

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25463165

研究課題名(和文)糖尿病患者における機械的刺激に対する微小血管応答性の変化とその要因

研究課題名(英文) Responses of microvasculature to mechanical stimulation on diabetic patients

研究代表者

飯田 順一郎 (IIDA, Junichiro)

北海道大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号：90151232

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)：糖尿病患者が矯正歯科治療の対象になる機会が増加している。そこで機械的刺激に対する微小血管の応答性に関して、健常動物と糖尿病動物の違いを検討した。

雄性シリアンゴールデンハムスターを用いstreptozotocinを腹腔内投与する方法で糖尿病を誘発した。背部皮下組織への間歇的な機械的圧刺激として、荷重時間を1秒とし非荷重時間を9秒から59秒の間で変化させ、健常群と糖尿病群における毛細血管径変化率、出血傾向および血管消失について変化を比較した。その結果、矯正力として正常な骨吸収に結びつく間歇的的刺激として、糖尿病群に対しては健常群よりも非荷重時間をより長く設定する必要があることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The opportunities have increased for the patients with diabetes to be subject to orthodontic treatment. The differences between healthy animals and diabetic animals was studied with respect to the response of the small blood vessels to mechanical stimuli. Male Syrian golden hamsters were used as an animal. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin. As intermittent mechanical stimulation to dorsal skin tissues, the load time of 1 second and then a varied non-load time from 9 seconds to 59 seconds were applied. The change of capillary diameter, the change for the bleeding tendency and blood vessels disappearance were compared between the healthy and the diabetic groups. As a result, it became clear that it is needed for the diabetic group to set a longer non-load time than the normal group, as intermittent orthodontic stimulation leading to normal bone resorption.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：矯正歯科治療 微小血管 器械的刺激 糖尿病 歯の移動

### 1. 研究開始当初の背景

近年、歯科矯正治療を希望する成人、高齢の患者が増加している。そのような環境の中で、糖尿病、または糖尿病予備軍が疑われる患者も増加傾向にあるとされている。従って、今後も糖尿病や糖尿病予備軍である患者が歯科矯正治療を希望する場面は増加すると考えられる。糖尿病患者における歯科矯正治療では、歯周組織の微小血管が健全に維持されることは、安全で効果的な治療のために必須な要素である。糖尿病における主要臓器に関する報告は多くあるが、高血糖下において矯正力を想定した機械的刺激に対する歯周組織の微小血管の反応に関しては不明な点が多い。また、これまで正常血糖下において機械的刺激により毛細血管が毛細血管後細静脈の太さまで拡張すると新たに単球系細胞が血管外へ遊走する場となり、骨吸収を促進することが明らかにされている。

矯正力には様々な作用様式があるが、いずれにおいても、臨床において厳密に力をコントロールすることは難しく、意図せず部分的に歯周組織を虚血状態にしてしまう可能性がある。間歇力は骨組織と歯根膜が再構成されるための休養期間を持つことになるため、最適な移動様式であるという報告がある。すなわち、間歇的な矯正力は、矯正歯科治療においては歯周組織の障害が少ない刺激方法と考えられている。

### 2. 研究の目的

以上の背景から、本研究では血流を再循環することにより一定時間の虚血状態を回避できる間歇力に着目した。本研究ではより短い荷重時間として1秒という荷重時間を設定し、電流を流すことで収縮する形状記憶合金製のワイヤーを用いて自動的にかつ秒単位での間歇力を発揮できる装置を作製した。また、これまで正常血糖下において機械的刺激を受けた毛細血管が毛細血管後細静脈の太さ

まで拡張すると新たに単球系細胞が血管外へ遊走する場となるという報告があり矯正力による歯の移動には、歯周組織の毛細血管を拡張させることが重要な要素であると考えられる。そこで、今回我々は、高血糖下において短時間の荷重付与を繰り返す間歇力を用いることで、不可逆的な組織傷害を引き起こすことなく毛細血管を拡張できるという仮説を立て、糖尿病を誘発したハムスターを用い、短時間の荷重付与による間歇力に対する微小血管の変化および血管構造を維持しつつ血管拡張が生じる時間条件について検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 【間歇的圧迫刺激法】

実験には6週齢雄性シリアンゴールドンハムスターを用い、全てのハムスターに、独自に考案した任意の時間間隔で圧刺激を加えることのできる荷重付与装置を付加したdorsal skinfold chamberの装着(図1)ならびに、外頸静脈へのカテーテル留置を行った。



(図1) dorsal skinfold chamber

荷重付与装置は、通電することにより収縮するアクチュエータとNi-Ti製のコイルスプリングを用いて一定の力を発揮するよう調整した。また、圧刺激を加える時間間隔は電子回路を作製し正確に規定した。過去の報告より、機械的刺激による貧血帯等の発生は刺激時間に比例することが知られている。そこで、貧血を引き起こさない荷重付与時間として本

実験では1秒間の荷重を用いた。そして、圧迫から十分に回復し貧血を防ぐことを目的に非荷重付与時間を長く設定した。荷重付与と非荷重付与をそれぞれ1秒間と9秒間(T10群)、1秒間と19秒間(T20群)、1秒間と29秒間(T30群)、1秒間と39秒間(T40群)、1秒間と59秒間(T60群)とした。

#### 【健常群(非糖尿病)における観察】

荷重付与と非荷重付与をそれぞれ1秒間と9秒間(T10群)、1秒間と19秒間(T20群)、1秒間と29秒間(T30群)の組み合わせで繰り返す3群と、荷重付与を行わない対照群の計4群(各5匹)に分け、5日間観察した。観察部位は圧迫部直下およびその周囲の微小血管とし、観察には実体顕微鏡と落射蛍光顕微鏡を用いた。落射蛍光顕微鏡での観察時には、体内に留置したカテーテルより蛍光標識剤(FITC-dextran)を投与した。初回の観察および記録終了後に荷重付与を開始した。全観察終了後に、記録した画像を用いて、毛細血管径の計測、毛細血管消失の評価を行った。血管消失の評価は、0日目と5日目の両日において血流が確認できる血管分岐点を任意に2か所設定し、この2点を結ぶ直線に対し垂直二等分線を設定した。この垂直二等分線と交わる血管数を0日目と5日目の画像内で比較し、消失した血管の割合を求めた。これらのデータを用いて、0日目と比較した各観察時点における毛細血管径の変化率、0日目と比較した5日目における毛細血管消失率を求めた。得られた結果は正規性を確認した後、ANOVAならびにTukey-HSD法を用いて検定を行った( $p < 0.01$ )。

#### 【糖尿病群における観察】

実験動物として健常群には6週齢雄性シリアンゴールデンハムスター4匹(以下normal群)と糖尿病群には5週齢雄性シリアンゴールデンハムスター16匹(糖尿群)を用いた。糖尿病誘発には、膵臓ランゲルハンス島 $\beta$ 細胞の萎縮、崩壊をもたらす低インスリン状態にする

streptozotocin(以下STZ)投与による方法を用いた。ジエチルエーテルにて吸入麻酔を施し、STZを体重1kg当たり50mgの割合で腹腔内に投与し、4日後の血糖値が150mg/dl以上でかつ体重減少を認めたハムスターを糖尿病群とし、装置装着時にnormal群と同様6週齢となるように調整した。糖尿病群は荷重を加えないcontrol群と3種類の条件で荷重を加える群の計4群(各群4匹ずつ)に分けた。間歇力として、荷重時間と非荷重時間を1秒と19秒で繰り返す条件をT20群とし、それぞれ1秒と39秒で繰り返す条件をT40群、1秒と59秒で繰り返す条件をT60群とし、荷重付与群(3群)を設定した。各群の微小血管および毛細血管の変化を、観察開始日を0日目として5日目まで合計6日間、実体顕微鏡および蛍光顕微鏡で観察し、毛細血管径変化率、出血傾向および血管消失について各群間における相違を比較した。

#### 4. 研究成果

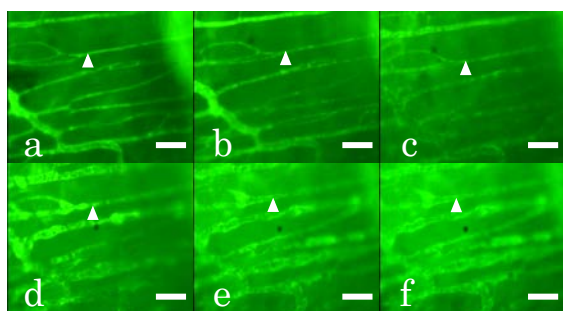
##### 【健常群(非糖尿病)における観察】

実体顕微鏡での観察より、T10群では圧迫部直下における貧血を認めた。また、T10群の一部では明らかな出血や、血管構造の破壊を認めた。一方、他群では全観察時点において圧迫部直下の血流は維持されていた。毛細血管径はT10群、T20群が他群と比較して有意に増大したが、観察最終日において両者間に有意な差はなく、T30群では全日、対照群との差を認めなかった。本研究における0日目の毛細血管径平均値は $6.1\mu\text{m}$ であったので、観察最終日においてT10群、T20群の毛細血管径は $8\mu\text{m}$ を超える太さに拡張していたことがわかった。毛細血管消失率はT10群が他群と比較して有意に高かった。

すなわち健常群においては、正常な骨吸収に結びつく間歇的刺激としてはT20の条件が適切な刺激であるとの結論を得た。

### 【糖尿病群における観察】

毛細血管径については、control群に比べT20群とT40群において有意に毛細血管径が増大していた。それに対し、T60群は経時的に増大傾向を認めたがcontrol群に比べ有意な差を認めなかった。0日目の毛細血管径の平均値が $6.2\mu\text{m}$ であったのに対し、T20群、T40群では3日目以降40%以上の増大を示したことから、両群における荷重条件は毛細血管を毛細血管後細静脈の太さまで拡張させる荷重付与条件であると考えられる(図2)。



(図2) T20群 毛細血管の経時的変化  
(scale bar= $100\mu\text{m}$ )

a:0日目 b:1日目 c:2日目 d:3日目 e:4日目 f:5日目

出血傾向については、T20群が他群に比べ有意に出血傾向が強く、血流が停止している部分を認めた。血管消失については、T20群において実体顕微鏡像で圧迫部直下の微小血管が消失しており、またT20群の毛細血管消失率が他群に比べ有意に高かった。

これらより、T20群、T40群における荷重条件は毛細血管を毛細血管後細静脈の太さまで拡張させる荷重付与条件であるが、T20群では荷重付与直下での微小血管の消失や、それによる血流の停止、また血管壁の破壊による著しい出血をもたらすことをふまえると、非荷重期間が短すぎるものと考えられる。それに対し、T60群は、出血や血管消失は少ないものの十分な血管拡張が生じない荷重条件であると考えられる。これらより、T40群に付与した荷重条件が今回の実験では血流を維持しつつ毛細血管を毛細血管後細静脈の太さまで拡張させる条

件であったと考える。

以上より、糖尿病を有するハムスターにおいては、1秒間の荷重付与と39秒間の非荷重付与を繰り返す間歇的矯正力を用いることで歯周組織の血管構造を維持しつつ、毛細血管が毛細血管後細静脈の太さまで拡張することが示唆された。

【結論】以上の結果より、糖尿病患者に対する間歇的な矯正力としては、刺激の間隔をより長く設定する必要があることが明らかとなった。

### 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1件)

- (1) Ohtsuka M, Kaneko T, Iida J : Effectiveness of training methods to improve orbicularis oris muscle endurance in patients with incompetent lips, *Orthodontic Waves* 74(4)、99-104、2015

[学会発表] (計3件)

- (1) 西川 瑛亮:糖尿病モデル動物における間歇的圧刺激による微小血管の形態変化、北海道歯学会総会・学術大会、2015-11-28、北海道大学(北海道・札幌市)
- (2) 正満 健斗、間歇的圧刺激による微小血管の反応、北海道歯学会総会・学術大会、2015-11-28、北海道大学(北海道・札幌市)
- (3) Junichiro Iida、Considerations of retention in orthodontic treatment、The 48<sup>th</sup> Annual Scientific Congress Korean Association of Orthodontists (招待講演・国際学会)、2015-10-30、Kwangju、(Korea)

〔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〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

飯田 順一郎 (IIDA, Junichiro)  
北海道大学・大学院歯学研究科・教授  
研究者番号：9 0 1 5 1 2 3 2

### (2) 研究協力者

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：0 0 2 5 0 4 6 5

西川 瑛亮 (NISHIKAWA, Eisuke)  
北海道大学・大学院歯学研究科・大学院生

正満 健斗 (SHOMAN, Kento)  
北海道大学・大学院歯学研究科・大学院生