

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：33902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25463207

研究課題名(和文)臨床応用を目指した固定源のための生体内吸収性メッシュ状オンプラントシステムの開発

研究課題名(英文)Clinical application of the new bioabsorbed mesh onplant system for orthodontic anchorage

研究代表者

宮澤 健 (Miyazawa, Ken)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：60301636

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)：固定源となる生体内吸収性メッシュ状オンプラントシステムの開発を目的とし、オンプラントと組み合わせる薬剤として破骨細胞吸収抑制剤に着目した。第一にウサギ膝関節に骨欠損を作製し、骨吸収抑制剤ビスフォスフォネート(BPs)をBMP含有牛由来脱灰象牙質基質(DDM)に複合化し、移植後修復能を計測した。その結果、高用量BPsはDDMの骨修復能を抑制することが示唆された。第二に、同じく骨吸収抑制剤リベロマイシンA(RMA)をOPGKOマウスに用いた結果、RMAはOPGKOマウスの歯槽骨吸収を強力に抑制した。以上より2つの骨吸収抑制剤は応用の方法により生体内吸収性オンプラントの骨増生を促し有効と示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to development new bioabsorbed mesh onplant system for orthodontic anchorage. Firstly, we prepared a full-thickness osteochondral defect in the patellar fossa of rabbits, added a bisphosphonate (BPs) preparation to bovine tooth-derived Demineralized Dentin Matrix (DDM), which has its own osteochondral repair ability, and investigated osteochondral repair ability in the defects. As a result, we suggested that the addition of high-dose BPs inhibits the osteochondral repair ability of DDM. Secondly, the study was to identify the effect of Reveromycin A (RMA) on inhibiting bone resorption in OPG KO mice. Moreover, RMA reduce alveolar bone loss in OPG KO mice.

These data suggested that two unique agents for inhibiting osteoclast activity might increase the bone formation on bioabsorbed mesh onplant system.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：歯科矯正学 生体吸収性 オンプラント 矯正用アンカースクリュー BMP CT

1. 研究開始当初の背景

歯科矯正治療を効率よく行うためには歯を動かすだけでなく、移動させたくない歯は動かないようにする必要がある。よって、歯科矯正治療を効率よく遂行するためには、固定源の確保が非常に重要であると考えられる。われわれは1995年よりスケルタルアンカレッジの矯正治療への応用について研究しており、骨表面に設置する骨膜下オンプラントが矯正治療の固定源として有用であることを報告した。しかし、矯正治療の後には除去手術が必要であり、外科的侵襲をいかに軽減させるかが課題であった。

また、現在矯正歯科治療では強固な固定を得るために、チタン製ミニスクリューを用いた骨内部での固定が用いられている。しかしこれら骨内部での固定では、外科的侵襲に加え、歯根や神経への侵襲や破折のおそれがあった。

2. 研究の目的

そこで歯槽骨内部に埋入せず、骨表面に設置して固定を行う吸収性矯正用オンプラントシステムの発想に至り、BMP(骨形成因子)をオンプラント体表面に複合化することにより、骨表面の自由な部位に短期間で強固な骨性結合が得られ、加えて矯正治療後は生体内で吸収されて撤去手術の必要がない歯科矯正治療専用の新しいオンプラントの開発を本研究の目的とした。

(1)まず将来ヒトに応用することを目的として生体吸収性メッシュ状オンプラントの植立部位の検討を行うために、現在矯正歯科治療で使用している装置についてフォースシステムの検討と効果を検討することとした。

(2)またオンプラント体を植立後、早期にかつ旺盛に骨修復を促進することが必要であるため、BMPを含有する脱灰された抜去歯牙(DDM)を吸収性高分子材料のモデルとして骨修復能を検討することとした。加えてBMPを含有している脱灰された抜去歯牙(DDM)単独と、骨吸収抑制剤ビスフォスフォネート(BPs)を直接DDMに添加したものをウサギの膝関節に作製した骨欠損に移植し、BPsの直接投与がDDMの骨修復能に及ぼす影響も検討することとした。

(3)さらに近年では、成人の矯正治療患者が増加し、骨粗鬆症や歯周病を有すると、治療中に骨代謝のバランスが崩れ、歯槽骨の骨吸収が生じる可能性がある。オンプラントは成人に使用する事が予想されることから、骨代謝を薬剤でコントロールしてより強固な固定源を得ることを目的に、従来用いられているBPsではなく、選択的破骨細胞抑制剤であるリベロマイシンAの投与が高回転型骨粗鬆症モデルマウスOPGKOマウスに及ぼす影響についても検討を行うこととした。

3. 研究の方法

(1)矯正治療の固定について-治療期間の違いについて-

上顎前突のうち、最大の固定が必要な患者57人(男性9人、女性48人)を以下の2群に分けた。従来からのハイプルヘッドギアを用いるヘッドギア群(図1)32例と正中口蓋部にミニスクリューを植立したミニスクリュー群(図2)25例を対象とした。調査する項目としては、上顎前歯が一塊として舌側移動するのに要する期間、全体の治療期間、治療前後のANB角の変化について比較検討を行った。



図1



図2

(2)ビスフォスフォネートの直接投与が骨軟骨修復に及ぼす影響について

①対象

13週齢の雄性ウサギを用い、大腿骨膝蓋窩に軟骨下骨を貫通して海綿骨に達する直径5.0mm×深さ6.0mmの関節軟骨全層欠損を作製した。これらを以下の4群に分けた。

対照群としてGroup1は骨欠損のみ。Group2はUristらの方法を一部改良して作成した脱灰歯牙象牙質基質(DDM)のみを100mg埋植した。実験群としてGroup3はDDM100mgにアレンドロン酸ナトリウム水和物(テイロック)1 μ gを埋植したもの、Group4はDDM100mgにBPs10 μ gを添加したもの、Group5はDDM100mgにBPs100 μ gを添加したものを埋植した。Group6はDDM100mgにBPs200 μ gを添加したものとした。

②肉眼的評価

欠損部修復面の表面滑沢性、色調、凹凸による修復状態を観察、評価した。

③骨軟骨構造解析

摘出した膝関節は硬組織のみを抽出してBV/TVを計測した。膝蓋窩頭頂部から膝蓋窩最深部までの垂直的な最大距離を最大深さとして計測した。

④組織学的解析

通法に従い非脱灰研磨切片を作製し、サフランin-O染色で観察した。9週における関節軟骨欠損の組織修復について定量化を行った。

(3) リベロマイシン A (RMA) 投与が歯周組織へ与える影響について

①対象

上顎左側第一臼歯、第二臼歯間に矯正用結紮線直径 0.1mm のステンレススチールワイヤーを結紮し作成した、実験的歯周炎のモデルマウスを用い、8 週齢の OPGKO マウスと WT マウス (n=4) に RMA (リベロマイシン A) を矯正用結紮線を結紮する 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。

結紮線の装着部位と模式図を下記に示す。(図 3)

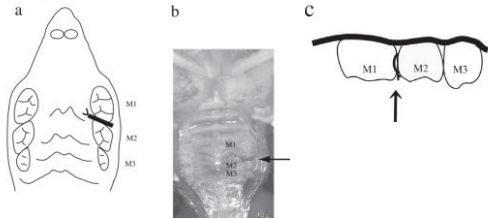


図 3

②マイクロ CT 撮影

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 撮影を行った。歯槽骨の残存率を計測するために第一臼歯と第二臼歯間に残存している骨の割合を歯槽骨残存率とした。(図 4)

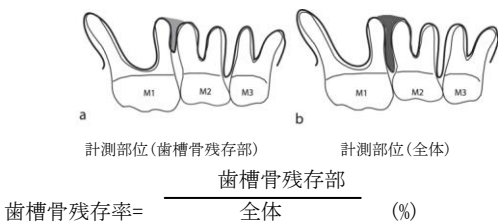


図 4

③組織学的観察

採取した上顎骨を 10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定し、10%EDTA で 4 週間、4°C の条件で脱灰し、通法に従いパラフィン包埋し連続切片を作成した。その後、ヘマトキシリンエオジン染色 (H. E. 染色)、TRAP 染色を行った。TRAP 染色を行った後、破骨細胞数は第一臼歯と第二臼歯間の歯槽中隔部の歯槽突起部表面の破骨細胞数を計測した。さらに、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 による免疫染色を行い、光学顕微鏡下で歯周組織を観察した。

4. 研究成果

(1) 矯正治療の固定について-治療期間の違いから-

①治療期間について

上顎前歯一塊舌側移動の期間についてはミニスクリュー群はヘッドギアー群よりも 4 か月長く、有意差が認められた。しかし、全体の治療期間においては 2 群間では有意差は認められなかった。

②骨格性の変化について

治療前での 2 群間における ANB 角については、ミニスクリュー群はヘッドギアー群よりも有意に大きかった。

治療前後の ANB 角は、ミニスクリュー群がヘッドギアー群よりも有意に大きく変化していた。(表 1)

	Headgear group	Miniscrew group	p-value*
Pre-treatment effective ANB angle (°)	5.62±2.13	8.93±2.43	0.000 [†]
Effective ANB angle changes (°)	0.94±0.54	2.14±0.32	0.034 [‡]

[†]p < 0.001; [‡]p < 0.05. 表 1

(2) ビスフォスフォネートの直接投与が骨軟骨修復に及ぼす影響について

①肉眼的所見

Group1 と 5 では骨欠損部辺縁との境界は明瞭で修復は不完全であった。Group 2, 3, 4 では陥凹はほとんどみられず修復された軟骨の表面は滑らかで修復の程度は良好であった。Group 6 では骨欠損部の陥凹が認められ、骨欠損部辺縁との境界は明瞭で修復は不完全であった。(図 5)

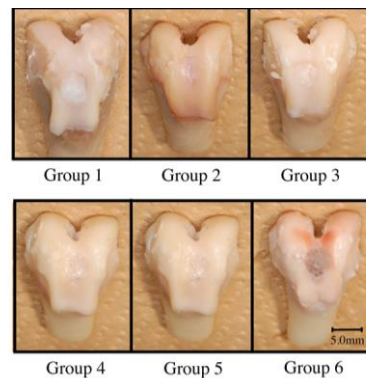


図 5

②骨軟骨構造解析について

Group1, 6 では欠損中央部に新生骨の形成は認められなかった。Group2 では深い陥凹はあるが欠損中央部に骨のような組織が形成された。Group3 では活発な骨形成が行われ、骨修復が認められた。Group4 では骨欠損部の骨修復は少なく Group5 では修復はわずかであった。(図 6)

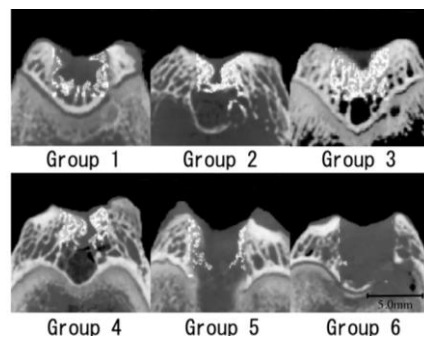


図 6

BV/TV 値においては Group3 は Group1 よりも高く、Group2 よりも高い傾向であった。Group5 と 6 の BV/TV 値は Group2 と 3 より低かった。(図 7)

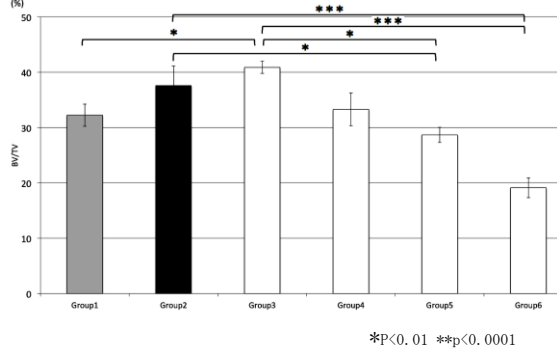


図 7

③組織学的解析

Group1 では骨欠損中央部の新生骨は菲薄であった。Group2 では欠損部全体に周囲と変わらない厚みの修復骨が認められ、Group3 では十分な修復骨が認められた。Group4, 5 では骨修復はわずかであり、骨梁の連続性は認められず、Group6 では骨修復は認められなかった。(図 8)

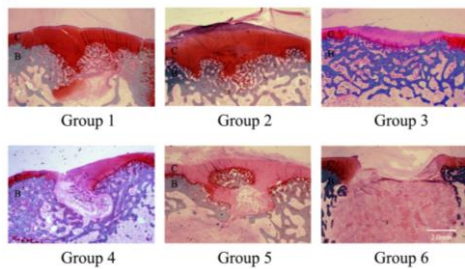


図 8

組織学的スコアリングについて

Group6 ではスコアは 0 であり、軟骨再生は認められなかった。Group5 は Group2 と比較して有意に低い軟骨修復スコアであった。(表 2)

	Cell morphology	Surface regularity	Integration of donor to host adjacent	Matrix staining	Thickness of cartilage	Total score
Group1	3.7±0.3	2.7±0.3	2.0±0	2.7±0.3	1.3±0.3*	12.4±1.2*
Group2	4.0±0	3.0±0	2.0±0	3.0±0	2.0±0	14.0±0
Group3	4.0±0	3.0±0	2.0±0	3.0±0	2.0±0	14.0±0
Group4	4.0±0	2.4±0.3*	2.0±0	2.7±0.3	1.7±0.3	12.8±0.9*
Group5	3.7±0.3	1.7±0.3**	1.0±0	2.4±0.3*	1.3±0.3*	10.1±1.2**
Group6	0***	0***	0	0***	0***	0***

*p<0.01, **p<0.001, ***p<0.0001 (vs group2)

表 2

(3) リベロマイシン A 投与が歯周組織に及ぼす影響について

①マイクロ CT 写真所見

結紮線装着から 4 週後と 8 週後の間で骨残存率は WT マウス、OPGKO マウスとも RMA 非投与群において有意に減少していた。しかし、4 週後から 8 週後の間では WT マウス、OPGKO マウスともに RMA 非投与群において有意差は認められなかった。

また、4 週後には WT マウス、OPGKO マウスともに RNA 投与群と非投与群間に有意差はな

かった。8 週後には OPGKO マウス RNA 投与群は RNA 非投与群に比べて有意に高い値を示した。

WT マウスは RNA 投与群と非投与群では有意差は認められなかった。(図 9)

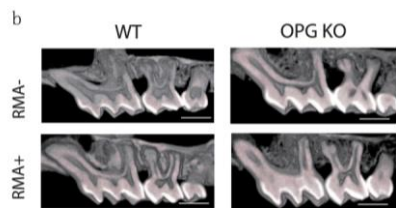
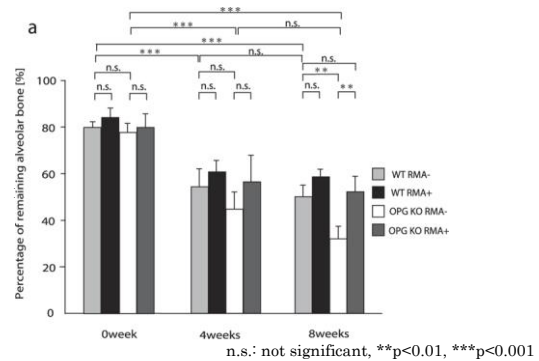


図 9

②組織学的所見について

8 週後において OPGKO マウス RMA 非投与群は WT マウス RMA 非投与群と比較して骨が疎になっている所見が認められた。また、CEJ から歯周ポケット底部までの距離は有意差は認められなかった。

また、両群のマウスとも RMA 投与群は歯槽骨の高さが保たれ、CEJ から歯周ポケット底部までの距離の割合は RMA 投与群において距離の減少が認められた。(図 10)

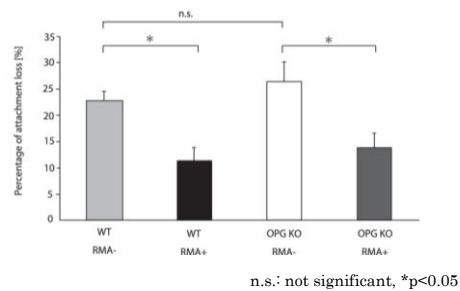
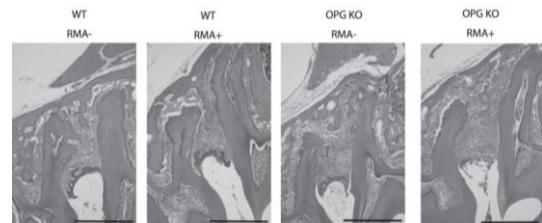


図 10

③破骨細胞数の計測

8 週後において OPGKO マウス RMA 非投与群は WT マウス RMA 非投与群と比較して破骨細胞数が増加していた。WT マウスは RMA を投与することによって破骨細胞数の減少傾向

が認められた。OPGKO マウスにおいては RMA を投与すると有意に破骨細胞が減少し、WT マウス RMA 非投与群と近似した値まで抑えられていた。(図 11)

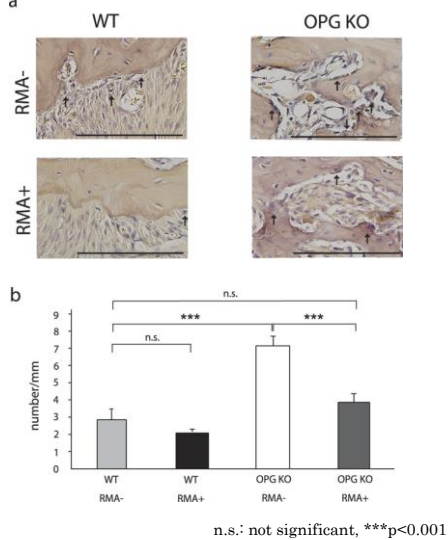
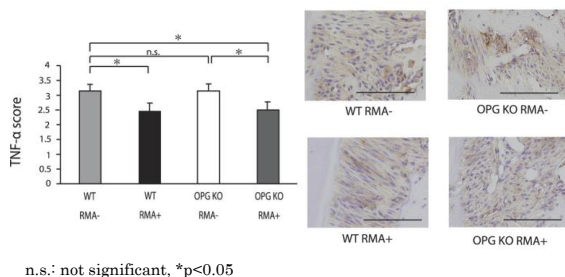


図 11

④免疫染色におけるスコアの比較

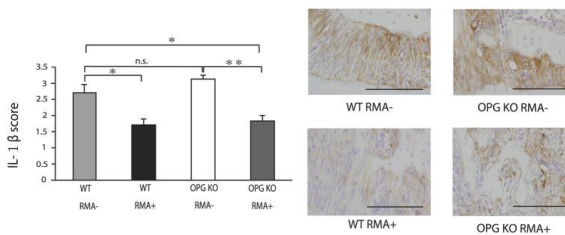
8 週後の WT マウス RMA 群は WT マウス非投与群と比較して TNF- α における染色スコアの減少が有意に認められた。また、OPGKO マウス RMA 投与群においても RMA 非投与群と比較して有意な染色スコアの減少が認められた。(図 12)



n.s.: not significant, * $p < 0.05$

図 12

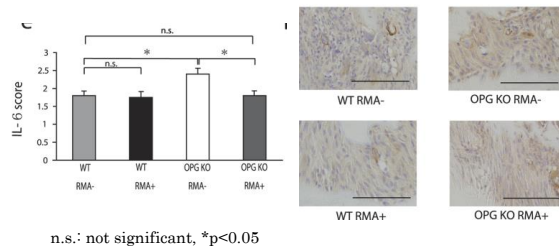
8 週後において OPGKO マウス RMA 非投与群では WT マウス RMA 非投与群と比較して有意に IL-1 β における染色スコアが増加していた。WT マウス RMA 投与群は、WT マウス RMA 非投与群と比較して有意に減少していた。また、OPGKO マウス RMA 投与群においても RMA 非投与群と比較して有意に IL-1 β における染色スコアの減少が認められた。(図 13)



n.s.: not significant, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

図 13

8 週後において OPGKO マウスは RMA 投与群は RMA 非投与群と比較して有意に IL-6 における染色スコアが減少していた。(図 14)



n.s.: not significant, * $p < 0.05$

図 14

以上(1)~(3)の結果より、従来型よりミニスクリーを固定に使用して矯正治療を行うと全体の治療期間は変わらないが、より大きな治療後の変化が起きることが示唆された。また、高濃度の低用量であっても、BPs を DDM に直接添加することにより DDM の骨軟骨修復能抑制が認められ、骨修復能を必要とする部位に対して BPs を使用する場合には注意が必要であることが示唆された。さらに、リベロマイシン A の投与は歯槽骨部における骨代謝をコントロールできる可能性が示唆され、オンプラントを生体に用いるための骨固定の強化において、リベロマイシン A が有効である可能性が示唆された。以上の結果についてまとめた論文が掲載された。

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 3 件)

① Mizuno M, Miyazawa K, Tabuchi M, Tana ka M, Yoshizako M, Minamoto C, Torii Y, Tamaoka Y, Kawatani M, Osada H, Maeda H, Goto S. Reveromycin A Administration Prevents Alveolar Bone Loss in Osteoprotegerin Knockout Mice with Periodontal Disease. Sci Rep. 12;5:16510.

2015. doi: 10.1038/srep16510.

② Yasuda A, Miyazawa K, Sato T, Yagihashi K, Goto S. Experimental study of influence of direct bisphosphonate administration on bone substitute. Dent Mater J. 34(6):789-95. 2015doi:10.4012/dmj.2014-354.

③ Lee J, Miyazawa K, Tabuchi M, Sato T, Kawaguchi M, Goto S. Effectiveness of en-masse retraction using midpalatal miniscrews and a modified transpalatal arch: Treatment duration and dentoskeletal changes. Korean J Orthod. 査読有 Mar;44(2):88-95. 2014 doi: 10.4041/kjod.2014.44.2.88.

[学会発表] (計 10 件)

- ①後藤洋、野村隆之、青山峰芳、関谷健夫、永谷祐子、宮澤健、浅井清文、後藤滋巳 低酸素状態における微小環境は TNF- α 刺激で誘導されるとヒト骨髄細胞由来破骨細胞形成を促進した 第 74 回日本矯正歯科学会 2015. 11. 18-20 福岡国際会議場(福岡)
- ②判治恭子、藤原琢也、樋田真由、鈴木靖彦、宮澤健、後藤滋巳 上顎咬合平面の垂直的なコントロールにより著しいガミースマイルの改善を行った骨格性上下顎前突症例 第 74 回日本矯正歯科学会 2015. 11. 18-20 福岡国際会議場(福岡)
- ③田中美由紀、宮澤健、田淵雅子、川口美須津、玉岡佑将、後藤滋巳 咬合平面の変化によりガミースマイルを改善した Low angle class I 上下顎前突症例 第 74 回日本矯正歯科学会 2015. 11. 18-20 福岡国際会議場(福岡)
- ④吉廻守、田淵雅子、宮澤健、川口美須津、佐藤琢麻、高橋美文、後藤滋巳 歯科矯正用アンカースクリューを併用し改善を行ったガミースマイルを伴うハイアングル上顎前突症例 第 74 回日本矯正歯科学会 2015. 11. 18-20 福岡国際会議場(福岡)
- ⑤Kawaguchi M, Kondo T, Kondo M, Miyazawa K, Goto S. Correction of gummy smile by providing vertical control with midpalatal anchor screws. 8th International Orthodontic Congress. 2015. 9. 27-9. 30 London UK
- ⑥Miyazawa K, Tabuchi M, Goto S. The effects of reveromycine A on the continuous tooth movement of OPG knockout mice. The 45th Italian Society of orthodontics International Congress. 2014. 10. 9-10. 12 Firenze, Italy
- ⑦Miyazawa K, Yoshizako M, Yamane C, Tabuchi M, Goto S. Investigation of the bone properties of the OPG knockout with pathem a similar to juvenile Paget' s disease. The 90thCongress of the European Orthodontic Society. 2014. 6. 18-22. Warsaw, Poland
- ⑧藪本貴洋、宮澤健、川口美須津、関谷健夫、野口俊英、後藤滋巳 歯科矯正用アンカースクリューを固定源に用いた歯周炎を伴う叢生症例 第 83 回愛知学院大学歯学会学術大会 2013. 12. 1 名古屋
- ⑨Miyazawa K, Yamane C, Tabuchi M, Mizuno M, Yoshizako M, Torii Y, Kawatani M, Nagata H, Goto S. Effect of the Reveromycin A administrated intermittently on continuous tooth movement. 46thAnnual Scientific Congress of Korean Association of Orthodontics. 2013. 10. 31-11. 2 Jeju, Korea
- ⑩Miyazawa K, Yoshizako M, Yamane C, Tabuchi M, Goto S. Investigation of the bone properties of model mice for

juvenile Paget' s disease. The 113th Annual session of American Association of Orthodontists. 2013. 5. 3-5. 8 Philadelphia

[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

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

(2) 研究分担者

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

(3) 連携研究者

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