

論文の内容の要旨

氏名：湊 友香里

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：セメント芽細胞のアポトーシスは RANKL 発現を介して歯根吸収を悪化させる

歯科矯正治療は顎口腔機能の改善や審美性の回復など多くのメリットを有するが、程度の差はあるものの、歯根吸収を生じることが知られている。歯科矯正治療における歯根吸収は、予測することが困難な偶発症の一つであり、多くが歯根表層や歯根尖に限局した小さなもので、最終的にはセメント芽細胞による吸収部位の修復機転が生じる。しかし、歯根が広範に吸収されることにより歯の動揺をきたし、咀嚼機能に大きな影響を及ぼすことがある。アポトーシスは、プログラムされた細胞死であり、実行には多くの構成要素が必要である。カスパーゼはアポトーシスの主な関連因子であり、その活性化は、細胞の収縮、クロマチン凝縮、DNA の断片化および細胞膜小胞の発生など、アポトーシスによる細胞死の特徴的な形態学的変化をもたらす。最近の研究では、ラットの実験的歯牙移動において、硝子様変性が起きた歯根膜線維芽細胞に隣接する歯槽骨の骨細胞がアポトーシスによって細胞死を引き起こすことが報告されている。一方で、現在、歯根吸収とセメント芽細胞のアポトーシスとの関連性についてはほとんど知られていない。

本研究は、*in vivo* 実験として、6 週齢の Wistar 系雄性ラットを計 60 頭用い、上顎右側第一臼歯の矯正力を強い矯正力群（50 g 群）と適切な矯正力群（10 g 群）に分けて矯正移動を施したのち、ヘマトキシリン・エオシン染色と tartrate-resistant acid phosphatase（以下、TRAP）、カスパーゼ 3, 8 および receptor activator of NF- κ B ligand（以下、RANKL）抗体を用いた免疫組織化学染色を行った。*in vitro* 実験では、矯正力の視点から強い圧迫力群（HF 群; 4 g/cm²）と至適圧迫力群（OF 群; 1 g/cm²）を再現し、培養ヒトセメント芽細胞様細胞（human cementoblast-like cell lines, 以下 HCEM）を用いてアポトーシスにおける外因性経路に焦点をあて実験を行なった。圧迫力の調整は培養細胞上にカバーガラスを静置、分銅にて行った。アポトーシス外因性伝達経路であるカスパーゼ 3, 8 と、破歯細胞の分化促進因子 RANKL、および、その抑制因子オステオプロテジェリン（以下、OPG）は、real-time PCR 法および ELISA 法にて遺伝子発現とタンパク質発現を検討した。また、カスパーゼ阻害薬である z-VAD-fmk を培養液中に添加し、関連因子の発現に対する影響を調べた。

in vivo 実験では、50 g 群の 7 日目に、歯根表面に象牙質に達する多数の吸収窩を認め、TRAP 陽性細胞と RANKL 陽性細胞が増加した。カスパーゼ 3 およびカスパーゼ 8 陽性細胞は、3 日目および 5 日目に 50 g 群のセメント質表層で増加した。これら TRAP、RANKL 陽性細胞数およびカスパーゼ 3, 8 陽性細胞率は、10 g 群と比較し 50 g 群で有意な増加が認められた。HCEM を用いた *in vitro* 実験では、HF 群は OF 群よりカスパーゼ 3、カスパーゼ 8、および RANKL の遺伝子およびタンパク質発現の増加が認められた一方で、OPG 発現は遺伝子およびタンパク質の両レベルで減少傾向があった。HF 群における RANKL の発現量のピークは、カスパーゼ 3 およびカスパーゼ 8 のピークの後に認められた。加えて、HF 群にカスパーゼ阻害薬を添加すると、RANKL の発現は HF 群と比較して有意に減少し、RANKL / OPG 比は、9 時間で約 57%、12 時間で約 40% の有意な減少が認められた。カスパーゼが阻害薬の添加により RANKL 発現の有意な減少が認められた。

以上の結果から、強い矯正力によってセメント芽細胞は、カスパーゼ 3 およびカスパーゼ 8 の産生を亢進させ、アポトーシス経路を活性化させること、また、セメント芽細胞におけるアポトーシス経路は、同時にセメント芽細胞の RANKL 発現を促進することで、破歯細胞の分化・融合を進めることで歯

根吸収を増悪させる可能性があることが示唆された。