

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23792213

研究課題名(和文)メカノレセプターとしてのプライマリー・シリアによる歯根膜維持機構

研究課題名(英文)Mechanoregulation of periodontal ligament homeostasis by primary cilia

研究代表者

加来 咲子(Kaku, sakiko)

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号：60584589

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：機械的刺激が歯根膜組織の維持機構に大きく寄与していることは歯科臨床の場に於いて、過剰な咬合力は歯根膜腔の拡大に始まる歯周組織の崩壊を惹起するばかりでなく、矯正力によって歯の移動が可能な事からも明らかである。本研究では歯根膜におけるプライマリー・シリアの発現および機械的刺激に対する応答を解析した。歯根膜中には、anti-acetylated tubulinによって染色されるプライマリー・シリアが部位特異的に観察され、その出現率は過剰咬合の付与によって変化した。

研究成果の概要(英文)：It is evident that mechanical stress contributes the tissue homeostasis of periodontal ligament (PDL). In this study, we explore the distribution and mechanoresponse of primary cilia, a possible mechanosensor in PDL. The anti-acetylated tubulin positive primary cilia were detected in PDL. The primary cilia was preferentially distributed at the cementum side of PDL. The excessive occlusal loading condition increased the number of primary cilia. These results indicate that the preferential distribution of primary cilia may contribute the site specific mechanoresponse of the PDL.

研究分野：歯学

科研費の分科・細目：補綴・理工系歯学

キーワード：歯根膜 メカニカルストレス プライマリー・シリア

1. 研究開始当初の背景

機械的刺激が歯根膜組織の維持機構に大きく寄与していることは議論を待たない。歯科臨床の場に於いて、過剰な咬合力は歯根膜腔の拡大に始まる歯周組織の崩壊を惹起するばかりでなく、咬合の負荷を喪失した歯根膜が廃用性萎縮を起こすことや、矯正力によって歯の移動が可能な事実はその代表的な例である。外界からの物理的变化を検知する細胞におけるメカノ・レセプター（機械的刺激感受器官）としては、(1)細胞自身の歪みを感じるアクチン・フィラメントを介するもの、(2)細胞外基質の歪みを細胞内へと伝達するインテグリンを介するもの、(3)細胞内カルシウムイオン濃度を制御するカルシウム・チャネルを介するもの等がこれまでに提唱されてきた。外界からの機械的刺激はこのメカノ・レセプターによって各種細胞内シグナルに置換され、特異的な遺伝子発現が惹起されることによって、組織の恒常性は保たれていると考えられている。

プライマリー・シリア(Primary Cilia)は大半の脊椎動物細胞に存在する非運動性の毛様オルガネラで、その先端は細胞表面に突出している。構造的特徴からその存在は古くから知られていたが、機能的側面については長い間不明であった。しかしながら遺伝子改変マウスや疾病モデルのゲノム解析からプライマリー・シリアの形成不全は多発性嚢胞腎や、Bardet-Biedel 症候群（腎臓、眼を含む多臓器疾患）神経管欠損の発症因子であることがあきらかとなるにつれ、その重要性が注目されるようになった。さらにHedgehog シグナルに代表されるプライマリー・シリア表面におけるシグナル分子受容体の集積や、プライマリー・シリア形成不全に起因する先天疾患も報告され、その重要性が注目されている。さらに近年の研究により、プライマリー・シリアは機械的刺激、浸透圧、光等の物理的变化を受容するばかりでなく、発生や器官形成に必要なシグナル分子の受容体として働く事が明らかとなってきた。プライマリー・シリアは歯周組織に於いても存在することが報告されており、歯根膜細胞における最初の報告は1975年に溯る。最近の報告では象牙芽細胞に於いて、プライマリー・シリアは

象牙質の産生のみならず、感覚器としても機能している可能性が示唆され、骨芽細胞においてはカルシウム・チャネルとは独立して機械的刺激に応答していることが報告されている。

歯根膜は生体の中でも機械的刺激の影響によって大規模な改造が惹起される代表的な組織であり、歯根膜細胞はプライマリー・シリアを有することから、歯根膜細胞においてもプライマリー・シリアがメカノ・レセプターとして機能し、特定のシグナリング経路を經由して歯根膜組織の維持に寄与している可能性が考えられる。

2. 研究の目的

この研究の目的は、歯根膜細胞におけるプライマリー・シリアのメカノ・レセプターとしての機能、さらにプライマリー・シリアを介した歯根膜組織の維持機構について明らかにすることである。

3. 研究の方法

8週齢雄性 Wistar ラットの上顎左側第一臼歯咬合面に1.2mm厚の金属片を接着した(Fig. 1)。過剰咬合付与3日後に屠殺し、歯周組織を含む上顎骨を摘出後、脱灰パラフィン包埋標本を作成し、免疫染色法によりプライマリー・シリアの検出をおこなった。1次抗体には anti-acetylated tubulin antibody (Sigma-Aldrich)、2次抗体は anti-mouse Alexafluor488 (Molecular Probes)を用い、DAPIにて核の染色を行った。各群より3枚の標本を抽出し、上顎第一臼歯歯根膜の歯頸部、根尖部、分岐部における総細胞数、anti-acetylated tubulin 陽性細胞数をセメント質側、歯槽骨側それぞれにおいて計測し、プライマリー・シリアの出現率を算出した。なお、動物実験は新潟大

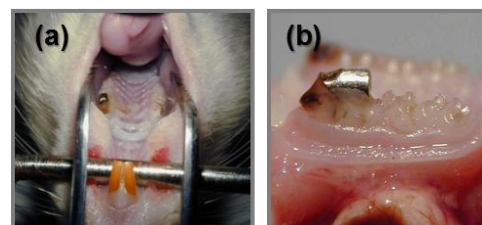


Fig. 1 ラット過剰咬合モデル

学動物実験倫理委員会承認の上、規定に従って行った。

4. 研究成果

歯根膜中には、anti-acetylated tubulin 陽性のプライマリー・シリアを有する細胞が検出されたがプライマリー・シリアの指向性、長さについては一定の傾向は認められなかった(Fig. 2)。過剰咬合付与後の歯根膜においても、anti-acetylated tubulin 陽性のプライマリー・シリアを有する細胞が検出されたが、コントロール群と同様にプライマリー・シリアの指向性、長さについては一定の傾向は認められなかった。anti-acetylated tubulin に陽性のプライマリー・シリアを有する細胞は歯頸部、分岐部、根尖部の順に高い出現率を示した(Table 1)。また、全ての部位において歯槽骨側と比較し、セメント質側に高い出現率が認められた。過剰咬合により歯頸部セメント質側における出現率は減少したものの、分岐部、根尖部の歯槽骨側においては anti-acetylated tubulin 陽性細胞の著明な増加が認められた。また、対照群と同様、全ての部位において歯槽骨側と比較し、セメント質側に高い出現率が認められた。以上の結果よりプライマリー・シリアが歯根膜の中でもセメント質近傍に多く観察されること、またその出現率は部位によって異なることが明らかとなった。さらに過剰咬合に対して出現率の変化が部位特異的に誘導されたことから、機械的刺激に対する歯根膜の部位特異的な応答にプライマリー・シリアの出現が関与している可能性が示唆された。

参考文献

1. McCulloch CA, Lekic P, McKee MD. Role of physical forces in regulating the form and function of the periodontal ligament. *Periodontol* 2000. 2000 Oct;24:56-72
2. Singla V, Reiter JF. The primary cilium as the cell's antenna: signaling at a sensory organelle. *Science*. 2006 Aug 4;313(5787):629-33
3. Beertsen W, Everts V, Houtkooper JM. Frequency of occurrence and

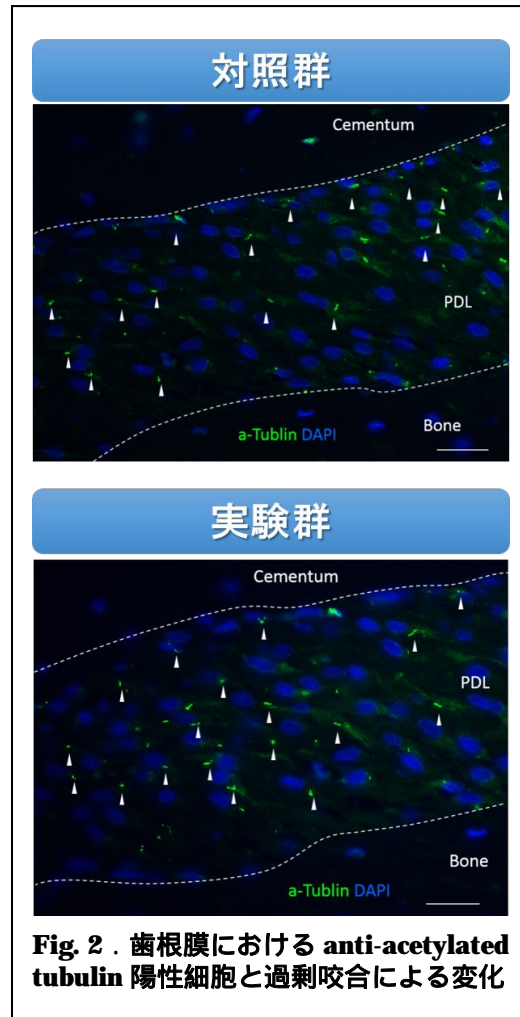


Fig. 2. 歯根膜における anti-acetylated tubulin 陽性細胞と過剰咬合による変化

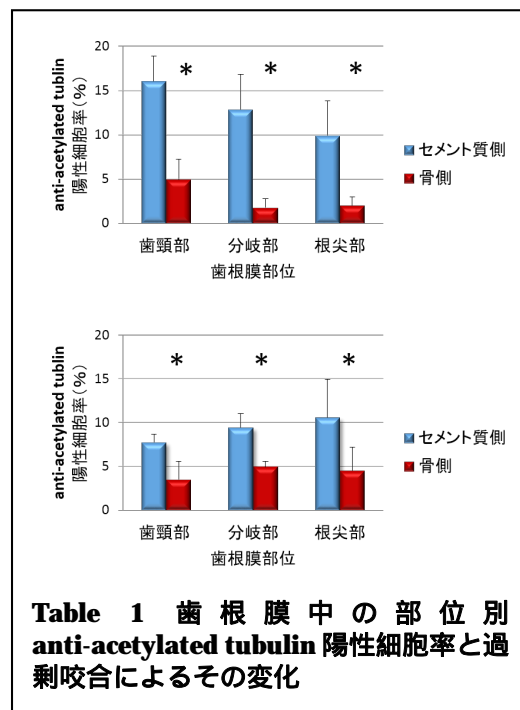


Table 1 歯根膜中の部位別 anti-acetylated tubulin 陽性細胞率と過剰咬合によるその変化

position of cilia in fibroblasts of the periodontal ligament of the mouse incisor. *Cell Tissue Res*. 1975 Nov 19;163(4):415-31.

4. Thivichon-Prince B, Couble ML, Giamarchi A, et.al. Primary cilia of odontoblasts: possible role in molar morphogenesis. J Dent Res. 2009 Oct;88(10):910-5
5. Malone AM, Anderson CT, Tummala P, et.al. Primary cilia mediate mechanosensing in bone cells by a calcium-independent mechanism. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Aug 14;104(33):13325-30.

5 . 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 1件)

井田貴子、加来 賢、野澤恩美、Rosales Rocabado JM、加来咲子、魚島勝美、歯根膜の部位によるプライマリー・シリア出現率の違いと過剰咬合による変化、日本補綴歯科学会、2013.5.18、福岡

6 . 研究組織

(1)研究代表者

加来 咲子 (KAKU Sakiko)
新潟大学 / 医歯学総合病院/ 医員
研究者番号 : 60584589