



骨の発生と再生における新規細胞外基質分解酵素
ADAMTSの発現と役割に関する研究

15390550

平成15年度～平成17年度科学研究費補助金

(基礎研究 (B)) 研究成果報告書

平成18年 4 月

研究代表者 笹野泰之

東北大学大学院歯学研究科教授

〈はしがき〉

本研究計画では新規の細胞外基質タンパク分解酵素群である ADAMTS ファミリーに注目し、骨の発生と再生、および歯の萌出過程と軟骨の成長過程における発現について、基質であるバーシカン等のプロテオグリカンの発現と比較して検討することを目的とした。ラットの骨、軟骨および歯を研究対象とし、ADAMTS ファミリーとプロテオグリカンの発現の動態を分子生物学的及び遺伝子組織化学的に検索した。

平成15年度では、骨の発生・成長過程における ADAMTS ファミリーとバーシカンの発現を分子生物学的及び遺伝子組織化学的に検討し、ADAMTS 1、4、5 及びバーシカンが一部の骨芽細胞に局限して発現することを明らかとした。平成16年度では、歯の萌出過程における ADAMTS ファミリーとバーシカンの発現を同様に検討し、ADAMTS 1、4、5 及びバーシカンの遺伝子発現が歯髄細胞、象牙芽細胞、セメント芽細胞、セメント細胞、歯根膜細胞、骨芽細胞、骨細胞に局在することを明らかとした。平成17年度では、さらに軟骨の成長過程に検討を加え、軟骨細胞が ADAMTS 1、4、5 及びアグリカンを時期特異的に発現することを明らかとした。また、我々が独自に開発したラット頭蓋骨部分欠損実験モデルを利用して、骨の再生過程における ADAMTS ファミリーとバーシカンの発現に関する検討を始め、骨の再生・修復に伴い、ADAMTS1 の発現が特徴的に変動することを示唆している。

本研究で、ADAMTS 1、4、5 及びバーシカン等のプロテオグリカンの遺伝子発現が骨芽細胞、骨細胞、歯髄細胞、象牙芽細胞、セメント芽細胞、セメント細胞、歯根膜細胞、および軟骨細胞に局在することが明らかとなった。ADAMTS ファミリーの各分子とプロテオグリカンの発現は時間的にも空間的にも類似していた。これらの細胞は、プロテオグリカンを産生すると同時に、ADAMTS ファミリーを分泌してプロテオグリカンを分解する可能性が示された。

研究代表者： 笹野泰之（東北大学大学院歯学研究科教授）
研究分担者： 鎌倉慎治（東北大学大学院医学系研究科助教授）
研究分担者： 高橋一郎（東北大学病院講師）
研究分担者： 畠山純子（東北大学大学院歯学研究科助手）

研究協力者： 中村 恵（東北大学歯学部附属病院 研修医）

交付決定額（配分額） （金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成15年度	9,200	0	9,200
平成16年度	2,400	0	2,400
平成17年度	2,700	0	2,700
総計	14,300	0	14,300

「研究発表」

ア. 学会誌等

Mitani H, Takahashi I, Onodera K, Bae JW, Sato T, Takahashi N, Sasano Y, Igarashi K, Mitani H (2006) Comparison of age-dependent expression of aggrecan and ADAMTSs in mandibular condylar cartilage, tibial growth plate, and articular cartilage in rats. *Histochemistry Cell Biol* 125, in press

Hagiwara Y, Saijo Y, Chimoto E, Sasano Y, Matsumoto F, Kokubun S (2006) Increased elasticity of synovial membrane after immobilization in a rat knee experimental model assessed by scanning acoustic microscopy. *Upsala J Med Sci*, in press

Akiba N, Sasano Y, Suzuki O, Sasaki K (2006) Characterization of dentin formed in transplanted rat molars by electron probe microanalysis. *Calcified Tissue Int*, in press

Toriya N, Takuma T, Arakawa T, Abiko Y, Sasano Y, Takahashi I, Sakakura Y, Rahemtulla F, Mizoguchi I (2006) Expression and localization of versican during postnatal development of rat temporomandibular joint disc. *Histochemistry Cell Biol* 125: 205-214

Kamakura S, Sasaki K, Honda Y, Anada T, Suzuki O (2006) Octacalcium phosphate (OCP) combined with collagen orthotopically enhances bone regeneration. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, in press

Kamakura S, Kumagai T, Honda Y, Anada T, Sasaki K, Shimauchi H, Suzuki O (2006) Fluoridated Ca-deficient apatite formed via octacalcium phosphate enhances bone regeneration. *Key Eng Mater* 309-311: 137-140

Suzuki O, Kamakura S, Katagiri T, Nakamura M, Zhao B, Honda Y, Kamijo R (2006) Bone formation enhanced by implanted octacalcium phosphate involving conversion into Ca-deficient hydroxyapatite. *Biomaterials* 27: 2671-2681

Suzuki O, Kamakura S, Katagiri T (2006) Surface chemistry and biological responses to synthetic octacalcium phosphate. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 77: 201-212

Hatakeyama J, Philp D, Hatakeyama Y, Haruyama N, Shum L, Aragon MA, Yuan Z, Gibson CW, Sreenath T, Kleinman HK, Kulkarni AB (2006) Amelogenin-mediated regulation of osteoclastogenesis, and periodontal cell proliferation and migration. *J Dent Res* 85: 144-149

Kanzaki H, Chiba M, Arai K, Takahashi I, Haruyama N, Nishimura M, Mitani H (2006) Local RANKL gene transfer to the periodontal tissue accelerates orthodontic tooth movement. *Gene Ther*, in press

Kanzaki R, Daimaruya R, Takahashi I, Mitani H, Sugawara J (2006) Remodeling of Alveolar Bone Crest Following Molar Intrusion with Skeletal Anchorage System (SAS) in Dogs. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, in press

Konno Y, Daimaruya T, Iikubo M, Kanzaki R, Takahashi I, Sugawara J, Sasano T (2006) Morphological and Hemodynamical Analysis of the Dental Pulp in Dogs following Molar Intrusion using the Skeletal Anchorage System (SAS). *Am J Orthod Dentofac Orthop*, in press

Sato R, Sato T, Takahashi I, Sugawara J, Takahashi N (2006) Profiling of bacterial flora in crevices around titanium orthodontic anchor plates. *Clin Oral Impl Res*, in press

Nakamura M, Sone S, Takahashi I, Mizoguchi I, Echigo S, Sasano Y (2005) Expression of versican and ADAMTS1, 4, and 5 during bone development in the rat mandible and hind limb. *J Histochem Cytochem* 53: 1553-1562

Sone S, Nakamura M, Maruya Y, Takahashi I, Mizoguchi I, Mayanagi H, Sasano Y (2005) Expression of versican and ADAMTS during rat tooth eruption. *Journal of Molecular Histology* (旧 *The Histochemical Journal*) 36: 279-286

Takahashi I, Onodera K, Bae JW, Mitani H, Sasano Y, Mitani H (2005) Age-related changes in the expression of gelatinase and tissue inhibitor

of metalloproteinase genes in mandibular condylar, growth plate, and articular cartilage in rats. *Journal of Molecular Histology* (旧 *The Histochemical Journal*) 36: 355-366

Wang LCY, Takahashi I, Sasano Y, Sugawara J, Mitani H (2005) Osteoclastogenic activity in mandibular distraction osteogenesis. *J Dent Res* 84: 1010-1015

Onodera K, Takahashi I, Sasano Y, Bae JW, Mitani H, Kagayama M, Mitani H (2005) Stepwise mechanical stretching inhibits chondrogenesis through cell-matrix adhesion mediated by integrins in embryonic rat limb bud mesenchymal cells. *Eur J Cell Biol* 84: 45-58

Kamakura S, Nakajo S, Suzuki O, Sasano Y (2004) A new scaffold for recombinant human bone morphogenetic protein-2. *J Biomed Mater Res* 71A: 299-307

Hatori K, Sasano Y, Takahashi I, Kamakura S, Kagayama M, Sasaki K (2004) Osteoblasts and Osteocytes Express MMPs 2, 8, TIMPs 1,2 and 3 along with Extracellular Matrix Molecules during Appositional Bone Formation. *Anat Rec* 277A: 262-271

イ. 学会（口頭およびポスター）発表等

培養歯根膜細胞のバイオミネラル基質に対する生物学的対応（畠山純子、畠山雄次、鈴木治、笹野泰之）第51回東北・北海道連合支部学術集会、2005年10月15日、16日、仙台市

歯根膜の構造（笹野泰之）第58回東北地区歯科医学会 2005年10月8日、仙台市

ラット根未完成歯移植後の硬組織形成（秋葉奈美、笹野泰之、伊奈慶典、佐々木啓一）第114回日本補綴歯科学会学術大会、2005年10月1日、2日、新潟市

ラット臼歯の萌出過程における MMP 活性の局在（櫻場一郎、畠山純子、畠山雄次、高橋一郎、真柳秀昭、笹野泰之）第47回歯科基礎医学会学術大会 2005年9月28日、29日、30日、仙台市

合成バイオミネラル上の歯根膜細胞の接着と増殖（畠山純子、畠山雄次、高橋一郎、鈴木治、笹野泰之）第47回歯科基礎医学会学術大会 2005年9月28日、29日、30日、仙台市

肢芽未分化間葉細胞高密度培養に対する Sonic Hedgehog の影響（畠山雄次、畠山純子、Nakamura Takashi、田中康二郎、高橋一郎、笹野泰之、真柳秀昭）第47回歯科基礎医学会学術大会 2005年9月28日、29日、30日、仙台市

Osteoblasts, odontoblasts and cementoblasts remodel extracellular matrix molecules expressing MMPs and ADAMTSs during development of bones and teeth. (Sasano Y, Nakamura M, Sone S, Takahashi I, Itagaki T, Akita H, Sakuraba I, Hatakeyama J, Maruya Y, Hatori K) 2005 Gordon Research Conference on Cell & Molecular Biology of Bones & Teeth, July 10-15, 2005, Biddeford, Maine, U. S. A.

幼若歯髓細胞に対する Growth/Differentiation Factor-5 (GDF-5) の影響（丸谷由里子、畠山雄次、畠山純子、高橋一郎、笹野泰之、真柳秀昭）第43回日本

小児歯科学会大会、2005年5月26日、27日、仙台市

硬組織細胞外基質の発生とリモデリング（笹野泰之）第110回日本解剖学会
総会・全国学術集会 2005年3月30日、富山市

In situ Localization of Gelatinolytic Activity in Developing Dental Roots
(Sakuraba I, Hatakeyama Y, Hatakeyama J, Takahashi I, Mayanagi H, Sasano
Y) 83rd General Session and Exhibition of the IADR, March 9-12, 2005,
Baltimore, Maryland, USA

Proliferation and Adhesion of Periodontal Ligament Cells on Synthetic
Biomaterial (Hatakeyama J, Hatakeyama Y, Takahashi I, Suzuki O, Sasano
Y) 83rd General Session and Exhibition of the IADR, March 9-12, 2005,
Baltimore, Maryland, USA

Mechanical Stretch Induces ERK1/2 Phosphorylation in Micromass Culture.
(Takahashi I, Hatakeyama Y, Terao F, Sasano Y, Sugawara J) 83rd
General Session and Exhibition of the IADR, March 9-12, 2005, Baltimore,
Maryland, USA

Characterization of Dentin Formed in Transplanted Rat Molar with EPMA.
(Odajima N, Sasano Y, Suzuki O, Sasaki K) 83rd General Session and
Exhibition of the IADR, March 9-12, 2005, Baltimore, Maryland, USA

Sonic Hedgehog Induces Odontogenic Differentiation From Dental Pulp Cells
(Hatakeyama Y, Takahashi I, Nakamura T, Maruya Y, Sasano Y, Shum L,
Hatakeyama J.) 83rd General Session and Exhibition of the IADR, March 9-12,
2005, Baltimore, Maryland, USA

Novel Electroporation Transferring Genes to Embryonic Mandibular Organ
Culture. (Terao F, Takahashi I, Mitani H, Haruyama N, Sasano Y,
Igarashi K) 83rd General Session and Exhibition of the IADR, March 9-12,
2005, Baltimore, Maryland, USA

Versican and ADAMTSs are involved in bone development. (Nakamura M,
Takahashi I, Echigo S, Sasano Y) International Symposium for Interface Oral

Health Science in Sendai, February 2-3, 2005, Sendai, Japan

Periodontal ligament cell adhesion to synthetic biominerals by integrins (Hatakeyama J, Hatakeyama Y, Takahashi I, Suzuki O, Sasano Y) International Symposium for Interface Oral Health Science in Sendai, February 2-3, 2005, Sendai, Japan

Synthetic octacalcium phosphate (OCP) is an effective scaffold to regenerate bone. (Kamakura S, Sasano Y, Suzuki O) International Symposium for Interface Oral Health Science in Sendai, February 2-3, 2005, Sendai, Japan

下顎と下肢の骨発生過程における versican と ADAMTS1, 4, 5 の発現 (中村恵、笹野泰之) 第50回東北・北海道連合支部学術集会、2004年10月16日、17日、札幌市

エナメル蛋白、アメロジェニンによる破骨(破歯)細胞分化抑制(畠山純子、畠山雄次、笹野泰之) 第50回東北・北海道連合支部学術集会、2004年10月16日、17日、札幌市

下顎と下肢の骨発生・成長過程における ADAMTS1, 4, 5 及び versican, aggrecan の発現 (中村恵、曾根信哉、高橋一郎、溝口到、越後成志、笹野泰之) 第46回歯科基礎医学会学術大会 2004年9月23日、24日、25日、広島市

ラット臼歯の萌出過程における versican 及び ADAMTS の発現 (曾根信哉、中村恵、丸谷由里子、高橋一郎、溝口到、真柳秀昭、笹野泰之) 第46回歯科基礎医学会学術大会 2004年9月23日、24日、25日、広島市

ラット臼歯胚移植後の象牙質形成と石灰化の動態について (小田島奈美、笹野泰之、鈴木治、佐々木啓一) 第46回歯科基礎医学会学術大会 2004年9月23日、24日、25日、広島市

添加性骨形成の促進と形成された新生骨の維持に関する研究 (中嶋大輔、鎌倉慎治、越後成志、笹野泰之) 第46回歯科基礎医学会学術大会 2004年9月23日、24日、25日、広島市

咬合に伴う象牙芽細胞の I 型コラーゲン発現の増強（佐藤繁久、土谷昌広、秋葉陽介、小牧健一郎、高橋一郎、楠慎一郎、溝口到、笹野泰之、渡辺誠）第 46 回歯科基礎医学会学術大会 2004 年 9 月 23 日、24 日、25 日、広島市

アメロジェニンによる破骨細胞分化抑制（畠山純子、畠山雄次、笹野泰之）第 46 回歯科基礎医学会学術大会 2004 年 9 月 23 日、24 日、25 日、広島市

Gene Expression of MMPs and TIMPs during Orthodontic Tooth Movement .
(Takahashi I, Onodera K, Bae J-W, Mitani H, Sasano Y, Igarashi K, Mitani H) 82nd General Session and Exhibition of the IADR, March 10-13, 2004, Honolulu, Hawaii, USA

Expression of MMPs and TIMPs in Mechano-response of Differentiating Chondrocytes. (Onodera K, Takahashi I, Bae J-W, Mitani H, Sasano Y, Mitani H) 82nd General Session and Exhibition of the IADR, March 10-13, 2004, Honolulu, Hawaii, USA

Osteoclastogenic Activity in the Bone Regenerates Following Mandibular Distraction Osteogenesis (Wang LC, Takahashi I, Sasano Y, Sugawara J, Mitani H) 82nd General Session and Exhibition of the IADR, March 10-13, 2004, Honolulu, Hawaii, USA

ラット臼歯の生理的歯根吸収及び修復過程におけるカテプシン K 及び I 型コラーゲンの遺伝子発現（目黒浩幸、秋葉陽介、土谷昌広、高橋一郎、柏崎潤、佐藤繁久、加賀山学、笹野泰之、渡辺誠）第 45 回歯科基礎医学会学術大会 2003 年 9 月 18 日、19 日、盛岡市

ラット顎関節円板における versican の局在とタンパク質および遺伝子発現（鳥谷奈保子、荒川俊哉、田隈泰信、笹野泰之、溝口到）第 45 回歯科基礎医学会学術大会 2003 年 9 月 18 日、19 日、盛岡市

硬組織細胞外マトリックスの発生と再生（笹野泰之）最新研究紹介、第 43 回東北大学歯学会 2003 年 6 月 20 日、仙台市

硬組織細胞外マトリックスの発生と再生（笹野泰之）、第5回学際ライフサイエンスシンポジウム、トランスレーションサイエンス 2003年4月25日、仙台市

硬組織細胞外マトリックスの発生と再生（笹野泰之）、鶴見大学歯学部顎機能研究センター第2回公開シンポジウム 2003年2月15日、横浜市

ラット上顎臼歯の生理的歯根吸収に関する形態計測学的研究（柏崎潤、土谷昌広、金田一孝二、笹野泰之）第43回東北大学歯学会 2003年6月20日、仙台市

添加性骨形成過程で骨芽細胞と骨細胞は細胞外基質の分解とその制御に関与する（羽鳥弘毅、笹野泰之、高橋一郎、加賀山学、佐々木啓一）第44回歯科基礎医学会学術大会 2002年10月3日、4日、5日、東京都

本報告書収録の学術雑誌等発表論文は本ファイルに登録していません。なお、このうち東北大学在籍の研究者の論文で、かつ、出版社等から著作権の許諾が得られた論文は、個別に **TOUR** に登録しております。