

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 25 年 5 月 10 日現在

機関番号：3 7 1 1 4

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011年度～2012年度

課題番号：23890242

研究課題名（和文）

Fibulin-5・EMILIN-1 複合体によるオキシタラン線維形成機構の制御

研究課題名（英文）

Control of oxytalan fibers formation mechanism by Fibulin-5/EMILIN-1 complex

研究代表者

中島 一記 (NAKASHIMA KAZUKI)

福岡歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：8 0 6 1 0 9 8 0

研究成果の概要（和文）：

歯根膜におけるオキシタラン線維は、歯根膜を縦走し歯根膜組織の機能維持に寄与していると考えられている。これまで我々は、細胞伸展装置を用いたヒト歯根膜線維芽細胞の細胞培養実験で、オキシタラン線維束が凝集し生体のオキシタラン線維の直径に近似する条件を確立した。しかし細胞長軸とオキシタラン線維との位置関係の詳細は不明である。そこで今回、オキシタラン線維の走行と線維芽細胞との関係を検討した。

ヒト歯根膜線維芽細胞を培養し、細胞伸展装置にて伸展刺激を細胞に付与（対照群：伸展率 0%、実験群：伸展率 5%）し、細胞骨格アクチンとオキシタラン線維の二重蛍光免疫染色を行った。その後、画像解析ソフトウェアを用いて、細胞長軸とオキシタラン線維の走行との平均的角度の解析を行った。二重蛍光免疫染色により、実験群は対照群よりもオキシタラン線維は細胞長軸と直行する傾向がみられた。画像解析ソフトウェアを用いたアングル解析からも、オキシタラン線維は細胞長軸とほぼ直行することが明らかとなった。以上のことから、オキシタラン線維が伸展刺激により線維束が凝集するだけでなく、ある方向性をもって凝集し、歯根膜における細胞と細胞外気質との関係を反映している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The oxytalan fibers in the periodontal ligament are arranged in vertically oriented and contribute to function maintenance of the periodontium. Recently, we demonstrated that, under stretching conditions, bundles of oxytalan fibers coalesce and become thick using immunofluorescence. However, a precise relation between oxytalan fibers and the major axis of the cells is unclear. Therefore, in the present study, we examined the relations between them.

We cultured a human periodontal ligament fibroblasts and applied stretching stimulation to the cells (control group: strength 0% , experimental group: strength 5%) and performed immunofluorescence of the oxytalan fibers and cytoskeleton actin. Using image analysis software, we analyzed the average angle with the oxytalan fibers and a cell major axis. As for the experimental group, oxytalan fibers tend to be nearly rectangular with the major axis of cells. It was consistent with that measured by the angle analysis. These results suggest that this angle may reflect the in vivo extracellular conditions about the relations between the cells and the oxytalan fibers.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1300000	390000	1690000
2012年度	1200000	360000	1560000
年度			
年度			
年度			
総計	2500000	750000	3250000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：矯正・小児系歯学

キーワード：細胞・組織、免疫学、解剖学、歯学

1. 研究開始当初の背景

歯周組織の弾性系線維は機能的な外力を緩衝し、その恒常性維持のため重要な役割を担っており、また全身的にも弾性系線維の異常は大動脈解離や肺気腫などの疾患と密接に関係している。しかし、弾性系線維の形成機構は明らかにされていない。本研究では歯根膜由来線維芽細胞に細胞伸展装置を用いて力学的刺激を加え、弾性系線維の形成メカニズムの解明を目指す。これにより線維形成を制御し、歯周組織の機能維持と再生ひいては種々の疾病予防薬の開発に貢献できる成果が得られると考える。

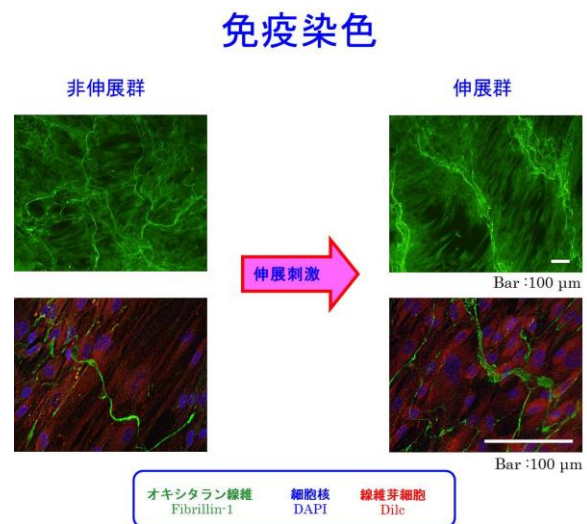
2. 研究の目的

オキシタラン線維の走行とヒト歯根膜線維芽細胞との関係を検討

3. 研究の方法

ヒト歯根膜線維芽細胞を培養し、細胞伸展装置を用いて線維芽細胞に伸展刺激を付与（対照群：伸展率 0%、実験群：伸展率 5%）し、細胞骨格アクチン（Dilc 抗体）とオキシタラン線維（fibrillin-1 抗体）の免疫染色を行って蛍光顕微鏡で観察した。その後、画像解析ソフトウェアを用いて、細胞長軸を基準とした細胞配列計測と線維走行計測を行い、オキシタラン線維の走行解析を行った。

4. 研究成果

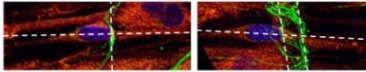


二重蛍光免疫染色により、対照群では、線維芽細胞上のオキシタラン線維は細胞長軸と直行する傾向がみられ、実験群では、細胞が再配列し、また凝集したオキシタラン線維束は生体のオキシタラン線維の直径に近似し細胞長軸と直行する傾向がみられた。

細胞と線維の角度計測

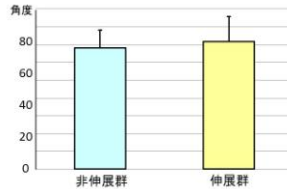
非伸展群

伸展群



	非伸展群	伸展群
細胞数	15	15
平均値	68.13	71.82
標準偏差	9.90	13.83

Mann-Whitney's U test : N S

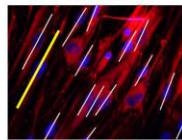
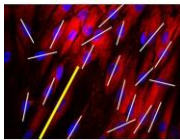


細胞と線維のアンクル計測からも、オキシタラン線維の走行は細胞長軸とほぼ直行することが明らかとなった。

細胞の配列計測

非伸展群

伸展群



	非伸展群	伸展群
細胞数	15	15
分散	482.30	22.59

F test : p<0.01

細胞の配列計測からも、メカニカルストレス付与により線維芽細胞が方向性をもって再配列することが明らかとなった。

以上のことから、メカニカルストレス付与により、オキシタラン線維が凝集し、線維束が細胞長軸にほぼ直交することが明らかとなった。伸展力により細胞が再配列しオキシタラン線維が細胞長軸と直交することは、オキシタラン線維が外力に対して線維束の太さを増大させるだけでなく、ある方向性をもって凝集することを示していると考えられ、これは生体における歯根膜組織の機能維持に関連していることが示唆された。

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 1 件)

Nakatomi Y, Tsuruga E, Nakashima K, Sawa Y, Ishikawa H. Stretch stimuli increase fibulin-5/EMILIN-1 complex on oxytalan fibers in human periodontal ligament cells *Orthodontic Waves*, 71, 66-69, 2012

[学会発表] (計 4 件)

- ①第 54 回歯科基礎医学会学術大会・総会 (9 月、福島) において「オキシタラン線維は線維芽細胞長軸に直交し走行する」というタイトルでポスター発表を行った。
- ②第 71 回日本矯正歯科学会大会 (9 月、盛岡) において「細胞伸展刺激によりオキシタラン線維は歯根膜線維芽細胞長軸に直交し走行する」というタイトルで口演発表を行った。この大会で、学術大会優秀発表賞を受賞した。
- ③第 60 回 JADR 総会・学術大会 (12 月、新潟) において「Stretching induces Oxytalan fibers being arranged at right angles to human periodontal ligament cells' axis」というタイトルでポスター発表を行った。
- ④第 8 回九州矯正歯科学会学術大会 (2 月、北九州) において「細胞伸展刺激によりオキシタラン線維は歯根膜線維芽細胞長軸に直交し走行する」というタイトルでポスター発表を行った。

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
福岡歯科大学
<http://www.fdcnet.ac.jp/col/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 一記 (NAKASHIMA KAZUKI)
福岡歯科大学・歯学部・助教
研究者番号：8 0 6 1 0 9 8 0

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：