

## 論文審査の結果の要旨

氏名：高橋 康代

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：The effect of high-magnitude mechanical strain on bone nodule formation by rat calvarial progenitor cells

（強い機械的伸展力がラットカルバリア細胞の骨様結節形成に与える影響）

審査委員：（主査） 教授 鈴木 直人

（副査） 教授 清水 典佳 教授 川戸 貴行

教授 白川 哲夫

歯科矯正治療における歯の移動は、矯正力が歯槽骨に伝達され骨吸収と骨形成による骨リモデリングによって起こる。これまで至適矯正力について多くの研究が行われ、*in vivo* 研究では、歯槽骨に負荷されたメカニカルストレス (MS) が bone morphogenetic protein (BMP)-2 発現を誘導することで骨リモデリングを促進すること、これは骨芽細胞分化に必須の転写因子である runt-related transcription factor 2 (Runx2) 発現を介していることが報告されている。*in vitro* 研究では、骨芽細胞への弱い MS 負荷は BMP-2 や Runx2 などの骨形成関連因子の発現を増加させ、骨芽細胞分化を促進させることが報告されている。一方、強い MS 負荷は prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) などの炎症促進因子の発現を増大し骨吸収を誘導することが報告されているが、強い MS 負荷が骨芽細胞分化や骨形成関連因子に与える影響については十分解明されていない。そこで、本研究は強い MS 負荷が骨芽細胞分化に与える影響を明らかにすることを目的とし、強い周期的伸展力 (TF) をラットカルバリア細胞（骨芽細胞）に負荷し、bone nodule 形成と骨形成関連因子発現に与える影響について検討した。さらに強い MS 負荷により産生される PGE<sub>2</sub> の骨形成関連因子発現および bone nodule 形成に与える影響についても検討した。

カルバリア細胞を Bioflex plate に播種し 24 時間培養後、アスコルビン酸、β-グリセロフォスフェイトを含む培養液に交換した。その後 cyclooxygenase-2 選択的阻害剤である NS-398 添加・非添加の条件で、Flexercell strain unit を用いて細胞に 18%, 6 cycle/min の TF を 48 時間負荷し、その後静置培養した。TF 負荷後、細胞から全 RNA を抽出し real-time PCR 法にて BMP-2, Runx2, Msx2 の遺伝子発現について検討した。培養 14 日目に Calcium E-Test kit を用いて Ca<sup>2+</sup>量を定量した。また、培養 21 日目に細胞を固定し von Kossa 染色を行い、各 well の bone nodule をデジタルカメラにて撮影し、bone nodule の大きさと数を計測し、TF を負荷していない対照群と比較検討した。

その結果、以下の結論を得た。

1. ラットカルバリア細胞への強い MS 負荷は、骨形成関連因子である BMP-2, Runx2, Msx2 遺伝子発現の低下を介して bone nodule 形成を顕著に抑制した。
2. 強い MS 負荷は、その後の骨芽細胞分化を 7 日間抑制することで、大きな bone nodule 形成を阻害し、bone nodule 形成数を対照群の 60%に減少させた。
3. 強い MS 負荷によって産生された PGE<sub>2</sub> が骨形成関連因子である BMP-2, Runx2, Msx2 遺伝子発現を低下させたが、COX-2 選択的阻害剤である NS-398 添加でこれらの発現は対照群レベルまで回復し、bone nodule 形成も同様に回復した。

以上のように、本研究は骨芽細胞への強い MS 負荷が PGE<sub>2</sub> 産生亢進を介して骨形成関連因子の発現を低下させ bone nodule 形成を顕著に抑制することを明らかにし、MS 負荷が骨代謝に与える影響に新たな知見を得たものであり、歯科矯正臨床ならびに関連する歯科臨床の分野に寄与するところが大きいと考えられた。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成30年3月7日