

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25862031

研究課題名(和文) 下顎頭軟骨の再生力に着目した機能的顎矯正治療方法の開発に向けた基礎研究

研究課題名(英文) Effect of regenerative ability of the mandibular condylar cartilage

研究代表者

市川 雄大 (ICHIKAWA, YUTA)

昭和大学・歯学部・助教

研究者番号：30635058

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：機能的顎矯正装置は臨床上優れた効果を齎してきたが、下顎骨の成長中心である下顎頭軟骨については未だ不明な点が多い。我々は、下顎頭軟骨と他の成長軟骨の遺伝子発現プロファイルと比較する事で下顎頭軟骨の特異性を明らかにしてきた。成体の下顎頭軟骨は、長管骨成長軟骨と比較して遺伝子発現に差異が認められた。さらに、骨への置換が早く欠損部の再生能が優れていた。成体の下顎頭軟骨は、長管骨成長軟骨と比較して神経堤幹細胞に関連深い遺伝子発現が強く認められた。以上より、これらが下顎頭軟骨の高い再生能に関与し、特異的な軟骨内骨化が存在する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Although functional orthodontic appliances for the mandible exhibit superior clinical effects, many points still unclear. We compared the mandibular condylar cartilage with the other growth cartilage. We reported that the mandibular condylar cartilage has a specific bone metabolism. Gene expressions profiles and bone regeneration of calvarial defects was evaluated. Our data indicated that the gene expression profile of the mandibular condylar cartilage is different from the others. In addition, the level of bone formation and regenerative capacity was greater in the mandibular condylar cartilage. Gene expressions closely associated with neural crest stem cells was noted in the mandibular condylar cartilage compared to that in the other cartilages, suggesting that these genes are involved in the high regenerative capacity of the mandibular condylar cartilage, and specific enchondral ossification is present.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：下顎頭軟骨 神経堤細胞 移植実験

1. 研究開始当初の背景

(1) 下顎頭軟骨の発生学的特異性に関して

発生学的には、体の各器官は内胚葉、中胚葉、外胚葉により形成されるが、顎骨を含む頭蓋顎顔面骨は神経堤細胞由来であり(篩骨、側頭骨、後頭骨、蝶形骨を除く)、腸骨を含む体幹や四肢の骨の多くは中胚葉幹細胞由来である。

(2) 下顎頭軟骨の発生由来である神経堤細胞に関して

神経堤細胞の一部は未分化な神経堤幹細胞として、成体に至るまで体中に潜伏しており、それらの細胞は様々な細胞へと分化誘導可能であり、高い増殖能、骨形成能および多分化能を持っている。さらに、成体の骨髄・顔面皮膚から神経堤細胞由来幹細胞を採取し、脊髄損傷における神経再生治療、角膜再生治療に有用である可能性が報告されていることから、再生医療における細胞ソースとしての応用が期待されている。

(3) 申請者の研究グループでは、神経堤細胞由来の他の顎顔面組織に関しても、発生由来に着目し様々な研究を行っている。顎骨が成体においても腸骨、長管骨とは異なる遺伝子発現プロファイルを持つ事を明らかにした。また、顎骨と発生由来の同じ神経堤細胞由来のエナメル質を除く歯は、顎骨再生における骨補填材として利用出来る事を報告している。そして、顎骨の骨膜は神経堤細胞由来の性質を持ち、骨欠損部への顎骨骨膜の移植により新生した骨においても神経堤細胞の性質を持つ事を報告した。さらに、下顎頭軟骨が他の軟骨と遺伝子発現プロファイルが異なり、血管侵入抑制因子であり変形性関節症と関連性が高いChM-1の発現が下顎頭軟骨においては欠落していることを報告した。この結果、発生由来の異なる組織は、成体においても異なる遺伝子発現パターンを持ち、さらには再生能に関しても差異を持つ可能性があることが示唆された。

2. 研究の目的

下顎頭軟骨は神経堤細胞から発生し、四肢の関節における軟骨とは発生由来が異なり高い適応能力があると云われている。また、我々は、顎顔面領域の下顎頭軟骨が他の軟骨と遺伝子発現プロファイルが異なり、血管侵入抑制因子であり変形性関節症と関連性が高いChM-1の発現が下顎頭軟骨においては欠落していることを報告した。一方、下顎頭軟骨に関しては、十分な理解がないままに様々な治療法(顎関節症の治療や機能的矯正装置)が行われ、その効果に関しても未だ不明な点が多い。そこで、本研究では、発生由来の観点から下顎頭軟骨を再考し、より深く理

解し新しい顎位置の考え方や機能的顎矯正装置の開発ならびに使用方法に向けた基礎的研究を行う事を目的とした。

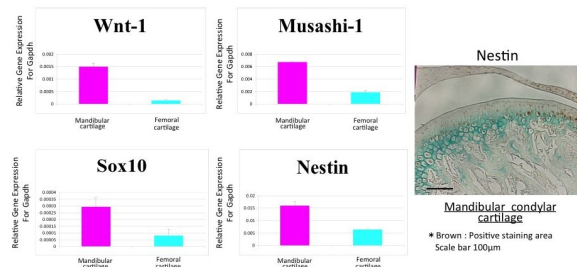
3. 研究の方法

(1) 3週齢 C57BL/6J マウスより採取した下顎頭軟骨、長管骨成長軟骨を real-time PCR 法にて、神経堤細胞関連マーカーを用いて遺伝子発現量を解析した。さらに、タンパクの局在を免疫組織学的に比較、検討した。

(2) 軟骨移植実験は、5週齢 C57BL/6J マウスより採取した下顎頭軟骨、長管骨成長軟骨を5週齢 C57BL/6J マウスの頭蓋に形成した直径 2.0mm の骨欠損部にそれぞれ移植し、移植 5、10 週経過後の  $\mu$ CT 画像および、組織像から再生能の評価を行った。

4. 研究成果

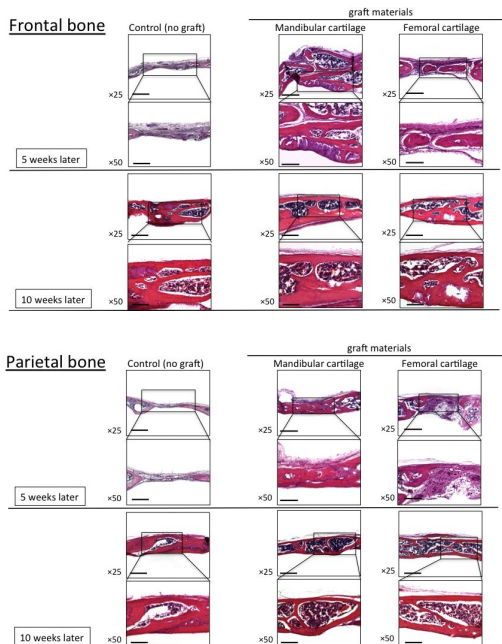
(1) Real-time PCR 法を用いた発生由来部位別における軟骨の遺伝子発現定量評価と神経堤幹細胞マーカーによる軟骨の免疫組織化学評価において、神経堤細胞マーカーおよび神経系幹細胞マーカーは下顎頭軟骨において強い発現を示した。また、下顎頭軟骨部は、Nestin 抗体において強く染色された。



『各軟骨における Wnt-1、SOX10、Musashi-1、Nestin の遺伝子発現量および Nestin の免疫組織像』

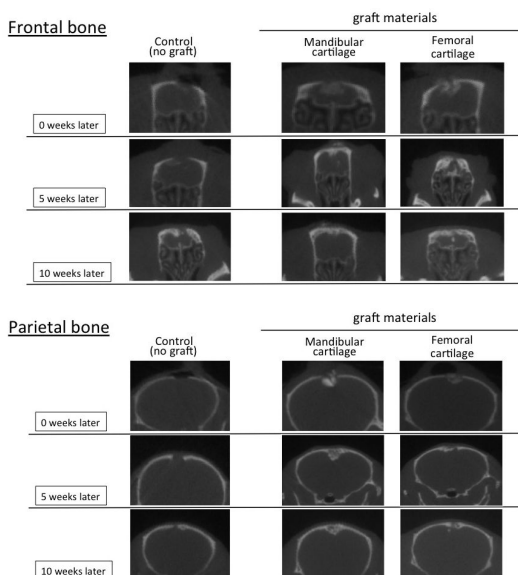
(2) In vivo における軟骨移植実験を用いた下顎頭軟骨の機能評価に関して

HE 染色像) Control 群では、移植 5 週経過時には線維性組織が認められ、移植 10 週経過時には新生骨が観察された。Control 群と比較し、大腿骨頭軟骨、下顎頭軟骨を移植した群は移植 5 週経過時には新生骨が認められ、移植 10 週経過時においても、骨の再吸収は観察されなかった。下顎頭軟骨移植群に関しては、他の群と比較し早期に新生骨形成が観察された。



『各軟骨移植 5、10 週経過後の HE 染色像(前頭骨および後頭骨)』

μCT 画像所見)Control 群は、移植 10 週経過後時にいたっても欠損部の完全な治癒は認められなかった。下顎頭軟骨群に関しては、移植 5 週経過後時に治癒が認められ、移植 10 週経過後時には大腿骨頭軟骨群とともに前頭骨および頭頂骨欠損部の広範囲の治癒が認められた。前頭骨および頭頂骨を比較した場合、頭頂骨においても移植 5 週経過後時に、治癒が広範囲で認められた。



『各軟骨移植 5、10 週経過後の μCT 画像(前頭骨および後頭骨)』

#### <得られた成果とそれが示すインパクト>

頭蓋顎顔面は発生学的に外胚葉神経堤由来であり他の部位とは由来が異なることは既に明らかになっている。

本研究の結果、下顎頭軟骨においても神経堤細胞の遺伝子発現プロファイルを持つことが認められた。また、移植実験により、骨再生を促す機能が充分にあり、骨再生において有利に働くことが示された。以上のことから、成体の下顎頭軟骨は、長管骨成長軟骨と比較して神経堤幹細胞に関連深い遺伝子発現が持ち、これらが下顎頭軟骨の高い再生能に参与し、特異的な軟骨内骨化が存在する可能性が示唆された。

#### <引用文献>

- Cell, 96:737-749, 1999.
- DevDyn, 235:2353-2375, 2006.
- Development, 134:3133-3144, 2007.
- Mech Dev, 125:197-808, 2008.
- Cell, 96:737-749, 1999.
- Cell Stem Cell, 2:392-403, 2008.
- Stem Cells, 27:866-877, 2009.
- Nat. Cell Biol. 3:778-784, 2001.
- JP, 81(9):1264-1272, 2010.
- BONE, 42(6):1053-60, 2008.

#### 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)

Akiko Enomoto, Junichi Watahiki (以下省略全 7 名)(5 番目)

Mastication markedly affects mandibular condylar cartilage growth, gene expression and morphology

American Journal of Orthodontics & Dentofacial Orthopedics

査読有り、146 巻、2014、355-363

10.1016/j.ajodo.2014.05.028

〔学会発表〕(計 2 件)

Yuta Ichikawa, Junichi Watahiki, Koutaro Maki

Effect of regenerative ability of the mandibular condylar cartilage

American Association of Orthodontists (2014 年 4 月 25 日～2014 年 4 月 29 日; Ernest N. Morial Convention Center (New Orleans))

Junichi Watahiki, Yuta Ichikawa (以下省略全 5 名)

Fundamental studies describing the re-consideration of functional orthopedic appliances for altering the mandibular

condyle  
(2014年4月25日～2014年4月29日;Ernest  
N. Morial Convention Center(New Orleans))

〔図書〕(計 1 件)

市川雄大

クインテッセンス出版株式会社  
ザ・クインテッセンス 2014 年 7 月号  
(2014;2(188-189))

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

市川 雄大(Yuta Ichikawa)

昭和大学 歯学部 助教

研究者番号：30635058

##### (2)研究分担者

なし

##### (3)連携研究者

なし