

学位論文内容の要旨

愛知学院大学

論文提出者

林 香里

論文題目

α_{1B} アドレナリン受容体を介した歯の移動制御に
ついて

I. 緒言

矯正歯科治療では矯正力を歯に適用し、局所で骨代謝を活性化させることで歯を移動させる。骨の再構築を伴うため、治療期間が長期に及ぶことが多い。また、上顎臼歯の近心移動防止の目的でスクリーを植立することがあるが、その侵襲性は大きい。そのため、歯の移動が薬物投与により制御可能になることは、矯正歯科治療にとって極めて有益であると考えられる。

実験的歯の移動 (experimental tooth movement : ETM) の研究から、歯の移動により局所での骨代謝の活性化に伴い、歯周靭帯における交感神経を含む神経線維の分布が変化することが報告されている。これまでの研究より、 β アドレナリン受容体シグナル伝達が、破骨細胞の活性化を介して歯科矯正力による歯の移動を促進することが報告されている。

また、 α_1 アドレナリン受容体シグナル伝達が骨代謝に及ぼす影響についても報告されているが、歯科矯正力による歯の移動における α_{1B} アドレナリン受容体の関わりについては未だ解明されていない。したがって、本研究では、歯科矯正力による歯の移動における α_{1B} アドレナリン受容体シグナル伝達の影響を検討した。

II. 実験材料および方法

実験動物として9週齢雄性の α_{1B} アドレナリン受容体欠損 ($\alpha_{1B}KO$) マウス及び野生型 (Wild Type : WT) C57BL / 6J マウスを用い、実験に応じて

マウスを体重別に無作為に抽出し、群に割り当て、実験に使用した。

実験的歯の移動にはペントバルビタールナトリウム (32.4mg/kg、i. p.) にてマウスに全身麻酔を行い、Waldo 法に則り上顎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。

ETM における α_1 アドレナリン受容体の関与を調べるため、マウスに矯正用エラスティックを挿入した日から、プラゾシン (prazosin : PRA) (0.03mg / kg)、フェニレフリン (phenylephrine : PHE) (0.1mg / kg)、0.9%生理食塩水 (vehicle : VHE) を5日間、毎日腹腔内注射した。

ETM 実験終了後に、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%のエチレンジアミン四酢酸で2週間脱灰した後、 $5\mu\text{m}$ の厚さの矢状断脱灰切片を作製した。切片は根分岐部から $50\mu\text{m}\sim 125\mu\text{m}$ のものを使用した。破骨細胞は酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (tartrate resistant acid phosphatase : TRAP) で赤色に染色し、歯根周囲歯槽骨の破骨細胞数 (osteoclast number/bone surface : Oc.N / BS) および歯根周囲歯槽骨の破骨細胞面 (osteoclast surface/bone surface : Oc.S / BS) を計測した。また、骨芽細胞は、ヘマトキシリン・エオジンにて染色し、歯根周囲歯槽骨の骨芽細胞数 (osteoblast number/bone surface : Oc.N / BS) を計測した。

歯の移動の評価はマイクロCTを用いて行った。咬合面観の画像を用いてM1とM2の最狭窄部を歯の移動量として計測した。海綿骨の骨形態計測では、

3 根の接線に囲まれた領域において、根分岐部から根尖を 3 等分し、その中央を占める領域の歯槽骨の骨量/組織量(alveolar bone volume : A. BV/TV)を計測した。

得られた実験結果は、t-test 或いは analysis of variance (ANOVA) により統計解析した。すべてのデータは平均値±標準誤差で示し、 $p < 0.05$ を統計的に有意差であると判定した。

III. 結果

1. ETM に及ぼす $\alpha_{1B}KO$ の影響

マイクロ CT を用いて M1 と M2 の間の歯の移動量を計測したところ、 $\alpha_{1B}KO$ マウスでは、WT マウスと比較して歯の移動距離が 30.6%減少していた。

2. ETM 誘導性の破骨細胞活性に及ぼす $\alpha_{1B}KO$ の影響

ETM 開始前の歯槽骨表面には、WT および $\alpha_{1B}KO$ マウスのどちらの群においても TRAP 陽性の破骨細胞はほとんど見られず、両群の間に有意差は認められなかった。ETM5 日目では、Oc. S / BS において、ETM 開始前と比較して、WT マウスでは 16.3 倍、 $\alpha_{1B}KO$ マウスでは 9.7 倍増加した。さらに、Oc. N / BS において、ETM 開始前と比較して、WT マウスでは 15.8 倍、 $\alpha_{1B}KO$ マウスでは 8.9 倍に増加した。このように $\alpha_{1B}KO$ では ETM による破骨細胞の増加は抑制され、その抑制率は Oc. S / BS では 48.1%、Oc. N / BS では 52.3%であった。

3. ETM に及ぼす α_1 アドレナリン受容体遮断薬および作動薬の影響

PRA 投与群では生理食塩水投与群と比較して、移動距離は 22.4%減少していた。一方、PHE 投与群では生理食塩水投与群と比較して、移動距離は 16.9%増加していた。

4. ETM 誘導性の破骨細胞活性に及ぼす α_1 アドレナリン受容体遮断薬および作動薬の影響

ETM 開始前の状態では、全ての群において、破骨細胞はほとんど観察されなかった。ETM5 日目では、全ての群において Oc. S/BS、Oc. N/BS は増加した。PRA 投与群では、VHE 投与群と比べて Oc. S/BS は 54.9%減少していた。PHE 投与群では、VHE 投与群と比べて Oc. S/BS の ETM による増加は 51.7%多かった。また、PRA 投与群では、VHE 投与群と比べて Oc. N/BS は 51.1%減少し、PHE 投与群では、VHE 投与群と比べて 25.7%増加した。

5. ETM 誘導性の骨芽細胞活性に及ぼす α_1 アドレナリン受容体欠損、 α_1 アドレナリン受容体遮断薬および作動薬の影響

α_1 アドレナリン受容体作動薬、遮断薬の投与実験において、ETM 開始前と比較した際に、PRA 投与群のみ ETM5 日目の Ob. N/BS が 54.3%減少した。また ETM5 日目の Ob. N/BS を VHE 投与群、PRA 投与群、PHE 投与群間で比較した際に、PHE 投与群と PRA 投与群との間にのみ有意差があり、PHE 投与群では PRA 投与群に比べ Ob. N/BS が 89.9%増加した。一方、WT マウスと α_{1B} KO マウスとの間には、有意差は認められなかった。

6. ETM 誘導性の歯槽骨の骨量変動に及ぼす α_1 受容体欠損、 α_1 アドレナリン受容体遮断薬および作動薬の影響

WT マウスでは対側と比べ、A. BV/TV が 19.9%減少したが、 α_{1B} KO マウスでは対側と比べ、11.6%の減少にとどまった。また、生理食塩水、PPA 投与群、PHE 投与群の各群で骨量を計測したところ、PRA 投与群は PHE 投与群に比べ、A. BV/TV が 33.6%減少したが、その他についての有意差は認められなかった。

IV. 考察

本研究では、先ず、ETM に対する α_{1B} アドレナリン受容体の効果を調べるために、WT および α_{1B} KO マウスの歯の移動量を比較した。 α_{1B} アドレナリン受容体の欠損は、 β_2 アドレナリン受容体遮断薬および交感神経切除術と同様に、ETM 中の破骨細胞誘導と歯の移動を抑制した。この結果は、 β_2 KO マウスの結果と同じであり、実験的歯の移動における α_{1B} アドレナリン受容体シグナル伝達が、破骨細胞活性および歯の移動を促進することを認めた。

さらに PRA、PHE を ETM 中に毎日投与し、これらの群の結果を VEH 投与群の結果と比較した。その結果、PRA は歯の移動及び ETM 誘導性の破骨細胞パラメーターの増加を減少させ、PHE は歯の移動及び ETM 誘導性の破骨細胞パラメーターの増加および歯の移動量の増加が見出された。これは、歯の移動を薬物により制御できる可能性を示唆している。

これまでの報告では通常骨リモデリング時には、 α_{1B} KO マウス

は、骨形成の減少により骨量が低下するが、骨吸収に変化は認められない。逆に、 β_2 KO マウスは、骨形成の増加および骨吸収の減少のために、高い骨量を示しており、 α_{1B} アドレナリン受容体および β_2 アドレナリン受容体シグナル伝達は、通常の骨リモデリングに対して反対の効果を有する。一方、ETMにより活性化された骨リモデリング時においては、 α_{1B} アドレナリン受容体および β_2 アドレナリン受容体シグナル伝達は、どちらも骨吸収を促進させるという同じ作用を示した。

骨量に関しては、ETM 開始前は α_{1B} KO マウスと WT マウスで骨量に有意差は認められなかったが、ETM 5 日目では α_{1B} KO マウスの方が骨量は多かった。さらに、薬物投与の実験においては生食投与群との間に有意差はなかったが、PRA と PHE を比べた時に PHE の方が有意に骨量が低下したことからも、 α_1 アドレナリン受容体シグナル伝達が骨量に関与することが考えられる。

V. 結論

本研究により、 α_{1B} アドレナリン受容体シグナル伝達は歯科矯正力による歯の移動に関与することが示された。また、ETMにより交感神経活動が亢進している場合、 α_1 アドレナリン受容体シグナル伝達は、 β_2 アドレナリン受容体シグナル伝達と同様に歯の移動を促進することが明らかとなった。

α_1 アドレナリン受容体をターゲットとした薬物が歯科矯正力による歯の移動を制御する治療薬となり得る可能性が示唆された。