

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 21 年 5 月 18 日現在

研究種目： 若手研究（B）
研究期間： 2006 ～ 2008
課題番号： 18791576
研究課題名（和文） 骨代謝におけるカップリング作用を応用した
矯正学的歯の移動のコントロール
研究課題名（英文） Experimental tooth movement model considering coupling factor
in mice
研究代表者 田淵 雅子
(TABUCHI MASAKO)
愛知学院大学・歯学部・講師
研究者番号： 30418925

研究成果の概要：

本研究では、矯正学的歯の移動時における骨代謝の解明ならびに、骨代謝のコントロールによる歯の移動実験を行うこととした。研究成果として、“マウス”を用いた歯の移動実験法を確立し、現在までのところ一週間までの持続的矯正力の付与が可能となった。また、本研究では骨代謝の変化がより明らかに現れることを想定し、OPG -/- マウスを使用して実験を行っている。この OPG -/- マウスを用いることによって、Wild type マウスに比較し歯の移動速度が大きく、移動3日後から歯根膜における破骨細胞数が上昇し、周囲歯槽骨の吸収が多く認められた。以上の結果から、破骨細胞の活性は、歯の移動において重要であり、骨芽細胞の活性化にも極めて重要な役割を担っていることが考えられた。また、周囲歯槽骨を維持するためにも破骨細胞の活性の制御は重要であることが考えられた。今後は、この破骨細胞の活性を抑制する薬剤を投与し、実験を継続していく予定である。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,000,000	0	1,000,000
2007 年度	1,100,000	0	1,100,000
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	360,000	3,660,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 歯学・矯正・小児系歯学

キーワード： 歯学、動物、バイオテクノロジー、病理学

1. 研究開始当初の背景

一般的に、歯科矯正治療において、『固定』の概念は非常に重要であり、移動が必要な歯

だけではなく、移動してはいけない歯までもが動いてしまうことは少なくない。固定を獲得するためには、今まで、患者にヘッドギア一等の顎外固定装置を使用してもらい、患者の協力、使用が必要不可欠であった。しかし近年、絶対的な固定源として、スケルタルアンカレッジが用いられるようになってきた。このスケルタルアンカレッジの発展は、患者の協力が不要になったという利点の他、確実な固定源の確保から、治療目標の高度化や治療期間の短縮など、飛躍的に矯正臨床の技術向上につながっている。また、プレートタイプからスクリュータイプまで様々な形態が用いられるようになってきた。しかし、どのタイプにおいても、外科的侵襲を避けることができないのが現状である。そこで、極力外科的侵襲を排除しながら、確実な固定源の確保がおこなえる方法はないかと考え、本研究の発想に至った。

これまでの研究経過としては、平成13年より、破骨細胞の活性が亢進しているOPG遺伝子欠損マウスに部分精製の骨形成因子（BMPs）を移植し、形成された新生骨の観察を行った。また、破骨細胞の活性を抑制する薬剤の一つであるビスホスホネートを、OPG遺伝子欠損マウスに投与することによる新生骨形成の影響についても実験してきた。その結果、骨吸収関連蛋白質や薬剤の投与によって骨代謝のコントロールが可能であるという結果を得ることができた。また、新生骨形成量と新生骨誘導の代謝回転を決定する因子として破骨細胞が非常に重要な関わりを持っていることが示唆された。そこで、上記の研究結果より、本研究では、骨代謝に重要な関わりを持っていると考えられる破骨細胞に着目して、実験的歯の移動による骨代謝研究を行うこととした。

2. 研究の目的

上記の背景から、本実験では、より効率的な歯の移動を行うことができ、患者の装置使用の必要を無くし、外科的侵襲を与えず、固定源を獲得すること目標とした。その為に、骨代謝をコントロールすることによって歯の移動を制御することを本研究の目的とした。

具体的には、歯の移動におけるきわめて重要な役割を演ずる破骨細胞の分化、成熟に焦点をあて、破骨細胞の活性を促進させたり、抑制させたりすることで、歯の移動速度や移動量をコントロールすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 破骨細胞に作用する蛋白ならびに薬剤の選択

我々は、歯の移動をコントロールする薬剤としてOPG蛋白とビスホスホネートを選択した。まず、動物投与実験を行うにあたり、大量にOPGが必要になるため、各種ベクターや大腸菌などを用いてOPG蛋白の作成実験を行うこととした。また、ビスホスホネートは、アレンドロネート（テイロック、帝人株式会社）を用いることとした。

(2) 矯正学的歯の移動実験法の確立

① 実験モデルマウスの選択ならびに確立

歯の移動実験を行うにあたり、破骨細胞活性の影響が現れるよう、マウスに卵巣摘出術（OVX）を施し、人工的に閉経させ、高回転型骨粗鬆症を発症させるモデル（OVXマウス）を作成することとした。同時に、遺伝子的に破骨細胞の活性を上昇しているOPG^{-/-}マウスを使用することとした。

②歯の移動実験

8週齢のWild type mouse(以下WTマウス)と実験群マウスの上顎左側第一臼歯(M1)と第二臼歯(M2)間に矯正用ゴムを挿入した。上顎右側をコントロール群とした。挿入後、1日,3日後に屠殺し、上顎骨を採取した。

③マイクロCT撮影

歯の移動距離を測定するために、SMX-225C T-SV2(島津製作所,京都,日本)を用いて撮影し、M1-M2間の最狭窄部を計測した。

④組織学的解析

採取した上顎骨を、周囲の軟組織を含めて摘出し、10%中性ホルマリンにて1週間、4°Cにて固定した。その後、10%EDTA(pH 7.2)にて21日間、4°Cの条件下で脱灰を行った。脱灰を終えた試料は、通法に従いパラフィン包埋を行い、5~7 μ mの切片を作成した。切片は、ヘマトキシリン・エオジン染色、TRAP染色を行った。

⑤破骨細胞活性抑制剤の投与

実験群マウスならびにWTマウスに、歯の移動5日前からビスホスホネート(1.25mg/kg of body weight/day)を毎日、腹腔内投与する。

⑥統計的処理

得られた実験データは平均値と標準偏差で示し、統計的な有意差検定はStudentのt-検定を用いた。

4. 研究成果

(1)破骨細胞に作用する蛋白ならびに薬剤の選択

動物投与実験を行う際に必要なリコンビナ

ントOPGの作成にとりかかっているが、可溶性OPGタンパクの精製が未だ出来ていないのが現状である。各種ベクターや大腸菌など、蛋白発現システムを現在も構築中である。今後も継続して蛋白作成実験を試みる予定である。

(2)矯正学的歯の移動実験法の確立

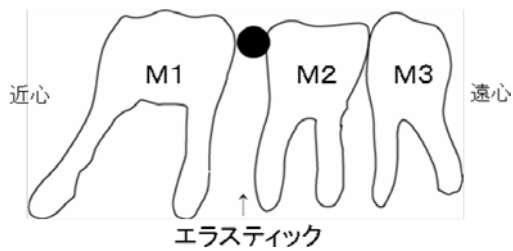
①実験モデルマウスの選択ならびに確立

本実験での歯の移動実験は、より遺伝子的解析が行いやすいと考えられる“マウス”を用いた実験を現在遂行中である。まず、OVXマウスモデルの作製に取りかかったが、OVXマウスモデルよりも、より破骨細胞の活性が高いOPG^{-/-}マウスを優先的に歯の移動実験に用いることとした。なお、OVXマウスモデルの作製は、同時に実験を進行させ、現在、OVXマウスモデルの作製は確立している。今後は歯の移動実験を行っていく予定である。

②歯の移動実験

本研究開始当初、ラットを用いての臼歯の移動実験を計画し、実験を行ったが、装置の脱落など思うように矯正力を加えることができなかったため、別の方法を思案し、将来的に、遺伝子的な解析を含めることを考慮し、マウスを用いて第一臼歯と第二臼歯の歯間に矯正用エラスティックを挿入するWaldo法(図1)を確立することとした。しかしながら、ラットと比較して体重が非常に小さく、マウス臼歯の大きさも著しく小さい。その為、特殊な小型器具と改良した矯正用顎間ゴムを挿入し、1週間までの持続的矯正力の付与が可能となった。

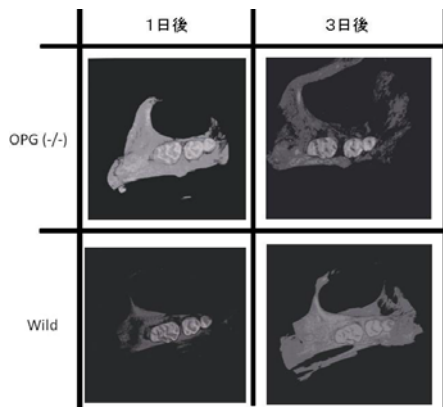
(図 1)



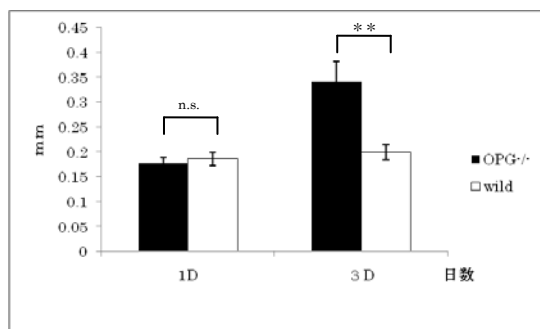
③マイクロCT撮影による移動距離計測

歯の移動1日後においては、Wild type マウスと OPG KO マウスでは、距離の差は認められなかったが、3日後においては、Wild type マウスに比較して OPG KO マウスの移動距離が大きい値を示した。マイクロCT 画像(図2)と距離計測結果(図3)を示す。

(図 2)



(図 3)



** : p<0.01

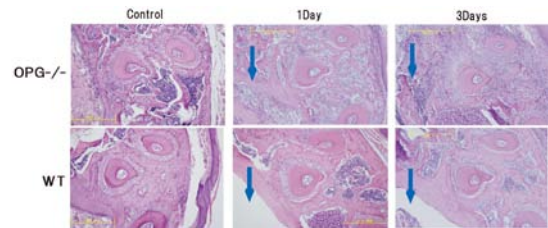
④組織学的解析

歯の移動を行っていない群においては、Wild type マウスに比較して OPG -/-マウス

では、破骨細胞の活性が全身的に上昇しているマウスであることから、周囲歯槽骨が網目状で、疎な状態であった。

歯の移動3日後において、Wild type マウスに比較して OPG KO マウスでは、周囲歯槽骨の吸収が多く認められた。(図4)また、歯根周囲の破骨細胞が多く認められた。

(図 4)



以上の結果から、破骨細胞の活性は、歯の移動において重要であり、また、周囲歯槽骨を維持するためにも破骨細胞の活性の制御は重要であることが考えられた。今後は、ビスホスホネートを投与し、実験を継続していく予定である。

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 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

・葛谷さつき、田淵雅子、藪本貴洋、宮澤 健、後藤滋巳. 破骨細胞活性が実験的歯の移動に及ぼす影響. 第 67 回日本矯正歯科学会大会、2008 年 9 月 16~18 日、千葉

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田渕 雅子 (TABUCHI MASAKO)
愛知学院大学・歯学部・講師
研究者番号：30418925

