

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：33602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25463206

研究課題名(和文) 加齢に伴う矯正歯の移動における歯根膜組織の細胞活性能

研究課題名(英文) Effects of aging on cell proliferation and orthodontic tooth movement

研究代表者

影山 徹 (Kageyama, Toru)

松本歯科大学・歯学部・准教授

研究者番号：80319102

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)：歯根膜組織の改造活性能と矯正歯の移動量との関係について解析した。10週～80週齢のラット上顎臼歯を2週間牽引した。歯根膜内の分裂細胞活性免疫染色(CD34, PCNA)を行い、陽性細胞数を定量化した。また同部位に骨吸収活性染色(TRAP)を行い、歯根周囲組織改造活性の指標とした。実験開始2週間後、1)歯の移動量は加齢と共に有意に減少した。2)歯根膜内における細胞の分裂能による検索ではCD34陽性細胞数は実験群では対照群と比較し多く観察されたが、加齢に伴い減少する傾向が認められた。また、3)骨吸収に関する検索では破骨細胞数は実験群では対照群と比較し多く観察されたが、加齢に伴い有意に減少した。

研究成果の概要(英文)：This study was to investigate the effects of aging on the amount of tooth movement and changes of cell proliferation in the periodontal tissue adjacent to orthodontically treated tooth roots. Maxillary molars(M1) of rats (10 to 80 weeks age) were retracted 2 weeks. Amount of tooth movement was measured the distance and the changes in periodontal tissue turnover were assessed histochemically and immunohistochemically (TRAP or CD34 activity). Two weeks after the start of tooth movement, the amount of tooth movement was decreased with age and was significantly different among the age groups. The quantitative analysis demonstrated that, in experimental groups, the number of CD34 positive cell in periodontal membrane increased significantly compared with that of each age-matched untreated group. However, the rate of increase decreased in an age-related manner. These results suggest that the age-dependent decrease angiogenesis activity, might decrease the amount of tooth movement.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：歯の移動 歯根膜組織 加齢

1. 研究開始当初の背景

矯正臨床において、成長期に行う矯正治療より成人矯正では治療が長期に及ぶことが知られている。一方、歯科矯正基礎分野においては歯周組織の加齢変化に関して、骨形成活性および骨吸収活性が低下することが矯正歯の移動に影響を与えることが知られているものの、加齢による歯根膜内の細胞活性能についてはいまだ解析が進んでいない。歯の移動実験については加齢により歯の移動量は低下する研究結果が得られているが (Angle Orthod. Vol67(1):67-72 1997)、加齢を伴う歯の移動と歯根膜組織の改造活性の関係については未だ明らかにされていない。加齢に伴う実験的歯の移動における歯根周囲歯槽骨の改造活性能については、申請者の研究グループによって、6 週齢から 100 週齢までのラットを資料として使用し、生理的条件下での加齢に伴う連続的な歯根周囲歯槽骨の骨吸収活性および骨形成活性を定量化した (Arch.Oral Biol 2007; 52: 44-50.) 後に、10 週齢から 80 週齢について歯の移動実験を行い、歯の移動量、骨吸収活性、骨形成活性の解析をし、その成果を報告 (Eur J Oral Sci 2007; 115: 124-130.) した。これらの活性は歯根膜の細胞分裂能より促されると考えられ、加齢と歯根膜組織の改造活性を増強するために、特に歯根膜内の血管新生が矯正歯の移動にどのように関係しているのか明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

申請者は加齢に伴う実験的歯の移動における歯根周囲歯槽骨の改造活性能を研究し、加齢に伴い歯根周囲歯槽骨の骨吸収活性および骨形成活性は低下することにより、矯正歯の移動量が減少することを見出した (Arch.Oral Biol 2007; 52: 44-50., Eur J Oral Sci 2007; 115: 124-130.)。加齢と歯根膜組織の改造活性の関係については未だ明らかにされておらず、特に歯根膜内の細胞分裂能が矯正歯の移動にどのように関係しているのか明らかにする必要がある。そこで、本研究では、10 週齢から 80 週齢のラット上顎第一臼歯を同一な規格で近心移動が可能な装置により実験的歯の移動を行った際、血管新生を主とした歯根膜組織の細胞活性と矯正歯の移動量との関係について解析することである。

3. 研究の方法

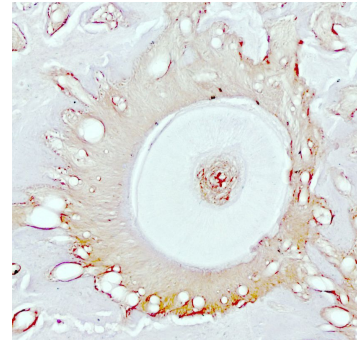
(1)加齢モデル動物

実験モデルには生理的条件下においてモデリングパターンが一定しており、骨代謝が活発であるラットを用いた。加齢モデルは骨形成活性および骨吸収活性が各週齢にお

いて明らかとなっている 10、30、50、80 週齢の Wistar 系雄性ラットを用いた。

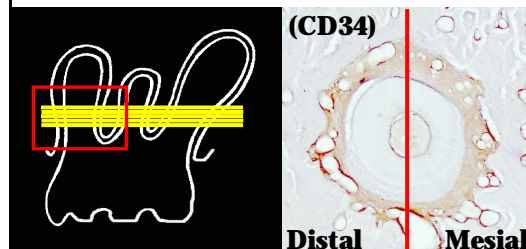
(2)観察部位

本研究における観察部位は、骨形成および骨吸収のパターンがはっきりしており、観察に適している上顎第一臼歯の遠心舌側根とした。上顎第一臼歯の遠心舌側根の歯髄および歯根膜では CD34 陽性細胞が多数観察される (図 1)。



(図 1)

(3) 生理的状況下における分裂細胞活性
上顎第一臼歯の模式図および上顎第一臼歯遠心口蓋根の拡大像を図に示す (図 2)。



(図 2)

脱灰標本より観察部位である M1 の咬合面と平行に根分岐部直下から厚さ約 5 μm の水平断連続切片を作製した。この中から 20 μm おきの 5 ブロックを計測試料とした。CD34 による免疫染色を行い、各週齢による歯の移動量及び CD34 陽性細胞数をそれぞれ定量化した。M1 遠心口蓋根は近心側、遠心側に 2 分し、CD34 陽性細胞を計測した。また、歯槽骨壁の周長および、歯根膜の面積を画像解析ソフトウェア (NIH image. Version 1.62 National Institutes of Health, USA) を使用し計測した。

上記により得られたデータより、

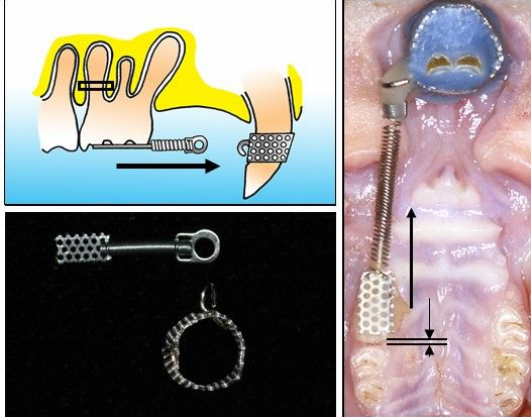
歯槽壁上の CD34 陽性細胞数/歯槽壁周長
および歯槽壁 1 mm あたりの CD34 陽性細胞数 (N. CD34c/BS. number /mm)

歯根膜面積における CD34 陽性細胞数および単位面積あたりの CD34 陽性細胞数 (N. CD34c/area. number /mm²)

をそれぞれ算出し、歯槽壁周長および歯根膜組織単位面積における CD34 陽性細胞数について、10 週齢から 80 週齢による分散分析

(ANOVA) を行った。

(4) 実験的歯の移動における分裂細胞活性歯の移動に用いた矯正装置を図に示す(図3)。

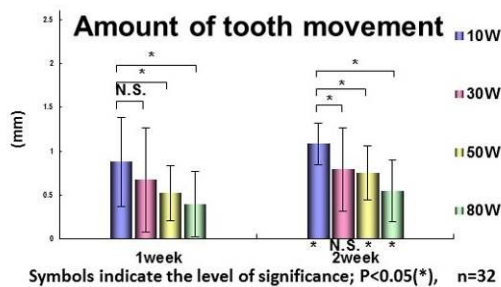


(図3)

各群の実験終了後、歯根周囲の変化を全体的に把握するために、脱灰標本より通法に従い厚さ約 3~5 μm の水平断連続切片を作製し、H-E 染色の一般組織染色により各週齢による歯根膜面積を計測した。歯根膜内の分裂細胞活性は CD34 活性免疫染色を行い、各週齢による陽性細胞数をそれぞれ定量化した。また同部位に Tetracycline-resistant acid phosphatase (TRAP) 活性染色を行い、各週齢による破骨細胞数を歯根周囲組織改造活性の指標とし、統計処理を行った。

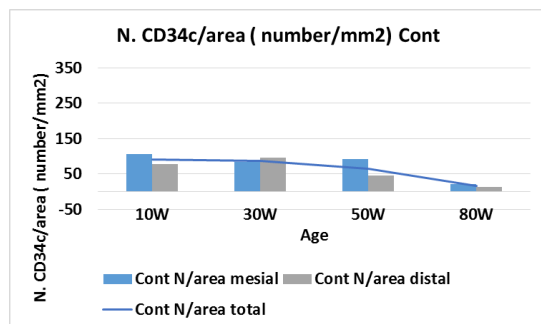
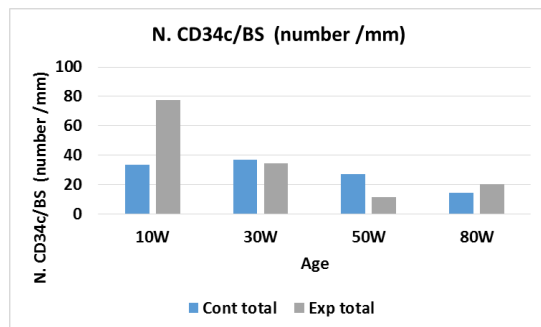
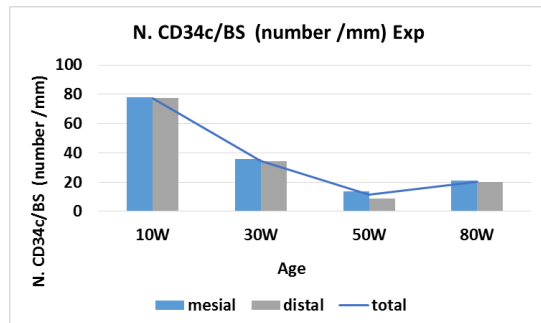
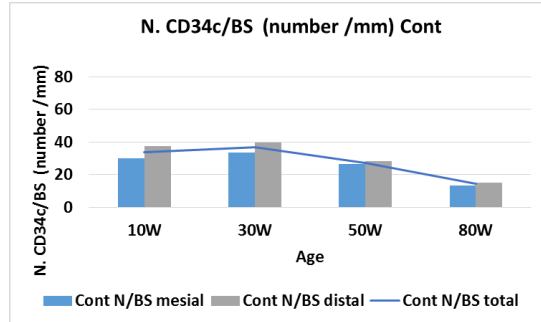
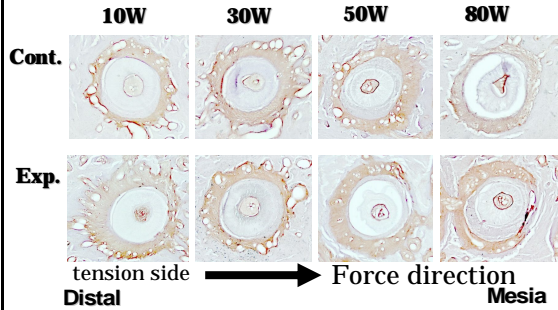
4. 研究成果

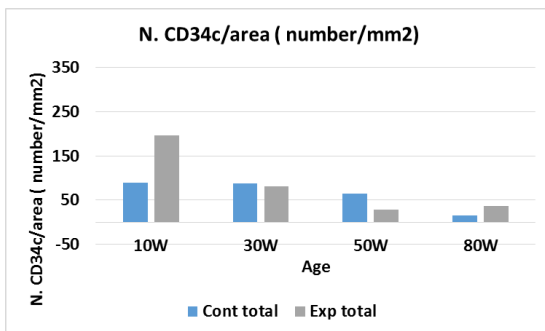
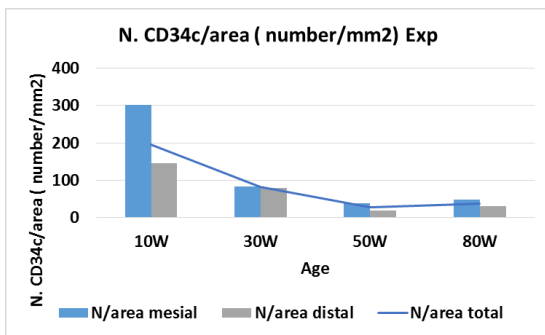
実験開始 1 週間後および 2 週間後の歯の移動距離の計測において、(1) 歯の移動量は加齢と共に有意に減少した(図3)。



(図3)

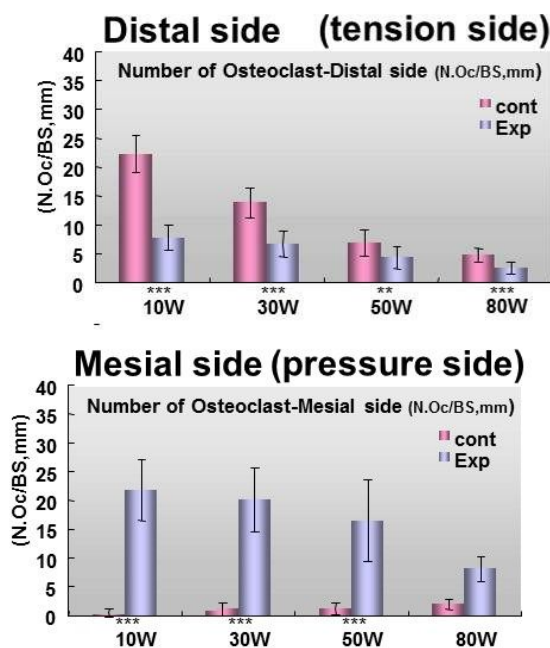
(2) 歯根膜内における細胞の分裂能による検索では CD34 陽性細胞数は実験群では対照群と比較し多く観察されたが、加齢に伴い減少する傾向が認められた(図4)。





(図 4)

また、骨吸収に関する検索では破骨細胞数は実験群では対照群と比較し多く観察されたが、加齢に伴い有意に減少した(図 5)。



(図 5)

以上の結果より、加齢による歯根膜内における血管形成能の減少は歯根周囲組織の改造活性に影響を与える可能性が示唆された。

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)

影山 徹, 山田一尋 松本歯科大学でおこなわれている基礎・臨床研究を踏まえて実践する臨床の現状. 甲北信越矯正歯誌 24(1)11-7, 2016.

〔学会発表〕(計 4 件)

Kageyama T, Yamada K and Sahara N Effects of aging and stimulation by non-contacted pulsed radiofrequency on orthodontic tooth movement 日本矯正歯科学会大会(第 74 回) 2015 年 11 月 20 日. 福岡国際会議場(福岡県福岡市)

Kageyama T, Yamada K and Sahara N. Effects of non-contacted pulsed radiofrequency on cell activity and orthodontic tooth movement. 8th International Orthodontic Congress 2015 年 9 月 29 日 ExCel London(英国, ロンドン)

影山 徹, 山田一尋 松本歯科大学でおこなわれている基礎・臨床研究を踏まえて実践する臨床の現状. 甲北信越矯正歯科学会(第 30 回)シンポジウム 2015 年 7 月 19 日 朱鷺メッセ(新潟県新潟市)

Kageyama T, Yamada K and Sahara N. Effects of aging on cell proliferation and orthodontic tooth movement. The 11th Congress of European Orthodontic society 2014 年 7 月 Place of Culture and Science(ワルシャワ, ポーランド)

〔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

影山 徹 (KAGEYAMA, Toru)

松本歯科大学・歯学部・准教授

研究者番号：80319102

(2) 研究分担者

山田 一尋 (YAMADA, Kazuhiro)

松本歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：40182521

(3) 連携研究者

()

研究者番号：