

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H06778

研究課題名（和文）ルブリシン産生能の変調が顎関節OAを誘発する新規メカニズムの解明

研究課題名（英文）A novel mechanism of TMJ-OA based on lubricin metabolism regulation

研究代表者

池田 侑平（IKEDA, Yuhei）

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：50778511

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：成長期における咀嚼を介した顎関節領域への刺激低下は、形態異常、筋力低下、不安定性および過剰な負荷等が原因となる変形性顎関節症（顎関節OA）の発症および進行との関与が注目されている。本研究において、5週齢から9週齢まで粉末飼料で飼育したラットに下顎を偏位させて実験を行った。トルイジンブルー染色の結果から対照群と比較して、偏位群の下顎頭外側部は表層軟骨の増加の傾向が認められた。また抗ルブリシン抗体による免疫組織化学染色の結果からも下顎頭外側部軟骨層においてルブリシン陽性部位の増加傾向を示した。

研究成果の概要（英文）：It is noticeable that temporomandibular joint (TMJ) hypofunction through mastication during the growth period is related to the development and progression of TMJ-OA due to deformity of the joints, muscular weakness, instability, overloading and so on. In this study, 5-week-old male rats received a powder diet and forced to move left their jaws from 9 weeks of age. Compared with the control group, there was a tendency to increase in superficial cartilage in the lateral side of the condyle with toluidine blue staining. It also showed a tendency to increase lubricin immunopositive sites in the same regions with immunohistochemistry of lubricin.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：成長期 咀嚼刺激低下 変形性顎関節症 ルブリシン

1. 研究開始当初の背景

OA は全身の関節に発症し、その罹患率は年齢とともに増加すると言われており、2060年には人口の約40%が65歳以上という超高齢社会を迎える日本にとって、OAのメカニズムを解明し、その予防法および治療法を考案することは重要な課題である。顎顔面領域における唯一の関節である顎関節におけるOAは、下顎頭の形態異常および下顎頭軟骨の変性を主たる特徴とするが、他の関節同様に未だ不明な点が多い。

臨床研究において正常咬合者に比べ、顎関節症を有する骨格性 級開咬患者は下顎下縁平面角や下顎角が有意に大きく、下顎後退症患者は咬合平面角が大きく長顔型を呈しているため、矯正歯科治療に加えて下顎骨前方移動術や仮骨延長術を併用した外科的矯正治療が必要であることが報告されている。しかし、そのような患者は画像診断においては下顎頭が細くかつ小さく、負荷に対する抵抗性が低いため術後に骨格的な後戻りを生じやすいと考えられているが、下顎頭の形態と負荷に対する抵抗性を比較検討した先行研究は存在しなかった。

そこで、申請者が所属する研究グループでは基礎研究として、成長期ラットの咬筋切断および液状飼料飼育により、実験的に咀嚼筋力を低下させた結果、下顎枝の高径減少、下顎頭軟骨の厚径減少および顎関節に分布する神経線維の低形成を引き起こすことを解明した。また、咬筋切断後に機械的負荷をかけると、顎関節において滑膜炎が悪化することや、成長期ラットの液状飼料飼育による機能低下した脆弱な下顎頭において、機械的負荷をかけると形態学的・組織学的な低形成およびOA様変化を生じたことから、負荷に対する抵抗性が低下していることを明らかにした。しかし、成長期の咀嚼刺激低下に起因する顎関節周囲構造の低形成および潤滑機能異常が、機械的負荷に対する顎関節OA発症および進行のメカニズムに如何に関与するかを形態学的・組織生化学的観点から解析した報告は国内外を問わず見当たらない。

一方、申請者が所属するグループでは、成長期ラットにおける顎関節機能障害モデルを用いて、顎関節潤滑機能に与える影響をルプリシンに着目して解明している。ルプリシンとは、Proteoglycan 4 (PRG4) と呼ばれる軟骨表面に存在するムチン型糖タンパク質であり、滑膜関節の潤滑剤としてHAと相補的に軟骨表面の保護と摩擦の軽減を担っている。HAはOA環境下において、濃度低下および低分子化することが報告されており、HA合成酵素(Hyaluronic acid synthase: HAS)としては、高分子HAを合成するHAS1,2および低分子HAを合成するHAS3

が知られている。顎関節に対する過剰な負荷は、下顎頭軟骨の変性および下顎頭軟骨下骨の骨梁構造異常を引き起こすことによりOAを誘発することは報告されているが、成長期の咀嚼刺激低下による顎関節周囲構造の低形成および潤滑機能異常を介した経路がOAを誘発するか否かは知られていない。

2. 研究の目的

本研究では、成長期の咀嚼刺激低下が顎関節周囲構造である下顎窩、滑膜および関節円板における低形成を引き起こし、潤滑機能を担うルプリシンおよびHA産生能の変調を生じることが、機械的負荷に対して顎関節OAを誘発する新たな経路であるか否かを解明していくことを考えた。

3. 研究の方法

(1) 5週齢のWistar系雄性ラットを無作為に対照群(Control: C群)および偏位群(Shift: S群)に分ける。S群は先行研究に基づいた装置を装着し、7週齢でその半数は装置を撤去し、回復群(Recovery: R群)とする。および5週齢から9週齢まで粉末飼料で飼育し、9週齢に屠殺する。偏位装置はバンドマテリアル製の斜面板を用いてラットの下顎を左方へ偏位させ、斜面板は8%抱水クロラル麻酔下で上顎切歯部をリン酸エッチング処理後、光重合型レジンを用いて装着する。左側を偏位側、右側を非偏位側とする。

(2) 成長期の咀嚼刺激低下に起因した下顎頭および下顎窩をMicro-CTを用いて形態学的に骨形態および骨梁構造解析を行い、機械的負荷に対する形態学的変調を評価する。その後、顎関節組織切片を作成し、下顎頭、下顎窩、滑膜組織および関節円板をHE染色、Tトルイジンブルー染色およびサフラニン-0染色による組織学的評価を行い、機械的負荷に対する変調を評価する。

(3) 成長期の咀嚼刺激低下に起因した滑膜組織、滑液および下顎頭軟骨における潤滑機能を評価するために、機械的負荷に対するルプリシンならびにHA発現変化を免疫組織化学的・生化学的に検討する。

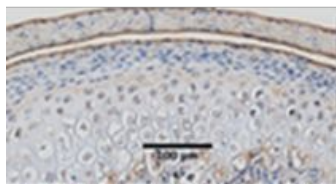
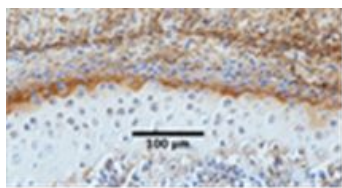
上述の(2)および(3)により、成長期の咀嚼刺激低下が機械的負荷に対するOAを誘発するメカニズムを顎関節周囲構造の形態および潤滑機能の変調に着目して、形態学的・組織学的・免疫組織化学的および生化学的手法を用いて総合的に評価する。

4. 研究成果

実験開始前にラットへの飼育条件および装着器具の変更が必要になる可能性が生じ、

再検討を行ったことや組織学的、生化学的解析を行うためにサンプルの採取方法に関する再検討を要したため、多くの時間を費やしてしまった。また実験条件の設定は確立しつつあるものの、統計学的解析による明確な結果は得ることはできなかった。

トルイジンブルー染色の結果から対照群と比較して、偏位群の下顎頭外側部は表層軟骨の増加の傾向が認められた。また抗ルブリシン抗体による免疫組織化学染色の結果からも下顎頭外側部軟骨層においてルブリシン陽性部位の増加傾向を示した。偏位2週間(7週齢)において偏位群の偏位側の下顎頭軟骨層においてルブリシン陽性細胞部位が増加傾向を示した。(上:S群、下:C群)



現在生化学的評価の各抗体に対する条件設定を行っている。また滑液採取の手技を習得し、今後も実験を進めていき、明確な実験結果を獲得することを目標としている。

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)

池田 侑平、石田 雄之、今村 俊博、
大石 修史、喜田 壮馬、隈 智美、
松村 智成、奥沢 槿子、小野 卓史

開咬患者の前歯部歯根形態に関する CBCT を用いた 3 次元的解析
査読有

第 76 回日本矯正歯科学会大会プログラム・抄録集 Page145. 2017.

Kanaguchi Arita A, Yonemitsu I,
Ikeda Y, Miyazaki M, Ono T.

Low-intensity pulsed ultrasound stimulation for mandibular condyle osteoarthritis lesions in rats.

Oral Diseases. 2017, Vol 24, 600-610.

<https://doi.org/10.1111/odi.12798>

査読有

Ikeda Y, Kokai S, Ono T.

A patient with mandibular deviation and 3 mandibular incisors treated with asymmetrically bent improved superelastic nickel-titanium alloy wires.

Am J Orthod Dentofacial Orthop.

2018 Jan;153(1):131-143.

doi: 10.1016/j.ajodo.2017.07.016.

査読有

〔学会発表〕(計 1件)

池田 侑平、石田 雄之、今村 俊博、
大石 修史、喜田 壮馬、隈 智美、
松村 智成、奥沢 槿子、小野 卓史

開咬患者の前歯部歯根形態に関する CBCT を用いた 3 次元的解析

2017 年 10 月 18-20 日

第 76 回日本矯正歯科学会大会 (北海道・札幌市)

〔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

池田 侑平 (IKEDA, Yuhei)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員
研究者番号：50778511