

学位論文内容の要旨

愛知学院大学

論文提出者

草深 彩恵

論文題目

グルココルチコイドは
歯の移動の日内変動を制御する

I. 緒言

矯正歯科治療では、可撤式装置使用の際は夜間就寝時を含む1日12時間以上の使用を推奨している。患者自身が取り外しを行う可撤式装置は患者の協力が必要不可欠である。不快感を軽減し効率よく歯の移動を行う方法の確立は矯正歯科治療にとって極めて有益であると考えられる。

近年、歯の移動に日内変動が見られることが報告されている。上顎第一大臼歯間にオープンコイルを装着し実験的歯の移動(Experimental tooth movement : ETM)を行った研究において、ラットでは昼間(休息期)に上顎側方拡大力を適応する方が、夜間(活動期)に適応するより効果的であることが示された。このように歯の移動に日内変動がみられる理由として生体概日リズムの影響が考えられるが、その詳細なメカニズムは不明である。

生体概日リズムとは、生物に備わっている約24時間周期で変動する生理現象で、1日の明暗サイクルと密接に関係している。中枢の時間情報は交感神経活動やグルココルチコイドを介して、全身の末梢組織に伝達するとされている。また、先の研究では、マウスの副腎摘出(Adrenalectomy : ADX)を行うことで骨代謝の日内変動が失われること、ADXマウスにグルココルチコイドであるデキサメタゾン(Dexamethasone : DEX)を投与すると再度日内変動が形成されることが報告されている。これらの結果より、グルココルチコイドが破骨細胞活性の日内変動を調節することにより骨代謝の概日リズムを制御するのではないかと考えた。また、骨代謝の概日リズムは歯の

移動にも影響を与える可能性が予想されるが、ETMの日内変動とグルココルチコイドの関与については調べられていない。

本研究では、Waldo法によるETMが日内変動を示すかどうかの検討を行い、またETMに対するADXの影響とDEX投与の影響を調べ、ETMの日内変動にグルココルチコイドが関与していることを示した。

II. 実験材料および方法

実験動物として7または8週齢のC57BL/6Jマウス(Japan SLC、浜松、日本)を用い、体重別に無作為に次の3つのグループに分けた。矯正力を48時間継続して加えた終日群(Whole-day group : WDG)、7:00-19:00の明期に矯正力を加えた明期群(Light period group : LPG)、19:00-7:00の暗期に矯正力を加えた暗期群(Dark period group : DPG)に分けた。メデトミジン、ミダゾラム、ブトルファノールの3種混合麻酔薬にてマウスに全身麻酔を行い、Waldo法に則り上顎右側第一大臼歯および第二大臼歯(M1およびM2)の間に矯正用エラスティックを挿入した。

また、グルココルチコイドのETM関与を調べるため、5週齢のマウスを上述の3種混合麻酔にて麻酔後、ADXを行い、2週間後3群に分けETMを行った。

ETM終了後に、マウスから上顎骨を摘出し4%パラホルムアルデヒドで固定した。次いで20%エチレンジアミン四酢酸で2週間脱灰した後、矢状断脱灰切片を作製した。破骨細胞は酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ

(TRAP : tartrate resistant acid phosphatase)で染色し、歯根周囲歯槽骨の破骨細胞数(osteoclast number/bone surface : Oc.N/BS) (圧迫側)および歯根周囲歯槽骨の破骨細胞面(osteoclast surface/bone surface : Oc.S/BS) (圧迫側)を計測した。骨芽細胞は、ヘマトキシリン・エオジンで染色し、歯根周囲歯槽骨の骨芽細胞数(osteoblast number/bone surface : Ob.N/BS) (牽引側)を計測した。免疫組織染色では、RANKL(receptor activator of nuclear factor- κ B)マウスモノクローナル抗体、単純染色マウス MAX-P0 を用いた。圧迫側の RANKL 陽性細胞の数をカウントし、細胞の総数の%として表した。

ETM による歯の移動距離は、マイクロ CT を用いて評価を行った。頬側面観の画像を用いて M1 と M2 の間の最短距離が表示されるように調整した。

得られた実験結果は、Student' s t-test 或いは analysis of variance (ANOVA) により統計解析した。データは平均値±標準誤差(体重については平均値±標準偏差)で示し、 $p < 0.05$ を統計的に有意であると判定した。

III. 結果

1. Waldo 法による ETM

マイクロ CT を使用し M1 と M2 の間の歯の移動距離を計測したところ WDG、LPG では DPG より歯の移動距離が多かった。Oc.N/BS は、WDG、LPG では DPG より大きかった。Oc.S/BS も Oc.N/BS と同様に WDG、LPG は DPG より大きか

った。Ob. N/BS は 3 群間に有意な差は認められなかった。RANKL 陽性細胞の数は、WDG で $14.4 \pm 0.7\%$ 、LPG で $14.9 \pm 0.8\%$ 、DPG で $7.7 \pm 0.7\%$ であった。この結果はマウスにおける Waldo 法による ETM は夜間より昼間の方が効果的である事を示している。

2. ADX マウスにおける ETM

歯の移動の日内変動に対するグルココルチコイドの影響を解明するため、実験開始 2 週間前に ADX を行い、12 時間毎の明暗サイクルに順応させ、ETM を行った。

歯の移動距離は、3 群間に有意な差は認められず、ほぼ同等であった。

0c. N/BS・0c. S/BS・Ob. N/BS も 3 群間に有意な差は認められなかった。RANKL 陽性細胞の数は、WDG で $5.8 \pm 0.4\%$ 、LPG で $5.8 \pm 0.3\%$ 、DPG で $5.7 \pm 0.5\%$ であった。この結果は ADX マウスにおける ETM の日内変動が消失したことを示している。

3. DEX 投与を行った ADX マウスにおける ETM

ADX マウスにグルココルチコイドである DEX を投与すると、歯の移動距離の日内変動がどう変化するかを調べた。ADX マウスを 12 時間毎の明暗サイクルに順応させ、DEX (3.0mg/kg/day) 投与を開始し、ETM を行った。

歯の移動距離は、LPG では DPG より歯の移動距離が多かった。0c. N/BS・0c. S/BS は、LPG では DPG より大きかった。Ob. N/BS は 3 群間に有意な差は認められなかった。RANKL 陽性細胞は、LPG で $8.4 \pm 0.7\%$ 、DPG で $4.0 \pm 0.6\%$

であった。LPG よりも DPG で 52.4%低かった。この結果は、ADX マウスに DEX を投与すると ETM の日内変動が再び形成されたことを示している。

IV. 考察

本研究では、グルココルチコイドが破骨細胞活性、RANKL 免疫反応性の日内変動に影響を与え、歯の移動の日内変動が生じた可能性を示した。

歯の移動距離は、LPG の方が DPG よりも大きく、以前の研究の結果と一致した。マウスでは休息期に ETM を行う方が活動期に行うよりも効果的であることを示した。組織学的評価では、破骨細胞パラメーターも歯の移動距離のデータと一致した。以前から、骨吸収とカルシウム放出は日内変動を示し、動物の休息期に最も活発になることは知られていたが、破骨細胞活性および、または破骨細胞形成の日内変動が、歯の移動の日内変動に関与していることがより強く示唆された。

また、グルココルチコイドが中枢からの時間情報を骨組織に伝達する因子であり、副腎から分泌されるため、ADX が ETM の日内変動に影響を与えるかどうかを検討しその結果、ADX により、破骨細胞パラメーター、RANKL 免疫反応性、LPG と DPG 間の歯の移動距離の差が消失することがわかった。次に DEX 投与が ADX マウスの歯の移動距離の日内変動に影響を与えるかどうかを調べ、ADX マウスでは、DEX 投与により破骨細胞パラメーター、RANKL 免疫反応性、LPG と DPG 間の歯の移動距離の差が回復した。これらの結果は、グルココルチコイドが中枢からの時間情報を末梢の破骨細胞に伝達し、そ

れが ETM によって誘発される歯の移動距離の日内変動をもたらすことを示唆している。まとめると、循環しているグルコルチコイドが破骨細胞活性、RANKL 免疫反応性の日内変動に影響を与え、その結果、歯の移動の日内変動が生じる可能性を示している。

本研究により、休息期に ETM を行う方が活動期に行うよりも効果的であることが示された。これをヒトに置き換えると夜間に装置を使用する方が昼間に使用するより効果的であるということになる。矯正歯科治療には様々な装置が使用され、様々な矯正力があるため、全ての装置が今回の結果と同様となるかは検討が必要である。しかし、今回の結果が効率よく歯の移動を行う方法の確立への第一歩となったと考える。

V. 結論

本研究では Waldo 法による ETM が日内変動を示すかどうか、ADX マウスと ADX マウスへの DEX 投与の ETM への影響を検討し以下のような結果を得た。

1. Waldo 法による ETM に日内変動が認められた。
2. ADX マウスにおいて ETM の日内変動が消失した。
3. ADX マウスに DEX を投与すると ETM の日内変動が再び形成された。

グルコルチコイドが中枢からの時間情報を末梢の破骨細胞に伝達し、破骨細胞活性の日内変動に影響を与え、その結果、歯の移動に日内変動が生じる可能性が示された。概日リズムを考慮した効率的な歯列矯正法、またストレスや不規則な生活習慣による概日リズムの乱れが、歯列矯正に影響

(論文内容の要旨)

No. 7

愛知学院大学

響を与える可能性が示唆された。