

## An experimental model of tooth movement by orthodontic force in mice and its application to TNF receptor-deficient mice

吉松 昌子

【目的】矯正学的歯の移動は、生体の局所の炎症反応により引き起こされるが、その分子メカニズムについては、未だ解明されていない点が多く残されている。歯の移動のメカニズムを解析することは、骨のリモデリングのメカニズムを解明することにつながり、今日の骨代謝研究の重要な課題となっている。

矯正学的歯の移動のメカニズムを解明するために、現在までに多くの歯の移動に関する基礎的研究が、イヌ、サル、ラット、マウスなどの動物を用いて行なわれてきた。最近、種々の遺伝子の機能を解析する目的で多くのトランスジェニックマウスやノックアウトマウスなどの遺伝子改変マウスが作成されており、これらのマウスは歯の移動の分子メカニズムを解明するのに有用な実験動物と考えられている。そのため、本研究では、マウスを用いた歯の移動モデルを構築し、そのモデルを用いて、矯正学的歯の移動時における TNF- $\alpha$  の役割を解析することを目的として以下の実験を行った。

【方法】実験動物には、野生型マウス (C57BL6/J)、TNF 受容体 I 型欠損マウス、及び TNF 受容体 II 型欠損マウスの 8 週齢雄を使用した。マウスの上顎切歯と左側第一臼歯間に 10gf の NiTi クローズドコイルスプリングを装着し、左側第一臼歯を近心移動した。装置未装着の右側第一臼歯を対照群とした。歯の移動量は、歯科用シリコーン印象材を用いて経時的に上顎を印象採得し、各印象における第一臼歯と第二臼歯間距離を実体顕微鏡下で計測することにより測定した。組織学的観察には、各マウスを灌流固定後、上顎第一臼歯と第二臼歯部を採取し、EDTA にて脱灰後、通法に従いパラフィン包埋し、臼歯部の横断切片、縦断切片標本を作製した。また、経時的に上顎第一臼歯とその周囲組織を含む非脱灰凍結切片標本も作製し、TNF- $\alpha$  特異抗体を用いて免疫染色を行った。さらに、上顎第一臼歯部より採取した組織を用いて TNF- $\alpha$  と CathepsinK mRNA の発現を real-time PCR 法を用いて定量的に解析した。

【結果及び考察】野生型マウスにおける歯移動時の組織学的変化を解析した結果、歯の移動後 2 日目より歯根圧迫側の歯根膜腔の圧迫が起こり、4 日目より圧迫側歯槽骨表面に破骨細胞と歯槽骨の吸収が認められ、骨の吸収による歯の移動が起こるといふ二相性の歯の移動を示した。この様相は、ほかの動物モデルやヒトの歯の移動と類似していた。また、第一臼歯頰側根圧迫側の TRAP 陽性細胞は、歯の移動後

2 日目から発現し、その数は経時的増加した。さらに、第一臼歯とその周囲組織を用いた real time RT-PCR において、破骨細胞のマーカである CathepsinK mRNA の発現が、歯の移動後 6 日目より上昇することが確認できた。

次に、歯の移動に伴う TNF- $\alpha$  の mRNA の変動を real time RT-PCR で解析したところ、歯移動 10 日目に発現が上昇していることが確認できた。さらに、非脱灰凍結切片標本を用いて免疫染色にて TNF- $\alpha$  の発現を解析したところ、歯の移動後 2 日目より第一臼歯歯根圧迫側の破骨細胞、単核細胞、線維芽細胞に TNF- $\alpha$  の発現が認められた。これらの結果より、歯の移動に TNF- $\alpha$  が関与していることが示唆された。

歯の移動に TNF- $\alpha$  が関与するかさらに検証するために、TNF 受容体 I 型欠損マウスと TNF 受容体 II 型欠損マウスを用いて歯の移動実験を行ったその結果、TNF 受容体 II 型欠損マウスにおける歯の移動距離は、野生型マウスと TNF 受容体 I 型欠損マウスに比べて歯の移動後 6 日目より減少していることが明らかとなった。また、TNF 受容体 II 型欠損マウスの歯の移動時、破骨細胞の数は、TNF 受容体 I 型欠損マウスより減少していた。これらの結果より、歯の移動に TNF- $\alpha$  が関与していることが明らかとなった。

**【結論】** 本研究において、われわれが考案したマウスにおける矯正学的歯の移動モデルが有用であることが確認された。また、矯正学的歯の移動時、歯根の圧迫側において、TNF- $\alpha$  が関与していることが明らかとなった。