

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2023

課題番号：18K17136

研究課題名（和文）咬合を介したメカニカルストレスが及ぼす歯槽骨再生時の形態的变化の解明

研究課題名（英文）Effect of mechanical stress via occlusion on morphological change during alveolar bone regeneration

研究代表者

新井 祐貴（Arai, Yuki）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：70778654

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：歯槽骨の吸収は、インプラントや義歯の予後不良因子となるため、歯槽骨再生やその維持が臨床において強く望まれている。本研究は、歯槽骨に対し骨再生を行い、推定されるメカニカルストレスの分布パターンの変化が骨再生中の顎堤の形態に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。その結果、過剰な咬合を介した歯槽骨へのメカニカルストレスの変化が、歯槽骨の骨造成における新生骨形成を促進することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回、骨造成において過剰な咬合力を介したメカニカルストレスが、骨形成を促進し、新生骨の骨形態に変化を与えることが明らかになった。画像診断の精度と汎用性は急速に高まっており、メカニカルストレスの数値解析により補綴治療後の骨形成・骨吸収が予測可能となれば、将来的には患者個々の顎骨の三次元データと咬合力とともに、補綴設計のクオリティアセスメントが歯科医療の現場において行えるようになる。そのため、今後の補綴治療や骨造成の予後を推察するために応用されることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Alveolar bone resorption is a poor prognostic factor for dental implants and dentures. Therefore, alveolar bone regeneration and maintenance are strongly desired in clinical practice. This study aimed to clarify the effects of the estimated changes in the distribution pattern of mechanical stress on the morphology of the alveolar bone during bone regeneration by performing bone regeneration. The results suggest that the changes in mechanical stress to the alveolar bone via excessive occlusion promote new bone formation during alveolar bone regeneration.

研究分野：歯学・補綴系歯学

キーワード：歯槽骨再生 RANKL結合ペプチド BMP-2 メカニカルストレス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抜歯後の顎堤の減少は、可撤性義歯やインプラント等の補綴治療の予後不良因子となり、咀嚼力低下や審美的問題をしばしば引き起こす。そのため、歯槽骨を維持する方法とその診査・診断が臨床の現場において強く望まれている。

局所の骨再生において、bone morphogenetic protein (BMP)-2 は高い骨形成能を有する成長因子であるが、高用量の使用では炎症や浮腫等の副作用の問題がある。receptor activator of nuclear factor Kappa-B ligand (RANKL)結合ペプチドと BMP-2 を併用することで、BMP-2 の併用量を減らし、抜歯窩内部に多くの新生骨形成効果を持つことを示し、その周囲の顎堤の吸収を抑えることを明らかにした。

また、顎堤における力学的刺激(メカニカルストレス)は、顎堤の骨形成と骨吸収に関与していることがこれまでに明らかとなっていることから(Suzuki et al. Biomech Model Mechanobiol. 2015)、前述の抜歯窩周囲顎堤の変化は咬合を介したメカニカルストレスによるものである可能性が高いと考え、骨造成中の咬合力の変化が与える骨形成への影響を評価した(図 2)。その結果、メカニカルストレスの増加により隆起状の造成骨が形成され、また非咬合側と比較し高い骨密度を示した。しかし、咬合によるメカニカルストレスが骨造成部に伝達し、影響を及ぼすための分子メカニズムはいまだに不明な点が多い。そこで本研究では、メカニカルストレスの分布を μ CT 撮影像から解析し(Fujiki et al. Biomech Model Mechanobiol 2013)、メカニカルストレスが骨再生中の顎堤に与える形態的变化を明らかにすることを目的とした。

2. 研究の目的

本研究は、歯槽骨に対し RANKL 結合ペプチドによる骨造成を行い、同時に過剰な咬合力を加えることで、メカニカルストレスの分布の変化が骨再生中の顎堤に与える形態的变化を明らかにすることである。最終的には、顎堤に対して適切なメカニカルストレスの診査・診断が可能となれば、臨床において再生した骨の維持のための一つの方法として応用することができる。そのため、以下の2つの目的を立てた。

- (1) 骨造成に対し、過剰咬合が及ぼす新生骨形成への影響を明らかにすること
- (2) 長期的な過剰咬合付与方法の検討
- (3) 過剰咬合が及ぼす影響と力学的荷重シミュレーションとの関連を明らかにすること

3. 研究の方法

(1) 咬合を介したメカニカルストレスの変化が及ぼす骨造成への影響の検討

マウス臼歯咬合面にワイヤーを付与した過剰咬合モデルを用いた(Goto et al. J Dent Res 2011)。麻酔下でマウスの下顎右側大臼歯咬合面に、直径 0.3mm のワイヤーを接着させた(図 1)。接着には、MMA 系レジンセメント(スーパーボンド、サンメディカル)を用いた。ワイヤーはサンドブラスト処理し、歯面は、10 秒エッチング処理を行った。その後水洗・乾燥し、3 臼歯の咬合面にワイヤーを接着させた。これと同時に、左右両側の上顎骨頬側に(1)で検討した骨増生を行った。右側を過剰咬合側とし、ワイヤーをつけていない左側の臼歯部は咬合することができないため、非咬合側として比較した。骨造成期間は2週間とした。この期間の間、骨形成マーカーとして蛍光色素(カルセイン、アリザリン、デメクロサイクリン)の皮下注射をそれぞれ1度ずつ計3回行った。

(2) 長期的な過剰咬合付与方法の検討

実験には C57BL6/J マウスを用いた。すでに予備実験を行っていたワイヤーを用いた過剰咬合モデルを確立していたものの、三週間以上の長期において、接着させていたワイヤーの離脱による過剰咬合の喪失が問題となっていた。そのため、他の過剰咬合モデルの候補として、上顎第二、第三臼歯を抜歯することで、残存した第一臼歯への過剰咬合を引き起こすモデルを検討した(Xu et al. J Dent Res 2019)。麻酔下にて、上顎第二、第三臼歯を先端が細く短く曲がった探針を歯根膜部に挿入し、慎重に揺らすことで臼歯を脱臼し、抜歯を行なった(図 1)。抜歯後1週および4週後に上顎骨を採得した。マウスの安楽死2日前と9日前にそれぞれカルセインとアリザリンを骨形成マーカーとして注射した。

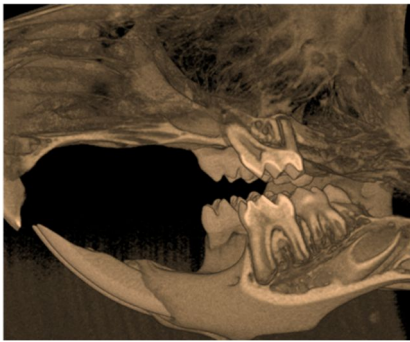


図1．上顎第二，第三臼歯抜歯後の咬合関係（左側）．右側は対照群．

(3) X線学的解析および組織学的解析

X線学的解析として， μ CTの再構築像にて新生骨の観察，pQCTによる骨密度の解析，を行った．また，凍結切片により顎骨標本を作成し，各々の組織切片を用い，von kossa染色による石灰化組織の観察，TRAP染色による破骨細胞出現の確認，蛍光ラベリングによる骨形成の速度や局在性も含め検討を行った．

4．研究成果

(1) 過剰咬合モデルマウスに対する歯槽骨増生作用の検討

μ CT再構築像より，両側ともに上顎臼歯部頬側に海綿骨様の新生骨が認められた．一方で，過剰な咬合によるメカニカルストレスを与えた右側の過剰咬合側は，左側の非咬合側よりも多くの明瞭な海綿骨様構造が現れていた（図2）．

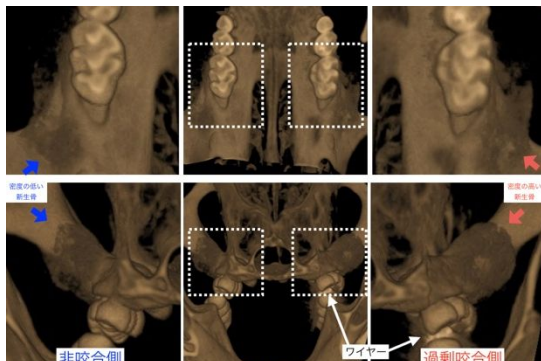


図2．骨新生後の μ CT再構築像

より詳細に新生骨を解析するためにpQCTを用いた．上顎歯槽骨の母骨と新生骨を区別するために骨密度が $690\text{mg}/\text{cm}^3$ 以下を新生骨として骨塩量（BMC）および骨密度（BMD）を計測したところ，上顎骨頬側の新生骨骨塩量および骨密度は過剰咬合側において非咬合側と比べ有意に高かった（図3）．

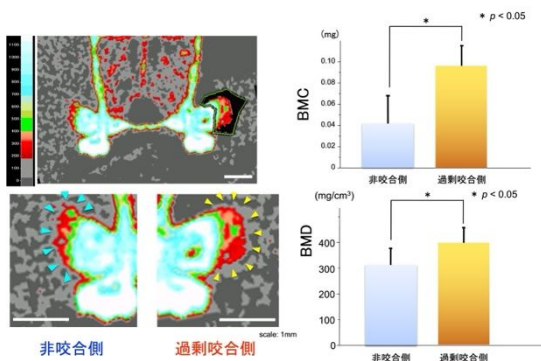


図3．メカニカルストレスの有無による新生骨の比較

組織学的解析では，von Kossa染色の結果，過剰咬合側には多くの石灰化した骨が認められ，X線学的解析と同様の所見であった．蛍光ラベリングの結果，アリザリンにラベルされた頬側骨

の根尖側の部位では、過剰咬合側で広いラベルが観察され、5日目での顕著な骨形成活性が示された。そのため、この部位を中心に咬合を介したメカニカルストレスが周囲歯槽骨の骨形成に影響を与えたことが示唆された。また、TRAP染色にて、歯根分岐部周囲の歯根膜上のTRAP陽性細胞を観察したところ、過剰咬合側において破骨細胞が出現していた。これは、過剰咬合によるメカニカルストレスの影響により、歯根分岐部に破骨細胞が出現するという報告と一致しており、本研究においても過剰咬合モデルによるメカニカルストレスが関与したことを明らかにすると考えられる。一方で、過剰咬合モデルマウスに対する7日間の観察報告によると、歯根分岐部の破骨細胞出現は、メカニカルストレスの作用開始後4日目に最大となり、その後減少していくとされるが、本研究においては14日目にも破骨細胞の出現が認められた。このことは、歯槽骨の増生により、メカニカルストレスの分布が変化し、長期に渡って歯槽骨のリモデリングが起こっている可能性が推察される。

(2) 抜歯を用いた過剰咬合付与の検討

ワイヤー接着よりもより長期的な咬合力の変化をみるために、抜歯を用いた過剰咬合付与を行なった。抜歯により咬合接触の局所集中を起こした左側臼歯を実験群、抜歯していない右側を対照群とした。非脱灰凍結切片を作成し、骨形成マーカの解析を行ったところ、第一臼歯頬側歯槽骨では、歯槽骨の頬側で骨形成が増加しており、一方で、口蓋側では変化は認められなかった。骨形成速度の計測を行ったところ、歯槽骨頬側において、過剰咬合付与から1週および4週で実験群に有意な骨形成速度の上昇が認められた(図4)。

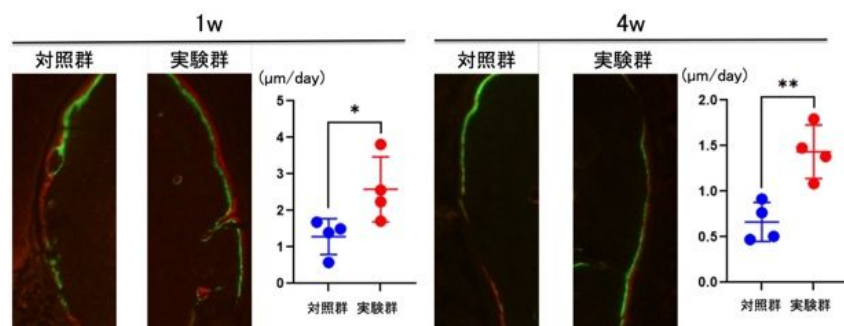


図4. 骨形成マーカを用いた骨形成速度の計測

また咬合力を想定した有限要素解析においても、咬合力の増加が歯槽骨に及ぼす歪みの分布に変化を及ぼすことが明らかである(図5)。

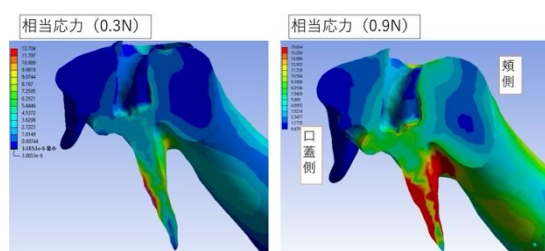


図5. 第一臼歯に加えられた力学的荷重による歯槽骨への歪み分布

以上の結果から、過剰な咬合力を介した歯槽骨へのメカニカルストレスの変化が、歯槽骨の骨造成における新生骨形成を促進することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Arai Yuki, English Jeryl D., Ono Noriaki, Ono Wanida	4. 巻 26
2. 論文標題 Effects of antiresorptive medications on tooth root formation and tooth eruption in paediatric patients	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Orthodontics & Craniofacial Research	6. 最初と最後の頁 29 ~ 38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ocr.12637	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 Matsushita Yuki, Liu Jialin, Chu Angel Ka Yan, Tsutsumi-Arai Chiaki, Nagata Mizuki, Arai Yuki, Ono Wanida, Yamamoto Kouhei, Saunders Thomas L., Welch Joshua D., Ono Noriaki	4. 巻 14
2. 論文標題 Bone marrow endosteal stem cells dictate active osteogenesis and aggressive tumorigenesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	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) 10.1038/s41467-023-38034-2	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 Ishioka Yurika, Wada Junichiro, Kim Eung-Yeol, Sakamoto Kazuki, Arai Yuki, Murakami Natsuko, Yamazaki Toshiki, Takakusaki Kensuke, Hayama Hironari, Utsumi Miona, Inukai Shusuke, Wakabayashi Noriyuki	4. 巻 12
2. 論文標題 Morphological Comparison of Residual Ridge in Impression for Removable Partial Denture between Digital and Conventional Techniques: A Preliminary In-Vivo Study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 7103 ~ 7103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm12227103	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 Tsutsumi-Arai C., Arai Y., Tran A., Salinas M., Nakai Y., Orikasa S., Ono W., Ono N.	4. 巻 103
2. 論文標題 A PTHrP Gradient Drives Mandibular Condylar Chondrogenesis via Runx2	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Dental Research	6. 最初と最後の頁 91 ~ 100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/00220345231208175	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 Okawara Hisami, Arai Yuki, Matsuno Hitomi, Marci?n Petr, Bor?k Libor, Aoki Kazuhiro, Wakabayashi Noriyuki	4. 巻 116
2. 論文標題 Effect of load-induced local mechanical strain on peri-implant bone cell activity related to bone resorption and formation in mice: An analysis of histology and strain distributions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials	6. 最初と最後の頁 104370 ~ 104370
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmbbm.2021.104370	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 Isoshima Keigo, Ueno Takeshi, Arai Yuki, Saito Hiroki, Chen Peng, Tsutsumi Yusuke, Hanawa Takao, Wakabayashi Noriyuki	4. 巻 100
2. 論文標題 The change of surface charge by lithium ion coating enhances protein adsorption on titanium	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials	6. 最初と最後の頁 103393 ~ 103393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmbbm.2019.103393	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6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Yuki Arai, Mizuki Nagata, Chiaki Tsutsumi-Arai, Noriaki Ono, Wanida Ono
2. 発表標題 Bisphosphonates induce permanent defects in tooth root formation and long-term disruption in tooth eruption by inhibiting PTHrP-expressing dental follicle in growing molars
3. 学会等名 ASBMR 2022 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuki Arai, Wanida Ono
2. 発表標題 Bisphosphonates disrupt tooth eruption by inhibiting PTHrP-expressing dental follicle cells
3. 学会等名 International Association for Dental Research (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 新井 祐貴, 大河原 久実, 松野 瞳, 若林 則幸
2. 発表標題 マウス抜歯窩モデルに対するBMP-2併用RANKL結合ペプチドの新生骨形成効果
3. 学会等名 日本補綴歯科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新井 祐貴, 青木 和広, 田村 幸彦, 長弘 茂樹, 大河原 久実, 上原 智己, 宮新 美智世, 若林 則幸
2. 発表標題 過剰咬合モデルマウスにおけるRANKL結合ペプチドを使用した歯槽骨造成の評価
3. 学会等名 日本骨形態計測学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大河原 久実, 新井 祐貴, 松野 瞳, 若林 則幸
2. 発表標題 インプラントを介したマウス上顎骨への荷重による歪みが骨細管と骨形成に及ぼす影響
3. 学会等名 日本補綴歯科学会東京支部総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Isoshima Keigo, Ueno Takeshi, Saito Hiroki, Arai Yuki, Tsutsumi Yusuke, Peng Chen, Hanawa Takao, Wakabayashi Noriyuki
2. 発表標題 Increased extracellular proteins adsorption on electropositive titanium surfaces
3. 学会等名 IADR 86th General Session & Exhibition (国際学会)
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----

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			
米国	UTHealth Houston			