

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業

研究成果報告書



令和 元 年 6 月 14 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20486

研究課題名（和文）メカニカルストレスと炎症の関係：骨芽細胞の働きに与える影響

研究課題名（英文）Relationship between mechanical stress and inflammation on the influence on the function of osteoblasts

研究代表者

鈴木 奈月（SUZUKI, Natsuki）

東京医科歯科大学・部分床義歯補綴学分野・非常勤講師

研究者番号：80758566

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000 円

研究成果の概要（和文）： 歯が抜けた後の顎骨に、義歯などを介して過剰な力がかかると顎骨が局所的に吸収することが知られている。メカニカルストレスによって破骨細胞が発現することは明らかになっていたが、本研究では、破骨細胞が発現する閾値の範囲を示唆することができた。これにより、骨に負荷しても支障がない荷重の範囲を提唱することができる。さらにその手法に関しては、既存のものよりも正確にメカニカルストレスによって骨内部に生じる歪みを算出するための換算式を新たに提唱した。これは顎骨に限定的なものではあるが、今後さらに実験を続けることによって全身の骨に当てはめることができる可能性を持っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯科治療において、歯が抜けた後に顎骨が著しく吸収することで、義歯が安定しづらい・痛みが出やすい等症状を訴える場合がある。これは、食事の回数や摂取量を制限しかならず、QOLに大きく影響をもたらす。一因として、不適切な歯科治療を受けることで、過剰な力が顎骨にかかり骨吸収を亢進させてしまうことが挙げられる。研究を進め、顎骨に負担をかけても支障のない荷重の範囲が明らかになることで、より適切な歯科治療を患者に提供することが可能となる。

研究成果の概要（英文）： It is known that the jaw bone is locally absorbed when an excessive force is loaded to the jaw bone after the tooth lost with prosthodontic treatment. Although mechanical stress revealed that osteoclasts were expressed, in this study, it was possible to suggest the range of the threshold for osteoclast expression. In this way, it is possible to propose a range of load that does not cause any problem even if the bone is loaded. Furthermore, regarding the method, a conversion equation was proposed to calculate the strain generated inside the bone by mechanical stress more accurately than the existing one. Although this is limited to the jaw bone, there is a possibility that it can be applied to the whole body bone by continuing the experiment further in the future.

研究分野：補綴学

キーワード：メカニカルストレス 破骨細胞 スクレロスチン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 歯科治療において、歯が抜けた後に顎骨が著しく吸収することで、義歯が安定しづらい・痛みが出やすい等症状を訴える場合がある。これは、食事の回数や摂取量を制限しかならず、QOLに大きく影響をもたらす。一因として、不適切な歯科治療を受けることで、過剰な力が顎骨にかかり骨吸収を亢進させてしまうことが挙げられる。研究を進め、顎骨に負担をかけても支障のない荷重の範囲が明らかになることで、より適切な歯科治療を患者に提供することが可能となる。

(2) 骨が過大な力を受けることによって、骨細胞・骨芽細胞・破骨細胞が亢進・抑制されるメカニズムは徐々に明らかになってきている。一方で、どの程度の力によって骨内部にどの程度の歪みが生じるか、そしてどの程度の歪みによって細胞が活性化されるかの閾値は明らかになっていない。

2. 研究の目的

(1) 義歯をはじめとする歯科治療における補綴物によって、口腔内には力 = メカニカルストレスがかかる場合がある。メカニカルストレス由来の炎症が、破骨細胞亢進や骨芽細胞抑制による骨吸収を亢進させるかを明らかにすることが重要である。実験には、野生型マウスと TNF- α 欠損マウスを使用し、骨芽細胞抑制による骨吸収のメカニズムを明らかにするための理論的データを収集する。本研究では、特に下記の点に関して詳細な研究を進めることを目的とする。

メカニカルストレスが、骨芽細胞の出現を抑制するかどうか。

骨細胞から分泌されるスクレロスチンは、骨芽細胞の活性を阻害する骨形成抑制因子である。そこで、骨芽細胞のメカニカルストレスによって、骨細胞からスクレロスチンが発現が低下するかどうか。メカニカルストレスによって骨内部に生じる歪みとスクレロスチン発言の関連を明らかにする。

その結果、骨芽細胞抑制による骨吸収亢進が、歪み分布と関連がないか検証する。

(2) 更に基盤的研究として、メカニカルストレスによって骨内部に生じる歪みの大きさを明らかにする(図1)。骨にメカニカルストレスをかけ歪みを生じさせる研究はすでに存在しているが、骨は有機成分を多量に含む物質であるため、その構成成分の割合によって同じメカニカルストレスから生じる歪みが異なることがわかっている。違う部位の骨およびその処理方法によって有機成分は変性するため、同一の方法でメカニカルストレスから歪みを算出するには誤差が生じると考えられる。本研究では、骨の無機成分による微細構造と、有機成分の構成内容がどのように歪み値に影響を与えるか検証し、それを加味した歪みの値を提案する。

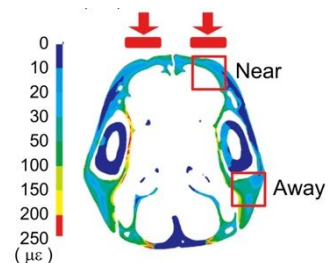


図1. 荷重によって骨内部に生じた歪みの分布図

3. 研究の方法

(1) メカニカルストレスによって炎症が引き起こされることが、多様な炎症によって骨吸収が誘発されることが報告されている。本研究では、メカニカルストレス由来の炎症が、破骨細胞亢進や骨芽細胞抑制による骨吸収を亢進させるかを明らかにすることが重要である。実験には、野生型マウスと TNF- α 欠損マウスを使用する。

メカニカルストレスによって、野生型マウスでは近接する軟組織及び骨表面に炎症性細胞の浸潤を認め、炎症が引き起こされるかを確認。マウス上顎骨の中で、歪みの大きさが同程度で、荷重による炎症が起きる部位と起きにくい部位を選定する。選定した2か所において、TNF- α 欠損マウスではどちらも炎症が抑制されていることを確認する。

メカニカルストレス由来の炎症が、破骨細胞の出現を亢進させることを確認。

メカニカルストレス由来の炎症が、骨芽細胞に影響を与えるかを検証。骨芽細胞は破骨細胞よりも、メカニカルストレスによる負荷が組織にかかってから出現するまでに期間を要するため、荷重期間を調節しながらこれ以降の実験に最適な実験期間を選定。

(2) メカニカルストレスによる歪みが骨芽細胞にどのような影響をもたらし、骨吸収・骨形成との関連性を検証する。

荷重実験の際に、荷重期間中一定の間隔で骨形成マーカーとして蛍光色素(カルセイン・アリザリンレッド)を皮下注射する。これにより、骨に沈着した蛍光色素間の骨幅を計測することで、その期間に形成された骨量を計測することができる。歪みの大小によって、骨形成量の違いができれば、歪みによる骨芽細胞への影響をすることができる。

組織観察の際に、スクレロスチン免疫染色を行う。メカニカルストレスを感知した骨細胞がスクレロスチンの算出を抑制し、スクレロスチンに抑制される骨芽細胞の活性があがれば、骨形成量に影響がでる可能性がある。スクレロスチンの算出部位と歪み分布、骨形成量の関係をみる。

(3) 骨微細部位に荷重可能なナノインデンテーション法を用いて μ 単位での骨微細部位でのメカニカルストレスに対して生じる歪みを計測し、更にラマン分光法を用いて、その部位の有機

成分の解析を行う。その結果を比較し、骨の無機成分・有機成分と歪み値の関連性を明らかにする。

4. 研究成果

(1) メカニカルストレスによって、野生型マウスでは、近接する軟組織及び骨表面に炎症性細胞の浸潤を認め、炎症が引き起こされていた。更に、マウス上顎骨内において、歪みの大きさが同程度で、荷重による炎症が起きる部位(荷重部位に近い)と起きにくい部位(荷重部位から遠い)を選定した結果、TNF- α 欠損マウスでは、部位に依存せず炎症が抑制されていた。そして、炎症の中でもメカニカルストレス由来の炎症が、破骨細胞の出現を亢進させていた。以上のことより、メカニカルストレス由来の炎症が、破骨細胞の出現に影響を与えていることを示すことができた(図2)。

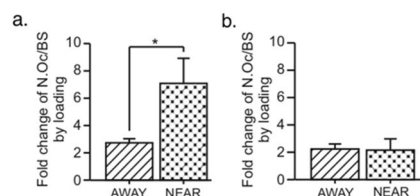


図2. 荷重によって生じた単位面積当たりの破骨細胞数。a 野生型マウス b TNF- α 欠損マウス。荷重で炎症が生じた野生型マウスの近接する組織で優位に破骨細胞が確認された。

(2) 破骨細胞の出現にはメカニカルストレスを受けてから一定の期間が必要であり、出現するまでに影響を与えるメカニカルストレスの総数、すなわち閾値は明らかになっていない。閾値に関する大まかな値は、示すことができたが、あくまでも条件特異的である。メカニカルストレスによる破骨細胞の出現の閾値を明らかにするには、最適な荷重期間・大きさの選定のため引き続き更なる実験が必要である。また、本研究の基盤的内容として、メカニカルストレスを受けた骨内部に生じる歪みの応力解析に必要な、CT 値から骨のヤング率を算出するための換算式に関して検証を行った。より実測にあった換算式を成立させるために、ある骨部位における CT 値と同部位の実測によるヤング率を比較し、両者の相関関係を検証した。その結果、一定の相関が認められたが、相関が認められないケースも存在し、それには、骨内部の微小構造が影響していることが示唆された。骨内部の微細構造が骨のヤング率にどのように影響を与えるかは、さらなる検証が必要である。

(3) CT 値から骨のヤング率を算出するための換算式に関して検証を行った。これは、本研究の基盤的内容であり、メカニカルストレスを受けた骨内部に生じる歪みの応力解析に必要な基礎データである。現在までに、CT 値から骨ヤング率を算出する換算式は複数提唱されているが、式ごとに算出されるヤング率にはばらつきが大きく、統一されていない。各換算式の確からしめの検証及び、より実測にあった換算式を提唱するために、骨のヤング率を実測することとした。ナノインデンテーション法を用いて、骨微小部位のヤング率を実際に計測し、同一部位の CT 値と比較することで両者に一定の相関関係があるかを調べた。結果として、 μ 単位でのごく限られた範囲では一定の相関関係が認められたが、骨全体にわたるような広範囲における相関関係をみいだすことができなかった。この結果は、以下のような理由が考えられた。

骨は均一な構造ではなく、骨小腔やハバース管といった微小構造を有する。本実験で用いた方法では、微小単位で計測したことにより、微小構造物の影響をより受けやすかった。

骨はリモデリングを繰り返しており、部位ごとに骨の成熟度に差がある。そのため、同一エリアの骨であってもヤング率にばらつきが生じた。

(4) 個体に共通する換算式は提唱できなかったが、各個体ごとの換算式を製作した。それらは、すでに報告されている換算式と比較して、全体的にヤング率が高く換算される傾向が認められた。これは、既存の実験では、実験動物から骨を摘出してから実験までにタイムラグがあり、乾燥や冷凍といった実験までの保管条件が、骨内のコラーゲンの変性を招いていた。本実験では、摘出から実験までの時間を短くし、コラーゲンの劣化を最小限に抑えて実験を行った。これにより、より生体に近いヤング率が計測可能となり、高い値が計測されたと考えられた(図3)。

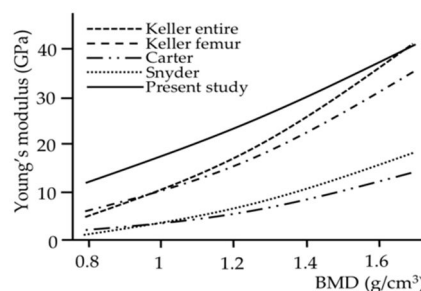


図3. 本研究で製作した換算式を既存の換算式と比較

歯が抜けた後の顎骨に、義歯などを介して過剰な力がかかると顎骨が局所的に吸収することが知られている。メカニカルストレスによって破骨細胞が発現することは明らかになっていたが、本研究では、破骨細胞が発現する閾値の範囲を示唆することができた。これにより、骨に負荷しても支障がない荷重の範囲を提唱することができる。さらにその手法に関しては、既存のものよりも正確にメカニカルストレスによって骨内部に生じる歪みを算出するための換算式を新たに提唱した。これは顎骨に限定的なものではあるが、今後さらに実験を続けることによって全身の骨に当てはめることができる可能性を持っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Inagawa Hideaki, Suzuki Natsuki, Aoki Kazuhiro, Wakabayashi Noriyuki. Potential for estimation of Young's modulus based on computed tomography numbers in bone: A validation study using a nano-indentation test on murine maxilla. Dental, Oral and Craniofacial Research.査読あり. 4, 2018, 1-7.
DOI:10.15761/DOCR.1000254

〔学会発表〕(計 2 件)

N.WAKABAYASHI, H.INAGAWA, N.SUZUKI, et al. Validity of Young's Modulus Estimateid Based on Computed Tomography. IADR General session London, England.2018.
稲川英明, 鈴木奈月, 八川昌人, 若林則幸, μ CT 値から顎骨のヤング率を求める換算式の妥当性の検討. 平成 28 年度公益社団法人日本歯科学会関越支部学術大会. 新潟. 2016.11.06.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

東京医科歯科大学部分床義歯補綴学分野研究業績
http://www.tmd.ac.jp/pro/70_54476e6454d6b/index.html

6. 研究組織

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。