

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24593072

研究課題名(和文) 糖尿病高血糖により生じる破壊的歯槽骨吸収を抑制する力学条件の解明

研究課題名(英文) Elucidation of mechanical condition for controlling destructive alveolar bone resorption under diabetic hyperglycemia

研究代表者

佐藤 嘉晃 (Sato, Yoshiaki)

北海道大学・歯学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：00250465

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病に伴う高血糖の条件下では、歯科矯正治療などにより歯槽骨が破壊的に吸収されることがある。本研究では高血糖下で矯正力を加えた際の歯槽骨がどの程度吸収するかをラットを用いて3次元的に検証し、さらに適切な矯正力について検討した。さらに、失われた歯槽骨の回復が低出力超音波パルスを用いて可能かどうかを検証した。これらより、高血糖下では歯槽骨の吸収は著しいことが3次元的に明らかになった。さらに、低出力超音波パルスは歯槽骨の再生に有効であることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Destructive alveolar bone resorption may be occurring by orthodontic tooth movement under diabetic hyperglycemia. The aims of this study were, to know the 3-dimensional alveolar bone resorption rate by orthodontic treatment under hyperglycemia, to know optical orthodontic force in such cases, and to know if the Low-Intensity Pulsed Ultrasound could recover this absorbed alveolar bone effectively.

The results could conclude that destructive alveolar bone resorption was occurred in hyperglycemia condition compared to normal condition in rats, and the Low-Intensity Pulsed Ultrasound could formate faster bone absorption.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：糖尿病 高血糖 矯正歯の移動 骨吸収 3次元 低出力超音波パルス

1. 研究開始当初の背景

日本においては、40代における糖尿病患者は10人に1人をしめると言われており(厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室:平成14年糖尿病実態調査 臨床栄養 2003)、世界的にも215の国と地域における20-79歳の糖尿病有病率・有病者数は2007年で5.9%の2億4600万人、2025年の予測では7.1%の3億8千万人と報告されている(西村新しい糖尿病の臨床 2007)。さらに、平成19年国民健康・栄養調査において糖尿病の指標の一つであるHbA_{1c}が6.1%以上である人、または現在糖尿病の治療を受けている人とで構成される“糖尿病が強く疑われる人”は約890万人、HbA_{1c}5.6%以上6.1%未満で現在糖尿病の治療を受けていない人で構成される“糖尿病の可能性が否定できない人”は約1320万人で、合計2210万人にのぼり今後増加することが予想されている。さらに、糖尿病が強く疑われる人のうち糖尿病の治療を受けている人は55.7%であり、糖尿病患者においても長期間にわたって血糖管理することが難しいのが現状である。

糖尿病患者における主症状は、口渇、多飲、神経障害、動脈硬化、骨減少症等多彩な病態が認められるが、糖尿病性骨減少症においては、インスリン欠乏状態、高血糖状態、骨基質のAGE化、合併症の影響による骨形成の低下が要因であると考えられ、さらに、破骨細胞、血管にも影響が及ぶ可能性が指摘されている(稲葉 Progress in Medicine 2008年)。このような骨減少を伴う糖尿病は、歯科との関連性が強く、糖尿病が歯周病罹患率を増加させるなど、全身的な疾患との関わりも強く示唆されるに至っている(Nishimura F et al J Int Acad Periodontol 2000年)。

一方、歯科矯正治療の必要性が国民の間に浸透するとともに成人患者の増加がみられ、北海道大学病院においても、成人患者が約半数を占めるに至っている(金澤、佐藤ら 日矯 1998年)。このような成人患者の増加は同時に生活習慣病、なかでも高血糖値を有する世代と重なることを意味する。これまで、若年性糖尿病を含め、いわゆる糖尿病の既往のある患者や高血糖を有する糖尿病予備軍に対する矯正治療に対してはガイドラインが存在せず、歯周病のコントロールと共に手探りで勧められているのが現状である。特に歯科矯正治療は歯槽骨・顎骨を中心とした歯周組織のリモデリングを伴う治療が基本であり、一時的とはいえ急激な骨の吸収や添加といったリモデリングを生じることから、糖

尿病を有する患者でコントロールが不十分な患者や予備軍に対する治療には歯槽骨の急激な減少などに対する細心の注意が必要になっている。

歯科矯正治療時の糖尿病患者における骨リモデリングにおいてこれまでみられる研究では、骨形成減少という点ではある程度合意があるものの、吸収系破骨細胞の関与については不明な点が多い。これについて昨今われわれは、糖尿病誘発ラットに強い力(13g)と弱い力(6g)を用いて歯の移動を行い、以下の結果が得られた。(1)糖尿病モデルラットで歯槽骨頂付近の著しい骨吸収像が観察された(次ページ図)、(2)13gで吸収の程度は6gと比して有意に大きかった。一方、依然として不明な点として、(1)強い力を加えた糖尿病ラットの歯槽骨吸収に破骨細胞や骨芽細胞、血管がどのように関与しているのか、(2)弱い力においても歯槽骨吸収はcontrolより過度であり、これを制御することができなかった、(3)歯槽骨頂付近での吸収の起点と広がりを3次的にとらえられていない、などがみられた。以上のことを背景に、本申請課題についての目的を、「糖尿病モデルラットにおいて、歯槽骨吸収が強く生じる原因の解明を特に破骨細胞、血管、3次的な歯槽骨改造現象、力の加え方、といったキーワードにフォーカスをあてた検討を行い、高血糖下においてはどのような矯正力の条件が安全かつ最適であるかをさぐる」とした。

2. 研究の目的

これまでわれわれが行ってきた研究に基づき、各種持続力や間歇力、断続力などを用いて歯を移動し、個体毎の解剖学的な背景をマイクロCTで治療経過にそって踏まえた上で、(1)糖尿病(高血糖下)における細胞や血管の組織学的動態を3次的な把握、(2)至適矯正力の同定、(3)失われた歯槽骨の回復手法の確立、を目的とした。これより、どのような力の大きさや加え方、歯の変位量が破壊的歯槽骨の吸収を抑制し、安全かつ効率的に歯の移動を実現できるのかを、検討する。これらより、糖尿病における骨吸収の問題点も解決しようとするものである。

3. 研究の方法

(1) 実験 1

歯槽骨吸収の起点と広がりを3次的にとらえることを目的に、同一個体の歯槽骨吸収の

変化をマイクロCTにて経時的に三次元的に検討する。糖尿病モデルラットと対照ラットとの骨吸収に時間軸の違い、すなわち、どのタイミングで歯槽骨の吸収が進むのか、あるいはトリガーとなる部位はどこにあるのかを三次元的に検討する。

(2) 実験2

矯正治療時便宜抜去された歯からヒト歯根膜線維芽細胞を培養し、5 継代目の培養細胞を 5 x 3 mm のコラーゲンスポンジに充填し1週間培養後、コラーゲンスポンジを1/3, 1/4 圧縮した。0 (コントロール), 1, 3, 6, 12, 24 時間後にサイトカイン遺伝子発現量の変化をReal Time PCRにて検索した。

(3) 実験3

失われた歯周組織の回復を目的に以下の実験を行った。

実験動物には生後10週齢のWister系雄性ラットを用い、歯の移動にはWaldoの方法を用いた。歯の移動が終了したラット13匹に対し、8%抱水クロラル腹腔内投与による深麻酔下にてゴムを除去し、コンタクト部の水洗洗浄を行った後、保定を目的として、離開した第一臼歯と第二臼歯歯間部にレジンセメント(スーパーボンド サンメディカル株式会社)を充填し固定した。これら13匹を次の4群に分けた。移動終了時の群(以下、保定0日群)4匹、移動終了後に保定期間7日間を経た群(以下、対照群)4匹、移動終了後の保定期間7日間に合計6回LIPUS照射を併用した群(以下、LIPUS照射群)5匹、さらにLIPUS照射を行っていない8匹のうちから5匹を抽出し、歯の移動を行っていない上顎右側第一臼歯を観察部位とし、歯の移動に対する対照群(以下、無処置群)とした。

LIPUS照射方法は以下の通りである。設定したLIPUS群の実験動物に対し、保定期間である7日間にBRソニックプロ(伊藤超短波)を用いてLIPUS照射を行った。照射はラットの目と鼻の間の皮膚表面上より超音波ゲルを介して、頭頂方向から上顎を目指して照射した。照射条件は1.0 MHz, 240 mW, 出力モード20%, 照射時間は1日1回15分とし、保定装置装着時(保定0日)より安楽死させる2日前までの計6回照射した。

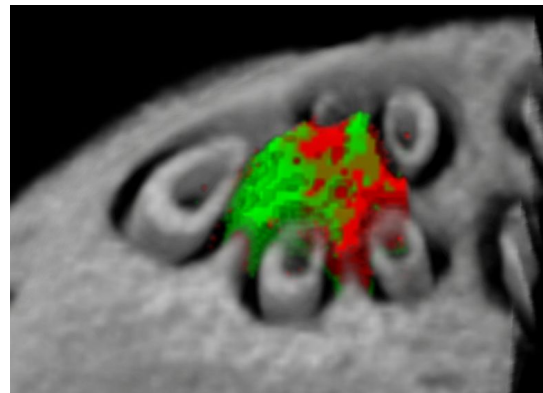
設定した保定0日群、ならびに保定期間の

7日間を経過した対照群とLIPUS照射群それぞれの実験終了後に通法にしたがい、浸漬固定を行った。ラットの上顎左右第一および第二臼歯部の撮影をマイクロフォーカスX線CTシステム(inspeXio SMX-225CT 島津製作所)を用いて行った。撮影終了後、得られたTIFFデータを用い、三次元解析ソフト(TRI/3D-VOL ラトックシステムエンジニアリング株式会社)を用いて断層面の観察、立体構築、および三次元形態計測を行った。

4. 研究成果

(1) 実験1

結果を以下に示す。(a)三次元的な評価をマイクロCTにて行った。歯槽骨頂付近は正常ラット、ストレプトゾトシン投与ラットともに吸収が認められた。(b)ただし、ストレプトゾトシン投与ラットについては、広範な歯槽骨の吸収が見られた。(c)この広範な歯槽骨吸収は歯槽骨のみにとどまらず、回転中心に近い部分まで広範に認められた。結果を図に示す。



赤で示す部分は同一個体上の残存する歯槽骨、緑で示す部分は7日の間に失われた歯槽骨である。本画像は同一個体における7日目と0日目の歯槽骨を歯根の重ね合わせによって得られた物である。

(2) 実験2

1/3, 1/4 圧縮時の細胞の充填状態は、コントロールと比べ同程度であった。破骨細胞分化関連サイトカインであるTNF- α 、FGF2、IL-1、VEGFのmRNA発現は、1/3, 1/4 圧縮すべての時点でコントロールより有意に増加し、OPGのmRNA発現量は、1/3 圧縮24時間後の条件以外有意に減少していた。1/3 圧縮24時間

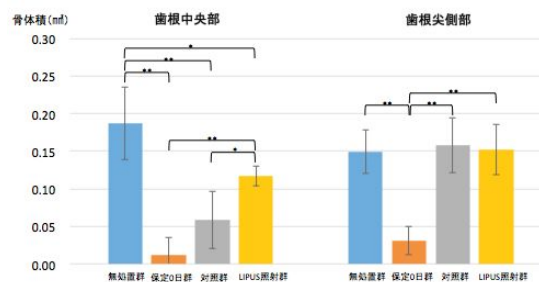
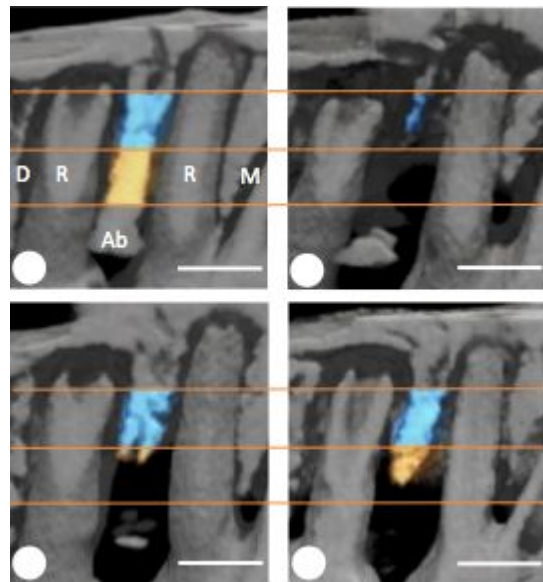
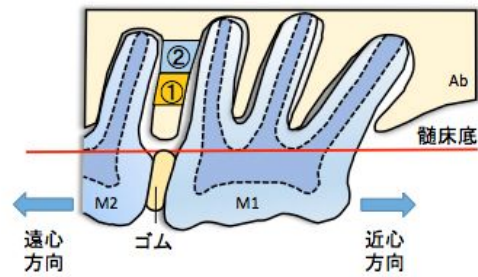
後のOPGのmRNA発現量は、コントロールと同程度であった。また、mRNA発現の相対量は1/3圧縮時と1/4圧縮時の間で発現傾向は類似していたが、1/4圧縮時の方が多い傾向であった。

(3) 実験3

無処置群(反転像)において「歯根中央部」、および「歯根尖側部」の計測範囲のいずれにも歯槽骨が一樣に観察された。歯槽骨頂はすべての個体で計測範囲より歯冠側に位置していた。保定0日群では、歯間中隔歯槽骨は高さ、近遠心的厚さともに著しく減少しており、「歯根中央部」の計測範囲において骨はほとんど認められなかった。次に対照群においては、「歯根尖側部」の範囲では歯槽骨の近遠心的厚さは保定0日群に比して増大していた。しかし、「歯根中央部」の範囲では歯槽骨の高さにばらつきがみられた。また、骨頂部の形態は近遠心に二峰性に骨が伸びている状態のものや、歯間中隔中央の骨形成がされておらず空洞となっている状態の所見がみられた。LIPUS照射群においては、「歯根尖側部」の範囲の骨は保定0日群に比して近遠心的厚さが増しており、無処置群に近似した形態をしていた。一方、「歯根中央部」においては対照群に比して近遠心的厚さは大きかった。骨頂部の高さはLIPUS照射群のすべての個体で無処置群に比して低い位置にあることが認められたが、対照群と比較して高い位置にあった。また、骨頂の形態はすべて一樣に丸みを帯びた形態であった。

無処置群、保定0日群、対照群とLIPUS照射群の「歯根中央部」、および「歯根尖側部」における歯槽骨体積の平均値を示す。「歯根中央部」の計測範囲において無処置群に対し保定0日群、対照群、LIPUS照射群の骨体積はすべて5%水準で有意に小さい値を示した。次に、保定0日群に比して対照群には有意差は見られなかったものの、LIPUS照射群の歯槽骨体積は有意に大きい値を示した。さらに、LIPUS照射群の歯槽骨体積は対照群に比して有意に大きい値を示した。一方、「歯根尖側部」においても保定0日群の骨体積は無処置群に比して有意に小さい値を示した。また、保定0日群に比して、対照群およびLIPUS照射群はいずれも有意に大きい値を示した。一方、無処置群と対象群およびLIPUS照射群の間、ならびに対照群とLIPUS照射群の間で歯

槽骨体積に有意な差は見られなかった。



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 2 件)

- 矯正学的歯の移動後の歯槽骨再形成に対する低出力超音波パルスの効果. 彦根敦、佐藤嘉晃、飯田順一郎: 北海道歯学雑誌 (accepted) (査読有り)
- 三次元立体培養ヒト歯根膜線維芽細胞を用いた最適矯正力に関する検討. 羽二生芽里、佐藤嘉晃、飯田順一郎: 北海道歯学雑誌 34: 52 - 60. 2014 (査読有り)

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 彦根 敦、佐藤嘉晃、飯田順一郎: LIPUSを用いた歯槽骨添加促進. 北海道歯学会(2014年11月29日) 北海道大学(北海道・札幌市)
2. 羽二生 芽里、佐藤嘉晃、飯田順一郎: 三次元立体培養ヒト歯根膜線維芽細胞を用いた最適矯正力に関する検討. 北海道歯学会(2013年11月30日) 北海道大学(北海道・札幌市)

〔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:
出願年月日:
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

佐藤 嘉晃 (SATO Yoshiaki)
北海道大学・大学院歯学研究科・准教授
研究者番号: 00250465

(2) 研究分担者

日下部 豊寿 (KUSAKABE Toyohisa)
北海道大学・大学病院・助教
研究者番号: 80322824