

## 論 文 要 旨

氏 名

上田 雅恵

## 論文の要旨

矯正的歯の移動時において、牽引側では骨形成が起こり、圧迫側では骨吸収が起こるが一方、骨芽細胞に圧迫力を付与すると骨形成を促進するという報告がある。しかし、実際、圧迫側において骨形成が促進する事はない。したがって、圧迫側における骨吸収には骨吸収促進と同時に、骨形成抑制が起こっていることが考えられる。そのため、圧迫側においてヒト歯根膜線維芽細胞から骨形成抑制因子が発現していると考えられ、これには骨形成抑制因子の Asporin または Sclerostin (SOST) が関わっているのではないかと考えられる。よって、我々は歯根膜線維芽細胞へ機械的圧迫力を想定して遠心力を付与し、Asporin と SOST/Sclerostin の関与を調べた。

*In vitro* において、ヒト歯根膜細胞は、九州歯科大学付属病院において矯正歯科治療の理由で抜歯を行う患者に事前に同意を得た上で、抜歯した小臼歯の歯根膜から採取し、分離、培養した。細胞は、フラスコにて 3 日間 preculture し、その後、遠心機にフラスコをセットし、遠心力 (40/90/135/160 xg) を 24 時間付与し、Asporin と SOST の遺伝子発現量は半定量的 PCR 法にて、タンパク発現量は免疫染色にて、細胞外放出量は ELISA 法にて調べた。また、Asporin の骨形成抑制作用を調べるため、ヒト骨芽細胞の培養液に Asporin タンパクを付与し、4 週間後、von Kossa 染色を行い、骨形成への影響を調べた。*In vivo* では、ラット上顎第一、第二臼歯間にエラスティックバンドを挿入した Waldo 法にて 5 日間負荷を与え、安楽死させた後、4%パラホルムアルデヒドで固定し、上顎骨を摘出し、脱灰後、凍結切片を作製した。この切片を用いて Asporin の分布を免疫染色にて調べた。

Asporin と同様に Sclerostin もヒト歯根膜線維芽細胞に発現していた。そして、矯正的歯の移動時の圧迫側において、Asporin と SOST/Sclerostin のどちらが主として働いているかを調べるため、ヒト歯根膜線維芽細胞に至適矯正力である 90 xg の遠心力を付与すると、SOST mRNA の発現は Control 群と比較して減少したが、Asporin mRNA の発現は有意に増加した。また、免疫陽性細胞数で確認した結果においても、Sclerostin 免疫陽性細胞数は Control 群と比較して有意に減少したが、Asporin 免疫陽性細胞数は有意に増加した。そして、遠心力を大きくするにしたがい、細胞傷害は大きくなったが、90 xg の遠心力を付与した際の Asporin タンパク放出量は Control 群と比較して有意に増加した。また、ヒト骨芽細胞はヒト歯根膜線維芽細胞に 90xg の遠心力を付与した培養液で培養したものが Control 群の培養液で培養したものより有意に骨化の抑制が認められ、同様に培養液に 90xg の遠心力を付与して放出された Asporin タンパク量を添加すると有意に骨化の抑制が認められた。

よって、ヒト歯根膜線維芽細胞に至適矯正力である 90 xg の遠心力を付与すると、Asporin の発現は増加し、ヒト骨芽細胞の骨形成を抑制することが分かった。この事と、これまでの報告により、矯正的歯の移動時の圧迫側において骨形成が促進されないのは、ヒト歯根膜線維芽細胞から Asporin が放出され、Asporin が BMP-2 と結合し、シグナル伝達を阻害することにより、骨形成抑制作用が働くためであるということが示唆された。