

論文審査の結果の要旨

氏名：鹿野 瑞貴

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：ラットの実験的歯の移動後の骨代謝に daidzein が与える影響

審査委員：(主査) 教授 久山 佳代

(副査) 教授 葛西 一貴

教授 平塚 浩一

矯正歯科臨床において動的矯正治療後に保定装置を用いるが、歯の後戻りが少なからずみられる。後戻りの原因として、歯根膜線維の伸展収縮や歯槽骨のリモデリングの破綻などが考えられているが、詳細は未だ明らかではない。本講座では、イソフラボンの一種である daidzein に着目し、daidzein の投与により間葉系細胞(以下、歯根膜細胞と記す)の細胞増殖を活性化することでコラーゲン代謝を促進し、後戻りを抑制すると報告している。後戻りが動的治療後少なからず起こることに着目し、後戻りを防ぐためには、動的治療後の骨吸収を抑制し、骨形成を促進することが効果的であると考えた。

Daidzein は骨粗鬆症の抑制や予防のためのサプリメントとして臨床応用されており、骨からのカルシウムの流出を抑え、骨形成の促進と骨密度の増加を促す。また、破骨細胞の分化を抑制し、骨吸収を軽減する作用がある。しかしながら、daidzein の歯根膜細胞を介した歯槽骨への作用については不明である。また、近年では薬剤の投与により骨吸収の抑制、骨形成の促進をすることで後戻りを防止するとの報告があるが、未だ歯科領域での臨床応用までには至っていない。

そこで本論文の著者は、ラットの実験的歯の移動後における骨形成促進効果、骨吸収抑制効果を検討するために保定期間中に daidzein を腹腔内投与し、後戻り抑制効果、さらに歯根膜細胞における牽引側での細胞増殖能および骨形成作用、圧迫側での骨吸収抑制効果について検討した。

実験モデルには、6週齢の Wistar 系雄性ラットを計48匹用い、無作為に control 群と daidzein 群に分類した。Waldo らの方法に従い、厚さ 1.2 mm のセパレーティングモジュールを上顎右側第一臼歯と第二臼歯との間に挿入し、7日間歯の移動を行った。歯の移動後、セパレーティングモジュールを除去し、離開された上顎右側第一臼歯と第二臼歯間を光重合型レジンにて7日間保定した。保定期間中に、control 群には phosphate buffered saline (PBS) を、daidzein 群には daidzein を 10 mg/kg、7日間腹腔内投与した。その後、固定に用いた光重合型レジン除去し、自然保定を7日間行った。実験開始 0, 7, 14, 21 日目に、micro-CT 撮影を行い移動歯エナメル質の最遠心点と第二臼歯の最近心点を結ぶ直線距離を計測し、歯の移動量および後戻り率を測定した。さらに、hematoxylin and eosin (H.E.) 染色を用いて病理組織学的観察を行い、牽引側では歯根膜細胞の骨芽細胞分化の誘導を検討するため、増殖細胞核抗原である proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 抗体、骨形成関連因子である alkaline phosphatase (ALP) 抗体、osteopontin (OPN) 抗体、圧迫側では骨吸収関連因子である tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 抗体、receptor activator of nuclear-factor kappaB ligand (RANKL) 抗体、osteoprotegerin (OPG) 抗体、アポトーシス関連因子である caspase 3 抗体を用いて免疫組織化学的観察を行った。

その結果、実験開始 21 日目での上顎右側第一臼歯と第二臼歯間の後戻り率は control 群で 86.6%、daidzein 群で 23.1%であり、daidzein 群は control 群と比較して、有意に低い値を示した。病理組織学的所見では、牽引側 14 日目の control 群においてコラーゲン線維は歯槽骨寄りでは蛇行し、セメント質寄りでは伸展が認められた。daidzein 群では、歯槽骨表面において、不整な新生骨の形成を認めた。21 日目の control 群では、コラーゲン線維は束状に蛇行する部位と伸展された部位が混在していた。daidzein 群では、コラーゲン線維の伸展は弱まり、大部分は密に蛇行し、新生骨の形成が観察された。圧迫側 14 日目の control 群において歯槽骨表面では、不規則な吸収窩に沿って多数の破骨細胞が、セメント質表面では破歯細胞を認めた。daidzein 群

では、歯槽骨表面の不規則な吸収窩に沿って多数の破骨細胞を認めた。21日目では、両群ともに歯槽骨表面に存在していた破骨細胞は消失し、daidzein 群の歯槽骨の吸収窩は認めなかった。免疫組織化学染色では、牽引側歯根膜における PCNA 陽性細胞は、7日目より PCNA 陽性細胞の発現を認め、14日目において daidzein 群での有意な陽性細胞の増加を認めた。ALP 陽性細胞は、14日目において daidzein 群での有意な増加を認めた。OPN 陽性細胞は、14日目において両群で発現を認め daidzein 群での有意な増加を認めた。圧迫側歯根膜における TRAP 陽性細胞は7日目において両群ともに歯槽骨表面の不規則な吸収窩に沿って TRAP 陽性細胞を認め、14日目では control 群での有意な増加を認めた。RANKL 陽性細胞は7日目において両群ともに歯根膜内に RANKL 陽性細胞を認め、14日目では control 群との有意な増加を認めた。OPG 陽性細胞は14日目において両群ともに歯根膜内に OPG 陽性細胞を認め daidzein 群での有意な増加を認めた。Caspase 3 陽性細胞は14日目では両群ともに歯根膜内に caspase 3 陽性細胞を認め daidzein 群での有意な増加を認めた。

以上の結果から本論文の著者は、歯の移動後の保定期間中に daidzein を投与することにより、daidzein が牽引側の歯根膜細胞に作用して、その増殖を促し、骨芽細胞への分化を誘導する。圧迫側では歯根膜細胞での OPG の発現を増加させるとともに caspase 3 の発現を増加することにより、アポトーシスに誘導し、破骨細胞の分化を阻害する。よって、daidzein は骨吸収を抑制し、骨形成を促進することにより、後戻りを抑制し保定期間を短縮する可能性が示唆された。また、腹腔内投与を用いることにより、全身投与による結果が確認できたため、サプリメントなどの簡便な方法で臨床応用する可能性を実証できたと結論付けている。

本研究は、矯正学的歯の移動後の後戻りに対する daidzein の抑制効果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

令和2年2月20日