

令和 5 年 6 月 17 日現在

機関番号：32710

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K09847

研究課題名(和文) 歯の移動により生じる歯根吸収に対するHSP72の影響と歯根吸収抑制剤の検討

研究課題名(英文) Study of prevention of orthodontically induced root resorption; focusing on the role of HSP72.

研究代表者

新井 千博 (Arai, Chihiro)

鶴見大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：10460221

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、矯正力が引き起こす歯根吸収に対するHSP72の影響の解明と、HSP72の選択的機能阻害分子であるPifthrin- $\mu$ が歯根吸収の抑制剤になり得るかラットを用いて検討することである。Pifthrin- $\mu$ 投与群の矯正歯の移動量は、対照群と比較して有意に減少した。歯の移動初期の歯根膜に発現する炎症性サイトカインの発現量は、Pifthrin- $\mu$ 投与により増強する傾向が認められた。矯正力が引き起こす歯根吸収に対するHSP72の影響の解明には至らなかったが、矯正歯の移動には何かしらの影響を及ぼす可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の目的は、矯正治療の偶発症の一つである歯根吸収を抑制する薬について検討することである。本研究の結果は、歯根吸収を抑制する薬剤の同定には至らなかったが、HSP72の選択的機能阻害分子であるPifthrin- $\mu$ が、矯正学的歯の移動に何かしらの影響を及ぼすことが示唆され、学術的にも意義のある結果が得られたと考える。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to evaluate the effect of HSP72 on orthodontic force-induced root resorption and to investigate whether Pifthrin- $\mu$ , a selective inhibitor of HSP72, is a potential inhibitor of root resorption in rats. The amount of orthodontic tooth movement in the Pifthrin- $\mu$ -treated group was significantly decreased compared to the control group. The inflammatory cytokines expressed in the periodontal ligament in the early stages of tooth movement tended to be enhanced by Pifthrin- $\mu$  treated group. Although the effect of HSP72 on orthodontic force-induced root resorption was not elucidated, it was suggested that it may have some effect on orthodontic tooth movement.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：歯の移動 HSP72

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

矯正治療により生じる歯根吸収は、患者が被る不利益のうち、最も大きな偶発症の一つである。歯根吸収は、宿主側の歯根の形状や歯種、遺伝など様々な要因が報告されているが、いまだ不明な点が多い。我々はこれまで、矯正力の増加に伴い歯根膜圧迫側の変性組織の出現量の増加と歯根吸収量の増加が認められることを報告してきた (Noda, Arai et al., Eur J Ortho. 2010)。このことから、過度な矯正力が病的な歯根吸収を誘発することは、疑いのない事実である。しかしながら、歯根吸収の中心的な役割を担う破骨細胞 (破歯細胞) の発現機序についてはいまだ不明な点が多い。我々は、矯正力により歯の移動を行ったラット圧迫側歯根膜に、熱ショックタンパク質 72 (HSP72) が著しく発現することを報告した (Arai et al., Histochem Cell Biol 2010)。HSP72 は種々のストレスにさらされた細胞内に発現し、細胞を保護する機能を有するタンパク質であることが知られている。一方、近年では HSP72 は細胞外に放出されて炎症を惹起することが報告されており、Damage-associated molecular pattern (DAMPs) の一つである可能性が示唆されている。そこで代表者らは、培養ヒト歯根膜線維芽細胞に細胞外のリコンビナント HSP72 タンパクを作用させる実験を行ったところ、細胞外の HSP72 がヒト歯根膜線維芽細胞表面に存在する Toll 様受容体 4 に作用し、NF- $\kappa$ B p65 のリン酸化を介して Interleukin-6 (IL-6) や tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) などの炎症性サイトカインを著しく誘発することを明らかにした (Arai et al., Arch Oral Biol. 2017)。

過度な矯正力が負荷された圧迫側歯根膜では、一部の歯根膜細胞が壊死に陥り、硝子様変性が生じることが知られている。このことから、過度な矯正力により壊死に陥った圧迫側歯根膜細胞から HSP72 が細胞外に放出され、周囲の細胞に作用して病的な炎症を惹起する可能性が十分に考えられる。圧迫側歯根膜領域の壊死細胞から細胞外に放出された HSP72 が病的な炎症を誘発し、破骨細胞の分化誘導や歯根吸収に影響しているならば、同部位で発現する HSP72 の機能を抑制することで病的な炎症を抑え、その後生じる歯根吸収を抑制する可能性が考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、過度な矯正力が引き起こす歯根吸収に対する HSP72 の影響の解明と、HSP72 の選択的機能阻害分子である Pifthrin- $\mu$  が歯根吸収の抑制剤になり得るか検討することである。

### 3. 研究の方法

#### (1) 矯正学的歯の移動モデルラットの作製

12 週齢 Wistar 系雄性ラットの左右上顎第一臼歯を Ni-Ti クローズドコイルスプリング (10gF) を用いて近心に移動した。実験群と対照群に分け、実験群には歯の移動開始前日から、HSP72 の選択的機能抑制分子である Pifthrin- $\mu$  (3 mg/kg) を腹腔内投与、対照群には偽薬を 2 日に 1 回、腹腔内投与を行った。

#### (2) 歯の移動距離の計測

歯の移動開始 14 日後に麻酔下で上顎歯列の印象採得を行い、石膏模型を作製した。その後、石膏模型はマイクロ CT 撮影を行った。解析ソフト (TRI/3D-BON, Ratoc System Engineering, Tokyo, Japan) を用いて歯の移動距離を計測した。実験開始 21 日後に過量な麻酔下のもと屠殺、還流固定を行い、上顎骨を採取した。採取した上顎骨のマイクロ CT 撮影を行い、脱灰、パラフィン包埋を行い、薄切切片を作製した。

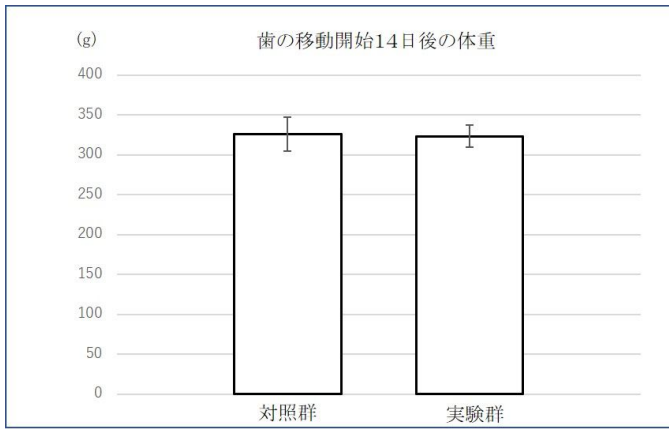
#### (3) IL-6 および TNF- $\alpha$ の免疫組織学的検討

歯の移動開始 6 時間、24 時間後過量な麻酔下のもと屠殺、還流固定を行い、脱灰後にパラフィン包埋を行い、薄切切片を作製した。IL-6 および TNF- $\alpha$  の免疫染色を行い、観察した。

### 4. 研究成果

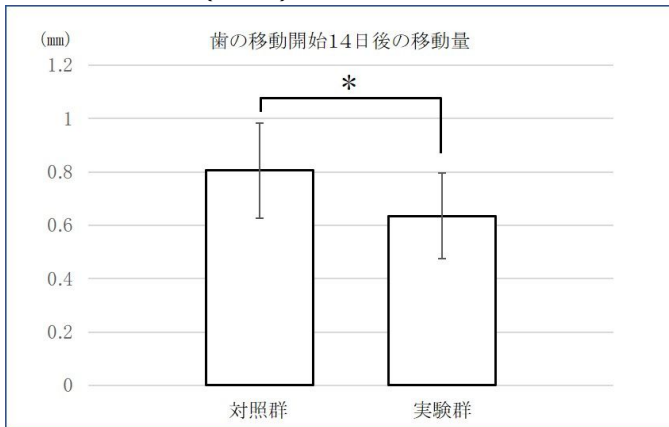
#### (1) 体重の変化について

歯の移動 14 日後の体重は、実験群および対照群ともに差は認められなかった (下図)。



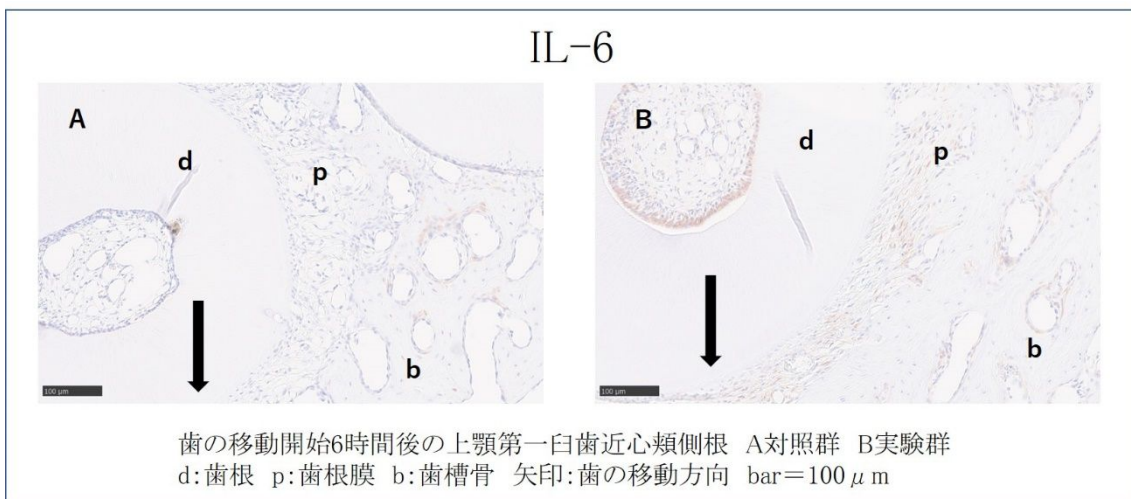
(2) 歯の移動量について

ラットの上顎第一臼歯を 10g の矯正力で近心に移動したところ、HSP72 の選択的機能抑制剤である Pifthrin- $\mu$  を投与した実験群では、移動開始から 14 日後に対照群と比較して移動距離が有意に少なかった (下図)。この結果は、過去に我々が行った結果と一致した。

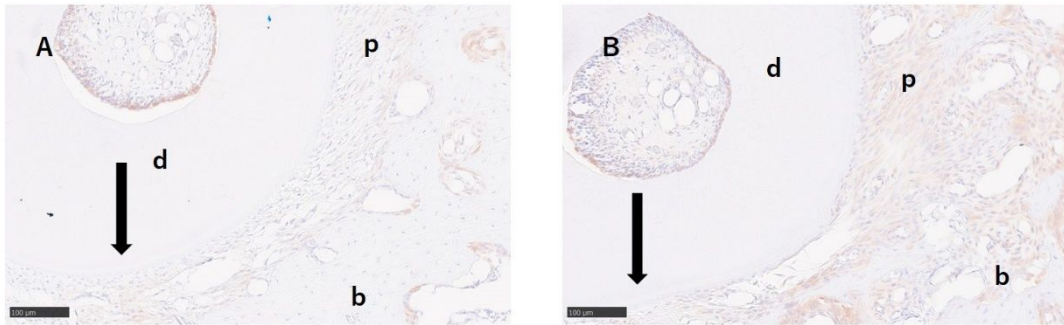


(3) 歯根膜に発現する IL-6 について

歯の移動開始 6 時間後の対照群の歯根膜には、IL-6 の発現がわずかに認められ、24 時間後には増加する傾向が認められた。一方、実験群では、対照群と比較して歯の移動開始 6 時間後および 24 時間後とも、IL6 の発現量が多い傾向が認められた (下図)。



## IL-6

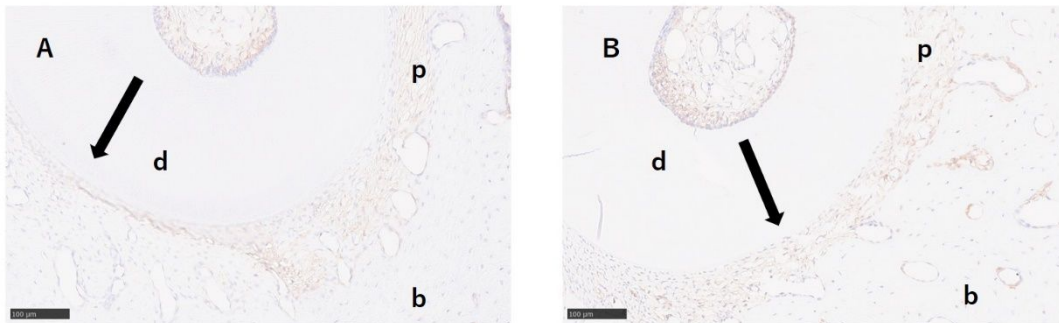


歯の移動開始24時間後の上顎第一臼歯近心頬側根 A対照群 B実験群  
d: 歯根 p: 歯根膜 b: 歯槽骨 矢印: 歯の移動方向 bar=100 μm

### (4) 歯根膜に発現する TNF- $\alpha$ について

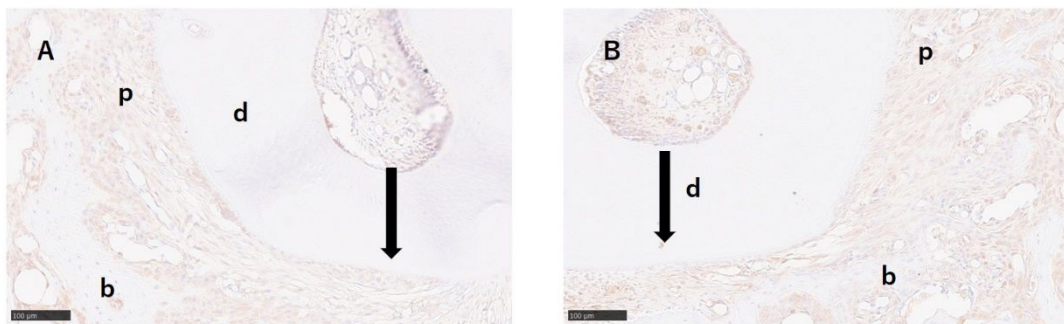
歯の移動開始 6 時間後の対照群の歯根膜には、TNF- $\alpha$  の発現を認め、24 時間後にはさらに増加する傾向が認められた。一方、実験群では、歯の移動開始 6 時間後の TNF- $\alpha$  の発現量は、対照群と比較して多い傾向を示し、24 時間後の発現量に対照群との差は認められなかった (下図)。

## TNF- $\alpha$



歯の移動開始6時間後の上顎第一臼歯近心頬側根 A対照群 B実験群  
d: 歯根 p: 歯根膜 b: 歯槽骨 矢印: 歯の移動方向 bar=100 μm

## TNF- $\alpha$



歯の移動開始24時間後の上顎第一臼歯近心頬側根 A対照群 B実験群  
d: 歯根 p: 歯根膜 b: 歯槽骨 矢印: 歯の移動方向 bar=100 μm

本研究期間内に、矯正力が引き起こす歯根吸収に対する HSP72 の影響の解明には至らなかったが、HSP72 が矯正歯の移動に何かしらの影響を及ぼす可能性が示唆された。歯根吸収への影響については、引き続き検討を行っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Arai C, Kawai N, Nomura Y, Tsuge A, Nakamura Y, Tanaka E	4. 巻 157(1)
2. 論文標題 Low-intensity pulsed ultrasound enhances the rate of lateral tooth movement and compensatory bone formation in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Am J Orthod Dentofacial Orthop	6. 最初と最後の頁 59-66
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ajodo.2019.01.027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimpo Y, Nomura Y, Sekiya T, Arai C, Okada A, Sogabe K, Hanada N, Tomonari H	4. 巻 11(3)
2. 論文標題 Effects of the Dental Caries Preventive Procedure on the White Spot Lesions during Orthodontic Treatment-An Open Label Randomized Controlled Trial	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Clin Med	6. 最初と最後の頁 854
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm11030854	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 新井千博、川合暢彦、柘植厚志、田中栄二、中村芳樹
2. 発表標題 矯正学的歯の側方移動に対する低出力超音波パルス（LIPUS）照射の効果
3. 学会等名 第77回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Chihiro Arai, Koji Noda, Yoshiki Nakamura and Hiroshi Tomonari
2. 発表標題 The effect of HSP72 on orthodontic tooth movement in rat
3. 学会等名 96th Congress of the European Orthodontic Society
4. 発表年 2020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
研究分担者	野村 義明  (Nomura Yoshiaki)  (90350587)	鶴見大学・歯学部・学内教授   (32710)	削除：2022年2月21日
研究分担者	花田 信弘  (Hanada Nobuhiro)  (70180916)	鶴見大学・歯学部・教授   (32710)	削除：2021年3月17日
研究分担者	中村 芳樹  (Nakamura Yoshiki)  (10097321)	鶴見大学・  ・名誉教授   (32710)	

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
---------	---------