

指 導 教 授 氏 名	指 導 役 割
上岡 寛 印	研究内容の指導, 統括
印	
印	

学 位 論 文 要 旨

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

専攻分野：歯科矯正学分野	身分 大学院生	氏名：小田垣 直弥
論 文 題 名：矯正的歯の移動によるSclerostin産生と骨代謝制御機構の解析		
論文内容の要旨（2000字程度）		
<p>【緒言】</p> <p>Sclerostin (Sc1) は骨細胞に特異的な分泌性蛋白質で、<i>SOST</i> 遺伝子によってコードされており、骨形成を抑制し、かつ骨吸収を促進させる。骨系細胞において 90-95% を占める骨細胞は、石灰化した骨基質内に存在し、骨への力学的負荷（メカニカルストレス）の感受やその情報伝達において中心的な役割を果たすということが提唱されてきた。Sc1 は矯正的歯の移動で生じる歯槽骨リモデリングを調節する因子である可能性が示唆されているが、骨および歯根膜における <i>SOST</i> 遺伝子発現の制御機構に関する詳細は未だ不明な点が多く、メカニカルストレスが <i>SOST</i> 遺伝子発現ならびに Sc1 産生をどれほど正確に調節しているのかは検討されていない。本研究は、歯槽骨に存在する骨細胞の Sc1 産生を、矯正的歯の移動モデルを用いて時間的・空間的に検討すること、また <i>SOST</i> 遺伝子発現ならびに Sc1 産生の調節に関する機構を探索し、歯根膜と骨細胞との相互作用が果たす役割について明らかにすることを目的とした。</p> <p>【材料ならびに方法】</p> <p><i>in vivo</i> における実験には 8 週齢の雄性 ICR マウス 20 匹を用いた。上顎右側第一臼歯と切歯の間にニッケルチタンコイルスプリングを装着し、それぞれ 1, 5, 10 日間、歯の移動を行った。コイルスプリングを装着していない群を対照群（0 日目）として用いた。Sc1 産生のパターンは、上顎第一臼歯冠状断切片に抗 Sc1 抗体による蛍光免疫染色を施し、領域単位および細胞単位で時空間的解析を行った。<i>in vitro</i> における実験には、矯正的歯の移動における圧迫側を模倣した実験系として、ヒト歯根膜線維芽細胞（hPDL cells）および 3 次元培養を行った骨細胞様株 MLO-Y4 の間接的共培養モデルを構築し、連続的な圧迫力を負荷した後、定量 RT-PCR 法を用いて骨代謝関連遺伝子への影響を検討した。</p>		

論文内容の要旨（2000字程度）

【結果および考察】

矯正歯の移動によって、圧迫側歯根膜腔の狭窄ならびに牽引側歯根膜腔の伸展が認められた。領域単位における歯槽骨領域での Sc1 産生を解析した結果、牽引側では歯の移動開始 1 日目においてのみ有意に減少する一方、圧迫側では 5 日目をピークに 10 日目まで有意な上昇を認めた。次に Sc1 陽性細胞の割合に関する解析では、牽引側では Sc1 陽性骨細胞の割合に顕著な変化を認めなかったのに対して、圧迫側では 5 日目において有意な増加を認め、10 日目では移動開始前の水準に戻った。

単離した hPDL cells の初代培養系に対し圧迫負荷を行ったところ、hPDL cells における *SOST* および *Receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL)* 遺伝子発現は、圧迫力依存的に二相性の発現調節を受け、 2.4 g/cm^2 の圧迫負荷では hPDL cell の *SOST* 遺伝子の発現亢進ならびに Sc1 産生の活性化を確認した。次に、14 日間 3 次元培養した MLO-Y4 に対し 2.4 g/cm^2 の圧迫負荷したところ、*Sost* 遺伝子発現は過去の報告と同様に負の調節を受けた。hPDL cells に対する同様の圧迫負荷を MLO-Y4 との共培養モデル環境下で加えた場合、*in vivo* で確認された結果と類似して、MLO-Y4 中の *Sost* 遺伝子発現が約 3 倍に増加した。*in vitro* におけるこれらの結果は、歯根膜と骨細胞の間接的相互作用が、圧迫力に対する *SOST* 遺伝子発現ならびに Sc1 産生の増加に関して重要な役割を果たすことを示唆している。以上の結果から、歯根膜への圧迫負荷により放出された分泌因子が歯槽骨中の骨細胞における *SOST* 遺伝子発現ならびに Sc1 産生の制御機構に影響を及ぼすという仮説を立て、抗 Sc1 中和抗体を培養溶液中に添加した場合の遺伝子発現を比較することで仮説の検証を試みた。その結果、圧迫負荷によって hPDL cells および MLO-Y4 に誘発される *SOST* 遺伝子発現の増加は、有意に抑制された。

【結論】

本研究では Sc1 産生の時空間的制御について検討を行い、矯正歯の移動に対する Sc1 産生の影響を高い分解能で捉えることに成功した。過度な圧迫負荷を受けた歯根膜細胞は、*SOST* 遺伝子発現の上昇並びに Sc1 の産生を来し、歯槽骨中の骨細胞においては Sc1 の産生亢進が認められた。本研究によって、歯根膜由来の Sc1 によるパラクリン作用が骨リモデリングにおける主要なメディエーターである可能性を示し、矯正歯の移動により生じる圧迫力が *in vivo* の歯槽骨においてなぜ Sc1 産生の増加を引き起こすのかについて、その理由の一端を明らかにした。