

## 論文審査結果報告書

論文提出者氏名 上田 雅恵

学位論文題目：Asporin in compressed periodontal ligament cells inhibits  
bone formation

審査委員（主査）教授 自見 英治郎 印

（副査）教授 竹内 弘 印

（副査）教授 松尾 拓 印

### 論文審査結果の要旨

【目的】 矯正歯の移動時には、牽引側で骨形成が起こり、圧迫側で骨吸収が起こる。一方、培養骨芽細胞を用いた実験や動物実験では、適度な力学的負荷が骨形成を促進することも報告されている。しかし、歯の移動時の圧迫側で骨形成が促進することはなく、圧迫側では骨吸収の促進と骨形成の抑制が同時に起こっていると考えられる。圧迫側における骨形成の抑制には、歯根膜線維芽細胞から分泌される骨形成抑制因子AsporinまたはSclerostin(SOST)が関与すると考えられる。そこで我々は歯根膜線維芽細胞に機械的圧迫力として遠心力を付与し、AsporinとSOSTの発現と骨形成における作用を検討した。

【方法】 ヒト歯根膜(PDL)細胞は、九州歯科大学附属病院において矯正歯科治療のために便宜拔牙を行う患者に同意を得た上で、拔牙した小臼歯の歯根膜から調製した。細胞はフラスコにて3日間培養した後、遠心機にセットし、遠心力(40/90/135/160xg)を24時間付与し、AsporinとSOSTの遺伝子発現量は半定量的RT-PCR法で、タンパク質発現量は免疫染色法で、さらに細胞外分泌量はELISA法を用いて検討した。ラット上顎第一、第二臼歯間にエラストックバンドを挿入したWaldo法で5日間力学的負荷を与え、上顎骨を摘出し、脱灰後、凍結切片を作製し、Asporinの局在を抗Asporin抗体を用いた免疫染色で検討した。ヒト骨芽細胞の培養液にAsporinを添加し、4週間後にvon Kossa染色を行い、骨形成への影響を検討した。

【結果】 PDL細胞はAsporinとSOSTを発現していた。PDL細胞に至適矯正力に相当する90 x gの遠心力を付与すると、SOST mRNAの発現は対照群と比較して減少したが、Asporin mRNAの発現は有意に増加した。同様にラットの力学的負荷モデルでも圧迫側でSOST陽性細胞数は対照群と比較して有意に減少したが、Asporin陽性細胞数は有意に増加した。さらに、PDL細胞に様々な遠心力を負荷すると遠心力に比例して、細胞傷害は大きくなったが、90 x gの遠心力を付与した際のAsporinタンパク分泌量は対照群と比較して有意に増加した。また、ヒト骨芽細胞はPDL細胞に90 x gの遠心力を付与した培養液で培養すると対照群の培養液で培養したものより骨芽細胞分化の抑制が認められた。同様に90 x gの遠心力をPDL細胞に付与して放出されたAsporinタンパク量とほぼ同量のAsporinをヒト骨芽細胞の培養液に添加すると有意に骨芽細胞分化の抑制が認められた。

【結論】 ヒト歯根膜線維芽細胞に至適矯正力に相当する遠心力を付与すると、Asporinの発現は増加し、ヒト骨芽細胞の骨芽細胞分化を抑制することがわかった。以上の結果より、矯正時の圧迫側で歯根膜細胞から分泌されるAsporinが骨形成を抑制している可能性が考えられる。

本研究内容について申請者の上田 雅恵氏に対し、主査と2名の副査でAsporinとSOSTに着目した理由やAsporinの骨形成抑制機構について質問したが、概ね適切な回答を得た。総じて、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。