

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 10 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22592208

研究課題名（和文）PCR発症メカニズムの解明と予防法の開発—ラット下顎骨延長モデルを用いた研究—

研究課題名（英文）Clarification of pathogenic mechanism of PCR and development of the prevention method - a study with rat mandibular distraction model -

研究代表者

小林 正治 (KOBAYASHI TADAHARU)

新潟大学・医歯学総合病院・講師

研究者番号：80195792

研究成果の概要（和文）：PCR の発症メカニズムを解明するために、ラット下顎骨延長モデルを用いて力学的負荷が下顎頭形態へ及ぼす影響を検索した。10 週齢の Wistar 系雄性ラットの下顎骨体部に骨延長装置を装着し、術後 5 日目より 10 日間かけて 3.5 mm 延長したのち、延長終了後 1 日目、1 週目、3 週目に下顎頭の形態的变化を調べた。その結果、下顎頭部の軟骨と骨の著明な吸収が認められ、下顎頭部への力学的負荷が PCR の主たる要因であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：This study was undertaken to examine the effects of mechanical loadings on the morphology of mandibular condyle following distraction in rat experimental model. 10-week-old male Wistar rats received 3.5 mm unilateral mandibular distraction over 10 days after 5-day latency period, and the morphological changes of mandibular condyles were examined one day, one week and three weeks after distraction. As a result, the deformation of the condyle with a destruction of cartilage layer and a bone resorption was recognized. These findings indicate that overloading to the mandibular condyle is a key factor for PCR.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：(1)PCR (2)発症メカニズム (3)下顎骨延長 (4)ラット実験モデル (5)マイクロ CT

## 1. 研究開始当初の背景

顎変形を有する患者に対して、正常な咬合関係を確立し、顎顔面形態ならびに咀嚼機能を回復することを目的に顎矯正手術が施行される。下顎骨後退や開咬を呈する患者では下顎骨前方移動術が施行されるが、術後に下顎頭の著明な骨吸収により下顎骨の後方への後戻りや下顎枝の短縮を認める症例が報告されており、本病態は PCR (Progressive

Condylar Resorption) の呼称で下顎骨の後戻りの主たる原因として注目されている。われわれも、これまでに臨床において PCR を発症した症例を報告するとともに、その対処法について検討してきた。

これまでの臨床的研究から PCR 発症のリスクファクターとして、術前の mandibular plane angle の開大や顎関節症状、下顎頭変形、若い女性、手術時の大きな下顎骨移動量や下

顎枝部の反時計回りの回転などが挙げられるが、その発症メカニズムについてはまだ不明な点も多い。骨に対する適正な力学的負荷は、骨の正常な成長や代謝に重要であるが、非生理的な負荷は骨の形態異常や進行性の骨吸収を引き起こすことが知られている。PCRの発症においても、術後に下顎頭部にかかる力学的負荷の量とその負荷に対する骨の許容力が関与しているものと考えられる。

PCRの発症メカニズムを組織学的ならびに免疫組織化学的に解明するとともにその予防法や治療法を開発するためには、PCRを発症する動物モデルが有用と考えられるが、これまでにそのような動物モデルは報告されていない。PCR発症モデルを作製するには、下顎頭部に力学的負荷をかけるとともに負荷に対する骨の許容力を低下させる必要がある。下顎頭部に力学的負荷をかける実験系としては、われわれが確立したラット下顎骨延長モデルが有用であると考えた。本ラット下顎骨延長モデルは、下顎骨延長術における骨形成メカニズムを検討するために確立された実験系であり、骨延長部の安定した骨形成が得られることが確認されている。さらに、骨密度の低下した骨粗鬆症ラットを本実験系に用いることによりPCR発症モデルを作製可能であると考えた。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、ラット下顎骨延長モデルを用いて下顎骨延長による下顎頭への力学的負荷が下顎頭形態へ及ぼす影響について、マイクロCTによる下顎頭の形態学的検索ならびに組織学的・免疫組織化学的検索を行い、PCRの発症メカニズムを解明することである。

## 3. 研究の方法

本研究には10週齢のWistar系雄性ラット30匹を用いた。骨延長装置は、チタンマイクロスクリューと矯正用エクステンションプレートによって自作したものを用いた(図1A)。実験群15匹では、セボフルレンで麻酔導入後、4%抱水クロラルを腹腔内投与して麻酔を施し、1%キシロカイン0.2mlにて右側顎下部に局所麻酔後に切開を加え、右側下顎骨体部で骨切りを行い、同部に骨延長装置を装着した(図1B)。術後5日目より延長装置を1回0.175mm1日2回、10日間かけて3.5mm延長した(図1C)のち、延長終了後1日目と1週目、3週目に各5匹ずつ3群にわけ、4%抱水クロラルを腹腔内投与して屠殺し、4%パラホルムアルデヒド溶液で灌流固定した(図1D)。下顎頭部のマイクロCTを撮影後に顎関節部を一塊として標本とした。脱灰後、パラフィンに包埋し、切片を作製してHE染色、酒石酸抵抗性酸性フォス

ファターゼ (TRAP) 染色、アルカリフォスファターゼ (ALP) 染色、AZAN染色を行い、骨切りを行わなかった同時期の対照群15匹と比較検討した。

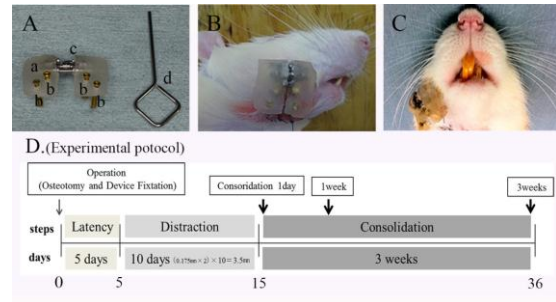


図1. 下顎骨延長装置と実験プロトコール  
A:自家製骨延長装置、B:骨延長装置装着時、C:骨延長終了時、D:骨延長プロトコール

## 4. 研究成果

マイクロCTによる検索では、下顎骨延長に伴い下顎頭の後方への移動が認められた。骨延長終了後1日目の群で下顎頭前方部にわずかな骨吸収が認められ、1週目と3週目の群においては下顎頭前方部において著しい骨吸収像を呈していた(図2)。

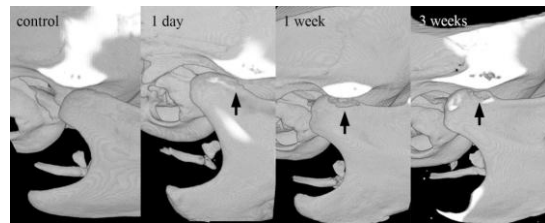


図2. 下顎頭部マイクロCT画像所見

対照群の組織標本において、下顎頭の輪郭は滑らかで、下顎頭中央部および後方部では軟骨細胞層の線維、増殖、成熟、肥大化軟骨細胞からなる4層構造が明確に認められ、軟骨細胞層の直下には密な骨梁構造が観察された。一方、下顎頭前方部においては、前方になるほど軟骨細胞層が薄くなり、皮質骨と線維性被膜が直に接していた。

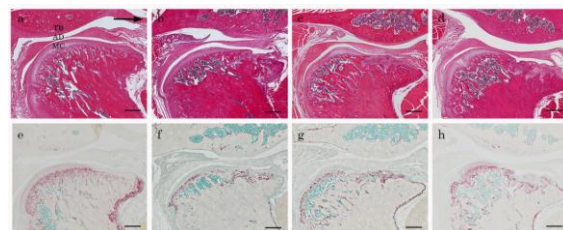


図3. 下顎頭部組織学的所見 (HE染色、TRAP染色)

a, e: 対照群、b, f: 骨延長終了後1日目、c, g: 骨延長終了後1週目、d, h: 骨延長終了後3週目、スケールバー: 500µm



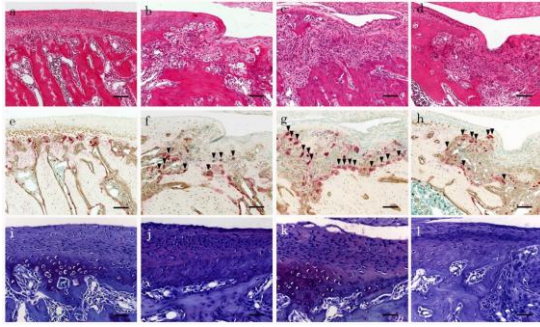


図4. 下顎頭前方部組織学的所見 (HE 染色、ALP と TRAP 二重染色、)  
a,e,i : 対照群、b,f,j : 骨延長終了後 1 日目、  
e,g,k : 骨延長終了後 1 週目、d,h,l : 骨延長終了後 3 週目、スケールバー : 100  $\mu$ m (a-h), 50  $\mu$ m (i-l)、矢頭 : TRAP 陽性細胞

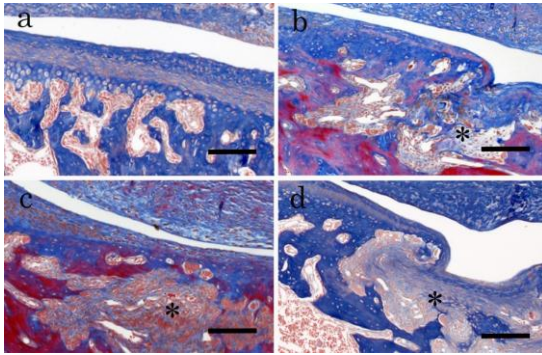


図5. 下顎頭前方部組織学的所見 (AZAN 染色)  
a. : 対照群、b. : 骨延長終了後 1 日目、c. : 骨延長終了後 1 週目、d. : 骨延長終了後 3 週目、  
\*印 : 線維組織、スケールバー : 200  $\mu$ m

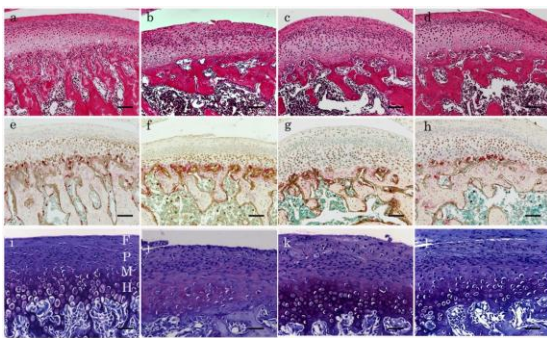


図6. 下顎頭中央部組織学的所見 (HE 染色、ALP と TRAP 二重染色、)  
a,e,i : 対照群、b,f,j : 骨延長終了後 1 日目、  
e,g,k : 骨延長終了後 1 週目、d,h,l : 骨延長終了後 3 週目、スケールバー : 100  $\mu$ m (a-h), 50  $\mu$ m (i-l)  
線維(F)、増殖(P)、成熟(M)、肥大化(H)軟骨細胞からなる 4 層構造を呈する

骨延長終了後 1 日目の群では、下顎頭前方部の輪郭が不整で軟骨細胞層が完全に消失し、多数の TRAP 陽性を示す破骨細胞の局在が見られ、下顎頭中央部における肥大化軟骨細胞層の消失と骨髄腔の拡大が認められた (図 3)。骨延長終了後 1 週目、3 週目では、下顎頭前方部には多数の TRAP 陽性破骨細胞の局在が認められ、骨吸収領域はより著明になり、同部は線維性組織で置換されていた (図 4、5)。下顎骨中央部においては、肥大化軟骨層の厚みの増加と軟骨細胞直下の骨梁部の骨芽細胞の強い ALP 反応が観察され、骨基質の沈着が認められた (図 6)。

以上のように、マイクロ CT の所見からは下顎骨延長により下顎頭が後方に変位し、下顎頭前方部が側頭骨の関節突起に圧迫され、力学的負荷が加えられている可能性が示唆された。また、実験期間を通して食餌量に異常は認められず、骨延長終了後 1 日目を除いて対照群との有意な体重差は認められなかったことから、得られた組織学的所見は不動化モデルとは異なり、下顎骨延長に伴う持続的な力学的負荷の影響を示すものと考えられた。今回の実験では力学的負荷によって、下顎頭中央部と前方部で異なる変化が認められた。すなわち、下顎頭中央部においては、力学的負荷に対する反応として初期の段階では一時的に肥大化軟骨細胞層の消失が認められたものの、以後軟骨細胞層の厚みの増加と、軟骨細胞層直下における活発な骨添加による下顎頭中央部の高径の増加が認められた。一方、下顎頭前方部においては著明な骨吸収が認められ、力学的負荷が軟骨の適応力と骨の許容力を超えていることが示唆された。また、下顎頭の軟骨細胞層および軟骨下骨細胞層が力学的負荷に対して高い反応性を示し、リモデリングによる機転があるいは破壊的組織変化かを決定するのに重要であることが示唆された。今回の下顎頭に認められた変化が不可逆的な変化に進行するかどうかについては、より長期の観察が必要であると考えられた。

PCR は比較的新しい疾患概念で、その発症メカニズムは不明な点も多く、臨床の間ではその対応に苦慮しているのが現状である。したがって、PCR 発症モデルを開発できれば今後の PCR に関する研究に大きく寄与することができるものと考えられる。また、PCR の予防法を開発することができれば、PCR の発症リスクの高い顎変形症患者に対して術後の下顎頭骨吸収を防ぎ、後戻りのない安定した咬合と顔貌を維持することができるようになることから、顎変形症に対する外科的矯正治療の成績向上に寄与することができると考える。

本研究の結果から、下顎頭部への力学的負荷が PCR の主たる要因となることが示唆さ

れたことから、今後は骨強度の低下した骨粗鬆症ラットを用いて PCR 発症モデルを確立し、その予防法や治療法を開発したいと考えている。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

- ① Masaki Togashi, Tadaharu Kobayashi, Daichi Hasebe, Akinori Funayama, Toshihiko Mikami, Isao Saito, Takafumi Hayashi, Chikara Saito: Effects of surgical orthodontic treatment for dentofacial deformities on signs and symptoms of temporomandibular joint. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology, 25(1), January 2013, 18–23.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajoms.2012.05.014>.
- ② Nowazesh Ali M, Tadaharu Kobayashi, Mikako Tanaka Hayato Ohshima, Sadakazu Ejiri, Chikara Saito: Effects of intermittent parathyroid hormone treatment on new bone formation during distraction osteogenesis in the rat mandible. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, available online 25 February 2012, 114(1), July 2012, e36–e42.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.o000.2011.08.009>
- ③ Tadaharu Kobayashi, Naoya Izumi, Taku Kojima, Naoko Sakagami, Isao Saito, Chikara Saito: Progressive condylar resorption after mandibular advancement. Br. J. Oral Maxillofac. Surg. 50, March 2012, 176–180.  
DOI:10.1016/j.bjoms.2011.02.006

〔学会発表〕(計7件)

- ① Tadaharu Kobayashi, Daichi Hasebe, Akinori Funayama, Toshihiko Mikami, Daisuke Saito, Michiko Yoshizawa, Chikara Saito: Stability after mandibular advancement: risk for progressive condylar resorption. 10th Asian Congress on Oral and Maxillofacial Surgery, 2012.11.15-18, Bali, Indonesia.
- ② 坂上直子、小林正治、野澤-井上佳世子、小島 拓、織田公光、齊藤 力、前田健康：下顎骨骨延長が顎関節に及ぼす影響—ラット下顎骨骨延長モデルを用いた検討—。第22回日本歯科医学会総会、2012年11月9-11日、大阪
- ③ 小林正治、長谷部大地、船山昭典、三上俊彦、芳澤享子、齊藤 力：下顎骨前方移動術後の Progressive Condylar Resorption 発症リスクの検討。第25回日本顎関節学会学術集会 2012年7月14, 15日、札幌
- ④ 坂上直子、小林正治、野澤-井上佳世子、

小島 拓、織田公光、齊藤力、前田健康：ラット下顎骨延長モデルにおける顎関節の形態学的・組織学的検討—力学的負荷が顎関節に及ぼす影響—。第22回特定非営利活動法人日本顎変形症学会総会、2012年6月18日・19日、福岡

- ⑤ 小林正治、長谷部大地、上杉崇史、三上俊彦、船山昭典、齊藤 力：下顎後退症患者に対する下顎骨前方移動術後の顎骨安定性について。第66回日本口腔科学会学術集会、2012年5月17日・18日、広島
- ⑥ Naoko Sakagami, Tadaharu Kobayashi, Kayoko Nozawa-Inoue, Taku Kojima, Kimimitsu Oda, Chikara Saito, Takeyasu Maeda : Effect of mechanical loading on the condyle in a rat mandibular distraction model. International symposium on oral health education and research, Balikpapan, Indonesia, 10-11th, December, 2011.
- ⑦ 富樫正樹、小林正治、長谷部大地、高田佳之、齊藤 力：顎変形症に対する顎矯正手術が顎関節症状に及ぼす影響。第23回日本顎関節学会総会・学術大会、2010年7月24,25日、東京

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

小林 正治 (KOBAYASHI TADAHARU)  
新潟大学・医歯学総合病院・講師  
研究者番号：80195792

##### (2)研究分担者

泉 直也 (IZUMI NAOYA)  
新潟大学・医歯学総合病院・助教  
研究者番号：10361908

小島 拓 (KOJIMA TAKU)  
新潟大学・医歯学系・助教  
研究者番号：90515777

##### (3)連携研究者

井上 佳世子 (野澤佳世子) (INOUE KAYOKO (NOZAWA KAYOKO))  
新潟大学・医歯学系・特任准教授  
研究者番号：90303130