

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：33902

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24593115

研究課題名(和文)特異的破骨細胞抑制剤による効率的歯の移動と歯周病予防システムの開発

研究課題名(英文)The exploitation of effective tooth movement by the specific osteoclast inhibitor and the system of prevention on periodontal disease.

研究代表者

後藤 滋巳(GOTO, Shigemi)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：60142577

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、骨代謝をコントロールすることにより歯の移動を制御できるかを確認し、また、歯周病に罹患した歯における骨吸収の進行抑制を可能にするシステムを構築することである。まず、破骨細胞を特異的に抑制する薬剤(リベロマイシンA)が歯槽骨吸収を抑制することが可能か確認するため、実験的歯周炎モデルマウスの作成を行うこととした。その結果、接触点周囲に設置した結紮線によって歯槽骨吸収が誘発され、実験的歯周炎モデルの作製を行うことが可能となった。今後さらに研究を進め、薬剤による骨吸収抑制が可能となるのか、また、骨代謝のコントロールによる歯の自由な移動を行うことが可能となるのか検討を行う予定である。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is making a system which is controlled tooth movement freely by the bone metabolism and controlled resorption of alveolar bone in periodontal disease. Firstly, it was established an experimental mouse model of periodontitis-inducing. This research suggested that placement of the ligature wire around the contact point between teeth was successfully induced alveolar bone resorption. Therefore, the present report provides a new animal model of periodontitis. Further studies are needed to investigate and development the system of tooth movement controlled by the bone metabolism.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：歯学 矯正学 歯周病 破骨細胞 病理学

1. 研究開始当初の背景

歯科矯正治療では歯を移動するだけでなく、移動してはいけない歯までが動いてしまうことがあり、固定が重要であると考えられる。固定については、現在までヘッドギアーなどの顎外固定装置、トランスパラタルアーチやナンスのホールディングアーチなどの顎内装置を用いて治療を行っていた。しかし、それらの装置は患者協力に依るところが大きく、装置の使用状況によっては、治療目標を変更しなくてはならなかった。

また、近年、矯正治療の多様化が認められ、成長期の若者に加え、補綴前処置や歯周病予防や進行防止など、成人や高齢者における矯正治療希望者が増加している。しかし、成人矯正治療希望患者では歯周組織が脆弱していたり、骨粗鬆症などの全身疾患を有していることが少なくない。通常歯周組織では、破骨細胞の骨吸収と骨芽細胞の骨形成が繰り返され、常に骨改造が認められる。また、健康者への矯正治療においては圧迫側における破骨細胞による骨吸収と牽引側における骨芽細胞による骨形成がおこり、バランスを保ちながら歯周組織の改造を行い歯の移動が起こる。しかし、骨粗鬆症のような全身疾患や歯周病を有する患者では骨代謝のバランスが崩れ、歯周組織が脆弱し、著しい骨吸収を惹起する可能性がある。更にこのような状態で矯正治療を行うと著しい骨吸収を惹起するなどの報告がある。

そこで、本研究ではこれらの骨代謝を薬剤を用いてコントロールすることで、歯の移動を効率的に行うことができるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は破骨細胞の機能を特異的に抑制することによって、歯の移動を自由にコントロールすることと、矯正治療前・中・後において、歯周病に罹患した歯の周囲骨における骨吸収の進行抑制を可能にするシステムを構築することである。

一般的に、歯科矯正治療において、『固定』の概念は非常に重要であり、移動が必要な歯のみならず移動してはいけない歯までもが動いてしまうことは少なくない。そこで、まず実際の矯正治療において大臼歯の固定がどのように行われているかを調査することとし、その後、強固な固定源を骨代謝のコントロールによって確保できるか検討する。そして、マウスにおいて矯正学的歯の移動時における骨代謝の解明ならびに、骨代謝のコントロールによる歯の移動実験を行う。この骨代謝コントロールは歯周病予防にもつながると考えている。

骨代謝のコントロール薬剤として破骨細胞のみに特異的に作用し、骨基質に沈着せず、薬効の期間のみ破骨細胞に作用するという利点を備えた、破骨細胞活性の抑制剤である

リベロマイシンAに着目した。我々は、以前よりこのリベロマイシンAを実験的歯の移動のツールとして用いてきた。その結果、短期間における歯の移動の制御が可能であることが、解明されつつある。

しかし、矯正治療は長期にわたる特性を持っていることから、マウスにおいても長期間での観察は今後必要と考えられ、また、歯周病予防実験を進めていくことが必要であり、新たな長期にわたる歯の移動実験ならびに歯周病予防実験を行うことを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

(1) 矯正治療の固定について

矯正治療で最大の固定が必要な患者51人を以下の2つのグループに分けた。ハイプルヘッドギアーと顎間エラスティックを用いるヘッドギアー群(図1A)28人と、正中口蓋縫合部に歯科矯正用アンカースクリューを2本植立し、改良型トランスパラタルアーチを用いたミニスクリュー群(図1B)23人を対象とした。

それぞれの群は上下左右第一小臼歯4本抜去し、動的治療期間の違いについて検討を行った。また、術前、術後に側面頭部規格写真を撮影し、それぞれの群において固定源の強度の違い、またはその他の骨格性と歯性の変化について比較を行った。

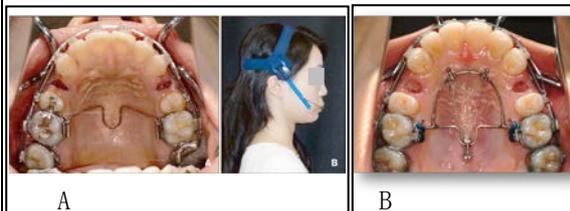


図1

A. ヘッドギアー群 B. ミニスクリュー群

計測する項目については、Pancherz 側面頭部規格写真分析法を用い、矢状方向と垂直方向での変化について検討を行った。(図2)

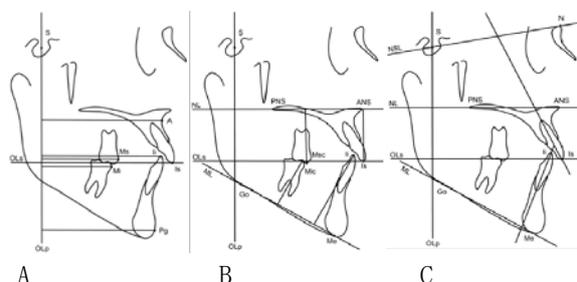


図2

A. 矢状方向における計測のための計測点と基準線
B. 垂直方向における計測のための計測点と基準線
C. 歯軸傾斜を計測するための計測点と基準線

(2) 実験的歯周炎モデルの作製

① 対象

生後8週齢の WT マウス (C57BL/6J) (n=6) を用い、ジエチルエーテル吸入にて全身麻酔下で、上顎左側第一臼歯 (M1) と第二臼歯 (M2) 間に、矯正用結紮線の直径 0.1mm のステンレス製リガチャーワイヤーを結紮し、作成を行った。

結紮線装着4週間後、8週間後にそれぞれ上顎骨を採取した。結紮線の装着手順と模式図 図 3A~E に示す。

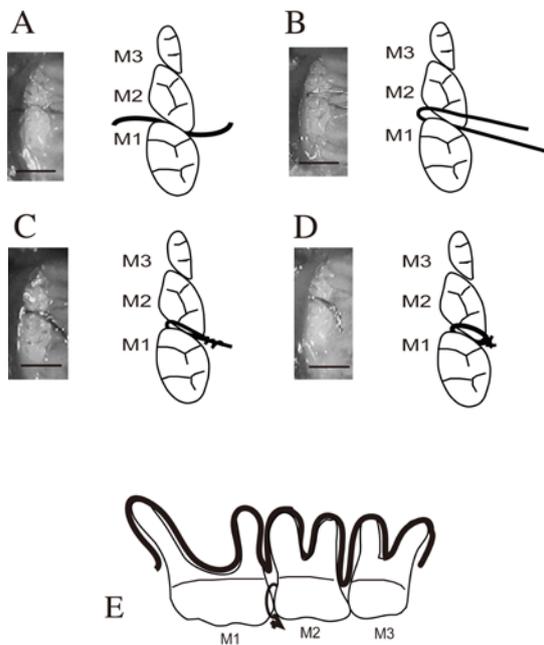


図 3

② マイクロCT撮影

採取した上顎骨はマイクロCTにて撮影を行い、歯槽骨残存量の計測には TRI/3D-BON ソフトを用いて計測を行った。歯槽骨残存率を計測するにあたりトレース部位は Chan らの方法を一部改変し計測を行った。計測範囲は第一臼歯と第二臼歯間とし、計測範囲内の残存している骨の割合を歯槽骨残存率とした (図 4 a, b, c)。

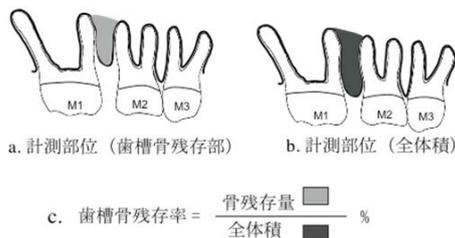


図 4

③ 組織学的観察

上顎骨を結紮線装着日から4週間後と8週間後に摘出し、10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定した。次に、10%EDTA (pH7.2) で約4週間、4℃の条件下で脱灰し、通法に従ってパラフィン包埋を行い、5µmの近遠心方

向の連続切片を作成した。組織観察部位は臼歯部の根が全て観測出来る部位とした。その後、ヘマトキシリン-エオジン染色 (H.E 染色)、TRAP 染色 (酒石酸耐性酸ホスファターゼ染色) を行った。

得られた実験データは平均値と標準誤差で示し、統計的な有意差検定については Mann-Whitney test を用いて行った。

(3) リベロマイシン A 投与が及ぼす影響について

作製した実験的歯周炎モデルマウスを用い、8週齢の OPG^{-/-}マウス (n=4) ならびに WT マウス (n=4) に、リベロマイシン A (RMA) (1 mg/kg of weight) を矯正用結紮線結紮3日前より1日2回腹腔内投与し、対照群には同量の生理食塩水を投与した。

実験的歯周炎モデルマウス作製と同様に、結紮線装着日4週間後、8週間後に上顎骨を採取し、マイクロCT撮影、組織学的観察を行った。

4. 研究成果

(1) 矯正治療の固定について

① 総治療期間について

ミニスクリー群、ヘッドギア群間の総治療期間に有意差は認められなかった。

② 矢状方向の変化について

ミニスクリー群と比較して、ヘッドギア群では、PointA (A-OLp) については、ミニスクリー群では有意に後方移動が認められたが、ヘッドギア群ではわずかに前方移動が認められた。

上顎前歯の移動 (Is-OLp) については、ミニスクリー群は有意に舌側移動が認められた。

上顎大臼歯の近心移動 (Ms-OLp) については、両群とも近心移動が認められたが、ミニスクリー群よりヘッドギア群で有意に近心移動が認められた。(図 5)

	Headgear group vs Miniscrew group		
	P value	Significance [®]	
Sagittal measurements			
Overjet (mm)	0.047	*	
Molar relationship (mm)	0.364	NS	
Position of maxillary base (mm)	A-OLp	0.033	*
Position of mandibular base (mm)		0.254	NS
Jaw relationship (mm)		0.806	NS
Position of maxillary central incisor (mm)	Is-OLp	0.003	**
Position of mandibular central incisor (mm)		0.697	NS
Maxillary central incisor relationship to A point (mm)		0.016	*
Mandibular central incisor relationship to Pg (mm)		0.606	NS
Position of maxillary first permanent molar (mm)	Ms-OLp	0.000	***
Position of mandibular first permanent molar (mm)		0.004	**

*:p<0.05 **:p<0.01 ***:p<0.001

図 5 ミニスクリーとヘッドギア群の比較

③垂直的な変化について

上顎前歯と臼歯の圧下については、ミニスクリー群では上顎切歯と大白歯の圧下が認められたが、ヘッドギア群では上顎切歯では変化が認められず、第一大臼歯は挺出が認められた。(図 6)

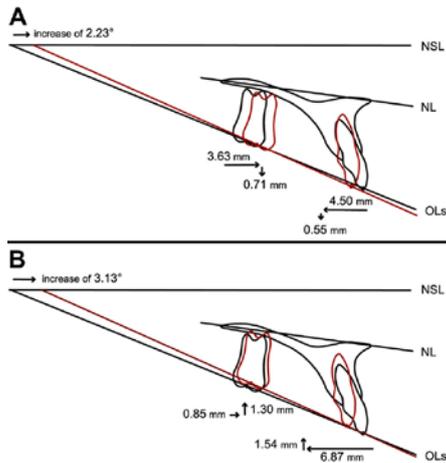


図 6

以上のことより、ミニスクリーは外科的侵襲は伴うものの、大白歯の固定源を強化できることが示され、セファログラム的に水平的・垂直的にも良好な結果を得た。

(2) 実験的歯周炎モデル作製について

①マイクロ CT 所見

結紮線側の上顎では結紮線装着日から 4 週後と結紮線装着日から 8 週後の間で有意な差をもって経時的な歯槽骨残存率の減少が認められた。しかし、非結紮側では明らかな吸収は認められなかった。(図 7 a-f) また、結紮線は接触点を囲むように位置しており、歯肉には接触していなかった。

また、歯槽骨残存率については、4 週後と 8 週後において結紮側の方が非結紮側と比較して、有意に減少していた。(図 8)

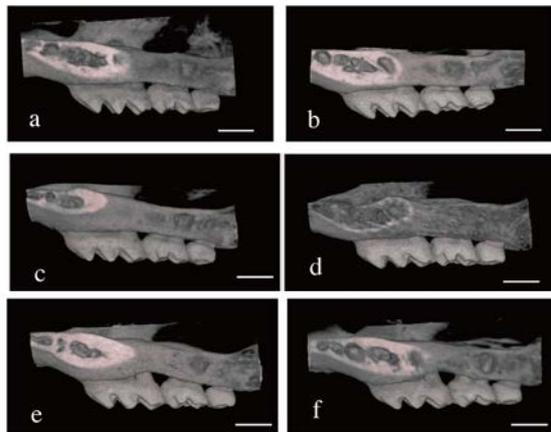


図 7 実験群と対照群における歯槽骨マイクロ CT 画像
a. 非結紮側 0 週後 b. 非結紮側 4 週後 c. 非結紮側 8 週後
d. 結紮側 0 週後 e. 結紮側 4 週後 f. 結紮側 8 週後

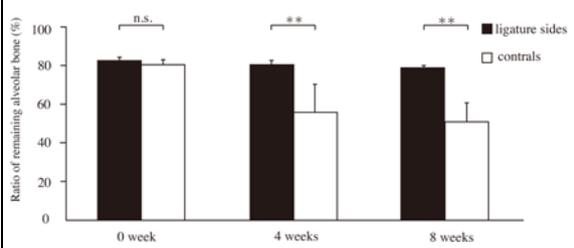


図 8 歯槽骨残存率の変化

②組織学的観察

非結紮側では歯槽骨の高さが保たれている所見が認められた。また、歯肉角化層の肥厚は認められず、どの時点においても異常な所見は認められなかった。

一方、結紮側では炎症細胞の浸潤と角化層の肥厚といった歯肉炎の症状が認められ、また 4 週、8 週の両時点においてアタッチメントロスと骨吸収が観察された。これらは特に 8 週間後に顕著に認められた。(図 9)

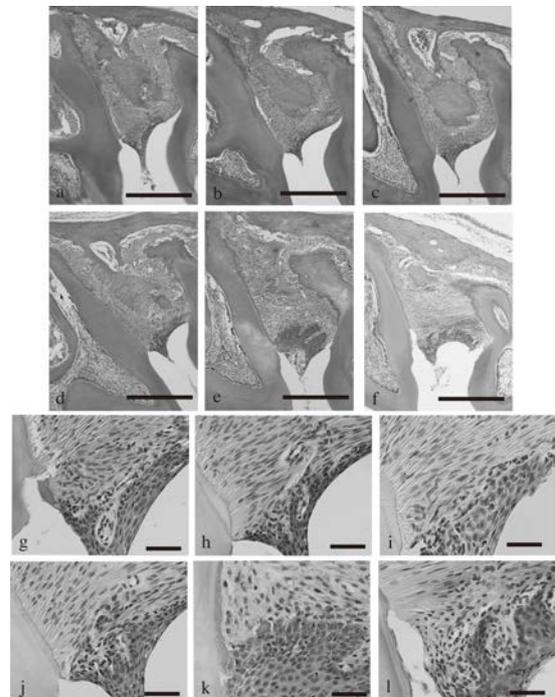


図 9

M1, M2 間での歯周組織の HE 染色組織所見

a. 非結紮側 0 週後 b. 非結紮側 4 週後 c. 非結紮側 8 週後
d. 結紮側 0 週後 e. 結紮側 4 週後 f. 結紮側 8 週後

M1, M2 間歯槽突起部周囲歯周組織の HE 染色組織所見

g. 非結紮側 0 週後 h. 非結紮側 4 週後 i. 非結紮側 8 週後
j. 結紮側 0 週後 k. 結紮側 4 週後 l. 結紮側 8 週後

(3) リベロマイシン A 投与が及ぼす影響について

8 週齢の OPG^{-/-}マウス (n=4) ならびに WT マウス (n=4) に、リベロマイシン A (RMA) (1 mg/kg of weight) を矯正用結紮線結紮 3 日前より 1 日 2 回腹腔内投与し、対照群には同量の生理食塩水を投与した。結紮線装着日 4 週間後、8 週間後に上顎骨を採取し、マイクロ CT 撮影、組織学的観察を行った。

現在、結果を分析中である。今後はさらに RMA の投与による歯槽骨吸収量の抑制を行うことができるのか確認を行う予定である。

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)

- ① Mizuno M, Miyazawa K, Tabuchi M, Tanaka M, Yoshizako M, Yamane C, Torii Y, Maeda H, Goto S. A new experimental mouse model of periodontitis using an orthodontic ligature wire. *J Hard Tissue Biology*. 査読有 23(2), 255-260. 2014
<http://doi.org/10.2485/jhtb.23.255>
- ② Lee J, Miyazawa K, Tabuchi M, Kawaguchi M, Shibata M, Goto S: Midpalatal miniscrews and high-pull headgear for anteroposterior and vertical anchorage control: Cephalometric comparisons of treatment changes. *American Journal of Orthodontics & Dentofacial Orthopedics*, 査読有 144(2):238-250, 2013.
doi: 10.4041/kjod.2014.44.2.88.

[学会発表] (計 7 件)

- ① 源 千里, 宮澤 健, 田淵雅子, 藪本貴洋, 田中美由紀, 水野愛実, 吉廻 守, 鳥井康義, 玉岡佑将, 川谷 誠, 長田裕之, 後藤滋巳. 破骨細胞特異的抑制剤 (ReveromycinA) を用いた歯の移動のコントロールについて, 第 73 回日本矯正歯科学会大会, 2014. 10. 20-22. 幕張
- ② Miyazawa K, Tabuchi M, Goto S. The effects of reveromycin A on the continuous tooth movement of OPG knockout mice. The 45th Italian Society of Orthodontics International Congress. 2014. 10. 9-12, Firenze, Italy
- ③ 山根千里, 宮澤 健, 田淵雅子, 田中美由紀, 水野愛実, 吉廻 守, 鳥井康義, 川谷誠, 長田裕之, 後藤滋巳: 持続的矯正力における, 破骨細胞特異的薬剤(リベロマイシンA)による歯牙移動のコントロールについて. 第 72 回日本矯正歯科学会大会 (松本), 2013. 10. 7-9.
- ④ 吉廻 守, 宮澤 健, 田淵雅子, 水野愛実, 山根千里, 鳥井康義, 後藤滋巳: 若年性骨 Paget 病の病態に類似した OPG -/- mice の全身的な骨構造, 機械的強度の検討. 第 72 回日本矯正歯科学会大会 (松本), 2013. 10. 7-9.
- ⑤ Lee J, Miyazawa K, Tabuchi M, Sato T, Kawaguchi M, Goto S: The effect of LAS treatment using mini-screw implants during anterior retraction (step 6) Part 1: Time effort. The 4th international congress of Level Anchorage System (Paris, France),

2012. 3. 17.

- ⑥ Miyazawa K, Mizuno M, Tanaka M, Yosizako M, Goto S: Established of periodontitis mouse model inserted contact point by ligature wire. American Association of Orthodontists 10TH ANNUAL SESSION (Hawaii) , 2012. 5. 5-7.
- ⑦ Goto S, Tanaka M, Tabuchi M, Kawatani M, Osada H: Reveromycin A treatment during experimental tooth movement under continuous orthodontic force. American Association of Orthodontists 10TH ANNUAL SESSION (Hawaii) , 2012. 5. 5-7.

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

後藤 滋巳 (GOTO, Shigemi)
愛知学院大学・歯学部・教授
研究者番号: 60142577

(2) 研究分担者

宮澤 健 (MIYAZAWA, Ken)
愛知学院大学・歯学部・教授
研究者番号: 60301636

(3) 連携研究者

田淵 雅子 (TABUCHI, Masako)
愛知学院大学・歯学部・講師
研究者番号: 30418925