

論文の内容の要旨

氏名：長 田 彩 佳

博士の専攻分野の名称：博士 (歯学)

論文題名：Orthodontic tooth movement causes tooth pain hypersensitivity by periodontal acidification
(歯列矯正による歯周組織の酸性化は歯痛を誘発する)

歯列不正は咀嚼や会話などの口腔機能に影響を与え、生活の質 quality of life (QOL) を低下させる。このような歯列不正は、歯列矯正治療により改善できるが、多くの場合、移動歯に歯痛が生じることが報告されている。しかし、矯正治療中の歯痛発症メカニズムは十分に解明されていない。先行研究において、矯正力により歯周組織に虚血が生じて組織が酸性化することや、炎症により酸感受性疼痛関連チャネル acid-sensing ion channel 3 (ASIC3) の発現が三叉神経節ニューロンで増加することが報告されている。ASIC は、細胞外プロトン他数種類のリガンドによって活性化されるナトリウム選択的陽イオンチャネルである。その中でも、ASIC3 は他の ASIC と比較してプロトンに対してより高い感受性を示すことが報告されている。そこで本研究では、歯移動モデルラットを用いて矯正治療中の歯痛に対する ASIC3 の役割を検討した。

本実験には、雄性 Sprague-Dawley ラット (250g-350g) を合計 150 頭使用した。上顎右側第一臼歯 (M1) と第二臼歯 (M2) 間に歯科用エラスティックゴムを挿入 (Waldo 法) することで臼歯に持続的な圧力を負荷して歯移動モデル (elastic-induced tooth movement model : ELS 群) を作製した。エラスティックゴムは挿入後、幅 3 mm、高さ 1.5 mm、深さ 0.6 mm にトリミングした。エラスティックゴムの挿入を行わない群を Sham 群とした。なお、本研究は日本大学動物実験委員会の承認のもとで実施した (承認番号：AP18DEN009, AP20DEN014)。

エラスティックゴム挿入による圧力負荷によって歯が移動したか否かを調べるために、実験動物用マイクロ CT にて M1-M2 間の距離を測定したところ、経日的に歯間距離は拡大していた。圧力負荷後 1 日目で圧迫側では歯根膜腔が狭窄していた。牽引側では歯根膜腔が拡大し、M1 遠心口蓋根周囲では、炎症性細胞の浸潤を認めた。また、IL-1 β の免疫組織化学的染色により、ELS 群の歯根膜牽引側で IL-1 β の発現増強を認めたのに対し、Sham 群ではほとんど認められなかった。浅麻酔下にて、electronic von Frey を用い M1 咬合面への機械刺激に対する頭部引っ込み反射閾値 (mechanical head-withdrawal threshold : MHWRT) を経日的に測定したところ、エラスティックゴム挿入後 1 日目から 5 日目まで Sham 群に比べ MHWRT は有意に低下し、圧力負荷による歯痛の発症が認められた。次に、圧力負荷後の歯痛の発症に歯周組織の酸性度が影響するか否かを調べた。まず、針状 pH 電極付き pH メーターを使用し M1 頬側歯肉溝の pH を測定した。比較電極は、左側大腿部の皮下に留置した。その結果、圧力負荷 1 日目に pH はおよそ 7.0 まで低下した。また、圧力負荷後から M1 頬側歯肉溝へリン酸緩衝食塩水 (PBS) を投与すると、pH の低下は抑制されたことから、PBS の投与により歯周組織の酸が緩衝されたことが示唆された。さらに、ELS 群において PBS の歯周組織投与後に MHWRT の測定と M1-M2 間距離測定を行ったところ、MHWRT の低下は回復したが、M1-M2 間移動距離には変化は認められなかった。次に、実歯周組織の pH 低下が歯痛を引き起こすか否かを調べるため、pH 7.4, 7.0, および 6.5 の pH 調整溶液を健常ラットの M1 歯周組織に投与したのち、歯周組織の pH と MHWRT を測定した。pH 6.5 と 7.0 の酸性溶液投与後の pH は、投与 5 分後にそれぞれ約 pH 7.0 と 7.4 になり、一時的に pH は低下するものの投与直後に酸が緩衝された。pH 7.4 では pH の変化は認められなかった。MHWRT は、pH 7.4 と 7.0 の溶液投与では変化しなかったが、pH 6.5 の溶液投与 5 分後に低下し 10 分後に回復した。このことは、圧力負荷時の酸性度と同程度の pH 低下により歯痛が惹き起こされることを示していた。以上の結果から、エラスティックゴム挿入により歯痛が起こり歯周組織の酸性化が生じたこと、また、この歯痛には歯周組織で生じた酸が関与すること、また酸の緩衝は歯の移動に影響を与えないことが示唆された。ASIC3 は pH 7.2 より低い pH で活性化することが報告されていることから、ELS 群においても ASIC3 が関与している可能性が考えられる。そこで、まず、ELS 群の歯痛の発症に歯周組織の ASIC3 が関与しているか否かを調べるため、ASIC3 アンタゴニスト (APETx2, 0.17 mM diluted in saline) の歯槽部への持続投与を行い、MHWRT の測定を行った。その結果、ELS 群

の MHWRT の低下は ASIC3 アンタゴニストの投与によって抑制された。次に、エラスティックゴム挿入後 1 日目と 7 日目に M1 歯槽部投射三叉神経節 (TG) ニューロンにおける ASIC3 の発現を解析した。M1 の歯周組織を神経支配する一次感覚ニューロンを標識するために、逆行性ニューロントレーサー-FluoroGold (FG, 2 μ L, 2% in saline) を M1 歯槽部に注入した。M1 歯槽部投射 TG ニューロンにおいて、ASIC3 の発現を認めたが、ASIC3 陽性 TG ニューロン数は 1 日目と 7 日目でいずれも変化しなかった。ASIC3 は、細胞内の PKC によりリン酸化されることが報告されている。そこで、圧力負荷後に ASIC3 のリン酸化が生じたか否かを検討するため、エラスティックゴム挿入後 1 日目の M1 歯周組織のホモジネートを抗 ASIC3 抗体で免疫沈降し、抗ホスホセリン抗体を用いてウエスタンブロットを行ったところ、ELS 群において、M1 歯周組織のリン酸化 ASIC3 が増加していることが確認された。

以上の結果から、矯正治療中に圧力を負荷した移動歯周囲組織に産生された酸とそれによる ASIC3 のリン酸化が歯列矯正における歯痛に関与することが示された。