

令和 3 年 5 月 24 日現在

機関番号：33902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09870

研究課題名(和文) アンカースクリューにかわる新しい破骨細胞特異的抑制剤を用いた固定源の開発

研究課題名(英文) Development of the anchor using the new osteoclasts-specific inhibitor instead of the miniscrews

研究代表者

田淵 雅子 (tabuchi, masako)

愛知学院大学・歯学部・准教授

研究者番号：30418925

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の大きな目的は、新たな骨吸収抑制剤であるリベロマイシンA(RMA)の軟膏による局所投与が、歯の移動に与える影響を確認し、薬剤による新たな矯正治療法基盤を形成することである。まず、RMAの全身投与に際し、自由な歯の移動のコントロールが可能かを探った。その結果、RMAの投与を中止した後も歯の移動は再開したことを確認し、RMAは歯の移動のコントロールが出来る有効な薬剤であることが示唆された。続いて、注射による局所投与でのRMAの効果を確認した。その結果、全身的な副作用を起こすことなく、歯の移動をコントロールすることができた。今後は、軟膏の局所投与について継続していく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯科臨床においては、同一歯においても、固定しておきたい時には歯の移動を抑制し、その後に移動させたいときには歯の移動を促進させることが必要である。そこで、RMAは、ビスホスホネートとは作用機序が異なり、活性化した破骨細胞のみをターゲットとし、骨基質への蓄積を認めず、半減期が短い利点を持ち合わせていることから本研究に使用した。その結果、歯の移動を自由にコントロール出来るという可能性を確認した。これによって自由に・効率的に歯の移動を行うことができ、現在の矯正臨床の既成概念とは異なった新たな矯正治療の確立につながり、大きな意義を持つと思われる。

研究成果の概要(英文)：The major purpose of this study is to confirm the effect of a local administration with the ointment of reveromycin A(RMA) which is a new resorption of bone inhibitor. It will be a base of the new orthodontic treatment. At first, we hypothesized that tooth movement could be precisely controlled through temporary discontinuation and re-administration of RMA. As a result, RMA is a useful orthodontic agent that suppresses tooth movement as required by continuation and discontinuation of administration. Next, we conducted a study to establish the possibility of control of tooth movement with local intraoral RMA injection in experimental tooth movement model mice and to assess the systemic effects of local injection. As a result, local injection of RMA enabled control of tooth movement without systemic side effects in a mouse model.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：歯の移動

1. 研究開始当初の背景

我々は、薬剤による歯の移動のコントロールを目指し、これまでに骨粗鬆症の第一選択薬であるビスホスホネートを用いた歯の移動実験を行ってきた。その結果、ビスホスホネートを用いることによって、破骨細胞の活性が抑制され、歯の移動がコントロールできることを確認した。しかしビスホスホネートは、過去の実験から骨基質に長期にわたり沈着してしまう欠点が認められ、さらに近年、BRONJなどの副作用が報告されている。

そこで、ビスホスホネートにみられるような副作用がなく、骨基質に沈着せず、薬効の期間のみ特異的に破骨細胞に作用するという利点を備えた、新規の破骨細胞活性抑制剤であるリベロマイシンAに着目して、それを実験的歯の移動のツールとして用いた。その結果、全身投与で、短期間における歯の移動の制御が可能であることを見いだした。

2. 研究の目的

歯科矯正治療において、移動が必要な歯のみならず固定源となる歯までもが動いてしまうことは少なくない。そのため『固定』の概念は非常に重要であり、絶対的な固定源の確保は緊急課題となっている。私たちはこれまで、薬剤を用いて歯の移動を制御することを目指し、破骨細胞の機能を抑えるビスホスホネート製剤(BP)が歯の移動を抑制させることを解明した。しかし、その副作用による限界を感じ、新たな骨吸収抑制剤であるリベロマイシンA(RMA)に着目し、全身投与においては有用な薬剤であることを確認してきている。これらの研究結果を踏まえ、本研究では今後の臨床応用に向けて、RMAの局所投与を行い、歯の移動の制御を確認し、新たな矯正治療法基盤を形成することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 歯の移動と投薬のデザイン

①RMAとBPの全身投与による歯の移動の相違について

本研究の実験動物には、生後8週齢の雄性OPG KOマウスおよび対照群としてWTマウス(C57BL/6J)を使用した。歯の実験的移動は、全身麻酔下で、上顎切歯と左側第一臼歯間に10gfのNi-Ti closed coil springを装着し、左側第一臼歯を14日間近心移動し、実験群とした(以下loaded)。対照群は、右側第一臼歯とした(以下unloaded)。試薬はリベロマイシンA(Reveromycin A 3Na salt)、ビスフォスフォネートはテイロック(Tejin Pharma, Tokyo, Japan)を用いた。RMA非投与群として14日生理食塩水(saline)を連続投与する群(以下SA)とRMA(1.0mg/kg of weight)を7日連続投与後中断する群(RMA+/-)、14日連続投与する群(RMA+)の3群に対し、10gfのNi-Ti closed coil spring装着3日前より1日2回腹腔内投与した。BP(1.25mg/kg of weight)はNi-Ti closed coil spring装着5日前よりRMAと同様に3群(SA, BP+/-, BP+)に分け、1日1回腹腔内投与した。

②RMAの局所注射による歯の移動実験

実験的歯の移動モデルマウスの作成は、三種混合麻酔薬(塩酸メデトミジン、ミダゾラム、酒石酸ブトルファノール)を腹腔内投与し、上顎切歯と左側第一臼歯間に10gfのNi-Ti closed coil springを装着し、左側第一臼歯を14日間、および21日間近心移動し、実験群とした(以下loaded)。試薬はリベロマイシンA(Reveromycin A 3Na salt)を用いた。対照群は、右側第

一臼歯とした(以下 unloaded)。8 週齢の WT マウスを用い、RMA 非投与群として生理食塩水を 14 日連続投与する群(以下 14days RMA-)、21 日連続投与する群(21days RMA-)と RMA(1.0mg/kg of weight)を 14 日連続投与する群(14days RMA+)、21 日連続投与する群(21days RMA+)の 4 群に対し、10gf の Ni-Ti closed coil spring 装着 3 日前より 1 日 2 回の頻度で上顎左側第一臼歯頰側粘膜に局所注射した。

(2) 組織学的観察

上顎骨を採取したのちに、マイクロCT (実験動物用3D マイクロX線CT R_mCT, Rigaku, Tokyo, Japan) 撮影を行った。移動距離計測の解析は、ソフトTRI/3D-BON (RATOC SYSTEM ENGINEERING CO., LTD, Tokyo, Japan) で行った。移動距離計測は、矢状断と水平断にて最狭窄部が観察できるよう調節し、計測を行った。その後、上顎骨を10% 中性緩衝ホルマリン溶液で固定し、通法に従ってパラフィン包埋を行い、5 μ m の水平断方向の連続組織切片を作製した。

また、局所注射が全身に及ぼす影響を確認するため、右側脛骨頸部の μ CT を撮影した。皮質骨の輪郭を半自動的に描出し、除去した後、骨体積/組織体積(BV/TV)と骨梁間隔(Tb. Sp)を算出した。

(3) 統計的処理

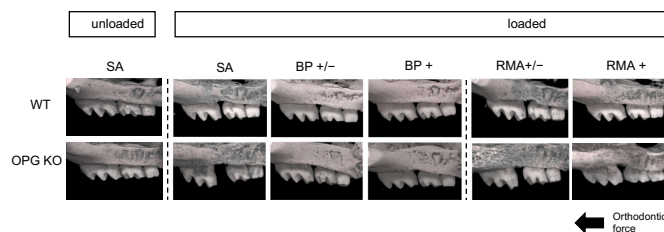
得られた実験データは平均値と標準誤差で示し、統計的な有意差検定は多重比較検定

(Turkey's multiple comparison test) を用いた。全ての統計解析は、GraphPad Prism v.6 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) を用いて行った。p<0.05 を統計的有意差ありと判定した。

4. 研究成果

(1) RMAとBPの全身投与による歯の移動の相違について

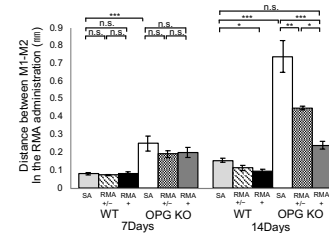
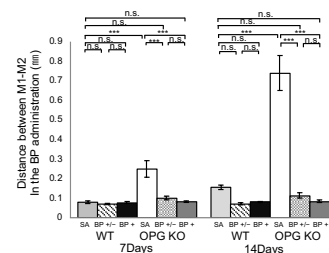
14日後の代表的なマイクロCT 画像を下図に示す。歯の実験的移動7 日後および14日後ではWT マウスSA群と比較してOPG KO マウスSA群では移動距離が有意な差をもって増加している所見が認められた。



① BP 投与が及ぼす効果

歯の実験的移動7 日後においてWTマウスでは、SA群、BP+/-群、BP+ 群の間に有意な差は認められなかった。

14日後のWT マウスでは、SA 群と比較してBP+/-群、BP+ 群は有意差を認めなかったが、歯の移動距離が抑えられている傾向があった。7 日後、14 日後のOPG KO マウスでは、BP+/-群、BP+ 群はSA 群に比較し有意に移動距離が減少し、WT マウスに近似した値を示した。そしてBP+/-群、BP+ 群間の両群間には有意な差は認められな



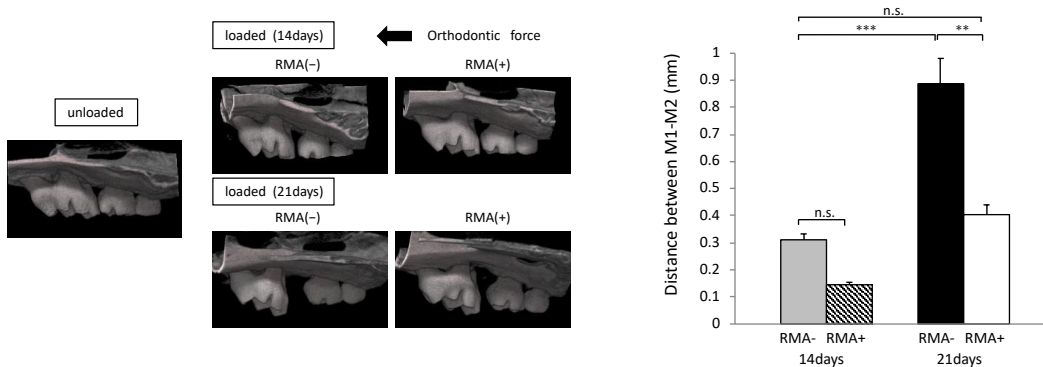
った。

② RMA 投与が及ぼす効果

歯の実験的移動7日後においてWT マウスでは、SA群、RMA+/-群、RMA+ 群の間に有意な差は認められなかった。また、OPG KO マウスでは、SA群と比較してRMA+/-群、RMA+ 群に有意差は認められないが、歯の移動距離が抑えられている傾向があった。一方、14日後においてOPG KO マウスRMA+群はSA群と比較し有意に移動距離が減少し、WTマウスSA 群に近似した値を示した。OPG KO マウスRMA+/-群はRMA+群とSA群の中間の値を示した。また、WT マウスでは、RMA+ 群はSA 群と比較し有意に移動距離が減少していた。

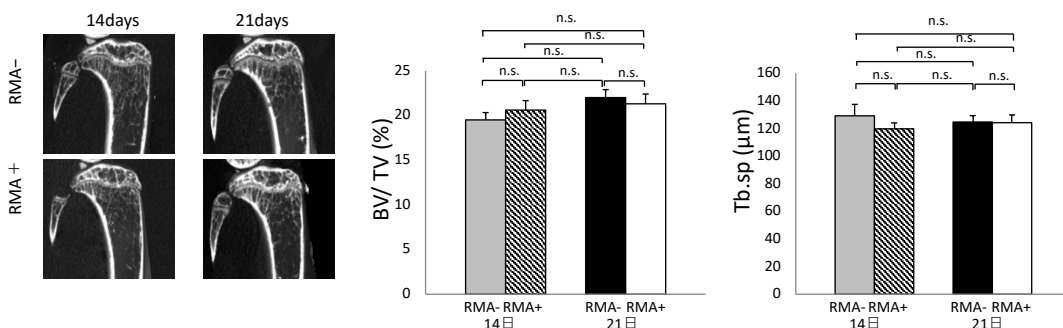
(2) RMA の局所注射による歯の移動実験

歯の実験的移動 14 日後および 21 日後の代表的なマイクロ CT 画像を下図に示す。RMA 非投与時 (RMA-群) では、歯の実験的移動 14 日後と比較して 21 日後では移動距離が有意な差をもって増加している所見が認められた。RMA 投与により、歯の実験的移動 14 日後において RMA+群は RMA-群と比較し、有意差を認めなかったが、歯の移動距離が抑えられている傾向があった。一方、21 日後において RMA+群は RMA-群と比較し有意に移動距離が減少し、14 日後 RMA-群に近似した値を示した。



局所注射時の脛骨頸部海綿骨構造の解析

歯の実験的移動 14 日後 RMA+群、歯の実験的移動 21 日後 RMA+群ともに、RMA 非投与群 (RMA-) と比較して、骨量と骨梁間隔ともに有意な差は認められなかった



(3) まとめ

全身投与においては、OPG KOマウスにおいて持続的な歯の矯正力を加えた場合、一時的な根周囲歯槽骨の著しい骨吸収によって病的な歯の移動が認められた。そして、BPおよびRMAを連続投与した結果、亢進している破骨細胞活性を抑制し、それによって根周囲歯槽骨は維持され、

骨代謝が正常化されたことが示された。さらに、BPの投与を中断した際には、投与中断後の歯の移動距離は抑制され続けたのに対し、RMAの投与を中断した場合には歯の移動が再開し、14日後には歯の移動距離が増加していた。以上のことよりRMAは、矯正治療を行う際に、歯の移動を望まない場合には投与を行い、歯の移動を望む場合には投与を中止することで歯の移動のコントロールができる有効な薬剤である可能性が示唆された。

一方、局所注射においては、WT マウスにおいて 21 日間の持続的な歯の矯正力を加えた場合、14 日間持続的な歯の矯正力を加えた場合と比較し、有意に大きい歯の移動が認められ、RMA 口腔内局所注射により、破骨細胞活性を抑制し、それによって根周囲歯槽骨は維持されることで、歯の移動距離が抑制されたことが示された。さらに RMA 口腔内局所注射は全身的な骨芽細胞、破骨細胞に影響を与えない可能性が示された。以上のことより RMA 口腔内局所注射は、正常な骨代謝状態の患者に対し矯正治療を行う際に、全身的副作用なく、歯の移動のコントロールが行える有効な薬剤である可能性が示唆された。今後は、臨床応用を考慮し、軟膏による局所投与についても検討していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kako Shunsuke, Tabuchi Masako, Miyazawa Ken, Tanaka Miyuki, Minamoto Chisato, Asano Yuichiro, Kimura Fumika, Aoki Yuki, Sato Takuma, Kawatani Makoto, Osada Hiroyuki, Maeda Hatsuhiko, Goto Shigemi	4. 巻 -
2. 論文標題 Does local injection of reveromycin A inhibit tooth movement without causing systemic side effects?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Orthodontics	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） 10.1093/ejo/cjaa067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Minamoto Chisato, Miyazawa Ken, Tabuchi Masako, Hirano Miyuki, Mizuno Manami, Yoshizako Mamoru, Torii Yasuyoshi, Asano Yuichirou, Sato Takuma, Kawatani Makoto, Osada Hiroyuki, Maeda Hatsuhiko, Goto Shigemi	4. 巻 157
2. 論文標題 Alteration of tooth movement by reveromycin A in osteoprotegerin-deficient mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics	6. 最初と最後の頁 680 ~ 689
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ajodo.2019.04.037	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	宮澤 健 (Miyazawa Ken) (60301636)	愛知学院大学・歯学部・教授 (33902)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------