

## 論文審査の結果の要旨

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- $\alpha$  induces orthodontic root resorption via the expression of RANKL

(TNF- $\alpha$ はRANKL存在下で歯科矯正治療中の歯根吸収を増悪させる)

審査委員：（主査）教授 吉垣 純子

（副査）教授 小方 頼昌

教授 葛西 一貴

教授 久山 佳代

矯正歯科治療は、審美的歯列と機能的咬合を得ることを目的とするが、偶発症の一つとして歯根吸収が存在する。歯根吸収は歯の移動に伴って歯根尖部に生じ、その程度の差はあれほとんどの症例で認められ、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。その予測は難しく、一旦進行してしまうと不可逆的で修復不可能である。その原因については過大な矯正力、長期にわたる治療、歯根の形態異常、遺伝的要因などが考えられているが明確な原因は未だ解明されていない。歯根吸収を予期し、防ぐ事は矯正科医にとって重要な課題である。

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- $\alpha$ )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- $\alpha$ とreceptor activator of nuclear factor- $\kappa$ 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- $\alpha$ 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。そこで本論文の著者は歯根吸収におけるTNF- $\alpha$ 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- $\alpha$ 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- $\alpha$ 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- $\alpha$ 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・破歯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- $\alpha$ の作用を検討するため、RANKLを阻害した群およびTNF- $\alpha$ 単独の群についても検討を行った。

その結果、GCF中のTNF- $\alpha$ 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- $\alpha$ 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- $\alpha$ 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- $\alpha$ 、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- $\alpha$ 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- $\alpha$ 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- $\alpha$ 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- $\alpha$ 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- $\alpha$ は単独では破骨細胞分化の能力は弱いですが、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- $\alpha$ 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- $\alpha$ 単独での吸収活性は全く見られなかった。TNF- $\alpha$ 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。

以上の結果から、本論文の著者はTNF- $\alpha$ 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ですが、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と結論付けている。

本研究は、矯正歯科治療における歯根吸収について新たな知見を得たものであり、歯科医学ならび

に歯科矯正臨床に大きく寄与し、今後一層の発展が望めるものである。  
よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成26年2月27日