

氏名(本籍) : 野<sup>の</sup>口<sup>ぐち</sup>隆<sup>たか</sup>弘<sup>ひろ</sup>(茨城県)

学位の種類 : 博士 ( 歯学 ) 学位記番号 : 歯博第937号

学位授与年月日 : 令和3年3月25日 学位授与の要件 : 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科(博士課程)歯科学専攻

学位論文題目 : TNF- $\alpha$  stimulates the expression of RANK during orthodontic tooth movement (TNF- $\alpha$ は矯正学的歯の移動時にRANK発現を促進する)

論文審査委員 : (主査)教授 笹野 泰之  
教授 市川 博之 教授 溝口 到

## 論文内容要旨

破骨細胞は骨の吸収とリモデリングに必要な細胞である。破骨細胞の形成には、M-CSFとRANKLの2つのサイトカインが重要である。TNF- $\alpha$ もまた破骨細胞形成に重要な因子として認識されている。また、TNF- $\alpha$ が矯正学的歯の移動時の破骨細胞形成や骨吸収に重要な役割を果たしていることも報告されている。RANKLの受容体としては、RANKが知られており、RANKは破骨細胞前駆細胞や破骨細胞上に発現している。*In vitro*でTNF- $\alpha$ は破骨細胞前駆細胞のRANKの発現を増加させることが報告されている。しかし、*in vivo*においてRANK発現に対するTNF- $\alpha$ の影響や、矯正学的歯の移動時のRANK発現へのTNF- $\alpha$ の影響についてはまだ明らかになっていない。本研究では、*in vitro*、*in vivo*、および矯正学的歯の移動時においてTNF- $\alpha$ がRANK発現に与える影響を調べた。さらに、破骨細胞前駆細胞のTNF- $\alpha$ 誘導性RANK発現の分子機構についても明らかにした。

*In vitro*において、破骨細胞前駆細胞にTNF- $\alpha$ を作用させるとRANK発現が亢進した。また、NF- $\kappa$ BおよびMAPKs阻害剤は、TNF- $\alpha$ により誘導されるRANK発現を有意に減少させた。さらに、TNF- $\alpha$ のprimingはRANKL誘導性破骨細胞形成を促進した。次に*in vivo*において、マウス頭蓋部にTNF- $\alpha$ を5日間連続投与した後、real-time PCRおよび免疫組織化学染色によりRANK発現を評価した。その結果、TNF- $\alpha$ を投与したマウスではPBSを投与したマウスに比べて、RANK mRNAの発現量およびRANK陽性細胞数が有意に増加した。さらに、野生型(WT)マウスおよびTNFFR1/TNFR2欠損マウス(TNFRsKO)の上顎切歯と上顎左側第一臼歯の間にNi-Tiクロードコイルスプリングを装着し、上顎左側第一臼歯を近心方向に移動させ、TNF- $\alpha$ がRANK発現に及ぼす影響を解析した。歯の移動後、圧迫側のRANK陽性細胞数を免疫組織化学染色にて評価した。WTマウス歯槽骨圧迫側のRANK陽性細胞数は、機械的負荷により経時的に増加した。また、TNFRsKOマウスの圧迫側でのRANK陽性細胞数およびRANK mRNAはWTマウスと比較して有意に減少した。

これらの結果から、TNF- $\alpha$ はNF- $\kappa$ BやMAPKs経路の活性化により破骨細胞前駆細胞においてRANK発現を誘導し、TNF- $\alpha$ によるRANKの発現亢進はRANKL誘導性破骨細胞形成を増加させる可能性が示唆された。さらに、矯正学的歯の移動時、TNF- $\alpha$ は圧迫側でRANKの発現を誘導した。このRANK発現の増加が歯の移動において破骨細胞形成を促進すると考えられる。

本研究から得られた新しい知見は、矯正学的歯の移動に伴う骨改造の分子生物学的メカニズムに関する理解を大きく前進させるものと評価できる。また、本研究の成果は矯正歯科の臨床面において有益な情報であり、歯学における学術的意義も大きいと判断される。よって、本論文は博士（歯学）の学位論文として相応しいと判断する。

## 審査結果要旨

破骨細胞は骨の吸収とリモデリングに必要な細胞である。破骨細胞の形成には、M-CSFとRANKLの2つのサイトカインが重要である。TNF- $\alpha$ もまた破骨細胞形成に重要な因子として認識されている。また、TNF- $\alpha$ が矯正学的歯の移動時の破骨細胞形成や骨吸収に重要な役割を果たしていることも報告されている。RANKLの受容体としては、RANKが知られており、RANKは破骨細胞前駆細胞や破骨細胞上に発現している。*In vitro*でTNF- $\alpha$ は破骨細胞前駆細胞のRANKの発現を増加させることが報告されている。しかし、*in vivo*においてRANK発現に対するTNF- $\alpha$ の影響や、矯正学的歯の移動時のRANK発現へのTNF- $\alpha$ の影響についてはまだ明らかになっていない。本研究では、*in vitro*、*in vivo*、および矯正学的歯の移動時においてTNF- $\alpha$ がRANK発現に与える影響を調べた。さらに、破骨細胞前駆細胞のTNF- $\alpha$ 誘導性RANK発現の分子機構についても明らかにした。

*In vitro*において、破骨細胞前駆細胞にTNF- $\alpha$ を作用させるとRANK発現が亢進した。また、NF- $\kappa$ BおよびMAPKs阻害剤は、TNF- $\alpha$ により誘導されるRANK発現を有意に減少させた。さらに、TNF- $\alpha$ のprimingはRANKL誘導性破骨細胞形成を促進した。次に*in vivo*において、マウス頭蓋部にTNF- $\alpha$ を5日間連続投与した後、real-time PCRおよび免疫組織化学染色によりRANK発現を評価した。その結果、TNF- $\alpha$ を投与したマウスではPBSを投与したマウスに比べて、RANK mRNAの発現量およびRANK陽性細胞数が有意に増加した。さらに、野生型（WT）マウスおよびTNFR1/TNFR2欠損マウス（TNFRsKO）の上顎切歯と上顎左側第一臼歯の間にNi-Tiクロードコイルスプリングを装着し、上顎左側第一臼歯を近心方向に移動させ、TNF- $\alpha$ がRANK発現に及ぼす影響を解析した。歯の移動後、圧迫側のRANK陽性細胞数を免疫組織化学染色にて評価した。WTマウス歯槽骨圧迫側のRANK陽性細胞数は、機械的負荷により経時的に増加した。また、WTマウスの圧迫側でのRANK陽性細胞数およびRANK mRNAはTNFRsKOマウスと比較して有意に増加した。

これらの結果から、TNF- $\alpha$ はNF- $\kappa$ BやMAPKs経路の活性化により破骨細胞前駆細胞においてRANK発現を誘導し、TNF- $\alpha$ によるRANKの発現亢進はRANKL誘導性破骨細胞形成を増加させる可能性が示唆された。さらに、矯正学的歯の移動時、TNF- $\alpha$ は圧迫側でRANKの発現を誘導した。このRANK発現の増加が歯の移動において破骨細胞形成を促進すると考えられる。

本研究から得られた新しい知見は、矯正学的歯の移動に伴う骨改造の分子生物学的メカニズムに関する理解を大きく前進させるものと評価できる。本研究の成果は骨代謝研究および臨床歯科の分野に大きく貢献することが期待され、博士（歯学）の学位論文として相応しいと判断する。