

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 9 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861774

研究課題名(和文) 進行性下顎頭吸収の発症メカニズムの分子生物学的解析

研究課題名(英文) Molecular biological analysis of disease developing mechanism of progressive condylar resorption

研究代表者

野上 晋之介(NOGAMI, Shinnosuke)

東北大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：70573575

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はウサギ顎関節に対して機械的伸展ストレスおよび機械的圧縮ストレスを与え、下顎頭の形態にどのような影響を及ぼすのかを検討した。前方延長では下顎頭前面部において有意に骨吸収を認めた。HE染色において骨の吸収がみられ、TRAP陽性を示す破骨細胞が多く存在していた。軟骨組織の減少に伴い軟骨細胞外基質の型コラーゲンが減少していた。前方延長することで顎関節部では下顎頭前面と関節円板とに機械的圧縮ストレスが生じていることが考えられた。ウサギ顎関節は過度な機械的圧縮ストレスに対して許容力が小さいことが考えられた。下顎頭吸収には軟骨細胞の関与の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the influence of mechanical stress on the temporomandibular joint (TMJ) in a rabbit model. We divided the rabbits into 2 groups, traction and compressive, and compared them at each period. Tractional mechanical stress led to changes in the form of the condyle, including significantly reduced bone volume and decreased bone mineral density. In addition, the number of TRAP-positive cells was increased in the traction group during each period. Furthermore, subchondral bone formation disorders were more prominent in the traction group as compared to the compressive group. Our findings demonstrated that the TMJ may be more affected by tractional than compressive mechanical stress. Moreover, we speculate that condylar resorption is related to subchondral cells, though findings following immunohistochemical staining are needed as part of a future examination.

研究分野：病態科学系歯学・歯科放射線学

キーワード：進行性下顎頭吸収 仮骨延長 サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

(1) 研究の学術的な背景

顎顔面領域における仮骨延長術は、顎骨の発育障害を伴う種々の先天性疾患、発育異常、腫瘍切除後の顎骨再建、萎縮した顎堤の増生などに幅広く適用される。当科では、骨格性下顎後退症に対して仮骨延長術を用いることが多く、ウサギを用いた下顎骨仮骨延長術の骨化様式に関する研究を行ってきた。

国内外で下顎後退症に対して行う、仮骨延長術の有用性に関する多くの報告がある。一方で、Arnett は仮骨延長術後の進行性下顎頭吸収 (Progressive Condylar Resorption: PCR) を初めて報告し、本邦においては発症頻度は欧米と比較しても高い発症頻度で報告されている。現在、リウマチ性関節炎や全身エリテマトーデスなどの全身疾患との関わりや、下顎骨の前・後方移動に伴う下顎頭への負担過重や一時的な血液供給の不足、さらに女性に好発することから性ホルモンとの関連性が指摘されているが、その発症原因は未だ明らかにされていない。

(2) 本研究の国内外の研究の動向

本研究に関連する研究に、顎矯正手術後に PCR を発症した女性患者のエストロゲンを測定した臨床研究の報告があるが、PCR 発症の原因を解明する基礎研究は乏しい限りでは報告はなかった。当科における臨床統計では PCR を認めた症例は全て成人女性であり、低容量ビルの内服歴があった。さらに顎関節症に対する治療歴も有していた。これらの術前の MRI 所見では関節円板の非復位性の前方転位があり、さらには Joint Effusion を認めていた。したがって顎関節症の治療歴さらには低容量ビルの内服歴がある骨格性下顎後退症患者の術前の MRI で顎関節病態を把握することは、PCR 発症のリスクを考える上で非常に重要と考える。近年、Gunson らは PCR 発症に骨破壊の基礎的病態を形成している、関節腔内の炎症性サイトカインの関与の可能性を指摘している。炎症性サイトカインは顎関節症患者、特に OA 患者において高率に認められることは多くの研究者たちが報告してきた。顎関節部における過度なメカニカルストレスが PCR にも関係しているのではないかと Gunson らは示している。

2. 研究の目的

今回、PCR 発症メカニズム解明を目的に、ウサギ下顎骨延長モデルで下顎骨を前後方向へ移動させ、顎関節腔に対して下顎頭を圧縮・伸展させることで、関節腔内の滑液中の破骨細胞誘導系サイトカインを検出し、下顎頭部の骨吸収の程度を比較検証することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 実験動物

実験動物には生後 4~6 か月、体重 3.0~3.5kg の健常な雄のウサギ(日本白色種)、27羽

を使用した。

(2) 実験方法

ウサギを塩酸ケタミン 60mg/kg 筋注とペントバルビタールナトリウム 0.35mg/kg 緩徐静注による全身麻酔を施す。顎下部正中切開で両側の下顎骨下縁を露出させ、皮質骨骨切りは下顎最後臼歯後方で行った。骨切り部位から対称的にキルシュナーワイヤー(直径 2.0mm)を2本ずつ計4本経皮的に貫通させ、結紮線と即時重合レジジンによって自作製延長装置と固定した。前方へ延長させたものを下顎頭部の圧縮群 (Compressive group: C)、後方へ延長させたものを伸展群 (Tractional group: T) の2群に分けた。各群、待機期間を設けずに 0.25mm/回を2回/日のペースで7日間、計3.5mmの延長を行った。術後は感染予防にセファゾリンナトリウム 50mg/kg/日を筋注投与した。各群延長終了直後、1週間後、2週間後、4週間後に3羽(6側)ずつ計24羽(48側)の試料採取し、下顎頭部の骨吸収を画像検査・組織学的検査により検証した。

それぞれの待機期間において安楽死させ、顎関節の滑液採取ならびに下顎骨を採取した。採取した試料を10%ホルマリン液で固定した。なお、対照群は延長器の装着をしないもの3羽(6側)とした。

(3) 評価

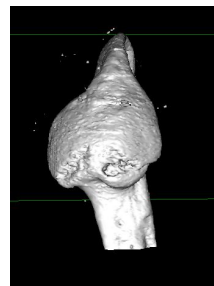
マイクロフォーカス CT にて、骨吸収部の微細構造評価。三次元画像構築作成。

組織学的検討: 下顎頭部を中央で2つに分割し、脱灰標本、非脱灰標本に分けて染色。染色法 (HE; ヘマトキシリン・エオジン染色、TRAP; 酒石酸耐性酸フォスファターゼ染色)

分子生物学的解析: ウサギ顎関節内滑液の解析。ELISA 法を用いて IL-1 β 、IL-6、TNF- α のタンパク量を測定。

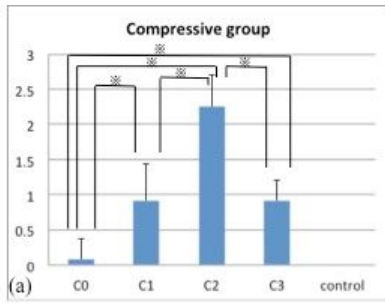
4. 研究成果

(1) マイクロフォーカス CT による評価 : 吸収範囲の比較

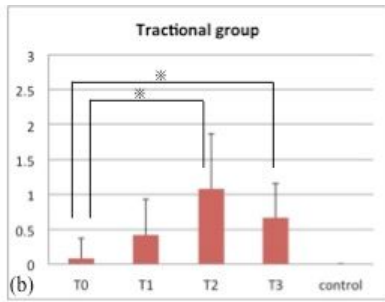


下顎頭前面の吸収範囲を以下のようにスコア化した。

スコア 0: 吸収なし、スコア 1: 1/3 以下の吸収、スコア 2: 1/3~2/3 の吸収、スコア 3: 2/3 以上の吸収

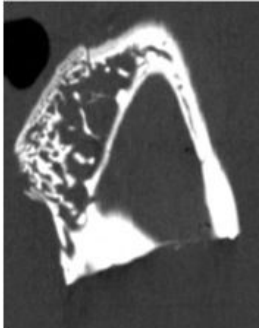


圧縮群では延長終了後 2 週目(C2)がより顕著に広い範囲で吸収が生じていた。



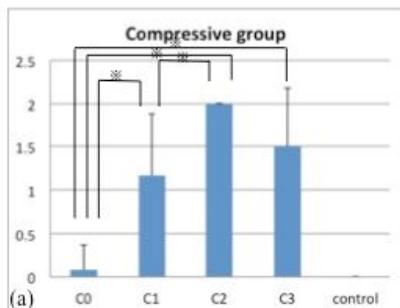
伸展群においても延長終了後 2 週目(T2)において広い範囲で吸収を認めたが、圧縮群と比較すると平均スコアは低かった。

：吸収の深さの比較

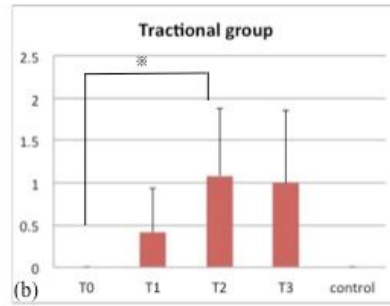


下顎頭矢状面の吸収の深さを以下のようにスコア化した。

スコア 0:吸収なし、スコア 1:皮質骨にとどまる吸収、スコア 2:海綿骨にまで及ぶ吸収



圧縮群では延長終了後 2 週目(C2)がより深く吸収しており、1 週目(C1)、4 週目(C3)においても皮質骨の吸収を認めていた。

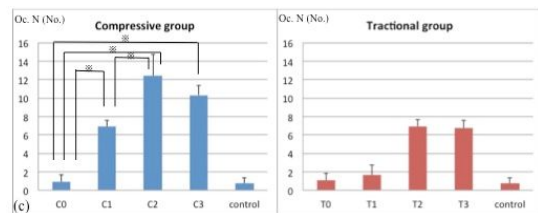
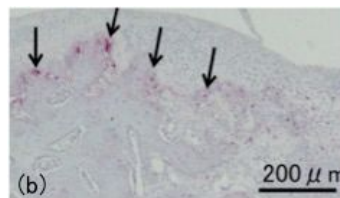
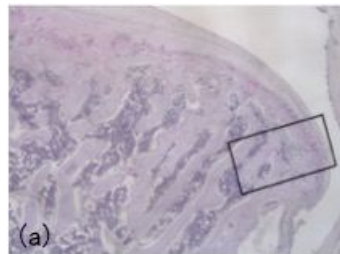


伸展群では延長終了後 2 週目(T2)、4 週目(T3)で皮質骨の吸収を認めていたが圧縮群と比較すると平均スコアは低かった。

以上より画像評価において過度な圧縮力では下顎頭はより吸収することが証明された。

(2) 組織学的評価

HE 染色においても圧縮群では伸展群と比較して下顎頭の吸収をより深く認めた。その部位における TRAP 染色では破骨細胞数を比較した。



TRAP 陽性破骨細胞も伸展群と比較して圧縮群において有意に多く認められ、特に延長終了後 2 週目(C2)において多く認められた。

(3) 分子生物学的解析

ウサギ顎関節内滑液の回収を終了し ELISA 法を用いて IL-1 β 、IL-6、TNF- α のタンパク量を測定中であり、その結果のまとめと考察は終了していない。そのため次回の新規申請しすでに採択済みの継続研究において発表を行う予定である。

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 3 件)

Nogami S, Yamauchi K, Shiiba S, Kataoka Y, Hirayama B, Takahashi T. Evaluation of the treatment modalities for neurosensory disturbances of the inferior alveolar nerve following retromolar bone harvesting for bone augmentation. **Pain Med**, 査読有, 16(3):501-12,2015

Nogami S, Yamauchi K, Yamashita T, Kataoka Y, Hirayama B, Tanaka K, Takahashi T. Elderly patients with maxillofacial trauma: study of mandibular condyle fractures. **Dent Traumatol**, 査読有, 31(1):73-6,2015

Nogami S, Yamauchi K, Kataoka Y, Takano H, Yamashita Y, Takahashi T. Clinical comparison between arthrocentesis and conventional conservative treatment with maxillomandibular fixation for unilateral high condylar fractures. **J Oral Rehabil**, 査読有, 41(2):141-7,2014

〔学会発表〕(計 3 件)

野上晋之介、山内健介、清水良央、平山聞一、Gerarudo Martinez、斎藤 悠、片岡良浩、樋口景介、千葉雅俊、高橋 哲
ウサギ下顎骨延長モデルを用いた下顎頭吸収の形態に関する免疫組織学的検討
第 60 回(社)日本口腔外科学会総会・学術大会
2015/10/16-18 (名古屋)

野上晋之介、山内健介、平山聞一、ヘラルド マルチネス、阿部陽子、山口佳宏、高橋 哲 機械的負荷がウサギ顎関節に及ぼす影響について-機械的伸展刺激と機械的圧縮刺激の比較-第 25 回日本顎変形症学会総会・学術大会 2015/6/4-5(東京)：優秀ポスター賞

Nogami S, Yamauchi K, Shimizu Y, Hirayama B, Gerardo Martinez, Tanaka K, Iikubo M, Takahashi T.
Influence of mechanical stresses for temporomandibular joint in a rabbit model-
Experimental comparison between tractional and compressive mechanical stresses-

第 56 回大韓口腔顎顔面外科学会
2015/4/25—27 (Seoul, South Korea) : The Best
Poster Presentation Award

〔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：
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
野上晋之介 (NOGAMI, Shinnosuke)
東北大学大学院歯学研究科・助教
研究者番号：70573575

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：