

## 論文の内容の要旨

氏名：竹之内 裕 行

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：*In vivo* micro-CTによる正中口蓋縫合急速拡大後の長期定量評価について

上顎の急速拡大は狭窄した上顎骨を短時間で側方に拡大する目的で用いられ、拡大後の離開した正中口蓋縫合は骨の増生で修復されることが知られている。臨床的には、急速拡大後の後戻りを防ぐために、固定式装置を用いて少なくとも3ヵ月間保定することが推奨されている。そのため、急速拡大によって引き起こされる正中口蓋縫合における形態学的変化とその後の骨形成、ならびに生物学的反応について理解することは重要である。

急速拡大後の正中口蓋縫合の経日的変化については十分に解明されておらず、従来型のmicro-CTを用いた研究では唯一、急速拡大後14および28日の縫合部の修復過程が検討されている。しかし、従来型のmicro-CTでは、X線照射時間が長く照射線量が大きいため、同一の動物を麻酔下で多数回にわたって経日的に観察することは不可能であった。

近年、*in vivo* micro-CTが開発され、実験動物を麻酔下で多数回にわたって撮影することが可能となり、同一個体の長期観察ができるようになった。急速拡大後の縫合部では、膜内骨化の機序による骨形成が生じ、その過程で強力な骨形成関連因子として知られているbone morphogenetic protein 2 (BMP-2)、insulin-like growth factor I (IGF-I) およびtransforming growth factor beta 1 (TGF- $\beta$ 1)の発現が増加すること、また、これらの発現はメカニカルストレスによって誘導されることが報告されている。しかし、その詳細については不明な点が多く残されている。

そこで本研究では、ラットの正中口蓋縫合を実験的に急速拡大し、*in vivo* micro-CT画像を用いて縫合部の形態学的変化を、real time RT-PCRおよび免疫組織化学にて縫合部の骨形成関連因子の発現について経日的に検討した。

正中口蓋縫合の拡大はラットの上顎切歯間に1.5 mmの金属リングを挿入することで行った。正中口蓋縫合の形態学的変化は拡大前0日、拡大後1, 3, 6, 9, 12, 18および24日に*in vivo* micro-CTで撮影し、縫合部骨体積、縫合部幅径および上顎切歯間距離を調べた。また、正中口蓋縫合部でのBMP-2、IGF-IおよびTGF- $\beta$ 1の遺伝子発現は0, 1, 3, 5および7日にreal time RT-PCRによって、タンパク発現は0, 5および7日に免疫組織化学によって検討した。

*In vivo* micro-CTで測定した正中口蓋縫合部骨の体積は、経日的に減少し、拡大後12日では最小(-0.34 mm<sup>3</sup>)となったが、その後骨形成に伴ってしだいに増加し、拡大後24日には-0.13 mm<sup>3</sup>となり拡大前の63%まで修復された。上顎切歯唇舌径中間点における縫合部幅径は、拡大前は0.18 mmであったが、経日的に増加し、拡大後12日で最大(0.38 mm)となった。一方、上顎切歯間距離は、拡大前は1.3 mmであったが、拡大後1日で1.80 mmに増加し、その後はわずかに増加した。

BMP-2とIGF-Iの遺伝子発現は拡大前と比較して拡大後3日に、TGF- $\beta$ 1の遺伝子発現は拡大後5日に有意に増加し、その後これらの遺伝子発現量は経日的に減少し、拡大後7日では拡大前とほぼ同じレベルあるいはそれ以下のレベルとなった。

免疫組織化学的には、BMP-2とIGF-IおよびTGF- $\beta$ 1の正中口蓋縫合部の発現は拡大前ではほとんど観察されず、骨芽細胞層におけるわずかな発現のみであった。BMP-2、IGF-IおよびTGF- $\beta$ 1の発現は拡大後5日と7日の骨芽細胞層で観察され、これらの発現は5日より7日で強かった。7日では縫合部の骨芽細胞層だけではなく、血管内皮細胞と線維芽細胞においても発現が観察された。

以上の結果から、単回の急速拡大によって正中口蓋縫合の拡大は12日間持続し、その修復には30日以上必要であることが明らかになった。この修復期間はヒトに置き換えるならば2年から3年となる。このことは、臨床的に上顎急速拡大後の動的矯正治療および保定期間が3年から4年必要であることと整合性があると考えられた。さらに、拡大後の正中口蓋縫合部において、BMP-2、IGF-IおよびTGF- $\beta$ 1が強く発現していたことから、これらは拡大後の骨形成において重要な役割を担うことが示唆された。従って、本研究結果と臨床における正中口蓋縫合急速拡大後の長期保定とは整合性があると考えられた。