

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09836

研究課題名(和文) 低用量ピル(エストロゲンおよびプロゲステロン)は矯正力による歯の移動を妨げるか？

研究課題名(英文) Do low-dose pills (estrogen and progesterone) interfere with orthodontic tooth movement?

研究代表者

藤村 裕治 (Fujimura, Yuji)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・客員研究員

研究者番号：70448504

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：エストロゲンとプロゲステロンとが矯正力による歯の移動と歯根吸収に及ぼす影響を調べた。マウスの上顎第一臼歯にコイルスプリングを装着し歯の移動を行った。エストロゲン投与とプロゲステロン投与での歯の移動量はコントロールと同様な値で群間に有意差を認めなかった。歯の移動後の歯槽骨中央部の骨形態計測では骨の減少が認められたが、群間に有意な差を認めなかった。12日における歯根吸収量、破骨細胞数、および破骨細胞マーカーであるTRAPのmRNAを定量したところ群間の差を認めなかった。これらの動物実験の結果から低用量ピルの服用は矯正治療に影響しないことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、女性ホルモン剤の一つである低用量ピルは、月経困難症や子宮内膜症に対する治療薬として、あるいは経口避妊薬としてその使用頻度が増加している。ピルに含まれるエストロゲンやプロゲステロンはそれぞれが骨代謝への影響を及ぼすことが知られているものの、ピル服用が歯科矯正治療へ及ぼす影響については明らかになっていなかった。本研究では、歯の移動に対するエストロゲンとプロゲステロンの影響を調べた結果、特に問題となるような影響は認めず、動物実験レベルでは薬の安全性が確認された。本研究結果から矯正治療において低用量ピルの服用は特に問題となることはないと思われる。

研究成果の概要(英文)：The effects of estrogen and progesterone on orthodontic tooth movement and root resorption were investigated. Closed coil springs were placed on the maxillary first molars of mice to move the teeth. The amount of tooth movement in the estrogen- and progesterone-administrated groups was similar to that in the control group, and there were no significant differences between the groups. Bone morphometry of the central alveolar bone after tooth movement showed bone loss, but there was no significant difference between groups. On day 12, root resorption, osteoclast counts, and mRNA for TRAP, an osteoclast marker, were quantified and showed no differences between groups. The results of this animal study suggest that low-dose pills do not affect orthodontic treatment.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：女性ホルモン エストロゲン プロゲステロン 矯正力 矯正歯科治療

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

矯正治療は骨リモデリングを利用した治療法であることから、骨の代謝に関連する因子についての研究が重要である。近年、経口避妊薬である低用量ピルおよびその類似薬剤は、避妊の目的だけでなく、月経困難症や子宮内膜症に対する有効な治療薬として、さらには骨粗鬆症の予防薬として、その使用頻度が増加している。ピルに含まれる2種類の女性ホルモン、卵胞ホルモン(エストロゲン)と黄体ホルモン(プロゲステロン)は女性が妊娠・出産するための必須のホルモンで、閉経後にその分泌量が減少することが知られている。また、エストロゲンがFas/FasLシステムを介して破骨細胞のアポトーシスを誘導することやプロゲステロンが骨芽細胞を活性化することなど、骨代謝への影響を及ぼすことが報告されている。よって、ピル服用者が歯科矯正治療を受けた場合、骨代謝に抑制的に作用することにより、歯の移動が妨げられ、治療期間の長期化や治療精度の低下を生じる可能性を考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、歯科矯正治療における低用量ピル服用の影響を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) 歯の移動および歯根吸収への影響：矯正力による歯の移動のマウスの実験モデルを用い、エストロゲン(-エストラジオール、和光純薬社)およびプロゲステロン(和光純薬社)が歯の移動および歯根吸収へ与える影響を調べた。

矯正装置の装着および歯の移動と歯根吸収への影響の観察

実験動物としてマウス(9週齢 C57BL/6J、メス、SLC 静岡、体重：25.3±0.7 g))を用いた。マウスはコロニールーム内のプラスチックケージに収容し、標準的なペレット食と水を自由に摂取させた。すべての処置は、0.75-mg/kg メデトミジン(ドミツール、ゼノアック社) 4 mg/kg ミダゾラム(サンド社)および5 mg/kg 酒石酸ブトルファノール(明治製菓社)を腹腔内投与して全身麻酔下で実施された。マウスの上顎切歯と左側第一臼歯間に10 g Ni-Ti 超弾性クロースドコイルスプリング(トミーインターナショナル社)を装着し、上顎第一臼歯を近心移動させた。3, 7, 12日にマイクロCT(リガク r_mCT, 60 kV, 100 mA, 2 min, 解像度 20 μm)を撮影し、i-view(モリタ製作所)で撮像し、第一臼歯と第二臼歯間の距離を計測し、歯の移動量とした。

エストロゲンおよびプロゲステロンの投与

エストロゲンおよびプロゲステロンは0.5 w/v%メチルセルロース 400 溶液(和光純薬社)に混濁して矯正装置装着の1週間前より1ml シリンジ 27G 注射針(テルモ社)を用いて、毎日腹腔内投与した。

(2) 周囲骨組織への影響：マイクロCTを用いた骨構造解析により骨密度等の計測を行い、周囲歯槽骨における骨改造について検討した。マイクロCTで撮影した画像データをTiffコンバーターソフトを用いて、Tiffファイルに変換し、3D-Bonソフト(ラトック社)を用いて骨形態計測を行った。

(3) 破骨細胞、骨芽細胞への影響：組織学的により歯の移動によって誘導される破骨細胞の分化・誘導、活性化への影響を検証した。

破骨細胞に対する影響の組織学的観察

歯の移動後、全身麻酔下でヘパリン(250U/0.2ml)を腹腔内注射し、手術器具(夏目製作所社)を用いて開胸し、左心室に針を入れ右心室を切開し20mlの生理食塩水(200Uヘパリン含)を滴下した。4%パラホルムアルデヒド(Sigma-Aldrich社)で灌流固定後、上顎第一臼歯とその周囲組織を採取し、エチレンジアミン四酢酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)にて脱灰後、パラフィン包埋し、臼歯部の横断切片、縦断切片標本を経時的に作製した。酒石酸耐性酸性フォスファターゼ(tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP)染色を行い破骨細胞の発現を観察した。

破骨細胞に対する影響の生化学的検討

矯正力による歯の移動後、上顎第一臼歯部周辺組織より採取した組織を液体窒素で凍結し、ステンレス乳鉢で粉碎後、全RNAを精製しqRT-PCRを行い破骨細胞分化因子であるTRAPのmRNAを定量した。プライマーはTRAPの順鎖が5'-CACTCCCACCCTGAGATTTGT-3' 逆鎖が5'-CATCGTCTGCACGGTTCTG 3'を用い、Cathepsin Kの順鎖が5'-ATGTGAACCATGCAGTGTGGTGG-3'で逆鎖に5'-ATGCCGCAGGCGTTGTTCTTATTC-3'を用い、MMP-9の順鎖に5'-TGAACAAGGTGGACCATGAGGTGA-3'を用い、逆鎖にTAGAGACTTGCCTGCACGGTTGA-3'を用いた。またコントロールとしてハウスキーピング遺伝子のグリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ(GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)の順鎖に5'-AACTTTGGCATTGTGGAAGG-3'、逆鎖に5'-ACACATTGGGGTAGGAACA-3'を用いた。GAPDHをもとにTRAPのmRNA量を標準化した。

4. 研究成果

マウスの上顎第一臼歯と上顎切歯間にコイルスプリングを装着し、第一臼歯を12日間近心移動させた。エストロゲンあるいはプロゲステロンは矯正力を与える1週間前から矯正力を12日間与えた後まで毎日腹腔内投与した。その結果、コントロールにおいて歯の移動量は $137 \pm 58 \mu\text{m}$ であった。エストロゲン投与群とプロゲステロン投与群ではそれぞれ $130 \pm 73 \mu\text{m}$ 、 $126 \pm 62 \mu\text{m}$ で群間に統計学的な有意差を認めなかった。

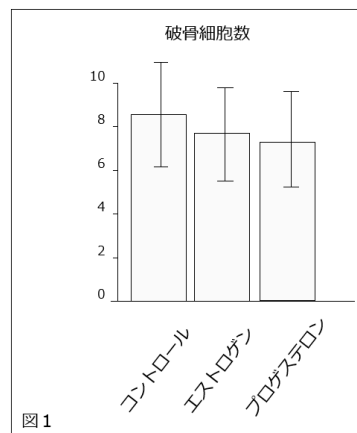
周囲骨組織への影響をマイクロCT画像から歯槽骨中央部の骨形態計測をおこなった。0日、3日、7日、12日で撮影したものを評価したところ、0日においてBMD、BV、およびBMCはそれぞれ $1066 \pm 48.1 \text{ mg/cm}^3$ 、 $2.27 \pm 0.37 \text{ cm}^3 \times 10^{-4}$ 、 $2.34 \pm 0.35 \text{ mg}$ であった。12日においてBMD、BV、およびBMCはそれぞれ $624 \pm 55.0 \text{ mg/cm}^3$ 、 $1.03 \pm 0.43 \text{ cm}^3 \times 10^{-4}$ 、 $1.09 \pm 0.39 \text{ mg}$ であり、歯の移動後には骨形態計測値の有意な減少が認められた。エストロゲン投与群とプロゲステロン投与群でも同様に歯の移動後に有意な骨形態計測値の減少が認められた。しかしながらこれらの群間における有意差は認めなかった(表1)。

表. 骨形態計測値

		BMD	BV	TV	BV/TV	BMC/TV	BMC
コントロール	0日	1066 ± 48.1	2.27 ± 0.37	0.46 ± 0.27	6.33 ± 3.03	180.93 ± 22.1	2.34 ± 0.35
	12日	$624 \pm 55.0^*$	$1.03 \pm 0.43^*$	0.38 ± 0.20	5.35 ± 3.45	$134.93 \pm 25.6^*$	$1.09 \pm 0.39^*$
エストロゲン	0日	1088 ± 54.6	2.99 ± 0.54	0.60 ± 0.36	7.05 ± 4.12	191.2 ± 25.1	2.55 ± 0.39
	12日	$686 \pm 66.4^*$	$1.15 \pm 0.59^*$	0.48 ± 0.28	5.85 ± 3.88	$144.54 \pm 29.5^*$	$1.77 \pm 0.57^*$
プロゲステロン	0日	1075 ± 53.1	2.22 ± 0.57	0.34 ± 0.35	6.86 ± 3.68	190.93 ± 26.7	2.59 ± 0.32
	12日	$654 \pm 58.1^*$	$1.24 \pm 0.59^*$	0.35 ± 0.35	5.99 ± 3.85	$139.83 \pm 23.2^*$	$1.59 \pm 0.43^*$

BMD, bone mineral density (mg/cm^3). BV, bone volume ($\text{cm}^3 \times 10^{-5}$). TV, tissue volume (cm^3). BV/TV, bone volume/tissue volume (%). BMC/TV, bone mineral content/tissue volume (mg/cm^3). BMC, bone mineral content ($\text{mg} \times 10^{-2}$). 値は平均値 \pm SDで示す。* $p < 0.05$, 0日と12日との比較。

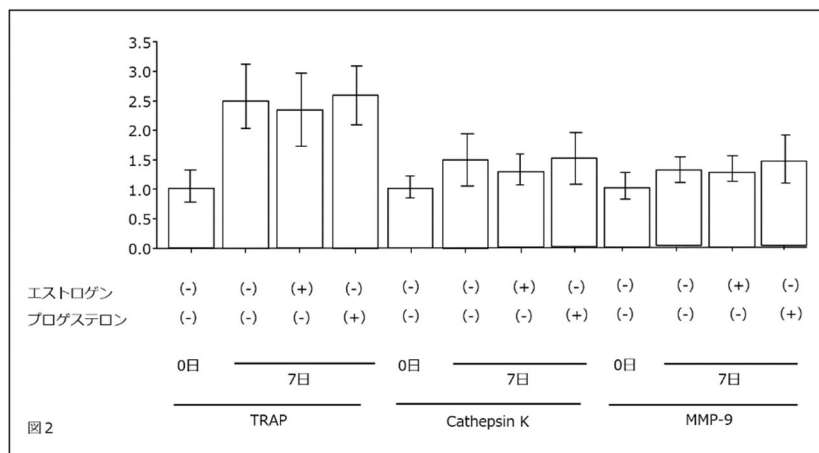
破骨細胞への影響を組織学的にみるために組織標本を作製し、酒石酸耐性酸性フォスファターゼ染色を行った。全ての標本で破骨細胞はみられたが7日が最も多くみられ、コントロール群で $8.2 \pm 2.8/\text{mm}$ であった。エストロゲン投与群とプロゲステロン投与群ではそれぞれ $7.7 \pm 3.4/\text{mm}$ 、 $7.3 \pm 3.9/\text{mm}$ であった(図1)。これらの群間に有意な差を認めなかった。



骨芽細胞と破骨細胞に対する影響を生化学的に検討するために、上顎第一臼歯部より採取した組織を凍結・粉碎し Total RNA を抽出し、破骨細胞の分化マーカーである TRAP、Cathepsin K、および MMP-9 の mRNA の発現を real-time PCR 法を用いて定量的に解析した。GAPDH 比で mRNA を定量した。その結果、0日に比較して7日では TRAP は 2.5 ± 0.6 倍に、Cathepsin K は 1.5 ± 0.7 倍に、MMP-9 は 1.4 ± 0.3 倍に増加した。エストロゲン投与群とプロゲステロン投与群では TRAP は 2.3 ± 0.7 倍と 2.6 ± 0.5 倍に、Cathepsin K は 1.4 ± 0.6 倍と 1.3 ± 0.2 倍に、MMP-9 は 1.4 ± 0.2 倍と 1.5 ± 0.5 倍にそれぞれ増加した。矯正力負荷の前後では有意差を認めしたが、コントロール、エストロゲン投与、およびプロゲステロン投与の各群間の差は認めなかった。

本研究結果では、エストロゲンとプロゲステロンの低濃度投与において、歯の移動と破骨細胞分化への影響は認められなかった。よって低濃度ピルの服用は矯正治療に及ぼす影響は本動物実験モデルでは認められ

ず、低濃度ピルを服用しても矯正治療には問題はないことが示唆された。しかしながら、混合服用については不明のため、今後、エストロゲンとプロゲステロンの混合投与を試みて検討してみる予定である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Rokutanda S, Yamada S, Yanamoto S, Omori K, Fujimura Y, Morita Y, Rokutanda H, Kohara H, Fujishita A, Nakamura T, Yoshimi T, Yoshida N, Umeda M	4. 巻 47
2. 論文標題 Comparison of osseous healing after sagittal split ramus osteotomy and intraoral vertical ramus osteotomy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Oral Maxillofac Surg.	6. 最初と最後の頁 1316-1312
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijom.2018.05.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Kie Nishioka, Hitoshi Hotokezaka, Yuka Hotokezaka, Shinsuke Ohba, Noriaki Yoshida
2. 発表標題 Effect of helioxanthin analog TH4 on morphology of mandibular condyle
3. 学会等名 The 9th International Orthodontic Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takuya Nakamura, Hitoshi Hotokezaka, Yuka Hotokezaka, Yuika Ueda, Kie Nishioka, Noriaki Yoshida
2. 発表標題 The influence of narrowing of the periodontal space thickness on orthodontically induced root resorption
3. 学会等名 The 9th International Orthodontic Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Keira Arizono Shimada, Hitoshi Hotokezaka, Yukiko Morita, Yuika Ueda, Kie Nishioka, Stavros Kiliaridis, Noriaki Yoshida
2. 発表標題 The Effect of Masseter Muscle Hypofunction by Botulinum neurotoxin type A on Orthodontic Tooth Movement in Rats
3. 学会等名 The 9th International Orthodontic Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 六反田 賢, 山田慎一, 藤村裕治, 森田幸子, 六反田裕美: 吉田教明
2. 発表標題 下顎枝矢状分割術と下顎枝垂直骨切り術における骨性治癒の比較と下顎枝垂直骨切り術後の顔貌変化について
3. 学会等名 第28回日本顎変形症学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森田幸子, 藤村裕治, 古賀義之, 吉田教明
2. 発表標題 歯科矯正用アンカースクリューを用いて上顎前方牽引を行った口蓋裂の1例
3. 学会等名 第42回日本口蓋裂学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	森田 幸子 (Morita Yukiko) (00631574)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・助教 (17301)	
研究分担者	吉松 昌子 (Yoshimatsu Masako) (20420630)	長崎大学・病院(歯学系)・助教 (17301)	
研究分担者	小原 悠 (Kohara Haruka) (70623825)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・客員研究員 (17301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	佛坂 斉社 (Hotokezaka Hitoshi) (90199513)	長崎大学・医歯薬学総合研究科（歯学系）・准教授 (17301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関