

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

論文提出者	藤原 敦
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学部 教授 北井 則行 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 江尻 貞一 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 永山 元彦
論文題目	
メカニカルストレスに対する歯槽骨骨細胞の応答と sclerostin の経時的局在変化	
(論文内容の要旨)	
<p>[目的]</p> <p>骨はメカニカルストレスに反応し、骨構造を改変することで力学的環境に適応している。現在では、骨細胞がメカニカルストレスを感知し、応答していると考えられている。近年、様々な研究から <i>SOST</i> 遺伝子にコードされた糖タンパク質 sclerostin が、骨細胞から分泌されることで、メカニカルストレスによって生じる骨改造現象の調節因子として作用する可能性が示唆されている。先行研究から、骨細胞がメカニカルストレスを感知すると、短時間で sclerostin 産生が抑制され骨基質中から 24 時間以内に sclerostin が消失する可能性が示唆された。</p> <p>本研究では、ラット上顎臼歯部歯槽骨を用いて、矯正力によってメカニカルストレスを加えた後、24 時間以内の骨細胞の <i>SOST</i>mRNA の発現状態と骨細胞および骨細胞周囲の sclerostin 免疫局在の分布を経時的に検索し、メカニカルストレスに対する骨細胞の sclerostin 産生能の変化と骨基質中の sclerostin の動態を明らかにすることとした。</p> <p>[材料および方法]</p> <p>8 週齢の雄性 Wistar ラット 70 匹を用いた。上顎第一臼歯・第二臼歯間に矯正用エラストティックを挿入する方法(Waldo 法)によって第一臼歯を近心移動させた。無処置を対照群、処置直後を 0 時間群とし、処置後の時間に応じて 3 時間群、6 時間群、12 時間群、18 時間群、24 時間群の 7 群に分け、各時間にパラホルムアルデヒド液で固定し、上顎骨を摘出した。μCT 撮影後、立体構築像を作成した。その後、試料を脱灰、パラフィン切片を作製し、ラット <i>SOST</i> のジゴキシゲン標識 RNAProbe を用いて <i>in situ</i> Hybridization を、ヤギ抗マウス sclerostin 抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。観察は、上顎第一臼歯近心口蓋根(MP)-遠心口蓋根(DP)間の根間中隔歯槽骨を近心部、中央部、遠心部、頬側部、口蓋側部に分けて行った。</p> <p>[結果と考察]</p> <p>対照群の μCT 観察では、MP が MP-DP 間の根間中隔の近心面に近接している所見が得られ、MP が生理的に遠心方向へ移動していることが示された。MP の遠心移動によって圧迫力を受ける根間中隔近心部歯槽骨では、<i>SOST</i>mRNA の発現も sclerostin の免疫反応も認め</p>	

られなかったことから、同部位では圧迫によるメカニカルストレスが骨細胞の sclerostin 産生能を抑制している可能性が示された。一方、対照群根間中隔の中央部、遠心部、頬側部、口蓋側部の骨細胞は *SOST*mRNA を発現しており、sclerostin の免疫反応も陽性であるため、これらの部位の骨細胞は sclerostin を産生していることが明らかとなった。しかし根間中隔遠心部の骨表面から一層の骨細胞では *SOST*mRNA の発現も sclerostin の免疫反応も認められなかった。根間中隔遠心部は、歯根の遠心移動に伴ってシャーピー線維による牽引力を受け骨形成が生じる部位であることから、牽引力によるメカニカルストレスが表層の骨細胞の sclerostin 産生能を抑制している可能性と骨形成により骨基質に埋め込まれたばかりの幼弱な骨細胞では sclerostin 産生能を発現するまで分化が進んでいない可能性が考えられる。

実験群の μ CT 所見では、0 時間群から 24 時間群まですべての群で DP が MP-DP 間の根間中隔遠心面に密接していた。従って、実験群では処置直後から 24 時間後まで、根間中隔歯槽骨に歯根を介したメカニカルストレスが近心方向へ加わっていたと考えられる。実験群の根間中隔において、処置後 3 時間までは、*SOST*mRNA の発現に関して対象群と比べ変化がなかった。しかし、6 時間後にはそれまで *SOST*mRNA の発現が認められていた根間中隔中央部と遠心部の骨細胞で *SOST*mRNA の発現が認められなくなった。このことより、骨細胞はメカニカルストレスが加わると 6 時間以内に sclerostin 産生を抑制する迅速な応答能を有していることが明らかになった。一方、根間中隔頬側部と口蓋側部の骨細胞では、処置後 12 時間で *SOST*mRNA の発現が消失した。骨細胞の応答時間が部位によって違う理由として、矯正力によって加えられたメカニカルストレスの強度あるいは骨細胞のメカニカルストレスに対する感度が、歯槽骨の部位によって異なっている可能性が示唆される。

また、メカニカルストレスによって骨細胞の *SOST*mRNA の発現が消失する時期と sclerostin が消失する時期に時間差があり、いずれの部位でも骨細胞の *SOST*mRNA の発現が消失してから 6 時間後にその領域の sclerostin が消失することが明らかとなった。すなわち、骨細胞が sclerostin の産生を停止しても、その細胞体および周囲の骨基質にはまだ sclerostin が残存しており、それが 6 時間後にはその領域の骨基質から消失することが示された。

骨基質に残存していた sclerostin が 6 時間で消失するメカニズムに関しては、骨小腔や骨細管の中を流れる組織液によって sclerostin が骨表面へと運ばれると考えられ、かなり速い速度で骨細胞周囲から骨表面の骨芽細胞へと sclerostin が運ばれている可能性が示された。しかしながら、sclerostin の消失が分解酵素によるという可能性も否定できないので、今後の検討が必要と思われる。

[結論]

骨細胞は、メカニカルストレスが加わった後 6 時間で sclerostin 産生を抑制する迅速な応答能を有している。sclerostin は、産生している骨細胞とその周囲の骨基質に存在し、産生が停止すると 6 時間以内に骨基質中から消失することが明らかとなった。