

〔学位論文〕

ヒト歯根膜細胞の重力負荷に対するシグナル応答機構

伊藤 麻衣

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野

Signaling response of human periodontal ligament cells to gravity loading

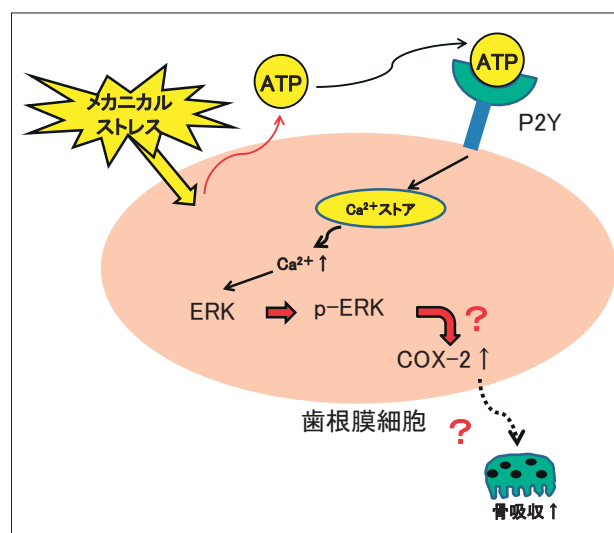
Mai ITO

Division of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido**Key words** : signaling response, mechanical stress, periodontal ligament cells, gravity loading,

矯正学的な歯の移動は、矯正装置を用いて歯に負荷される矯正力（力学的負荷：メカニカルストレス）が歯槽骨のリモデリングを誘導することによって起こると考えられている（Yokoya et al., 1997, Kanzaki et al., 2001）。歯に矯正力を負荷すると、歯周組織には圧迫側と牽引側という力学的環境の異なる二つの領域が形成される。力の作用方向に対応する圧迫側では、破骨細胞が活性化されて歯槽骨は吸収され、牽引側では骨芽細胞が活性化されて骨形成を生じ、結果として歯は力の作用方向に移動する（Roberts et al., 1981, 1989 ; Wescott et al., 2007）。歯の移動現象を分子生物学的にみると、圧迫側において tumor necrosis factor- β (TNF- β) receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) および matrix metalloproteinase-1 (MMP-1), また牽引側では interleukin10 (IL-10), tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1), osteoprotegerin (OPG) などの遺伝子発現の増強が確認されている（Garlet et al., 2007）。このように矯正学的な歯の移動は、メカニカルストレスに対する歯周組織の生物学的な一連の過程といえる。一般に、歯根のセメント質が歯槽骨と直接結合するアンキローシスを起こした歯では、矯正歯科治療によって歯を移動させることができないことから、歯の移動における歯根膜の役割の重要性が広く認識されている（Kanzaki et al., 2002）。すなわち、歯に加わるメカニカルストレスを歯根膜が感知し、骨吸収、骨形成を制御するシグナルを歯根膜細胞が骨芽細胞や破骨細胞に伝達していると考えられている。

そこで本研究では、矯正歯科治療における圧迫側のモ

デルとして、ヒト歯根膜細胞に遠心力により重力を負荷する実験系およびピペッティングによるシェアストレスを負荷する実験系を用い、MAPキナーゼの一つである ERK のリン酸化を主な指標として、シグナル伝達経路を解析した。シグナル伝達機構における ERK の上流部については、重力負荷による ATP 分泌を介したプリン受容体経路と細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇、また、ERK の下流部については、COX-2 の遺伝子発現を解析し、矯正歯科治療



図：ヒト歯根膜細胞におけるメカニカルストレスに対するシグナル応答機構の模式図

ヒト歯根膜細胞に負荷されたメカニカルストレスは、ATPの放出を促進し、放出されたATPはP2Y受容体を介して細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させ、ERKのリン酸化を促進することが示された。さらに、メカニカルストレスはCOX-2のmRNA発現を誘導した。矯正治療の圧迫側では、ERKのリン酸化を介して誘導されるCOX-2がプロスタグランジン産生を促進し、破骨細胞の活性化を通して、骨吸収に寄与している可能性が示唆された。

過程における破骨細胞の活性化を通じた骨吸収について考察した。

得られた結果は、以下の通りであった。

1. 重力負荷によりヒト歯根膜細胞からATPが放出された。
2. 重力負荷によって促進されるERKのリン酸化は、ATP分解酵素であるapyraseの添加によって有意に低下した。
3. Ca^{2+} イオノフォアであるionomycinにより、ERKのリン酸化が亢進した。
4. ピペッティングによるシェアストレス負荷で細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇した。
5. 重力負荷によるERKのリン酸化はsuraminによって阻害されたが、細胞外 Ca^{2+} の除去によっては阻害されなかった。
6. P2Y受容体の選択的アゴニストであるUTPはERKのリン酸化を促進した。
7. ヒト歯根膜細胞には、P2Y5およびP2Y6の発現が認められた。
8. 重力負荷により、COX-2の発現が上昇した。

以上の結果から、ヒト歯根膜細胞に負荷されたメカニカルストレスはATP放出およびP2Y受容体を介して細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させ、ERKのリン酸化を促進することが示唆された。また、ERKのリン酸化を介して誘導されるCOX-2が、プロスタグランジン産生を促進し、骨芽細胞の活性化を通して骨吸収に寄与している可能性が示唆された。

参考文献

- Garlet TP, Coelho U, Silva JS & Garlet GP. Cytokine expression pattern in compression and tension sides of the periodontal ligament during orthodontic tooth movement in humans. *Eur J Oral Sci* 115 : 355–362, 2007.
- Kanzaki H, Chiba M, Shimizu Y & Mitani H. Dual regulation of osteoclast differentiation by periodontal ligament cells through RANKL stimulation and OPG inhibition. *J Dent Res* 80 : 887–891, 2001.
- Kanzaki H, Chiba M, Shimizu Y & Mitani H. Periodontal ligament cells under mechanical stress induce osteoclastogenesis by receptor activator of nuclear factor kappa B ligand up-regulation via prostaglandin E2 synthesis. *J Bone Miner Res* 17 : 210–220, 2002.
- Roberts WE & Chase DC. Kinetics of cell proliferation and migration associated with orthodontically-induced osteogenesis. *J Dent Res* 60 : 174–181, 1981.
- Roberts WE, Garetto LP & DeCastro RA. Remodeling of devitalized bone threatens periosteal margin integrity of endosseous titanium implants with threaded or smooth surfaces : indications for provisional loading and axially directed occlusion. *J Indiana Dent Assoc* 68 : 19–24, 1989.
- Wescott DC, Pinkerton MN, Gaffey BJ, Beggs KT, Milne TJ & Meikle MC. Osteogenic gene expression by human periodontal ligament cells under cyclic tension. *J Dent Res* 86 : 1212–1216, 2007.
- Yokoya K, Sasaki T & Shibasaki Y. Distributional changes of osteoclasts and pre-osteoclastic cells in periodontal tissues during experimental tooth movement as revealed by quantitative immunohistochemistry of H(+)-ATPase. *J Dent Res* 76 : 580–587, 1997.