

研究者：島崎 絵美（所属：鶴見大学歯学部附属病院 小児歯科学講座）

## 研究題目：乳歯生理的歯根吸収の歯根周囲組織における TGF- $\beta$ の活性

### 目的：

ヒト乳歯における生理的歯根吸収は後続永久歯との交換のために起こる現象で、吸収の進行には歯根周囲組織が産生する破歯細胞が関与している。本研究では、サイトカインの一つであるトランスフォーミング成長因子ベータ（TGF- $\beta$ ）が骨吸収窩表面および歯根膜に多く存在していることに着目し、乳歯の生理的歯根吸収における TGF- $\beta$ の動態を調べ、RANK-RANKL および OPG による破歯細胞の分化誘導制御を解明することを目的とした。

### 対象および方法：

生後約5ヶ月のブタ下顎骨から歯根吸収（R）および非吸収（N）乳切歯を抜去し、歯頸部（1）、歯根部（2）、歯根先端部（3）の周囲軟組織（R1,R2,R3 および N1,N2,N3）（図1）を調製して以下に示す、タンパクレベルおよび遺伝子レベルの双方の実験を行った。さらに吸収根の非脱灰切片を作製し顕微鏡観察を行った。

- (1) 乳歯歯根周囲組織における TGF- $\beta$ の分離精製および同定
- (2) RANKL 誘導性破骨細胞分化実験
- (3) 歯根吸収に関連する遺伝子の解析
- (4) 乳前歯顎骨の非脱灰切片の顕微鏡像の観察

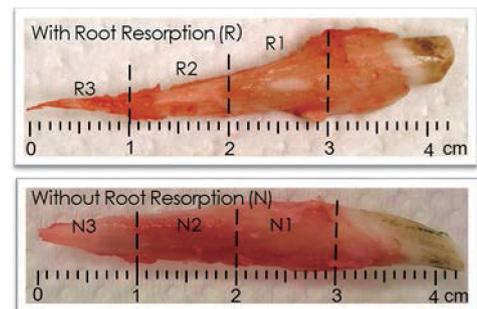


図1 生後約5ヶ月のブタ下顎骨から抜去した歯根吸収（R）および非吸収（N）

### 結果および考察：

タンパクレベル実験において、TGF- $\beta$ 活性は歯根非吸収試料全般（N1,N2,N3）に多く見られ、内在性の酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ（TRAP）活性が高かった吸収歯根部（R2）および吸

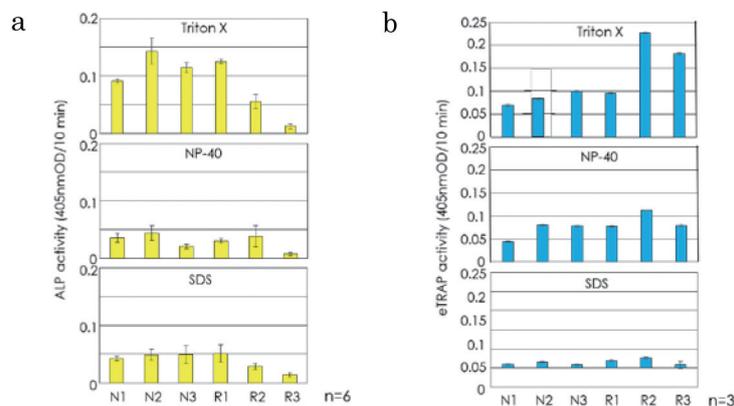


図2 (a) HPDL 細胞を用いた TGF- $\beta$ 活性、(b) 組織中の TRAP (eTRAP) 活性 (TRAP= 酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ)

収先端部（R3）には低かった。その為、TGF- $\beta$ はRANK-RANKL誘導性の破骨細胞分化の主要因子ではないことが考えられた（図2）。TritonX画分を用いたRAW264細胞に対する破骨細胞へのin vitroでの分化誘導実験においても、TGF- $\beta$ 活性の量が少なかった吸収歯根部（R2）、吸収先端部（R3）試料で分化誘導能が低かったことに一致した。しかし、TGF- $\beta$ の選択的阻害剤であるSB431542存在下で、各試料中の分化誘導がほぼ完全に抑制されたことより、破骨細胞分化に影響を与えているTritonX画分中の主要サイトカインはTGF- $\beta$ であることが考えられた（図3）。遺伝子レベル実験では、TGF- $\beta$ 1およびTGF- $\beta$ 2とOPG遺伝子が歯根非吸収試料中で優位に発現を示したことより、TGF- $\beta$ がOPGの遺伝子発現および産生に関わっていることが示唆された。一方、RANK、RANKL、TRAP、CALCR、NFATc1が歯根吸収試料中で優位に発現が認められたことより、TGF- $\beta$ 以外のサイトカインが歯根吸収に関連する遺伝子の発現を誘導していることが考えられた（図4）。吸収根におけるフクシン・メチレンブルー染色を行った非脱灰切片標本の観察では、R2領域からセメント質の連続性が絶たれ、R2～R3領域では不規則な細胞外形を示す、多核の破骨細胞様細胞の存在と、吸収により凹凸したセメント質が見られました（図5）。

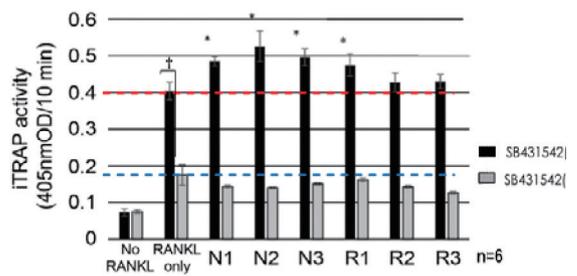


図3 サンプル添加時のRANKL誘導性RAW264細胞における誘導性TRAP (iTRAP) 活性

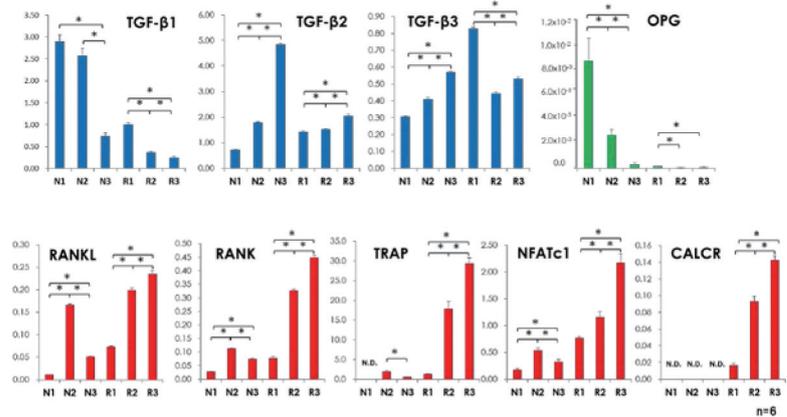


図4 歯根周囲組織の遺伝子発現量 (\* p < 0.05)

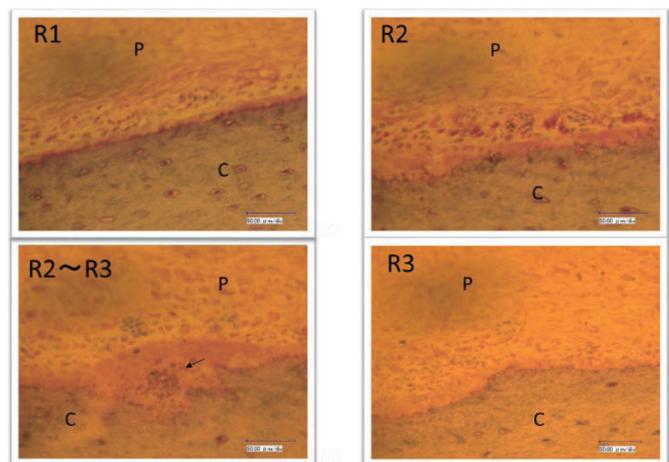


図5 乳前歯顎骨の非脱灰切片を用いた顕微鏡観察 (×500)  
P 周囲軟組織 C セメント質 ←破骨細胞様細胞

成果発表：(予定を含めて口頭発表、学術雑誌など)

小児歯科学会にて発表予定