

論文の内容の要旨

氏名：船崎 紅緒

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：セメント芽細胞における歯の移動実験による Wnt7a と歯根吸収の関連性

矯正歯科治療は、審美的歯列と機能的な咬合を得ることを目的とするが、本治療の偶発症の一つとして歯根吸収が存在する。歯根吸収の発生には多因子が関与していると考えられているが、その明確な原因は未だ解明されていない。近年、強い矯正力の負荷だけではなく、至適矯正力においても多方向からの力による歯の往復運動（以下、Jiggling）が歯根吸収の原因の一つであるといわれている。

強い矯正力を負荷した際の歯根吸収の発生には、強い圧迫力が歯根膜に負荷されることで炎症性サイトカインが誘発され破歯細胞を活性化することが関与していると考えられていたが、最近ではセメント芽細胞の Caspase-3 を介したアポトーシスと Wnt シグナルによる破骨細胞形成も関与していることが報告されている。また、Jiggling は至適矯正力にも関わらず、一方向の強い矯正力を負荷するよりも歯根膜に広範囲な炎症が生じるため重度の歯根吸収が生じるとされているが、セメント芽細胞に着目した研究はなくアポトーシスや Wnt シグナルとの関係性については解明されていない。Wnt シグナル中でも、今回注目した Wnt7a は関節軟骨細胞のアポトーシスを抑制し、骨形成を促進するといわれており、生物学的類似性からセメント芽細胞においても同様に作用する可能性がある。このことから Wnt7a が作用することにより至適矯正力ではセメント芽細胞にアポトーシスが生じて歯根吸収の発生を抑えることが出来るが、強い矯正力や Jiggling の場合は Wnt7a が抑制された結果アポトーシスが生じ歯根吸収が発生するのではないかと仮説を立てた。そこで本研究ではセメント芽細胞と歯根吸収に焦点を当てることとし、歯の移動様式を変えた際のセメント芽細胞におけるアポトーシス発現の変化と Wnt7a と歯根吸収の発現について検討することとした。さらに強い矯正力や Jiggling の際に Wnt7a が抑制されていることが考えられるため、Wnt シグナルに対して抑制的に働く Dickkopf1 (Dkk1) の発現についても検討した。

In vivo においては、研究①として 6 週齢の Wistar 系雄性ラットを用いて上顎右側第一臼歯を至適矯正力 (10 g) 群および強い矯正力 (50 g) 群で 7 日間近心に牽引し、矯正力の強さの違いによる歯根吸収部における Wnt7a, Caspase-3, Dkk1 のタンパク発現を比較検討し、矯正力を負荷しないものを対照群とした。さらに、研究②として、研究①と同様のラットを用いて至適矯正力 (10 g) で上顎両側第一臼歯を頬舌側に交互に移動する Jiggling (Jiggling force: JF) 群と、舌側のみ移動する至適矯正力 (Optimal force: OF) 群と強い矯正力 (50 g) (Heavy force: HF) 群にて、歯の移動様式の違いによる歯根吸収部における Wnt7a, Caspase-3 および Dkk1 のタンパク発現を比較検討し、矯正力を負荷しないものを対照群とした。

In vitro においては、歯根吸収との関連性をみるため圧迫側に焦点を当て、ヒトセメント芽細胞に至適矯正力 (1.0 g/cm²) を負荷した群と強い矯正力 (4.0 g/cm²) を負荷した群を比較検討し、負荷しない群を対照群とした。さらに、Wnt7a の歯根吸収抑制作用を観察するため、阻害剤である Dkk1 を培地に添加した 1.0 g/cm²+Dkk1 群、4.0 g/cm²+Dkk1 群を追加し、Wnt7a, Caspase-3 および骨吸収因子である RANKL の mRNA 発現量について比較検討した。

その結果、*in vivo* の免疫化学染色にて、研究①において Wnt7a の陽性細胞率は対照群および 50 g 群と比較して、10 g 群で有意に増加し、Caspase-3 および Dkk1 の陽性細胞率は対照群および 10 g 群と比較して 50 g 群で有意に増加した。研究②において Caspase-3 および Dkk1 の陽性細胞率は、HF 群と比較して JF 群で有意に増加した。Wnt7a の陽性細胞率は HF 群、JF 群と比較して OF 群で有意に増加した。また *in vitro* における Wnt7a の遺伝子発現量は、対照群、4.0 g/cm²群と比較して 1.0 g/cm²群で有意に増加し、Caspase-3, RANKL の遺伝子発現量は、対照群、1.0 g/cm²群と比較して 4.0 g/cm²群で有意に増加した。阻害剤を添加した 1.0 g/cm²+Dkk1 群、4.0 g/cm²+Dkk1 群の Wnt7a の遺伝子発現量は、対照群、1.0 g/cm²群、4.0 g/cm²群と比較して有意に減少した。また Caspase-3, RANKL の遺伝子発現量は対照群、1.0 g/cm²群、4.0 g/cm²群と比較して、阻害剤を添加した 1.0 g/cm²+Dkk1 群、4.0 g/cm²+Dkk1 群で有意に増加した。

本研究の結果から、歯根吸収が発生した強い矯正力や Jiggling 力を負荷した際には、セメント質での Wnt7a が減少し、Caspase-3, Dkk1 が増加した。また、Jiggling 力の負荷は至適矯正力にも関わらず、一方向の強い矯正力を負荷した群よりも Caspase-3, Dkk1 がさらに増加した。さらに Wnt7a の阻害剤を添加した際には強い矯正力において Caspase-3, RANKL が増加し、Wnt7a がこれらを抑制していたことが考えられる。これらのことから至適矯正力を負荷した際にはセメント質での Wnt7a が増加し Caspase-3 が減少することでセメント芽細胞のアポトーシスが抑制され歯根吸収は発生しないが、強い矯正力を負荷した際には Wnt7a が Dkk1 により阻害され、セメント芽細胞の Caspase-3 を介したアポトーシスが促進され、RANKL が増加することで破歯細胞が活性化し歯根吸収が発生すると考えられる。Jiggling 力は、至適矯正力であっても圧迫側と

牽引側が短期間で入れ替わるため、一方向の強い矯正力と比較し歯根吸収を増悪させると報告されており、至適矯正力にも関わらず歯根吸収が発生するのはその往復運動により広範囲な炎症を引き起こし Dkk1 が増加することで Wnt7a が抑制され、歯根吸収の発現が増加したと考えられる。本研究の結果から臨床応用の可能性が示唆された。

本研究の結果から、至適矯正力においては Wnt7a の発現によりセメント質形成が優位となり、Caspase-3、Dkk1 が抑制されることでセメント芽細胞のアポトーシスも抑制され、歯根吸収は発生しなかった。一方、Jiggling や強い矯正力においては Dkk1 が増加し、Wnt7a が抑制されセメント芽細胞でのアポトーシスが促進されることで歯根吸収が発生する可能性が示された。

本研究は、セメント芽細胞における歯の移動実験による Wnt7a と歯根吸収の関連性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。