

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K17189

研究課題名（和文）顎矯正手術後の骨代謝亢進機構の解明と新しい治療体系への応用

研究課題名（英文）Elucidation of mechanism of increasing bone metabolism after orthognathic surgery and application to a new treatment

研究代表者

阿部 陽子（Abe, Yoko）

東北大学・歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：90431593

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：顎矯正手術を施行した患者から経時的に末梢静脈血採取を行い、骨代謝マーカー（CRP、ICTP、ALP、BAP）値とフローサイトメトリを用いて循環骨芽細胞系細胞であるオステオカルシン陽性細胞の発現について測定を行い、その変動について解析した。まず手術直後にCRPが上昇し、その後骨吸収マーカーICTPが上昇し、術後1か月頃にALP・BAPが上昇した。またOCN陽性細胞は術後1日から1週間で有意に増加し、徐々に減少しながら術後3か月で術前と同じレベルとなっていた。骨治癒過程の各ステップ（術後炎症、骨吸収、骨形成時期）において、全身性に骨代謝活性が亢進することが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで動物実験では骨折による局所的侵襲により組織に炎症が起き、骨髄由来の循環骨芽細胞系細胞（Circulating osteogenic precursor cell: COP細胞）が血流を介して骨折部位に遊走し、軟骨内骨形成の過程を経て骨折が治癒することが示されていた。しかし、今回の研究ではヒトにおいても、顎矯正手術に伴う外科的侵襲ストレスによって、術直後から骨治癒過程の各ステップ（術後炎症、骨吸収、骨形成時期）において、全身性に骨代謝活性が亢進することが確認された。これにより骨代謝の亢進タイミングを利用した治療システムや治療戦略の開発、展開につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：Peripheral venous blood samples were collected from patients who had undergone orthognathic surgery, and serum bone metabolic markers and the proportion of OCN+ cells which were one of circulating osteoblast lineage cells were measured. Orthognathic surgery induces systemic dynamic changes in bone metabolic activity by targeting steps in the bone healing process and related proteins, such as surgical stress/inflammation (C-reactive protein), bone resorption (type I collagen C-telopeptide), and bone formation (alkaline phosphatase and bone-specific alkaline phosphatase). During the early post-operative period, the population of OCN+ cells significantly increased.

研究分野：口腔外科

キーワード：顎矯正手術 骨代謝活性

1. 研究開始当初の背景

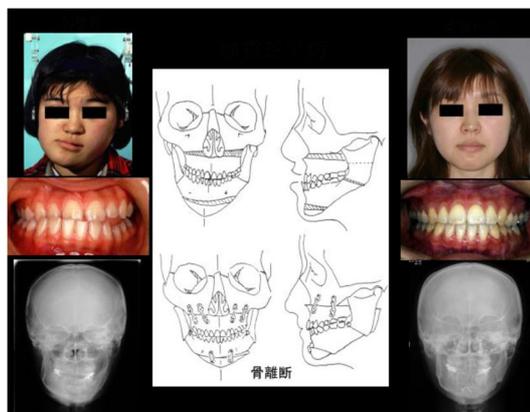
(1) 著しい骨格的不調和による不正咬合を有する顎変形症患者の治療においては、骨格的な不調和の改善、安定した咬合の構築、機能的・審美的改善を目的として、歯列の矯正に加えて、骨離断を伴う顎矯正手術が適用される。本手術は、口腔外科領域で広く行われている方法で、優れた臨床成績が得られていることは良く知られている。

(2) 最近、顎変形症患者の顎矯正手術後に、矯正治療による歯の移動速度が促進し、本来数年に及ぶ治療期間が短縮されることが報告された。治療期間の短縮は重要な課題である。

(3) これまで外科処置による矯正治療促進効果については、皮質骨を切除する Corticotomy を併用した矯正治療が、通常より6-12週短縮されることが報告されており、1978年にはすでに臨床報告された。整形外科領域では、Frost が、外科手術による侵襲や骨折に反応して硬組織や軟組織の代謝活性が亢進し治癒が促進する現象として Regional acceleratory phenomenon (RAP) を提唱し (Frost HM. Henry Ford Hosp Med J, 1983)、その後 Mueller らにより、RAP によって全身的に骨リモデリングの活性が上昇する現象として Systemic acceleratory phenomenon (SAP) が提唱された (Mueller M, et al. J Bone Miner Res. 1991)。近年ではこれを裏付けるようにラットの大腿骨や脛骨の骨欠損モデルで局所の治癒過程にもかかわらず、全身的な反応が惹起され、成長因子などの関与が報告されている。

(4) 最近、ヒト末梢血中に循環骨芽細胞系細胞 (Circulating osteoblast-lineage cells) が存在し、思春期性成長期や骨折患者で増加することが報告された (Eghbali-Fatourechi GZ, et al. N Engl J Med, 2005)。

その後の動物実験で、骨折による局所的侵襲により組織に炎症が惹起されて低酸素状態になり、骨折組織で産生される SDF-1 や BMP2 などの走化因子の濃度勾配を形成し、骨髄由来の CXCR4 陽性の circulating osteogenic precursor (COP) が血流を介して局所に遊走・ホーミングし、その後軟骨内骨形成の過程を経て骨折が治癒すると考えられている。特に、SDF-1/CXCR4 系が COP の動員とターゲティングに重要であることが指摘されている。



外科手術や骨折後の治癒に関する報告

- **Frost (1983)**
Regional Acceleratory Phenomenon (RAP)
 外科手術による侵襲や骨折に反応して局所的に硬組織や軟組織の代謝活性が亢進し、治癒が促進する現象
- **Muellerら (1991)**
Systemic Acceleratory Phenomenon (SAP)
 全身的に骨リモデリングの活性が上昇する現象
 > 欠損から離れた骨膜部で骨量や骨幅が増加 (RAP)
 > 両側の脛骨で骨石灰化面や骨石灰化速度などが増加 (SAP)
- **Liouら (2011)**
 顎矯正手術後 3-4か月間は、破骨細胞活性(血清ICTP)が上昇し、歯の動揺度が増加
 →術後に歯科矯正的な歯の移動が促進する可能性

ヒト循環骨芽細胞系細胞 Eghbali- Fatourechi ら N Engl J Med 2005
Circulating Osteoblast-Lineage Cells
(Circulating Osteoblast Precursor ; COP)

Canalis E. N Engl J Med 2005;352:2014-2016.

- > COP細胞のマーカー:
 ALP⁺, CD34⁺
 オステオカルシン(OCN)⁺
 など
- > 思春期性成長期と骨折後にオステオカルシン陽性(OCN⁺)細胞が末梢血中に増加
- > 免疫不全マウスへのOCN⁺細胞の移植による異所性骨形成

2. 研究の目的

顎矯正手術が骨代謝に対して与える影響を明らかにすることを目的とする。

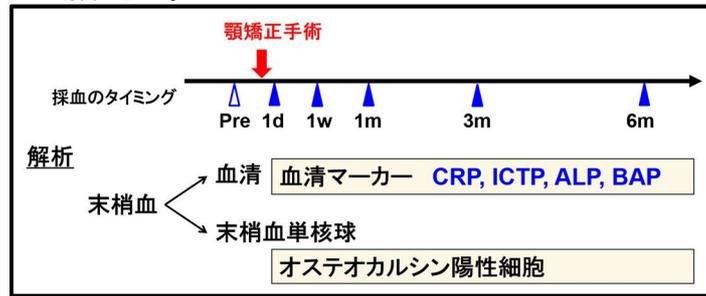
3. 研究の方法

本研究は(1)臨床研究として、東北大学病院歯科顎口腔外科に受診した顎変形症患者の顎矯正手術前後の骨代謝を、末梢血にて評価する。また、(2)基礎研究として、ラット骨欠損モデルの動物実験で、末梢血の変化と局所の治癒過程を調べ、メカニズムを探索し、歯の移動促進効果について検討する。

(1) 臨床研究

まず、東北大学歯学研究科臨床研究倫理委員会の承認を得て行った。対象患者は、東北大学病院歯科顎口腔外科に受診した顎変形症患者で、本研究に同意の得られた患者を対象とし術前、術後1日、1、3、6カ月に末梢血を採血した。末梢血の分析は炎症マーカー

ーとしてCRP,血清マーカーとしてALP, BAP, ICTP を経時的に調べた。CRP はラテックス凝集法、ICTP はRIA2 抗体法、BAP はCLEIA 法、ALP は比色法により調べた。また末梢血から比重遠心法により単核球を分離し、Osteocalcin の抗体を用いてオステオカルシン陽性細胞の発現につきフローサイトメトリ で解析した。



また術後 1, 3, 6 か月時に骨治癒に異常がないかを確認するため、レントゲン (PA、LAT、Panorama XP) 撮影をおこなった。

(2) 基礎研究

東北大学動物実験委員会の承認を得た後に開始する。

ラットの骨欠損モデルを作成し、腹腔麻酔による全身麻酔下にて、7 週齢 Wistar 系雄性ラットの上顎骨を切開し、頬側および口蓋側 / 舌側の骨膜ごと剥離後、切削器具を用い注水下にて直径 1.5mm のホールを 2~6 形成する。ホールは、骨をわずかに貫通するように形成する。ホール形成後縫合する。骨欠損を形成した群を実験群とし、骨欠損を形成せず Sham オペのみを行った群を対照群とし、比較解析する。

歯の移動促進効果について、ラット骨欠損モデルに規格化した矯正装置を装着し、実験群と Sham オペ群でマイクロ CT により移動距離を計測する。

HE 染色と免疫染色による組織検索を行う。

4. 研究成果

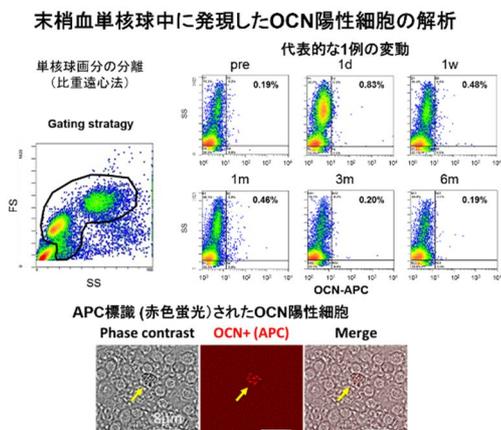
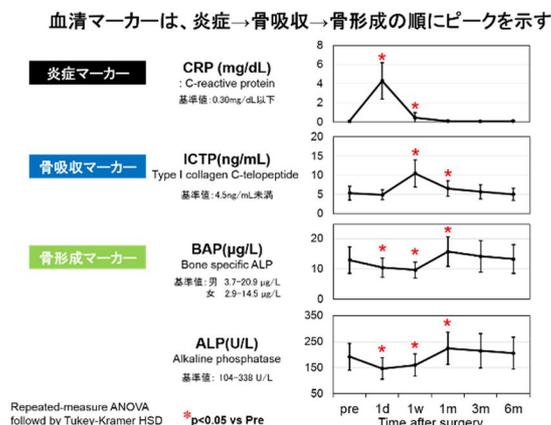
(1) 臨床研究

同意が得られた患者すべてにおいてレントゲンで骨治癒異常は認められなかった。採血の結果での各マーカーの経時変化は以下の通りである。

炎症マーカーである CRP は術直後にピークを示し、術後 1 日で最大値を示し、その後急激に減少し、術後 1 か月では術前と同レベルとなった。骨吸収マーカーである ICTP は手術後 1 週間に上昇し最大値を示し、術後 3, 6 か月は術前と同レベルに戻った。骨形成マーカーである ALP・BAP は術後 1 日から 1 週間では有意に減少し、術後 1 か月で最大値を示した。

末梢血から単核球画分を分離し、APC 標識のオステオカルシン抗体を用いてオステオカルシン陽性細胞を解析した。フローサイトメトリーによりリンパ球と単球の発現領域をゲーティングし、オステオカルシン陽性細胞の発現率を測定した。オステオカルシン陽性細胞の発現率はかなり少ないものの、その発現は手術前から手術後 6 か月までにあきらかに変動することが確認できた。オステオカルシン陽性細胞の変動の代表的な一例を図に示す。縦軸は、Side scatter (側方散乱強度)、横軸は APC の蛍光強度とし、アイソタイプコントロールにより陽性領域を設定し、術後 1 日、1 週間で有意な増加を認め、その後徐々に減少し術後 3, 6 か月に術前と同じ程度の発現となることがわかった。また、蛍光顕微鏡で確認された APC 標識の OCN 陽性細胞を写真に示す。

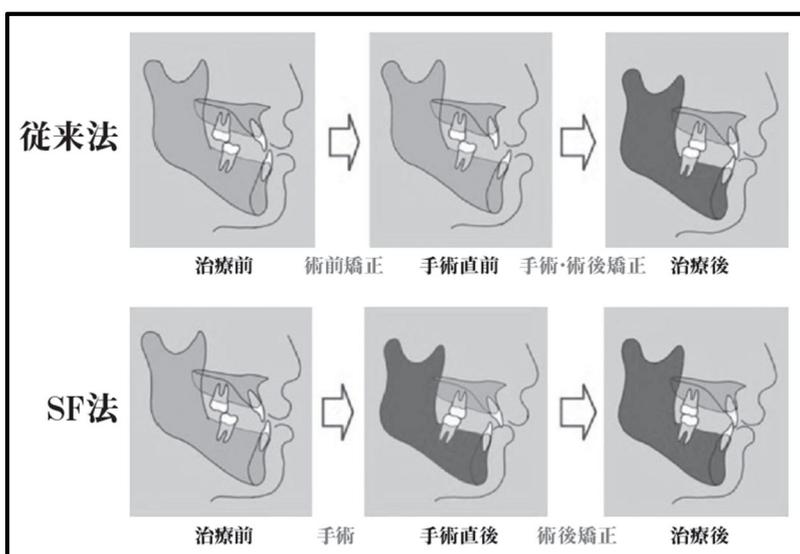
術後 1 日から 1 週間で有意に増加し、徐々に減少しながら術後 3 か月で術前と同じレベルとなっていた。骨治癒過程の各ステップ (術後炎症、骨吸収、骨形成時期) において、全身性に骨代謝活性が亢進することが確認された。



(2) 基礎研究

この現象を動物実験でも裏付ける予定としていたが、動物実験開始予定としていた R2、3 年度は新型コロナウイルス感染症の流行に伴う行動制限や実験施設の使用制限などがあり予備実験を進める程度にとどまった。

これらの研究成果について、少なくとも臨床研究では、顎変形症における顎矯正手術の手術侵襲により RAP のみならず SAP が惹起され、骨切り部位や近傍の上下顎骨全体の骨代謝亢進が全身性に惹起されている可能性を示唆するものとする。この結果は顎変形症の治療法の一つとして近年注目されている Surgery First 法(術前矯正治療を完全に省略し、最初に顎矯正手術を適用して顎間関係の不調和を改善し、その後残る歯列および咬合上の問題を術後矯正治療により解決する画期的な方法。従来の方法に比して治療期間が短いと報告されている。)での術後矯正治療で全身の骨代謝活性が亢進することで歯の移動促進が引き起こされ、それにより矯正治療期間の短縮をもたらすことが示唆され、顎矯正治療の新たな治療法として期待されるものとする。本研究結果は Surgery First 法以外にも骨折や薬剤性顎骨壊死などのあらたな治療戦略を考える足掛かりとなりえる。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 Yoko Abe, Mirei Chiba, Sanicha Yaklai, Roan Solis Pechayco, Hikari Suzuki & Tetsu Takahashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Increase in bone metabolic markers and circulating osteoblast-lineage cells after orthognathic surgery	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-56484-x	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 -

1. 著者名 高橋 哲, 千葉 美麗, 阿部 陽子, 山内 健介, 山田 聡, 菅原 準二	4. 巻 37
2. 論文標題 外科的矯正治療のパラダイム・シフト Surgery First法の科学的背景.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 矯正臨床ジャーナル	6. 最初と最後の頁 11-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 S. YAKLAI, R. S. PECHAYCO, Y. ABE, A. TAKIZAWA, I. MIZOGUCHI, T. TAKAHASHI and M. CHIBA
2. 発表標題 Effects of Ethinyl Estradiol on Mandibular Condyle of Female Rats
3. 学会等名 第68回国際歯科研究学会日本部会総会・学術大会（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 サニーシャ ヤクライ, ロアン ペチャイコ, 阿部陽子, 千葉美麗
2. 発表標題 Estrogen and the idiopathic condylar resorption: Effects of oral contraceptive in adolescent female rats
3. 学会等名 The 19th Conference on Biomechanics
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 ロアン ペチャイコ, 滝澤愛子, サニーシャ ヤクライ, 阿部陽子, 千葉美麗
2. 発表標題 Temporomandibular joint disorder in postmenopausal osteoporosis: Bisphosphonate improved the mechanical properties of mandibular condyle of ovariectomized rats
3. 学会等名 The 19th Conference on Biomechanics
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後藤 哲, 大泉丈史, 平山闖一, 鈴木飛佳理, 阿部陽子
2. 発表標題 顎矯正手術における予防的抗菌薬の投与期間についての検討
3. 学会等名 第30回日本顎変形症学会総会・学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 千葉 美麗, 阿部 陽子, ヤクライ サニーシャ (Yakurai Sanicha), ペチャイコロアン (Pechayco Roan), 高橋 哲
2. 発表標題 顎矯正手術後の治癒過程における骨代謝活性の亢進現象 - 血清骨代謝マーカーと循環骨芽細胞系細胞 -
3. 学会等名 第78回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 阿部陽子, Sanicha Yakurai, Roan Pechayco, 高橋 哲, 千葉美麗
2. 発表標題 顎矯正手術後の治癒過程において骨代謝マーカーと循環骨芽細胞系OCN+細胞発現率は経時的に推移する 歯の移動促進への応用の可能性
3. 学会等名 第39回東北骨代謝・骨粗鬆症研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大島 絵恋, Sanicha Yaklai, Roan Pechayco, 阿部 陽子, 溝口 到, 高橋 哲, 千葉 美麗
2. 発表標題 進行性下顎頭吸収におけるエストロゲンの関与: エチニルエストラジオールが青年期雌性ラットの下顎頭と長管骨に及ぼす影響.
3. 学会等名 第43回東北骨代謝骨粗鬆症研究会
4. 発表年 2022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

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