

平成21年 5月22日現在

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2005～2008
 課題番号：17390549
 研究課題名（和文） 歯根膜の血管新生機構に対する機械的刺激の役割と加齢による常態変化
 研究課題名（英文） The role of mechanical stimulation on the angiogenesis in the periodontal ligament and the change with aging
 研究代表者
 飯田 順一郎 (IIDA JUNICHIRO)
 北海道大学・大学院歯学研究科・教授
 研究者番号：90151232

研究成果の概要：機械的な圧迫刺激が加わると周囲組織において微小血管径の増大および血管新生等の変化が生じるが、この反応性は加齢により低下することが明らかになった。また直径の増大した毛細血管は機能的に毛細血管後細静脈の性質を帯びることが明らかになった。歯に外力を加え歯周組織の常態維持に關与する口輪筋の機能および口唇閉鎖機能は、顔面骨格形態に影響されるが、加齢による生活習慣の変化や訓練により変化し得る可能性が示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	5,200,000	0	5,200,000
2006年度	3,900,000	0	3,900,000
2007年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2008年度	2,300,000	690,000	2,990,000
年度			
総計	14,500,000	1,620,000	16,120,000

研究分野：歯科矯正学

科研費の分科・細目：矯正・小児系歯学

キーワード：歯根膜 毛細血管 機械的刺激 加齢変化 微小血管 矯正力

1. 研究開始当初の背景

高齢者社会における歯科の役割として、Quality of life の向上を目的として顎口腔領域の機能の維持向上を目指すことが重要である。最近矯正治療を希望する患者の年齢層が上昇し、60歳を超える患者も増えてきている。高齢者を対象とした矯正治療においては若齢者とは異なる注意の必要性を臨床経験するところである。

また矯正力による歯の移動の機構の中で、機械的刺激に鋭敏に反応する歯根膜微小血管の役割が重要であることが申請者の研究等で明らかにされ、世界的にも大きく評価されている。加えて、高齢者においては機械的刺激

に対する微小血管の即時的な応答性が低下していることが、これまでの申請者の研究から明らかになっている。

一方、歯根膜の恒常性を維持する上で、咬合力や矯正力などの機械的刺激の加わる歯根膜では、微小血管の新生・再生の機構が重要な役割を担っていることが、従来の歯科矯正学における組織学的所見から十分に考えられるところである。また近年、悪性腫瘍の関連から血管新生のメカニズムに関する病理生化学的な機構が明らかにされつつあるところであるが、機械的刺激によって血管新生の機構がいかにか修飾されているかについては、いまだに研究が着手されていないところである。

2. 研究の目的

以上の背景から、本研究では、歯根膜微小血管の血管新生・再生機構に着目し、咬合力、矯正力を想定した機械的刺激に対して、歯根膜微小血管の新生・再生の現象が如何に反応しているか、またその反応が歯根膜の恒常性維持にどのように関与しているか、さらにはその機構が加齢により如何に変化していくものかを明らかにし、正常な咬合機能が歯根膜の恒常性を維持する機構を解明すると同時に、高齢者に対する適切な矯正治療の方法を模索する基礎的な情報を得ることを目的として、以下の細目に関して検討を加えた。

(1) 機械的刺激(持続的および間歇的の刺激)による血管新生の反応性を明らかにする。

(2) 機械的刺激に対する血管新生の反応性に関する加齢変化を明らかにする。

(3) 従来の結果である機械的刺激に対する微小血管の応答性と、血管新生に関する応答性との関連を明らかにする。

(4) 臨床検査により歯周組織、口腔周囲軟組織の性状に関する加齢変化の基礎データを収集する。

3. 研究の方法

(1) 微小血管系の長期観察方法

In vivo すなわち動物の微小血管の血管新生、消失・再生の変化を、同一の動物において光学顕微鏡下で観察するのに適した方法として、ハムスターの背部皮下組織を生態顕微鏡下で観察する dorsal skinfold chamber 法を用いた。機械的圧迫の刺激方法としては、chamber 内の組織に、先端に lingual button を装着したワイヤーを用い、スクリューあるいはコイルスプリングにより荷重を加える方法を用いた。



dorsal skinfold chamber 法

若齢と高齢の比較のために、若齢のハムスターとしては6週齢前後、高齢としては50週齢前後のハムスターを用いた。

(2) in vitro における観察

細胞に機械的刺激を加える方法として Flexer cell tension system を用いた。また細胞としては骨芽細胞様細胞株である MC3T3-E1 細胞を用いた。また各種物質の遺伝子発現動態は RT-PCR 法を、タンパク量の測定は ELISA 法を用いた。

(3) 口唇閉鎖状態の計測法

ヒトにおける口唇閉鎖の状態を客観的に把握するために、上下口唇の接触の有無を直接

的に感知し、経時的に長時間記録可能な計測機を開発した。

装置の基本部分はリレー式タッチセンサーを用いており、3 mm×3 mm のアルミ箔製のセンサーを上唇正中部に貼付し、下唇の接触を感知した生体信号を増幅、整流、波形整形した後リレーを作動させ、接触 (On) 非接触 (Off) をデータレコーダに記録した。

4. 研究成果

(1) 機械的刺激に対する微小血管の応答性および血管新生に関連する反応

① 血管新生に関連する VEGF の機械的刺激による増強とその作用

血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) は血管新生のみならず骨代謝にも関係していることから、骨芽細胞に機械的刺激を加えた際の VEGF, VEGF 受容体の発現と骨形成、骨吸収関連因子の発現に関して in vitro の方法を用いて検討した。その結果、骨芽細胞に機械的刺激を加えた場合には VEGF/VEGFR-1 の発現が増強し、VEGF が autocrine 的に作用して RANKL 発現の増強とともに破骨細胞を分化誘導することにより骨吸収も促進する可能性が示された。

② 機械的刺激による微小血管径の増大に伴う白血球動態の変化

これまでに機械的刺激が加わると一部の毛細血管径が毛細血管後細静脈さまで経時的に増大することが報告されている。毛細血管と毛細血管後細静脈では組織における機能が大きく異なることから、血管の同一の部位においてこのような血管径の変化が生じた場合にその機能にも変化が及ぶか否かを、白血球の Rolling と Adhesion を指標として検討した。観察にはハムスターの背部皮下組織における血管床を生態顕微鏡下で観察する dorsal skinfold chamber 法を用いた。その結果、機械的刺激を加えて血管径が増大し、毛細血管から毛細血管後細静脈に形態変化した部位においては、明らかに白血球の Rolling と Adhesion が出現してきており、機械的刺激による組織の変化に関して毛細血管の血管径の変化が機能的に関与している可能性が示された。

(2) 機械的刺激に対する血管新生の反応性に関する加齢変化

① 機械的刺激による微小血管形態変化様相の加齢変化

ハムスター背部皮下の血管を観察する Dorsal skin fold chamber 法を用いて、若齢 (6週齢) と老齢 (12か月) の動物の背部皮膚に持続的および間歇的な荷重を加え、同一部位の血管の形態変化を7日間経時的、定量的に捉え、以下の結果を得た。

1) 荷重を加えない対照群では若齢群、老齢群ともに微小血管の分布や微小血管径および血管透過性に著しい経時的変化はなかった。

2) 毛細血管径は若齢群では持続荷重付与群、間歇荷重付与群ともに対照群に対して有意に増大した。一方老齢群の間歇荷重付与群では有意に増大したが、持続荷重付与群では観察1日目から有意に減少した。

3) 毛細血管後細静脈径はすべての荷重付与群で増大傾向を示したが、7日目の老齢持続荷重付与群の直径変化率は、若齢持続荷重付与群と比較して有意に小さかった。

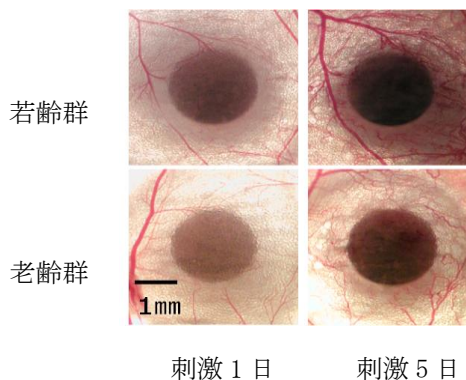
4) 血管透過性は若齢群、老齢群ともに、荷重付与群は対照群に対して有意に亢進した。またいずれの荷重付与条件においても、全観察期間で、老齢群より若齢群の血管透過性がより亢進している傾向が認められた。

以上の結果から、機械的刺激に対する数日間における微小血管系の形態的、機能的反応は若齢群と老齢群の間で異なることが明らかとなった。

② 持続的圧迫による微小血管の経時的形態変化に対する加齢の影響

歯根膜における硝子様変性組織の出現を想定し、若齢（6週齢）老齢（50週齢）のハムスターによる dorsal skinfold chamber 法を用いて検討した。すなわち血流が停止するまで圧迫刺激を加えた部位周囲における血管形態を、刺激後7日までの経時的変化とその変化様相における加齢の影響を光学顕微鏡弱拡大のレベルで観察し、以下の結果を得た。

- 1) 刺激を加えない対照群では若齢、老齢ともに大きな変化は認められなかった。
- 2) 圧迫部近傍の微小血管は若齢老齢共に径の増大及び新たな血流の確認できる血管の増加が認められたが、6日以降においては明らかに若齢の方がその増加量が大きかった。
- 3) 圧迫部位から1mm以上離れた部位における微小血管においては、血管径の増大、蛇行血管の出現が観察されるが、その変化量は老齢より若齢の方が明らかに大きいものであった。



以上より、圧迫部周囲における微小血管径

の増大、血管新生等の変化は、老齢よりも若齢の動物において大きいものであることが明らかとなった。

(3) 臨床検査による歯周組織、口腔周囲軟組織の性状に関する加齢変化に関する基礎データの収集

歯に対する口唇、頬、舌などの口腔周囲筋が歯に加える力は、歯周組織の組織変化を誘因し、歯の位置に変化をもたらす。これら口腔周囲筋の活動様相の加齢変化は歯周組織の微小血管の常態変化にも関連すると考えられる。そこで口腔周囲筋活動の中から口唇の閉鎖状態の計測法の確立から検討を始め、またその個人差、顔面骨格形態と口唇閉鎖状態との関連、更に口唇閉鎖に関する筋機能療法の効果に関して検討し加齢変化をとらえる基礎データを収集した。

① 日常生活における口唇閉鎖状態の新しい評価法と応用

口唇閉鎖の状態を客観的に把握するために、上下口唇の接触の有無を直接的に感知し、経時的に長時間記録可能な計測機を開発した。その後、成人正常咬合者を対象として以下の3つ条件のもとで口唇が閉鎖している時間の割合（口唇閉鎖時間率）を算出した。条件

- (I) 安静時：安静・覚醒・閉眼状態の15分間
- (II) 知的作業（集中）時：集中して単純な計算を行う状態15分間
- (III) 睡眠時：仰臥位における睡眠状態（脳波を含む睡眠ポリグラフィーによる確認）120分間。

それぞれの計測から以下の結果を得た。

- 1) 安静時における口唇閉鎖率は比較的高いが、知的作業時、睡眠時においてはともに低い値を示す傾向がある。

- 2) 各条件における口唇閉鎖時間率の階層クラスター分析により、被験者を4つのグループに分類できた。

- 3) 安静時に口唇が開いている傾向のあるものは他の条件においても口唇は開いている傾向がある。また、安静時、知的作業時の両方の条件下で口唇閉鎖時間率の高い者は睡眠時においても口唇閉鎖の程度が高い。

以上の結果から、口唇閉鎖状態は、個人間のばらつきが大きく、環境により大きく左右されることが明らかとなり、1日の中における口唇閉鎖状態を把握するためには、安静時、知的作業時における短時間の検査をすることによって把握できることが示された。

② 口唇閉鎖に関連する口輪筋の可塑性に関する検討

口唇閉鎖に大きく関与する口輪筋の筋力および持久力の可塑性に関する検討を行った。計測は近赤外線分光血流計による組織の酸素化ヘモグロビン量、脱酸素化ヘモグロビン

量を計測する方法を用いた。口輪筋に対しての反復荷重負荷時における酸素化動態を計測し、荷重の相違による酸素化動態の差を検討したところ以下の結果を得た。

1) 筋力の増加に対しては、最大筋力の80%の筋力で5秒の負荷を5から10回反復することが有効である。

2) 持久力の増加に対しては最大筋力の50%の筋力で5秒の負荷を15回以上反復することが有効である。

以上の検討から、口輪筋の筋力、持久力は生活習慣の変化、あるいは訓練をすることにより変化する可能性があり、口唇閉鎖機能の可塑性が示された。すなわち、歯、歯根膜に対する日常生活における口腔周囲からの外力は、加齢、あるいは生活習慣等によって変化する可能性があり、歯周組織、口腔周囲軟組織の性状の加齢変化に関して、その要因の一つが明らかとなった。

③ 日常的な口唇閉鎖の有無と顎顔面形体との関連に関する検討

口唇閉鎖機能の可塑性に関連して、個人間のばらつきに関してその要因が顎顔面骨格形態にある可能性を仮説し、口唇閉鎖機能と顎顔面骨格形態との関連に関して、①で開発した口唇閉鎖機能の計測法とセファログラムを用いて検討した。その結果、口唇閉鎖機能の困難な被験者の顔面骨格形態の有意な特徴として1) 上下顎関係が骨格性のⅡ級(上顎前突)の関係があること。2) 頤の後退があること。3) 下顔面高が大きいこと、が明らかになり、顎顔面形態と口唇閉鎖機能には密接な関係があることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計10件)

- ① 工藤 悠介、佐藤嘉晃、飯田 順一郎、機械的刺激による微小血管径の増大に伴う白血球動態の変化、北海道歯学雑誌、2009、In Press、査読有
- ② 小原三郎、佐藤嘉晃、飯田順一郎、持続的圧迫による微小血管の経時的形態変化に対する加齢の影響、北海道歯学雑誌、2009、In Press、査読有
- ③ Takeshi Nakai, Yoshitaka Yoshimura, Yoshiaki Deyama, Kuniaki Suzuki, Junichiro Iida, Mechanical stress up-regulates RANKL expression via the VEGF autocrine pathway in osteoblastic MC3T3-EL cells、Molecular Medicine Reports、2、229-234、2009、査読有
- ④ Satimary Endo Leonardo, Yoshiaki

Sato、Tomoo Kaneko、Takaaki Yamamoto、Kaori Handa、Junichiro Iida、Differences in dento-facial morphology in lip competence and lip incompetence、Orthodontic Waves、68(1)、12-19、2009.3、査読有

- ⑤ Satimary Endo Leonardo, Yoshiaki Sato、Kaori Handa、Tomoo Kaneko、Takaaki Yamamoto、Junichiro Iida、Relationship between lip sealing ability and dentofacial morphology、Hokkaido Journal of Dental Science、29(2)、139-147、2008、査読有
- ⑥ レオナルド遠藤サチマリ、佐藤嘉晃、半田薫、金子知生、山本隆昭、飯田順一郎、口唇閉鎖能力と顎顔面形態との関連性について、北海道歯学雑誌、29(2)、139-147、2008、査読有
- ⑦ 大矢和可、金子知生、半田薫、飯田順一郎、口輪筋訓練の条件に関する検討—近赤外線分光法を用いた口輪筋酸素化動態の観察—、北海道歯学雑誌、29(2)、129-138、2008、査読有
- ⑧ 廣澤知之、佐藤嘉晃、飯田順一郎、機械的刺激による微少血管系の反応における加齢変化、北海道歯学雑誌、27(2)、171-189、2006、査読有
- ⑨ 半田薫、佐藤嘉晃、金子知生、山本隆昭、飯田順一郎、日常生活における口唇閉鎖状態の新しい評価法と応用第1報 口唇閉鎖状態連続記録装置の開発、北海道歯学雑誌、26(2)、146-152、2005、査読有
- ⑩ 半田薫、佐藤嘉晃、金子知生、山本隆昭、飯田順一郎、日常生活における口唇閉鎖状態の新しい評価法と応用第2報 睡眠時と覚醒時における口唇閉鎖状態について、北海道歯学雑誌、26(2)、153-163、2005、査読有

[学会発表] (計5件)

- ① Leonardo Satimary Endo, Junichiro Iida、Relationship between lip seal and facial morphology、The 84th European Orthod. Society、2008年6月10日、Lisbon、Portugal
- ② Junichiro Iida、A Consideration for Optimum Force in Orthodontic Tooth Movement、The 40th Scientific Congress of Korean Association of Orthodontists、2007年11月3日、Seoul、韓国
- ③ Kaori Handa, Yoshiaki Sato、Tomoo Kaneko、Takaaki Yamamoto and Junichiro Iida、An evaluation of lip sealing during the daytime and sleep、第65回日本矯正歯科学会、2006年9

- 月 13 日、札幌
- ④ K. Handa, Y. Sato, T. Yamamoto, T. Kaneko, and J. Iida, An Evaluation of Lip Sealing during the Daytime and Sleep、第 53 回 JADR 総会・学術大会、2005 年 11 月 26 日、岡山
- ⑤ 半田薫、レオナルド 幸真理遠藤、佐藤嘉晃、金子知生、山本隆昭、飯田順一郎、口唇閉鎖機能の新しい評価法 第 2 報 安静時と睡眠時における口唇閉鎖について、第 64 回日本矯正歯科学会、2005 年 10 月 12 日、横浜

[図書] (計 1 件)

- ① 飯田順一郎、医師薬出版株式会社、歯の移動の臨床バイオメカニクス 歯と歯根膜のダイナミズム (下野正基、前田健康、溝口 到編)、2006 年、134-139 頁

[その他]

- ① 飯田順一郎、医療最前線 インプラント、矯正歯科など専門医が語る、歯科医療の臨床研究、道民雑誌 クオリティ 2008 年 2 月号、株式会社太陽、札幌

6. 研究組織

(1) 研究代表者

飯田 順一郎 (IIDA JUNICHIRO)
北海道大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：90151232

(2) 研究分担者

藤森 修 (FUJIMORI OSAMU)
名古屋学院大学・人間健康学部・教授
研究者番号：30128350
井上 農夫男 (INOUE NOBUO)
北海道大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：20091415
佐藤 嘉晃 (SATO YOSHIAKI)
北海道大学・大学院歯学研究科・准教授
研究者番号：00250465
梶井 貴史 (KAJII TAKASHI)
北海道大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号：60322822

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

廣澤 知之 (HIROSAWA TOMOYUKI)
北海道大学病院・客員臨床助教
半田 薫 (HANDA KAORI)
北海道大学病院・客員臨床助教
レオナルド 遠藤 サチマリ
(LEONARD ENDO SATIMARY)

北海道大学・大学院歯学研究科・大学院生
中井 丈生 (NAKAI TAKESHI)
北海道大学・大学院歯学研究科・大学院生
工藤 悠介 (KUDO YUUSUKE)
北海道大学・大学院歯学研究科・大学院生
小原 三郎 (OBARA SABURO)
北海道大学・大学院歯学研究科・大学院生