

論文の内容の要旨

氏名：吉野 智一

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：TNF- α induces orthodontic root resorption via the expression of RANKL

(TNF- α はRANKL存在下で歯科矯正治療中の歯根吸収を増悪させる)

歯科矯正治療は審美的な歯列と機能的な咬合を得る事を目的として行っておるが、過去の報告では固定式矯正装置を使用した場合2-5%の患者で根尖より5mm以上の歯根吸収が発生する事がわかっている。この合併症を予期し、防ぐ事は矯正科医にとって重要な課題である。歯根吸収の原因は様々な報告がなされており、歯根の形態異常、外傷の既往、過度の矯正力などが報告されているが明確な原因は未だ解明されていない。近年、歯根吸収には多数の炎症性サイトカインが複雑に関与している事が報告されている。なかでもtumor necrosis factor (TNF- α)は炎症性骨吸収に関与する代表的なサイトカインとして知られており、TNF- α とreceptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)との骨吸収に関する研究がなされているが、両者の関係については諸説存在する。また、歯根吸収におけるTNF- α の明確な役割と詳しい活性化の機序やRANKLとの関係についても明確になっていない。そこで本研究では歯根吸収におけるTNF- α とRANKLの関係を検討した。

歯根吸収患者とほとんど吸収のない患者(1mm以下)の歯肉溝滲出液(GCF)を矯正治療終了直後に採取し、Western blot法にてTNF- α およびRANKLの発現を検討した。また、*in vivo*において、8週齢のBALB/cマウスを用いて上顎第一臼歯を25gの強い矯正力で9日間近心に牽引し、当該部の切片はHE染色ならびに、TNF- α 及びRANKL抗体を用いて免疫組織学的染色を行った。*In vitro*においてはヒト歯根膜細胞(hPDLcells)にcompression force (CF)を作用させ、TNF- α およびRANKLの発現をreal-time PCRおよびELISA法を用いて検討した。また、破骨・破骨細胞の分化及び活性を観察するために破骨前駆細胞(hOCs)に、CFを作用させたhPDLcellsの上清を加えTRAP染色、pit formation assayを行った。同時にTNF- α の作用を検討するため、RANKLを阻害した群およびTNF- α 単独の群についても検討を行った。

その結果、GCF中のTNF- α およびRANKL発現は歯根吸収者において有意に高かった。また、*in vivo*において、矯正力を加えたマウスの圧迫側歯根表面には吸収窩が認められ、その周囲にTNF- α およびRANKL陽性細胞の増加を認めた。さらに、*in vitro*において、CFを負荷したhPDL cellsのTNF- α およびRANKLの発現が有意に増加し、破骨細胞培養系においてもCF群およびTNF- α 、RANKLが存在する群でTRAP陽性細胞が増加した。このことからTNF- α は破骨細胞の分化を増強する効果があることが明らかとなった。さらに、興味深いことに、RANKL非存在下においてTNF- α 単独でも破骨細胞分化は微弱に起こった。しかしその効果は、RANKLのみの破骨細胞発現と比較し、5分の1程と非常に弱いものであった。一方、TNF- α とRANKLの共存下ではRANKLのみの場合と比較すると約2.1倍となり、RANKL依存性破骨細胞発現はTNF- α の共存により著明に増加することが明らかとなった。このことから、TNF- α は単独では破骨細胞分化の能力は弱い、RANKLの存在下では破骨細胞分化を促す効果は非常に強いことが明らかとなった。加えて、破骨細胞の吸収能を検討するために行ったpit formation assayにおいてもTRAP染色の結果と同様に、TNF- α はRANKL依存性の破骨細胞の活性化を著明に促した。しかしTNF- α 単独での吸収活性は全く見られなかった。TNF- α 単独の作用については、弱い分化能を示すが、吸収能においては単独では活性化に至らないことが明らかとなった。

以上のことから、TNF- α は単独では矯正治療中の歯根吸収を惹起する可能性は低い、RANKLとの共存により歯根吸収が発症する。そしてその作用はRANKL単独の際よりも劇的であることが示唆された。