

# 学位論文内容の要旨

愛知学院大学

論文提出者

山内 大輔

論文題目

実験的歯の移動による骨のリモデリングに対する

Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide (GIP) の影響

## I. 緒言

矯正歯科治療では適切な矯正力が歯にかかることにより骨のリモデリングが起こる。破骨細胞と骨芽細胞は、それぞれ骨の吸収と形成を仲介する。矯正力による骨のリモデリングでは、圧迫側では破骨細胞による骨吸収が起こり、牽引側では骨芽細胞による骨形成が誘導され、周囲の組織は常に変化している。

近年、矯正治療を希望する中高年の方が増えており、成人および高齢者の患者の中には、全身性疾患に罹患していることがある。骨のリモデリングを妨げる代謝状態の変化は、歯の移動速度の変動をもたらす可能性がある。糖尿病は現在、世界中で増加しており、多くの筋骨格系の合併症と関連している。これらの問題は、骨のリモデリングの改善が、成人患者の歯列矯正治療だけでなく、糖尿病などの疾患患者の生活の質にとって重要であることを示している。

Glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) は、食事の摂取により胃腸管から分泌されるインクレチンであり、小腸の K 細胞から分泌され、特定の受容体である GIP 受容体 (GIPR) を介してその効果を発揮する。GIPR は、膵臓以外にも他の多くの臓器で発現しており、その膵外作用にも注目されている。GIPR が欠損しているマウス (GIPRKO) では、骨形成が低下していることが報告された。骨の組織形態計測分析では、GIPRKO では GIPR<sup>+/+</sup> マウスと比較し、骨梁がより薄い傾向があり、骨形成パラメーターが有意

に低いことが明らかとなった。Zhong らは、GIP が器官培養系における骨吸収と成熟破骨細胞の吸収活性を阻害することを発見した。一方で、月山らは、GIP が破骨細胞のピット形成活性を阻害しないことを実証した。

本研究では骨リモデリングに対する GIP の影響を明らかにするために、上顎骨と上顎左側第一大臼歯 (M1) の間にニッケルチタンクローズドコイルスプリング (以下コイルスプリング) を取り付け、機械的刺激による実験的歯の移動を行った。

## II. 実験材料および方法

### 1. 動物

GIPRKO は、既報のとおり生成された。雄性の C57BL/6J マウス (WT) は、日本クレアから入手した。

### 2. 実験的歯の移動

8 週齢雄性の GIPRKO と WT を使用し、上顎骨と上顎左側 M1 間に、約 10gf の一定かつ持続的な牽引力を持つコイルスプリングを取り付け、2 週間かけて上顎左側 M1 を近心移動させた (n=5)。上顎右側 M1 を対照側として使用した。

### 3. マイクロコンピューター断層撮影

実験的歯の移動終了後に上顎骨を採取し、マイクロコンピューター断層撮影 ( $\mu$ CT) 装置を使用して分析を行った。歯の移動距離は、上顎左側 M1 と上顎左側第二大臼歯 (M2) の間の最狭窄部を測定した。また、M1 根間中隔部の

歯槽骨の状態を観察するために、M1の根間中隔部と周囲の歯槽骨を水平面で観察した。

#### 4. 病理組織学的観察

実験的歯の移動終了後に上顎骨を採取し、定法に従ってパラフィン包埋し、横断面方向に連続組織切片を作製し、切片をアルカリホスファターゼ (ALP) および酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (TRAP) で染色した。骨芽細胞の測定は、M1の近心根 (M1M) 付近の牽引側の歯槽骨表面あたりの ALP 陽性細胞数を算出した。破骨細胞は歯槽骨と接触していた多核の TRAP 陽性細胞を破骨細胞と定義した。組織観察部位として、根分岐部から根尖まで3等分した根分岐部から1/3の部位を観察した。TRAP染色陽性の破骨細胞数の測定については、M1の遠心口蓋根 (M1DP) 付近の圧迫側の歯槽骨表面の円周を測定し、歯槽骨表面あたりの破骨細胞を測定した。

#### 5. 統計分析

全ての値は平均値±標準誤差 (SEM) で表した。統計的有意性は一元配置 ANOVA および多重比較のためのボンフェローニ補正を使用して分析した。差は、 $p < 0.05$  を有意とした。

### III. 結果

#### 1. 体重および血糖値

コイルスプリング装着時の WT (n=5) と GIPRKO (n=5) の体重と血糖値を評価した。WTと比較して、GIPRKOの体重と血糖値に有意差を認めなかった。

## 2. 実験的歯の移動距離の評価

WT と GIPRKO の上顎骨と上顎左側 M1 に 10gf コイルスプリングを装着し、実験的歯の移動を行った。M1 と M2 間の距離を測定して解析したところ、GIPRKO の歯の移動距離は、WT で達成された移動距離と比較して約 2.0 倍に増加した。

## 3. 歯槽骨残存量と骨梁構造

実験的歯の移動開始から 14 日後に、歯根分岐部から M1 の根尖までの歯根間中隔における歯槽骨の残存骨量を測定して解析したところ、WT と GIPRKO のいずれも、対照側と比較して実験側の歯槽骨残存量が有意に減少した。WT と比較して GIPRKO の実験側では歯槽骨残存量の有意な減少が観察された。次に、同部位の骨梁構造を分析したところ、Tb. Th(骨梁幅)では WT と GIPRKO の対照側と比較して実験側でそれぞれ有意に減少した。Tb. N(骨梁数)では WT は対照側と実験側の間には有意差を示さなかったが、GIPRKO は対照側と比較して実験側で有意な減少を示した。また、WT の実験側と比較した GIPRKO の実験側で有意な Tb. N の減少を示した。Tb. Sp(骨梁間隙)では、WT は対照側と実験側の間には有意差を示さなかった。一方で、GIPRKO では、対照側に対して実験側では有意な増加を示した。また WT の実験側と比較して、GIPRKO の実験側では有意な Tb. Sp の増加を示した。

## 4. 実験的歯の移動による骨芽細胞の形成

実験的歯の移動終了後の WT および GIPRKO の M1 牽引側で、ALP 染色によ

り確認された骨芽細胞を計測した。GIPRKO の対照側の骨芽細胞の数は、WT の対照側と比較して有意に減少した。WT では、実験側の骨芽細胞の数が対照側と比較して有意に増加したが、GIPRKO ではそのような増加は認められなかった。また、M1M 付近の牽引側の骨周長は WT、GIPRKO ともに対照側に対し実験側では有意に増加した。

#### 5. 実験的歯の移動による破骨細胞形成

組織学的観察では、実験側の M1 周辺の歯根膜腔の拡大、圧迫側の狭窄、および歯槽骨吸収が明らかになった。実験的歯の移動終了後に WT および GIPRKO の M1 圧迫側の TRAP 染色によって可視化された破骨細胞を計測した。WT と GIPRKO の両方で、破骨細胞の数は、対照側と比較して実験側でそれぞれ有意に増加した。破骨細胞の数は、WT と比較して GIPRKO の圧迫側で有意に増加した。

#### IV. 考察

本研究では実験的歯の移動による骨のリモデリングに対する GIP の影響を検討した。実験的歯の移動では、WT と比較して GIPRKO において約 2.0 倍の歯の移動距離を示した。骨梁構造解析により、GIPRKO において Tb. N が減少し、Tb. Sp が増加していることが明らかとなった。GIPRKO では実験的歯の移動による骨芽細胞数の増加を認めない一方で、圧迫側の破骨細胞の数は、WT と比較して GIPRKO で大幅に増加した。

この研究では、対照側の破骨細胞の数は GIPRKO と WT の間で変化しなかったのに対し、対照側の骨芽細胞の数は WT と比較して GIPRKO では減少していた。また、牽引側周囲の骨周長の長さは WT と GIPRKO ともに対照と比較して実験側では増加していた。我々の結果は、GIP シグナル伝達の欠損が骨芽細胞の形成を抑制する可能性があるが、定常状態では破骨細胞に影響を与えないことや、骨周長には GIP が関わらないことを示唆している。10gf の牽引力により WT では骨芽細胞と破骨細胞ともに、実験側の周囲で増加した。一方で、GIPRKO では、実験側の周囲でも骨芽細胞の増加は認めなかった。これは、定常状態と実験的歯の移動による骨リモデリングの両方で、GIP シグナル伝達が骨芽細胞の形成に重要な役割を果たしていることを示唆している。WT と GIPRKO の間で、定常状態での破骨細胞の形成に有意差は認めなかったが、牽引力を加えることにより WT の実験側に対して GIPRKO の実験側では破骨細胞は有意に増加した。これは機械的矯正力が加わった際に、GIP が破骨細胞形成において抑制的に働いていることが考えられる。

骨梁構造の解析では、実験的歯の移動により WT と GIPRKO のいずれにおいても骨梁幅の減少を誘発することを明らかにした。一方で GIPRKO では、実験的歯の移動により骨梁数の有意な減少と骨梁間隙の増加を示したが、これらの変化は WT では認められなかった。これらの結果は、骨のリモデリングにおける GIP の極めて重要な役割を示唆している。

本研究では、GIP がレセプターを介して、実験的歯の移動による骨のリモデリングで骨芽細胞の形成を増加させ、機械的矯正力による骨のリモデリングで破骨細胞の形成を抑制することを証明した。

矯正治療を希望する成人の増加に伴い、骨粗鬆症リスクの高い患者さんが増加している。骨粗鬆症自体が骨のリモデリングの障害であるため、GIP は骨粗鬆症の新しい治療法になる可能性がある。この問題についてはさらなる研究が必要であると考えられる。

#### V. まとめ

本研究により、骨のリモデリングにおける GIP の役割を証明した。我々は、GIP が定常状態での骨芽細胞の維持に役割を果たし、実験的歯の移動による骨リモデリングにおいて骨芽細胞を増加させることを明らかにした。逆に、GIP は実験的歯の移動による骨リモデリングにおける破骨細胞形成の数を抑制したが、GIP は定常状態の破骨細胞の数には影響しなかった。