

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11782

研究課題名(和文) GLUT4およびHIF-1 を介した鼻呼吸障害に伴う不正咬合の新たな発現機序解明

研究課題名(英文) Nasal obstruction induces Class II malocclusion with changing GLUT4 and HIF-1a expression

研究代表者

米満 郁男 (Yonemitsu, Ikuo)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：00431940

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：成長期における鼻呼吸障害に伴い、下顎枝長および下顎頭の骨密度が減少し、下顎頭軟骨細胞層厚径は減少した。さらに、軟骨細胞層における抗HIF-1 抗体は増加、RANKL/OPG比は増加し、軟骨細胞層直下の破骨細胞数は増加したことから、軟骨層直下の骨代謝は吸収亢進傾向となった。また、咬筋浅層、深層および側頭筋の筋断面積は小さくなった。5、9週齢実験群咬筋において、MHC-2aの割合は増加した。5、9週齢咬筋浅層、深層および側頭筋において、TNF- mRNAとそのタンパク発現量は増加、GLUT4mRNAとそのタンパク発現量は減少した。即ち、成長期鼻呼吸障害に伴い閉口筋は速筋化し、筋収縮能は低下した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

矯正歯科臨床において、下顎骨の後方位を伴う下顎後退症は、治療が困難となる場合が多く、顎顔面外科手術を併用することも少なくない。現時点では、予防矯正歯科治療のパリエーションは決して多くなく、顎顔面領域に留まらず、鼻疾患へのアプローチが、今後の予防矯正治療の一助となることが期待される。今回の研究結果より、成長期の鼻呼吸障害に伴う下顎骨形態および咀嚼筋の筋組成変化に関して、組織生化学的な観点から新たなメカニズムが解明された。これらの結果は、矯正歯科のみならず、顎顔面外科や耳鼻科、呼吸器内科領域における今後の臨床の発展に大きく寄与するものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：In the unilateral nasal obstruction(NO) group, length, bone mineral density and cartilage layer thickness of mandibular condyle were decreased. The number of TRAP-positive cells in the condyle, HIF-1a-positive cells, VEGF-positive cells and RANKL-positive cells in the condylar cartilage was significantly increased. In contrast, a reduced expression of OPG protein was observed in the experimental group. On the other hand, NO in growing rats reduced the fiber CSA of the jaw-closing muscles and increased the percentage of MHC-2a in masseter muscles. After unilateral NO, TNF- expression was upregulated and that of GLUT4 downregulated in masseter and medial temporalis muscles compared with those in control group rats aged 5 and 9 weeks. Our findings suggest that unilateral NO in the growth period affects mandibular morphology and reduces the growth and contraction characteristics of jaw-closing muscles to affect the craniofacial development with changing GLUT4 and HIF-1 expression.

研究分野：矯正歯科学

キーワード：鼻呼吸障害 顎関節 咀嚼筋 顎顔面成長発育 GLUT4 HIF-1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

鼻アレルギー診療ガイドライン 2013 年版 (ライフサイエンス社) において、1998 年および 2008 年のアレルギー性鼻炎有病率を比較すると、1.3-1.5 倍増加している。最近では発症の低年齢化も進み、子供の罹患数も増加している。くしゃみ・水性鼻汁・鼻閉がその 3 大症状であるが、鼻閉に伴う口呼吸は、Brodie の唱えるいわゆる頬筋機能機構 (buccinators mechanism) の崩壊を招き、成長期における不正咬合の原因の一つとなることが知られている。口呼吸に伴う口輪筋の弛緩と歯列に加わる異常な頬圧は、歯列弓の狭窄をもたらすだけでなく臼歯の挺出を招き、下顎骨は後下方へと回転し、骨格性上顎前突症 (アデノイド様顔貌) に繋がること指摘されている。

一方、口呼吸は、鼻腔通気度低下に伴い鼻腔原生一酸化窒素 (Nitric Oxide: NO) を減少し、肺における酸素交換効率に影響を与え、血中酸素飽和度を低下することが報告されている。NO と AMPK (AMP-activated protein kinase) は、協調的に筋細胞中の PGC-1 (Peroxisome proliferative activated receptor gamma coactivator-1) α の働きを調節するとともに、PGC-1 α のアップレギュレーションを介して、骨格筋細胞におけるミトコンドリア発生を誘発する。さらに、*In vitro* において PGC-1 α は、GLUT4 mRNA 発現に関与していることが報告されている。GLUT4 は、骨格筋細胞の収縮 (運動) 時に細胞膜上で増加することが知られているタンパクであり、その糖取り込みについては、近年、盛んに研究が行われている。これらのことより、口呼吸患者においては咀嚼筋収縮に関する GLUT4 の発現が低下することが予想される。即ち、buccinators mechanism の崩壊とは全く異なる原因で咀嚼筋収縮の低下に端を発する下顎骨の低形成が起こることが想定される。

最近になり、低酸素状態に伴って活性化する HIF-1 α の骨格筋・骨端軟骨板における発現が報告されており、特に膝関節においては Osteoarthritis (OA) 軟骨組織において有意に増加することが知られている。HIF-1 α は、低酸素状態において軟骨細胞の増殖抑制やアポトーシスを誘導することが知られており、下顎頭軟骨においても同様に、実験的 OA モデルにおける発現増加に伴う軟骨成長抑制ならびに軟骨下骨における破骨細胞誘導が報告されている。以上の先行研究から、鼻呼吸障害に伴う下顎頭軟骨においては HIF-1 α の発現が増大し、それに伴って軟骨内骨化の阻害に起因する下顎骨の低形成が惹起される可能性が考えられる。

以上の背景から、ラット鼻閉モデルを作成し、鼻呼吸障害が成長期の顎顔面骨格に与える影響を従来の病因論からではない新たな見地から明らかにすることを考えた。

2. 研究の目的

古くから Buccinators mechanism の崩壊は、成長期の不正咬合の原因となることが知られている。特に、口呼吸に伴う口輪筋の弛緩と歯列に加わる異常頬圧は、歯列弓の狭窄だけでなく臼歯の挺出を招き、下顎骨は後下方へと回転し、骨格性下顎後退症に繋がること指摘されている。しかし、その組織生化学的メカニズムの解明は進んでいない。そこで本研究は、口呼吸に伴う持続的低酸素状態が 1) 『咀嚼筋収縮に関する Glucose Transporter-4 (GLUT4) の発現を低下し咀嚼筋の筋組成変化をもたらす』、ならびに 2) 『顎関節内の低酸素誘導因子 (Hypoxia Induced Factor: HIF) の増加を誘発し、軟骨内骨化による下顎骨の成長を抑制する』、という 2 つの仮説を検証することを目的とする。これにより、口呼吸に伴う顎顔面領域のホメオスタシスの変調の背景を明らかにする。

3. 研究の方法

最初に、生後間もないラットの片側鼻孔を焼灼し、成長期鼻閉モデルを作製した。鼻閉により持続的に血中酸素飽和度の低下した状態を惹起することで生じる顎顔面領域の骨・軟組織の形態学的変化を観察した。第二に、頭蓋顎顔面骨における骨形態および骨微細構造の変化について、軟 X 線規格写真および Micro-CT を用いて解析した。第三に、下顎頭軟骨の組織学的変化を Toluidine blue 染色に加えて HIF-1 免疫染色を用いることで、低酸素状態が同部にもたらす変化について考察した。第四に、咀嚼筋については湿重量の測定を行うとともに、HE 染色を行った。第五に、ATPase および NADH-TR 染色を用いて筋線維組成変化を解析した。最後に、閉口筋の GLUT4 および TNF- α 免疫染色を用いて、筋収縮能の変化を評価した。

4. 研究成果

実験期間中のラットの体重、脛骨長、脛骨海綿骨の BMD および BV/TV において 2 群間に有意差は認められなかったことから、全身成長に有意差は無いものと判断した。血中酸素飽和度は、鼻閉させた実験群において、3 週齢以降の実験期間中、有意に低下した。

軟 X 線計測の結果、対照群と比較して実験群において、Go-Mn および Co-Mn の値が有意に減少した。また、マイクロ CT 解析の結果、対照群と比較して実験群において、下顎頭の BMD および BV/TV が有意に減少した。即ち、実験群の下顎枝長は短くなり、下顎頭の骨密度は低下した。

トルイジンブルー染色切片において軟骨層厚径は、前方部、中央部および後方部の 3 部位全てで、対照群と比較して実験群において有意に減少した。実験群において、下顎頭軟骨層直下の TRAP 陽性細胞率、成熟軟骨細胞層における HIF-1 陽性細胞率および VEGF 陽性細胞率が有意に増加し、OPG 陽性細胞率は有意に減少した。RANKL 陽性細胞率は 2 群間に有意差を認めず、RANKL / OPG 比は対照群と比較して実験群において有意に増加した。これらの結果より、骨代謝は吸収

亢進傾向になり、組織染色からも下顎頭の骨密度は減少したものと考えられた。

9週齢において、実験群の咬筋浅層、深層および側頭筋筋断面積は、対照群と比較して有意に小さかった。5週齢および9週齢の咬筋において、実験群における MHC-2a の割合は、対照群と比較して有意に増加した。また、5週齢および9週齢咬筋浅層、深層および側頭筋において、実験群の TNF- α mRNA とそのタンパク発現量は有意に増加し、GLUT4 mRNA とそのタンパク発現量は有意に減少した。以上の結果より、成長期ラットにおける片側鼻閉に伴う鼻呼吸障害は、閉口筋の筋線維断面積を小さくし、速筋化するとともに、筋収縮能を低下させることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Watakabe Kenzo, Yonemitsu Ikuo, Ikeda Yuhei, Huan Tang, Ono Takashi	4. 巻 77
2. 論文標題 Unilateral nasal obstruction induces morphological changes of the mandibular condyle in growing rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Orthodontic Waves	6. 最初と最後の頁 157 ~ 168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.odw.2018.05.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tang Huan, Yonemitsu Ikuo, Ikeda Yuhei, Watakabe Kenzo, Shibata Shunichi, Hosomichi Jun, Ono Takashi	4. 巻 89
2. 論文標題 Effects of unilateral nasal obstruction on the characteristics of jaw-closing muscles in growing rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Angle Orthodontist	6. 最初と最後の頁 102 ~ 110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2319/021918-132.1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kanaguchi Arita A, Yonemitsu I, Ikeda Y, Miyazaki M, Ono T	4. 巻 24
2. 論文標題 Low-intensity pulsed ultrasound stimulation for mandibular condyle osteoarthritis lesions in rats	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oral Diseases	6. 最初と最後の頁 600 ~ 610
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/odi.12798	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Yang Wu, Podyma-Inoue Katarzyna Anna, Yonemitsu Ikuo, Watari Ippei, Ikeda Yuhei, Guo Xiyuan, Watabe Tetsuro, Ono Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Mechanoresponsive and lubricating changes of mandibular condylar cartilage associated with mandibular lateral shift and recovery in the growing rat	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Oral Investigations	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00784-020-03225-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kita S., Fujita K., Imai H., Aoyagi M., Shimazaki K., Yonemitsu I., Omura S., Ono T.	4. 巻 58
2. 論文標題 Postoperative stability of conventional bimaxillary surgery compared with maxillary impaction surgery with mandibular autorotation for patients with skeletal class II retrognathia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery	6. 最初と最後の頁 57~61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bjoms.2019.10.309	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Uesugi S, Imamura T, Yonemitsu I, Ono T.	4. 巻 53
2. 論文標題 Surgical-Orthodontic Treatment of Adults with Mandibular Retrognathism and Obstructive Sleep Apnea	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Orthodontics	6. 最初と最後の頁 521-534
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 島峯 隆浩, 米満 郁男, 渋谷 直樹, 瀧藤 美沙子, 今井 治樹, 藤田 紘一, 大村 進, 小野 卓史	4. 巻 28巻
2. 論文標題 骨格性上顎前突症患者に対する馬蹄形骨切り併用Le Fort I型骨切り術後における上部気道形態の変化	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本顎変形症学会雑誌	6. 最初と最後の頁 226-234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Usumi-Fujita Risa, Nakakuki Koichi, Fujita Koichi, Kosugi Machiko, Yonemitsu Ikuo, Fukuyama Eiji, Ono Takashi	4. 巻 88
2. 論文標題 Collaborative treatment for a case of condylar hyperplastic facial asymmetry	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Angle Orthodontist	6. 最初と最後の頁 503~517
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2319/081517-549.1	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Wu Yang, Ikuo Yonemitsu, Inoue Katarzyna A, Xiyuan Guo, Yuhei Ikeda, Ippei Watari, Tetsuro Watabe, Takashi Ono
2. 発表標題 Lateral-functional-shift of rat mandible: The interaction of PRG4 with IHH and TGF- β 1 in condyle
3. 学会等名 第77回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 米満郁男, 藤田紘一, 今井治樹, 間邊安寿雅, 福山英治, 渋谷直樹, 島崎一夫, 大村進, 藤内祝, 小野卓史
2. 発表標題 片側下顎骨の過形成を再発した顎変形症患者に対して外科的矯正治療に下顎頭切除術を併用した一症例
3. 学会等名 第75回日本矯正歯科学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 白見 莉沙, 中久木 康一, 藤田 紘一, 米満 郁男, 福山 英治, 小野 卓史
2. 発表標題 下顎頭過形成による歯槽骨の垂直的左右差に対し片側歯槽骨骨切り術を併用し顔貌の対称性を獲得した1症例
3. 学会等名 第75回日本矯正歯科学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 渡壁 賢三, 米満 郁男, 池田 侑平, 宮崎 睦, 小野 卓史
2. 発表標題 成長期ラットの鼻呼吸障害に伴う血中酸素飽和度の低下は下顎骨形態に影響を与える
3. 学会等名 第75回日本矯正歯科学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Akemi Kanaguchi Arita, Ikuo Yonemitsu, Yuhei Ikeda, Mutsumi Miyazaki, Takashi Ono
2. 発表標題 Effects of low-intensity pulsed ultrasound stimulation on the mandibular condyle with osteoarthritis-like lesions
3. 学会等名 第75回日本矯正歯科学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Huan Tang, Ikuo Yonemitsu, Yuhei Ikeda, Mutsumi Miyazaki, Shunichi Shibata, Takashi Ono
2. 発表標題 Effect of unilateral nasal obstruction on morphology of jaw-closing muscles in growing rat
3. 学会等名 第75回日本矯正歯科学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Ikuo Yonemitsu, Aikaterini Lagou, Balazs J. Denes, Takashi Ono, Stavros Kiliaridis
2. 発表標題 Age- and functional related coronal changes of maxillary alveolar bone
3. 学会等名 95th congress of the European Orthodontic Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Xiyuan Guo, Ippei Watari, Ikuo Yonemitsu, Yuhei Ikeda, Takashi Ono
2. 発表標題 Effect of functional lateral shift of the mandible on hyaluronic acid decomposition related to lubrication of temporomandibular joint in growing rats
3. 学会等名 95th congress of the European Orthodontic Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 島峯 隆浩, 米満 郁男, 渋谷 直樹, 纈纈 美沙子, 今井 治樹, 藤田 紘一, 大村 進, 小野 卓史
2. 発表標題 骨格性上顎前突症患者に対する馬蹄形骨切り併用Le Fort I型骨切り術後における上部気道形態の変化
3. 学会等名 第29回日本顎変形症学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 纈纈 美沙子, 米満 郁男, 渋谷 直樹, 島峯 隆浩, 今井 治樹, 藤田 紘一, 大村 進, 小野 卓史
2. 発表標題 骨格性下顎前突症患者に対する馬蹄形骨切り併用Le Fort I型骨切り術後における上部気道形態の変化
3. 学会等名 第26回日本顎変形症学会学術大会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	細道 純 (Hosomichi Jun) (00420258)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師 (12602)	
研究 協力者	柴田 俊一 (Shibata Shunichi)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授 (12602)	
研究 協力者	池田 侑平 (Ikeda Yuhei)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師 (12602)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	湯 歆 (Tang Huan)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・大学院生 (12602)	
研究協力者	渡壁 賢三 (Watakabe Kenzo)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・大学院生 (12602)	
研究協力者	宮崎 睦 (Miyazaki Mutsumi)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・大学院研究生 (12602)	
研究協力者	楊 午 (Yang Wu)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・大学院生 (12602)	
研究協力者	金口 明美 (Kanaguchi Akemi)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・大学院生 (12602)	