

学位論文内容の要旨

愛知学院大学

論文提出者

竹口 敦士

論文題目

実験的歯周炎モデルラットにおける $\beta 2$ -
アドレナリン受容体遮断薬の効果

I. 緒言

近年、成人の歯列矯正患者の数が増えており、その多くが歯周病を患っている。そのような患者は、歯槽骨吸収を予防する必要性があるが、現在、実用的な予防方法がないため、歯周炎における歯槽骨吸収阻害剤の開発は、重要な研究課題である。

これまでに、交感神経が骨代謝に影響を及ぼすことは多く報告されており、低用量の非選択的 β -アドレナリン受容体 (β -AR) 遮断薬であるプロプラノロールが、非選択的 β -AR 遮断薬の一般的作用の一つである血圧への作用を示さず、骨代謝制御作用のみを示すことが報告されている。さらに、降圧作用を示さないブトキサミン(BUT) (β 2-AR 遮断薬)が高用量、低用量ともに骨減少を改善することが報告されている。これらの研究は、交感神経が骨代謝を制御し、 β 2-AR 遮断薬が骨量の減少を防ぐ可能性を示している。

今回実験に用いた高血圧自然発症ラット (SHR) は、血漿カテコールアミンレベルおよびドーパミン β -ヒドロキシラーゼ活性の上昇、および副腎チロシンヒドロキシラーゼおよびドーパミン β -ヒドロキシラーゼ活性の増加を特徴とし、交感神経が過剰に活性化している。加えて、交感神経の亢進により血圧の上昇、心拍数の上昇が認められ、高血圧を呈している。

以前の研究では、交感神経が亢進した SHR が骨粗鬆症を示すことが報告されており、歯槽骨においても歯周病を誘発しやすい可能性がある。

歯周炎モデルの作製に関しては、Mizuno らは、マウスの上顎左側第一臼歯と第二臼歯の接触点に矯正用結紮線である 0.1 mm 径ステンレススチールワイヤーを結紮することによって歯肉への直接的な機械的損傷を避け、フードインパクションによる歯周炎を誘発した。

そこで本研究では、交感神経の亢進が歯周炎の進行に及ぼす影響、歯周炎モデルラットにおける $\beta 2$ -AR 遮断薬の効果を検討することを目的とした。

II. 実験材料および方法

本実験は、7 週齢の雄性ラット(SHR/Izm、WKY/Izm)を使用した。SHR BUT 投与群(n=6)と WKY BUT 投与群(n=6)には、1 mg/kg の BUT を 1 日 1 回、胃ゾンデを用いて 4 週間、経口投与した。SHR control 群(n=6)と WKY control 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。実験的歯周炎モデルラットの作製は、三種混合麻酔薬を腹腔内投与し麻酔した状態で、上顎左側第一臼歯、第二臼歯間のコンタクトポイントを囲むように 0.2mm の矯正用結紮線を結紮することでフードインパクションを引き起こし、歯周炎を惹起した。結紮線装着 4 週間後に上顎骨を採取し、マイクロ CT 撮影を行い、Park らの方法を一部改変し、左側の上顎第一臼歯と上顎第二臼歯間の計測範囲内の歯槽骨残存量を計測した。

組織学的解析では、摘出した上顎骨を通法に従って固定、脱灰、パラフィン包埋を行い、5 μ m の近遠心方向の連続組織切片を作製した。その後、

ヘマトキシリン-エオジン染色 (HE 染色) を行い、第一臼歯遠心面のアタッチメントレベルの割合を計測した。また TRAP 染色を行い、上顎第一臼歯と第二臼歯間の歯槽中隔部表面の破骨細胞数 (Oc.N/BS) と割合 (Oc.S/BS) を計測した。さらに TH (交感神経マーカー)、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 の免疫染色を行った。免疫染色における染色強度の判定は Rogers らの方法に準じた。

得られた実験データは平均値 \pm 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)、t-test を用いた。全ての統計解析は、GraphPad Prism vol.9 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. 交感神経の亢進が歯周炎の進行に及ぼす影響について

交感神経が亢進している SHR は、WKY と比較して歯槽骨残存率が低い値を示し、アタッチメントレベルの割合、破骨細胞数および割合が大きい値を示し、免疫染色における交感神経マーカー (TH) および炎症性サイトカインのスコアが高い値であった。

2. 実験的歯周炎に対する β 2-AR 遮断薬の効果について

WKY、SHR とともに BUT 投与群は、歯槽骨残存率が高い値を示し、アタッチメントレベルの割合、破骨細胞数が小さい値を示し、免疫染色における交感神経マーカー (TH) および炎症性サイトカインのスコアが低い値で

あった。

IV. 考察

1. 交感神経の亢進が歯周炎の進行に及ぼす影響について

これまでに、交感神経の亢進は、骨吸収を促進するという報告がある。今回の実験では、SHRはWKYと比較して歯槽骨残存率が低い値を示し、アタッチメントレベルの割合、破骨細胞数および割合が大きい値を示し、免疫染色における交感神経マーカー (TH) および炎症性サイトカインのスコアが高い値であった。本実験により、交感神経の亢進は歯周炎の進行を促進する可能性が示唆された。

また、交感神経の亢進は高血圧症を引き起こす。高血圧と骨粗鬆症の関連性について因果関係を解明するためにさまざまな検討がなされてきており、LiらとMasugataらは、高血圧症は骨密度を低下させると報告している。しかし、GroenらとWardらは両者に関連性がないと報告し、Gencoらは年齢、性差、人種差、喫煙、ホルモンなどの要因を考慮する必要性があると報告しているが、明確なコンセンサスは得られていない。今回SHRに認められた歯周炎の悪化は、交感神経の亢進に伴う高血圧によって引き起こされた効果であるか不明である。血圧の測定を行うなど、今後の検討が必要であると考えられる。

2. β 2-AR 遮断薬の実験的歯周炎に対する効果について

実験的歯周炎モデルにおいて BUT の経口投与は、歯根膜の交感神経を抑

制し、歯槽骨吸収を抑制し歯周炎の重症化を軽減した。また、局所における炎症も抑制された。以上より、BUTの経口投与は、歯周炎を予防する可能性が示唆された。

交感神経の亢進は $\beta 2$ -ARを介して、骨芽細胞では破骨細胞分化因子(RANKL)や炎症性サイトカインを産生し、RANK-RANKL系を介して破骨細胞前駆細胞から破骨細胞の形成を促進する。さらに、交感神経の亢進は、破骨細胞において骨吸収活性を促進し、 $\beta 2$ -ARを介した骨吸収の促進により骨量が低下する。今回の実験結果は、これまでの研究により示されている破骨細胞に与える効果の知見と一致している。

これまでの交感神経が骨代謝に与える影響を調べた研究においては、非選択的 β -AR遮断薬を用いたものが多く、歯槽骨代謝において、 $\beta 2$ -ARがどのような役割を果たすか調べたものはほとんどなく、歯周炎に関しては存在しない。本実験より、実験的歯周炎モデルにおいて、 $\beta 2$ -AR遮断薬が歯槽骨代謝を調節し、歯周炎を予防することがはじめて示された。

また本実験では、炎症性サイトカインであるTNF- α とIL-1 β とIL-6の発現が抑制されることが分かった。ただし、マクロファージやその他の炎症性サイトカイン産生細胞(単球、血管内皮細胞等)に β -ARがあるかどうかは分かっていない。そのため $\beta 2$ -AR遮断薬が直接、マクロファージやその他の炎症性サイトカイン産生細胞を抑制するかは不明である。今後の課題として、炎症性サイトカイン産生細胞と $\beta 2$ -ARの関係性を解明する

必要があると考える。

V. まとめ

本研究より、交感神経の亢進が歯周炎を促進する可能性が示唆された。

また、 $\beta 2$ -AR 遮断薬は歯根膜の交感神経、破骨細胞、炎症性サイトカインを抑制することによって歯槽骨量およびアタッチメントレベルを維持し、歯周炎を予防する可能性が示された。