきたが、未だその分子メカニズムの詳細については不明な部分が多い。

## 2. 研究の目的

*Mkx* 欠失ラットに歯科矯正学的な歯の移動を行い、多様な細胞から構成される歯根膜の複雑性、組織に関わる遺伝子間の関係性を明らかにするため、シングルセル解析を行い、*Mkx* がメカニカルストレスによる骨改造に及ぼす作用を解明することを目的とする。本研究で得られた知見は、歯科矯正学的な歯の移動が阻害される骨性癒着などの歯根膜の病的状態に対する新たな治療法への応用につながるものと考えられる。

## 3. 研究の方法

本研究は研究期間を2年間とし、*Mkx* 欠失ラット及び野生型ラットの第一臼歯の近心移動を行い、PDL 組織を採取する。その後シングルセル解析を行い検討する。

### 【OTM 及び PDL 組織の採取】

6週齢雄性 *Mkx* 欠失ラット (n=12) と野生型 Wistar ラット (n=12) を上顎切歯と上顎右側第一臼歯を歯科矯正治療用コイルスプリングで固定し 25 gf の力で第一臼歯を近心方向へ 14 日間移動する。その後、第一臼歯を摘出し、コラゲナーゼ、トリプシンを含む無血清ダルベッコ改変イーグル培地中に 37℃ で 1 時間解離させ PDL 組織を抽出する。

### 【シングルセル解析】

抽出した PDL 組織を FACS を用いて生細胞のみソーティングする。GEM を作製し、ライブラリーを構築後、NextSeq1000 システムを用いて 2 × 150 bp リードで配列決定し、サンプルあたり 4~8 億リードを生成し、データ解析を行う。

## 4. 研究成果

野生型ラットを用いて、歯科矯正学的な歯の移動実験モデルの再検討と、野生型ラットから歯根膜細胞の採取、シングルセル解析にあたっての条件検討を行った。また、野生型ラットを用いて、歯科矯正学的な歯の移動を行い、*Mkx* と相互作用が予測されるシ

グナル伝達機構に関わる転写因子の歯根膜における発現を免疫組織化学的染色を行い解析をおこなった。今後本実験に移行し、多様な細胞から構成される歯根膜の複雑性、組織に関わる遺伝子間の関係性を明らかにしていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 有方伸太郎、辻美千子、宮崎貴行、小林起穂、森山啓司
2. 発表標題 出生時Pierre Robin syndromeと診断され、後にStickler syndromeと判明した矯正歯科治療症例
3. 学会等名 第63回日本先天異常学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮崎貴行、辻美千子、有方伸太郎、小林起穂、森山啓司
2. 発表標題 矯正歯科治療を行ったStickler症候群患者2症例の咬合・顎関節の長期経過 Long-term follow-up of occlusion and temporomandibular joints of two orthodontic cases with Stickler syndrome
3. 学会等名 第82回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 林良樹、小笠原毅、宮崎貴行、石関柚希、別府葵、辻美千子、森山啓司
2. 発表標題 当科を受診した色素失調症2症例の矯正歯科的臨床所見について Maxillofacial characteristics of two cases with incontinentia pigmenti from orthodontic viewpoints
3. 学会等名 第82回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石関柚希、小笠原毅、宮崎貴行、林良樹、別府葵、辻美千子、森山啓司
2. 発表標題 当院矯正歯科を受診した症候性部分無歯症患者の臨床的特徴 Clinical characteristics of orthodontic patients with syndromic oligodontia in our hospital
3. 学会等名 第82回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2023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
---------	---------