

学位論文内容の要旨

愛知学院大学

論文提出者

内堀 志保

論文題目

高血圧自然発症ラット (SHR) の歯の移動における $\beta 1$
アドレナリン受容体遮断薬と $\beta 2$ アドレナリン受容体
遮断薬の効果の比較検討

I. 緒言

矯正歯科治療は、矯正力によって歯を移動させることで、適正な咬合状態を構築することを目的としており、歯の移動時には骨形成と骨吸収からなる骨のリモデリングの亢進が起こっている。これまでに、歯の移動の機序や歯根吸収に対しての基礎研究が行われているが、そのメカニズムは不明なことが多く、骨代謝のメカニズムを解明することは、骨形成と骨吸収のコントロールを必要とする矯正歯科治療にとって重要であると考えられる。加えて近年では、矯正治療を希望する成人患者が増加しており、その中には生活習慣病に罹患している患者も少なくない。代表的な生活習慣病である高血圧症は成人の25%以上が罹患しており、最近では、骨粗鬆症と高い関連性があることがわかってきている。我々も以前に、交感神経活動の亢進が示唆されている高血圧自然発症ラット (Spontaneously Hypertensive Rat、SHR) が高血圧症のみならず、骨粗鬆症を発症していることを示した。高血圧症の原因は様々であるが、中でも交感神経活動の亢進が重要とされ、交感神経系と骨代謝制御の関わりも明らかにされてきており、我々もこれまでに、歯の移動実験において、SHR では歯の移動量が増加し、骨量が減少することを示した。また、 $\beta 2$ アドレナリン受容体 (以下 $\beta 2$ AR) 遮断薬投与が、交感神経活動の亢進による歯の移動量を

減少させ、上顎歯槽骨骨量を回復させることを明らかにした。

一方で、 $\beta 1$ アドレナリン受容体(以下 $\beta 1$ AR)遮断薬は、一般的には本態性高血圧症や狭心症の治療薬として知られているが、骨代謝との関連性についてはいまだはっきりしていない。

本研究では、交感神経活動の亢進によって高血圧症、骨粗鬆症を発症する SHR を用いて持続的な矯正力を加えた実験的歯の移動モデルを作成し、歯の移動距離や歯周組織の変化を解析することとした。また、 $\beta 1$ AR 遮断薬を投与した群と $\beta 2$ AR 遮断薬を投与した群を比較することにより、矯正力に対する $\beta 1$ AR と $\beta 2$ AR の役割を比較検討することとした。

II. 実験材料および方法

1. 動物と試薬

本研究の実験動物には、7 週齢の雄性ラット (SHR/Izm、WKY/Izm) (日本 SLC、静岡) を使用した。SHR アテノロール ($\beta 1$ AR 遮断薬, ATN) 投与群 (n=6) には、1 mg/kg の ATN を、SHR ブトキサミン ($\beta 2$ 遮断薬, BUT) 投与群 (n=6) には、1 mg/kg の BUT を 1 日 1 回、胃管にて 6 週間、経口投与した。SHR コントロール群 (n=6) と WKY コントロール群 (n=6) には、薬物投与群と同量の生理食塩水 (1 ml/kg) を投与した。歯の実験的移動は、全身麻酔下で、上顎左右両切歯と上顎左側第一臼歯間に 50gf の Ni-Ti closed coil spring

(Sentalloy (R)、Tomy、Japan) を 0.020 インチの結紮線で装着し、滑り防止及び露出象牙質の歯髄刺激防止のためにコンポジットレジン (TRANSBOND; 3M Unitek Japan) を結紮線上に付与し、左側第一臼歯を 4 週間近心移動した。実験終了 10 日前と 3 日前に、カルセイン (15 mg/kg) をすべてのラットの腹腔内に投与した。

2. 評価方法

歯の実験的移動 4 週間後に上顎骨および血液を採取し、歯の移動距離、第一臼歯の 3 根に囲まれた領域の歯槽骨骨構造解析、病理組織解析、血液生化学検査にて評価を行った。

歯の移動距離、骨体積/組織体積 (BV/TV)、骨梁数 (Tb.N) はマイクロ CT (Rigaku、Tokyo、Japan) で上顎骨を撮影し、TRI/3D-BON (Ratoc、Tokyo、Japan) を用いて計測した。

病理組織解析は、摘出した上顎骨を、10% の中性緩衝ホルマリン溶液で固定した。次に、上顎骨の半数を 10%、20%、30% のシュクロース溶液に各 2 時間浸し、4% カルボキシメチルセルロース (CMC) ゲルに包埋し、水平断方向に厚さ $6\mu\text{m}$ で切断し連続切片を作製した。カルセインによる第 1 ラベリングと第 2 ラベリングから、ミネラル付加率 (MAR、 mm/day) と骨形成率 (BFR)/骨面 (BS) ($\text{mm}^3/\text{mm}^2/\text{day}$) を算出した。次に、残りの半数の上顎骨を 0.5M EDTA で 10 日間脱灰し、通法に従ってパラフィン包埋を行い、 $3\mu\text{m}$ の水平断方

向の連続切片を作製した。その後、酒石酸塩耐性酸ホスファターゼ (TRAP) 染色を行った。組織形態計測は、圧迫側歯根膜部の 0.8 mm^2 ($1.0 \text{ mm} \times 0.8 \text{ mm}$) の領域内で行い、骨面における破骨細胞数 (Oc. N/BS) と破骨細胞面 (Oc. S/BS) の定量化を行った。

血液生化学検査は、オステオカルシン濃度と TRAP-5b 活性を計測した。

3. 統計的処理

得られた実験データは平均値±標準誤差で示し、統計的な有意差の検定には、一元配置分散分析 (Tukey' s multiple comparison test) を用いた。全ての統計解析は、GraphPad Prism vol.9 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) を用いて行った。p<0.05 を統計的有意差ありと判定した。

III. 結果

1. 体重

WKY コントロール群と SHR 全群の実験開始時の体重に有意差は認められなかった。また、全てのラットは実験中同様に体重が増加し、装置の装着の有無にかかわらず、実験終了時まで全ての群間に有意差は認めなかった。

2. SHR の歯の移動距離における ATN 及び BUT の効果

WKY コントロール群と比較して SHR コントロール群で第一臼歯

の近心移動量の増加が認められた。また、SHR コントロール群において増加した第一臼歯の近心移動量は、ATN 投与群及び BUT 投与群において減少が認められた。

3. SHR の歯槽骨骨構造解析における ATN 及び BUT の効果

上顎第一臼歯の 3 根に囲まれた領域の歯槽骨骨量と骨梁数は、WKY コントロール群と比較して SHR コントロール群で減少し、SHR ATN 投与群及び BUT 投与群で回復が認められた。

4. SHR の組織学的解析における ATN 及び BUT の効果

上顎骨歯槽部のカルセインの 2 本のラベリング線より、SHR コントロール群において、骨形成のインデックスである、MAR、BFR/BS の値は、WKY コントロール群より有意に低く、SHR ATN 投与群で増加が認められた。一方で、BUT 投与群では有意差は認められなかった。また、同部の TRAP 染色において、SHR コントロール群の Oc. S/BS は、WKY コントロール群と比較し増加が認められ、SHR BUT 投与群において Oc. N/BS、Oc. S/BS の減少が認められた。一方で、ATN 投与群では有意差は認められなかった。

5. 血漿生化学検査

血漿 TRAP-5b 濃度は SHR コントロール群で増加し、SHR BUT 投与群で減少したが、ATN 投与群では減少しなかった。血漿オステオカルシン濃度は、SHR コントロール群で減少し、SHR ATN 投与群

で増加したが、BUT投与群では増加しなかった。

IV. 考察

本研究では、交感神経活動の亢進によって高血圧症、骨粗鬆症を発症する SHR を用い矯正力を加え、実験的歯の移動モデルを作成し、歯の移動距離や歯周組織に及ぼす β 1 AR と β 2 AR の効果を比較検討することとした。

今回の結果より、 β 1 AR 遮断薬は交感神経活動の亢進によって減少した骨量を回復させた。これは、骨形成量が増加した結果と考えられる。この結果は、 β 1 AR 遮断薬投与により骨脆弱性が改善されるというこれまでの報告と一致している。また、 β 1 AR は、骨芽細胞および破骨細胞には発現していない。しかし、骨細胞に発現しているという報告があり、本実験の β 1 AR 遮断薬が骨形成量を増加させたメカニズムとして、 β 1 AR 遮断薬が骨細胞に作用した可能性が考えられる。しかしこの骨形成促進作用が、骨細胞を介した直接作用なのか、もしくは全身を介した間接作用なのかは今後検討していく必要があると考える。一方で、 β 2 AR 遮断薬は、これまでの研究で、骨芽細胞および破骨細胞に発現が認められており、骨吸収抑制作用をもつことがわかっている。今回の結果は、これらの報告と一致しており、 β 2 AR 遮断薬は骨吸収を抑制することによって、交感神経活動の亢進によって減少した骨量

を回復させたと考えられる。

β 1 AR 遮断薬と β 2 AR 遮断薬はともに、上顎歯槽骨の骨量を増加させた。しかし、作用する機序については、 β 2 AR 遮断薬の効果は骨吸収の抑制によるものであるのに対し、 β 1 AR 遮断薬の効果は骨形成の増加によるものであった。

β 1 AR 遮断薬の効果は、骨細胞に作用した効果か否かは明確ではなく、今後の検討が必要と考えるが、本研究によって、 β 1 AR 遮断薬と β 2 AR 遮断薬は異なる経路によって骨減少改善効果をもつ可能性が示された。