

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K19297

研究課題名(和文) 成長ホルモン補充療法と機能的矯正装置を併用した新規矯正歯科治療法の確立

研究課題名(英文) Development of orthodontic treatment using a combination of growth hormone replacement therapy and functional appliances

研究代表者

栗田 哲也 (AWADA, TETSUYA)

広島大学・医系科学研究科(歯)・助教

研究者番号：90758179

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)：本研究では、成長ホルモンおよびエストロゲン補充療法が下顎骨の成長に及ぼす影響を明らかにすること、また機能的矯正装置との併用効果を解明することを目的として研究を行った。4週齢 Wistar系雌性ラットに卵巣摘出術(OVX)を行い、エストロゲンを皮下投与し、エストロゲンが下顎頭の軟骨成長に及ぼす影響について検討した。その結果、OVXによって下顎頭の軟骨層の厚さの減少が認められ、エストロゲンの投与によって正常に近い軟骨成長の様相を示したことから、エストロゲンが下顎頭の成長に影響を及ぼしていることが明らかになった。また、機能的矯正装置の装着は下顎頭の軟骨性成長に影響を及ぼすことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、下顎劣成長を示す成長期のターナー症候群などの患者に対して行われる、ホルモン補充療法と機能的矯正装置の影響を明らかにすることによって、適切な治療時期にこれらを併用した効率的で確実性の高い包括的な矯正歯科治療法を確立することを目的とする。本研究の成果によって得られる知見は、女性ホルモン分泌不全などの内分泌異常や骨代謝機能異常を有する不正咬合患者における矯正歯科治療法の解明に繋がり、学術的、臨床的に大きな貢献を果たすことが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we conducted to establish an efficient and reliable comprehensive orthodontic treatment, clarifying the effect of estrogen replacement therapy on mandibular growth and combined effect of these hormone replacement therapies and orthodontic functional appliance. We performed ovariectomy (OVX) in 4-week-old Wistar female rats, administered estrogen subcutaneously, and investigated the effect of estrogen on cartilage growth in the mandibular condyle. The result showed that OVX caused reduction of the thickness of the cartilage layer of the mandibular condyle, and the mandibular condyle showed a near-normal cartilage growth aspect with estrogen replacement. It was also revealed that the use of orthodontic functional appliance affects the cartilage growth of the mandibular condyle.

研究分野：矯正歯科

キーワード：ホルモン補充療法 下顎頭軟骨成長 機能的矯正装置

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

従来から唇顎口蓋裂に代表される顎顔面の先天異常に対する矯正歯科治療は保険適応が認められ、患者やその家族に多くの恩恵をもたらしている。適応疾患の拡充に伴い、ターナー症候群など顎顔面の形態、機能異常に加えて、内分泌異常を伴った先天疾患を有する患者が矯正歯科を受診する機会は増えている。近年の遺伝子研究の発展に伴い、遺伝子レベルでの診断法が目覚ましい進歩を遂げている一方、疾患個々の多様性やこれまでの治療経験の乏しさから未だ治療法の確立には至っていない。これらの治療は医科歯科領域での複数の診療科による多角的なアプローチが必要となり、全身的治療を考慮した包括的で現実性の高い矯正歯科治療法の確立が急務である。

ターナー症候群は、低身長、翼状顎、二次性徴発現不全を主症状とする女性に特有主疾患である。TS などの成長ホルモン分泌不全により低身長を認める患者に対して、幼少期から成長ホルモン補充療法が広く用いられている。加えて、ターナー症候群患者の多くは正常な二次性徴の成熟が起こらず、思春期年齢以降に女性ホルモンのエストロゲン補充療法を行う。エストロゲンは骨密度の上昇にも大きな役割を果たす一方で、骨年齢を進行させ、骨端線を閉鎖することで成長を終了させてしまうと考えられており、望ましい成人身長と性成熟を得るためには早期に成長ホルモン補充療法を行い、思春期年齢になるべく遅れないようエストロゲン補充療法を開始する。また、矯正歯科領域における TS 患者の特徴として下顎骨劣成長による上顎前突が多く、これらの成長期の患者において、機能的矯正装置を用いて下顎骨の前方成長を促進し、上下顎骨の形態的調和をはかる矯正歯科治療が必要となる。F.K.O は代表的な機能的矯正装置で、咀嚼筋や口腔周囲筋などを含む軟組織の粘弾性を矯正力として下顎頭の軟骨性成長を促進するとされている。しかしながら、臨床で多用されているにも関わらず、作用機序は十分に解明されておらず、また治療時期についてもコンセンサスが得られていない。

これらの背景から我々は、身体の成長促進効果が認められている成長ホルモン補充療法やエストロゲン補充療法が、同様に下顎骨の成長に大きく影響を及ぼしていると考えた。また、これらの補充療法中に行われることの多い機能的矯正装置による顎整形的治療の有効性や併用効果については未だに解明されていない。本研究は、成長ホルモン補充療法およびエストロゲン補充療法が下顎頭軟骨成長における代謝活性を促進するか、またホルモン補充療法中の患者において顎整形的矯正歯科治療は有効であるかどうかを明らかにするための検討を行った。

### 2. 研究の目的

ターナー症候群などの先天疾患を有する患者は、成長ホルモン分泌不全による低身長を示すとともに、小下顎症などの頭蓋顎顔面の形態や機能異常を示すことが多い。また、これらの患者は女性ホルモンの分泌不全を示し、思春期以降になると二次性徴の促進のため、エストロゲン補充療法が行われる。ホルモン補充療法の時期には顎骨や咬合の発育制御を目的とした顎整形的な矯正歯科治療が行われる場合が多いが、未だ治療法は確立されていない。本研究では、下顎劣成長を示す成長期のターナー症候群などの成長ホルモン分泌不全患者に対して行われる、成長ホルモン補充療法および女性ホルモン分泌不全に対して行われるエストロゲン補充療法が下顎骨の成長に及ぼす影響を明らかにする。また、これらのホルモン補充療法と機能的矯正装置の併用効果を解明することによって、適切な治療時期にこれらを併用した効率的で現実性の高い包括的な矯正歯科治療法を確立することを目的とした。

### 3. 研究の方法

研究開始当初は、ラットの成長ホルモン分泌不全モデルを作製して成長ホルモン補充療法と機能的矯正装置の影響を検討する予定であったが、ラットの下垂体摘出術の手技的難易度が高く成長ホルモン分泌不全モデルの作製が困難であったため、研究計画を一部修正し、エストロゲン補充療法が下顎頭の軟骨性成長に及ぼす影響および機能的矯正装置の影響についての検討を中心に研究を行った。

#### (1) ラットの卵巢摘出術(OVX)による下顎頭軟骨の成長変化への影響についての検討

ラットのエストロゲン分泌不全モデルを確立するため、4週齢 Wistar 系雌性ラットに卵巢摘出術(OVX)を行った。また、マイクロCT撮影により経時的に下顎頭の形態学的変化を観察した。さらに下顎頭を摘出し組織切片を作製後、H-E染色を行い、下顎頭の軟骨層の厚さを計測し評価した。

#### (2) エストロゲン投与による下顎頭軟骨成長への影響についての検討

作製したエストロゲン分泌不全モデルラットにエストロゲン(17 エストラジオール)を2日おきに皮下投与し、エストロゲンの下顎頭軟骨成長に及ぼす影響について(1)と同様に形態学的計測、組織学的検討を行った。

(3) 機能的矯正装置によるラットの下顎頭および下顎骨成長への影響を検討するため、ラットの機能的矯正装置を作製した。作製した機能的矯正装置をラットに装着し、経時的に形態学的計測を行い下顎頭の成長に及ぼす影響について検討した。

(4) マウス由来軟骨前駆細胞(ATDC5)を培養し、2日おきの培地交換の際に17 エストラジオールを添加し、RT-PCRにより軟骨分化マーカーの遺伝子発現に及ぼす影響について検討を行った。

### 4. 研究成果

(1) ラットにOVXを施術した結果、32日後に対照群と比較して体重の増加が認められた。

また、ラット下顎骨のマイクロCT撮影による形態計測の結果、30日後にOVX群はオトガイ隆起(Me)-下顎頭最後方部(Cd)およびオトガイ隆起(Me)-下顎角部最後方部(Go)の長さに有意な増加が認められた。一方、組織学的計測では、OVXにより増殖層、前肥大層、肥大層における軟骨層の厚さは対照群と比較して減少が認められた(図1)。

(2) OVXラットにエストロゲンを投与し

下顎骨の成長変化について形態計測を行った結果、30日後においてオトガイ隆起(Me)-下顎頭最後方部(Cd)およびオトガイ隆起(Me)-下顎角部最後方部(Go)の長さに有意な減少が認められた。一方で組織学的検討ではエストロゲンの投与によって、OVX+エストロゲン(E2)投与群は、OVX群と比較して、増殖層、前肥大層、肥大層において有意な増加が認められた(図1)。

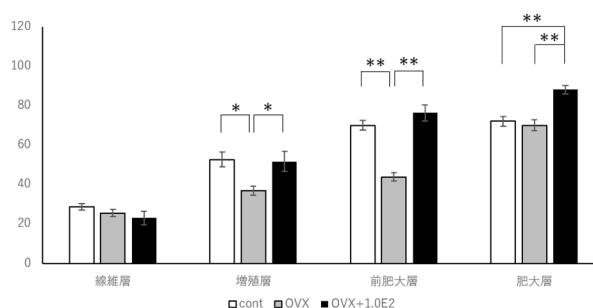


図1. 下顎頭軟骨層の厚さ

(3) 上下分離型の下顎前方誘導装置を作製し、図2のように切歯に装着した。装置装着後の9,16,23日後の経時的変化を観察した結果、装置装着群はいずれにおいてもオトガイ隆起(Me)-下顎頭最後方部(Cd)およびオトガイ隆起(Me)-下顎角部最後方部(Go)の長さに有意な減少が認められた。体重変化においても同様に対照群と比較して有意な減少が認められたことから、装置装

着による食事量の減少が下顎骨の成長にも大きく影響していると考えられたため、現在も引き続き可及的に食事を妨げないような装置の設計を考慮して検討を行っている。

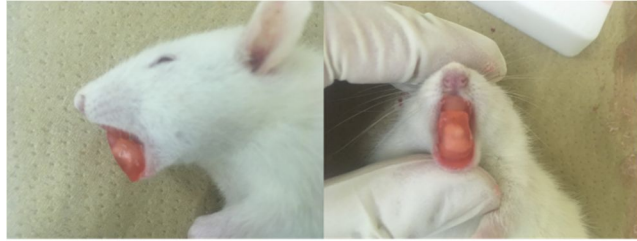


図2. 下顎前方誘導型機能的矯正装置

(4) 予備的検討を行い、ATDC5における type collagen、typeX collagen、の遺伝子発現の経時的变化を観察した結果、それぞれ 10,14 日後において遺伝子発現が増加することを確認した。続いて 17 エストラジオール( $10^{-6}$ M)を添加した結果、いずれも有意な変化は認められなかったが、type collagen は対照群と比較して 10 日後において減少の傾向を示し、typeX collagen は 14 日後において減少の傾向を示した。17 エストラジオールの添加濃度の最適条件の検討やその他の軟骨分化マーカーにおける影響については現在も引き続き検討を行っている。

以上の結果より、エストロゲンは成長期ラットの下顎骨および下顎頭の成長に関与していることが明らかとなり、軟骨前駆細胞の軟骨分化においても代謝調節機能を有する可能性が示唆された。機能的矯正装置による下顎頭の成長変化による影響、エストロゲン投与時の機能的矯正装置の影響および細胞レベルでの軟骨分化に及ぼす分子生物学的な機序についての検討は現在も継続して行っており今後明らかにする予定である。

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 0件）

1. 著者名 Kunimatsu Ryo, Kimura Aya, Tsuka Yuji, Horie Kayo, Yoshimi Yuki, Awada Tetsuya, Gunji Hidemi, Abe Takaharu, Nakajima Kengo, Sakata Syuzou, Nakatani Ayaka, Tanimoto Kotaro	4. 巻 116
2. 論文標題 Baicalin inhibits root resorption during tooth movement in a rodent model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Archives of Oral Biology	6. 最初と最後の頁 104770 ~ 104770
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.archoralbio.2020.104770	査読の有無 有
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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Ando K., Kunimatsu R., Yoshimi Y., Awada T., Tsuka Y., Sumi K., Abe T., Nakajima K., Tanimoto K.
2. 発表標題 Effects of Human Full-length Amelogenin and C-terminal Amelogenin Peptide on the Proliferation of Human Mesenchymal Stem Cells Derived from Adipose Tissue
3. 学会等名 The 9th International Orthodontic Congress, The 12th Asian Pacific Orthodontic Congress, The 79th Annual Meeting of the Japanese Orthodontic Society (国際学会)
4. 発表年 2020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
---------	---------