

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18793

研究課題名（和文）壮年期矯正患者におけるdaidzeinの骨吸収抑制効果とそのメカニズムの検討

研究課題名（英文）Investigation of inhibitory effect and mechanism of daidzein on bone resorption in middle-aged orthodontic patients.

研究代表者

清水 真美（SHIMIZU, Mami）

日本大学・松戸歯学部・助教

研究者番号：50732856

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の結果、骨芽細胞に矯正力を負荷した後、Daidzein (DZ)を投与した圧迫側では骨吸収因子であるRANKLの発現が減少しOPGは増加した。牽引側では骨形成因子であるALP、OCN、BMP-2の発現が増加した。また子宮を摘出した(OVX)ラットの歯の移動後にDZを投与した群で骨密度、骨梁体積率が増加し、後戻り率が減少した。

以上から矯正力を負荷した骨芽細胞にDZを添加することで骨吸収が抑制され骨形成が促進されるといえる。またOVX群に矯正治療後DZの投与により後戻りを抑制できると考えられる。これらより壮年期患者の矯正治療後の後戻りの抑制にDZが効果的であ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

本研究の結果から矯正力を負荷した後、骨芽細胞にDZを添加することで骨吸収が抑制され骨形成が促進された。さらにOVX群に矯正歯科治療後にDZを投与することで骨密度、骨梁体積率が増加した。これらのことより矯正歯科治療後にDZを添加することにより圧迫側で破骨細胞の分化を抑制し骨吸収を減少させ、牽引側では骨形成を促進することで、歯槽骨のリモデリングを早期に安定させ後戻りを抑制する可能性が示唆された。また骨量が減少して後戻りリスクの高い、壮年患者にもDZをサプリメントなどの形で動的治療終了時から服用させることで、保定期間を短縮化できる可能性があり意義あるものとなった。

研究成果の概要（英文）：The results of this study showed that the expression of RANKL, a bone resorption factor, decreased and OPG increased on the compression side where Daidzein (DZ) was administered after applying tensile force to osteoblasts. On the tension bone-forming factors, increased. In addition, bone mineral density and bone trabecular volume fraction increased in the DZ-treated group after tooth movement in ovariectomized (OVX) rats, and the rate of retroversion decreased.

These results suggest that the addition of DZ to osteoblasts under orthodontic stress suppresses bone resorption and promotes bone formation. In addition, administration of DZ to the OVX group after orthodontic treatment may suppress relapse. These results suggest that DZ is effective in preventing relapse after orthodontic treatment in middle-aged patients.

研究分野：矯正歯科学

キーワード：Daidzein 壮年期 後戻り

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、高齢化が進むにつれ歯科矯正治療を希望する年齢層も高まってきており、30代以降での初診も多く存在する。加齢によって体に様々な代謝の変化が生じるが、中でも骨量の変化は矯正治療における歯の移動時に骨のリモデリングを必要とするため矯正治療に深く関与すると考えられる。加齢に伴い、骨のリモデリングにおける形成と吸収の均衡が破綻し吸収能が骨形成能を上回ることによって骨量が減少する。骨量が減少している状態で矯正力を加えると、矯正力による歯根膜由来の破骨細胞の活性化も合併し、広範囲で歯槽骨の吸収が生じる可能性がある。これらの患者では矯正歯科治療後の骨のリモデリングにおいて骨吸収が骨形成を上回ってしまうため後戻りが生じやすいといえる。そこで本研究では、矯正治療後の骨吸収の抑制のため、骨形成促進と骨密度の増加を主作用とする大豆から抽出された化合物で、骨粗鬆症の予防薬である daidzein に焦点を当てることとした。申請者らは、矯正治療後に投与することでヒト歯根膜細胞の細胞増殖を活性化し、コラーゲン代謝を促進し後戻りを抑制することを報告している^{1,2)}。Daidzein は女性ホルモンであるエストロゲンと構造が類似しており、骨粗鬆症などで不足したエストロゲンの代わりに摂取することで、骨形成の促進と骨密度の増加を促す作用がある³⁾。さらに Rassi ら⁴⁾は、daidzein により破骨細胞の分化が抑制され、骨吸収が軽減すると報告しており daidzein は、骨吸収の抑制にも効果があるといえる。また申請者らは daidzein の骨吸収抑制と骨吸収促進作用により矯正治療後の保定期間を短縮化することを目的に研究を進め daidzein が骨形成を促進する可能性があることまで報告している⁵⁾。しかしながら矯正治療後の歯槽骨の骨代謝への影響などについては報告されていない。そこで本研究では、daidzein が壮年期の骨の代謝機能が変化し骨量が減少してきている矯正患者の歯が移動した後の骨のリモデリングにおいて骨吸収を抑制し骨形成を促進することで後戻りを抑制できると考えその作用について検討した。

2. 研究の目的

本研究は、申請者らが注目してこれまで研究を行ってきた daidzein が壮年期の骨の代謝機能が変化し骨吸収を起こしやすい矯正患者の矯正的な歯の移動後の歯槽骨の骨代謝にどのように関与するのか、骨吸収を抑制し骨形成を促進し後戻りを抑制できるのか以下のことを検討する。

(1) Daidzeinが歯の移動後の歯槽骨代謝にどのような影響を与えるか。

(2) Daidzeinが壮年期矯正患者の歯の移動後の歯槽骨代謝にどのような影響を与えるか。

壮年期の矯正患者は骨代謝機能の低下や歯周病の罹患による骨量の減少など、歯の移動時に歯槽骨が吸収するリスクが大きい。また、矯正医はこのリスクから壮年期以降の患者の矯正治療に消極的になってしまい治療自体を行わない場合もある。ゆえに、daidzein のような経口摂取が可能で患者負担が少なく矯正医自身でも患者に指導できる方法を確立することは非常に意義がある。そこで本研究では、この daidzein の作用を利用し壮年期の矯正患者の歯の移動後の歯槽骨の骨代謝への影響とそのメカニズムについて解明することにより、矯正治療の適応範囲の拡大することで、矯正治療のリスクを軽減でき矯正歯科治療の限界を広げる一助になる。

3. 研究の方法

(1) Daidzein が歯の移動後の歯槽骨代謝にどのような影響を与えるかを *in vitro* にて検討した。骨芽細胞として MC3T3-E1 細胞を実験に用いた。動的矯正治療モデルとして圧迫側と牽引側を再現する為、骨芽細胞に圧迫力と伸展力を負荷し、負荷を除去した後に DZ を添加した。圧迫側では骨吸収関連因子である receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand (RANKL)、OPG, macrophage-colony stimulating factor (M-CSF) の遺伝子発現及びタンパク産生量と TRAP (Tartrate-

Resistant Acid Phosphatase) 活性を用いて DZ の骨吸収抑制作用及び破骨細胞の分化抑制効果について検討することとした。さらに牽引側では骨形成因子である bone morphogenetic protein (BMP) -2, Alkaline phosphatase (ALP), Osterix (OSX), Osteocalcin (OC) の遺伝子発現及びタンパク産生量について検討した。対照群および実験群は、それぞれ次の3群に分類した。圧迫側モデルにおいては無処置群; control (CTL) 群, 圧迫力を負荷した群; Compression force (CF) 群, 圧迫力を負荷した後に DZ を添加した群; CF + DZ 群に分類した。牽引側モデルにおいては、無処置群; CTL 群, 伸展力を負荷した群; Tension force (TF) 群, 伸展力を負荷し DZ を添加した群; TF + DZ 群に分類した。

(2) Daidzeinが壮年期矯正患者の歯の移動後の歯槽骨代謝にどのような影響を与えるか検討する為に、ホルモンの影響が大きい閉経期の女性に焦点を当て子宮を摘出したラット(Wistar系雌性ラット60日齢にて卵巢摘出手術(OVX)を実施)を用いて88日齢にて矯正学的な歯の移動を14日間行った後に14日間保定しdaidzeinを腹腔内注射した。その後14日間後戻りの観察を行った。マイクロコンピューター断層撮影を行い、骨の形態計測及び骨密度の測定を行った(図1)。

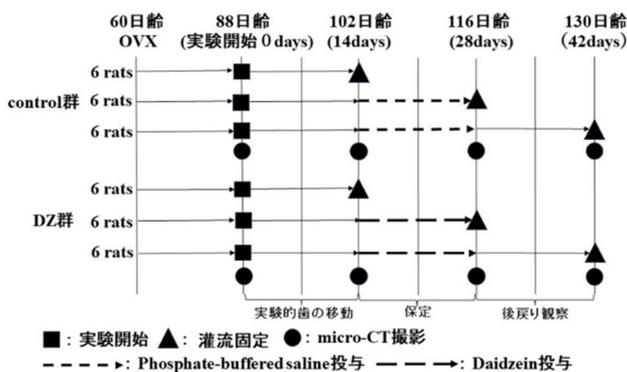


図1. 実験計画

4. 研究成果

In vitro の結果、圧迫側モデルではRANKL, M-CSF の遺伝子発現量およびタンパク産生量はCF群と比較してCF + DZ 群で経時依存的に減少した。OPG の遺伝子発現量はCFと比較してCF + DZ 群で増加した(図2)。またTRAP染色を行った結果、CTL群と比較して、CF群で有意に増加し、CF群と比較してCF + DZ 群では、TRAP陽性多核細胞の数が減少した(図4)。牽引側モデルにおける遺伝子発現量およびタンパク産生量では、TF群はCTL群と比較してBMP-2, ALP, OSX, OCの発現量は増加傾向にあった(図3)。さらにTF + DZ 群では、TF群と比較してBMP-2, ALP, OSX, OCの発現は増加傾向にあった。このことより矯正力を負荷した骨芽細胞にDZを作用させることで圧迫側においてはRANKL, M-CSFの発現を抑制しOPGの発現を増加することで破骨細胞の分化を抑制し、骨吸収を減少させ、牽引側においてはBMP-2, ALP, OSX, OCの発現を増加させ、骨形成を促進することで歯槽骨のリモデリングを早期に安定させ後戻りを抑制する可能性が示唆された。

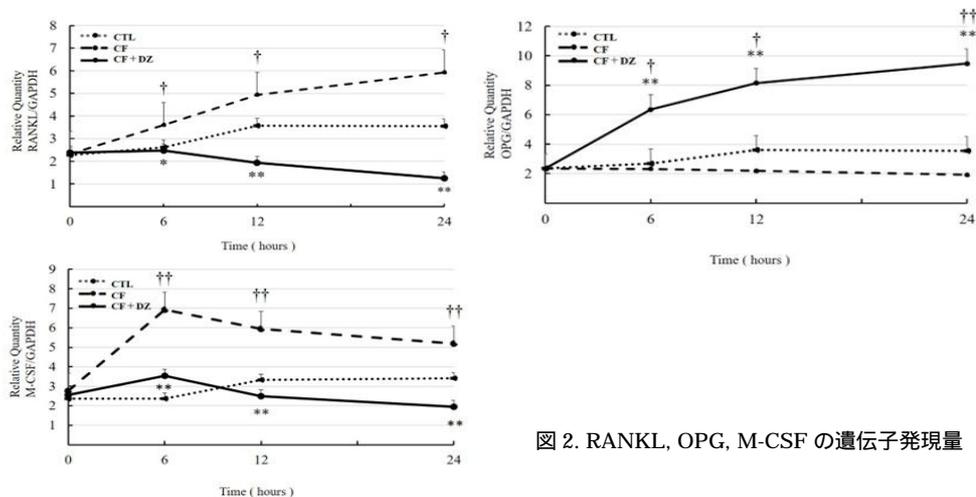


図 2. RANKL, OPG, M-CSF の遺伝子発現量

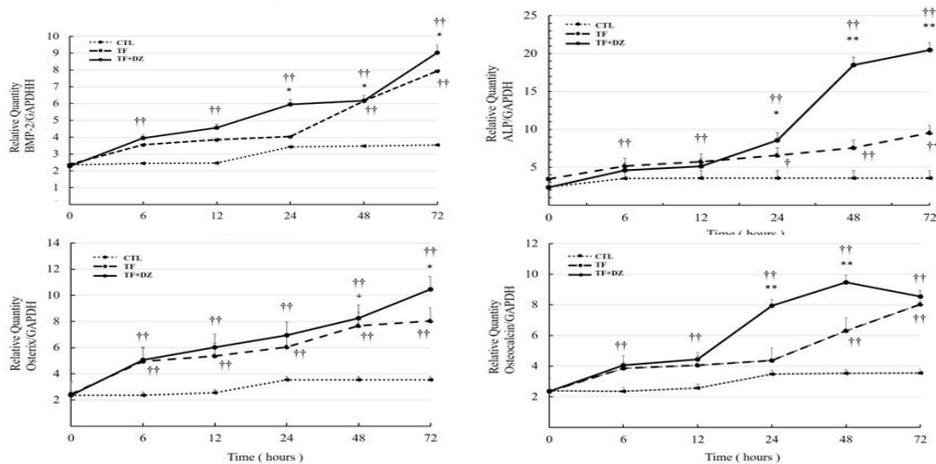


図 3. BMP-2, ALP, OSX, OC の遺伝子発現量

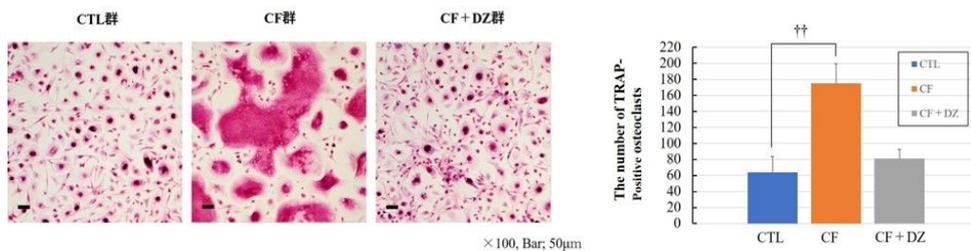


図 4. TRAP 染色

また in vivo の結果から後戻り率の検討については、control 群に比べ、DZ 群にて有意に減少した(図 5)。骨密度、骨梁体積率の検討については、control 群に比べ、DZ 群にて 28、42 日目における骨密度、骨梁体積率の有意な増加を認めた(図 6)。control 群に比べ DZ 群で後戻り率が低下したのは、牽引側での骨形成の促進と圧迫側における骨吸収の抑制が行われたことで、歯の移動が抑制されたことが考えられる。また、CT 解析によって保定、後戻り観察の期間にかけて DZ 群にて骨密度、骨梁体積率が増加したのも、保定期間に DZ を投与することで徐々に骨芽細胞による骨形成と、破骨細胞抑制による骨吸収抑制が行われたためと考えられる。エストロゲンは破骨細胞を抑制し、骨細胞と骨芽細胞を増加させることで骨量を維持するが、DZ はエストロゲンと構造が類似している為、エストロゲンと同様の作用を発揮したことによるものといえる。これより、壮年期(閉経後)の女性矯正患者において DZ を投与することで、後戻りを抑制する可能性が示唆された。しかしながら免疫組織化学的な解析が出来ておらず、OVX を行った患者でのサイトカインなどの動態が不明であるため今後さらなる検討が必要である。

これらの研究より DZ の有用性が証明できればすでに骨粗鬆症の予防薬として臨床応用されている薬物であるため矯正歯科治療後に服用することで早期に歯周組織を安定させ保定期間の短縮化も可能になると考える。

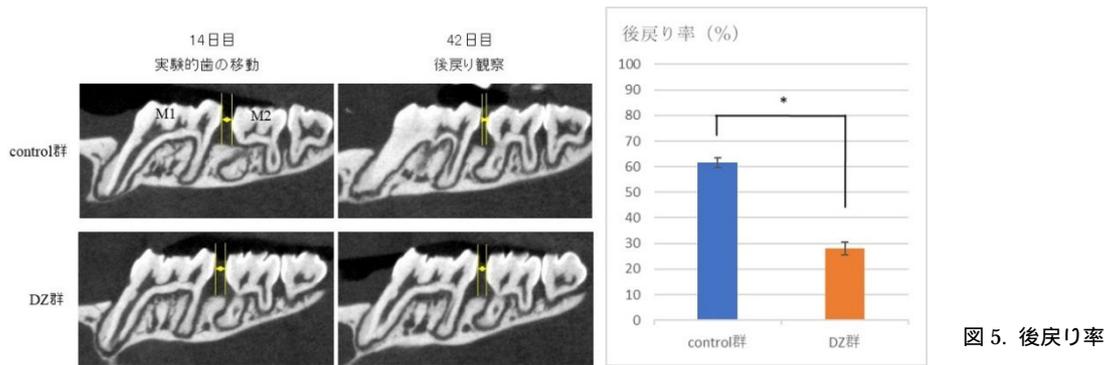


図 5. 後戻り率

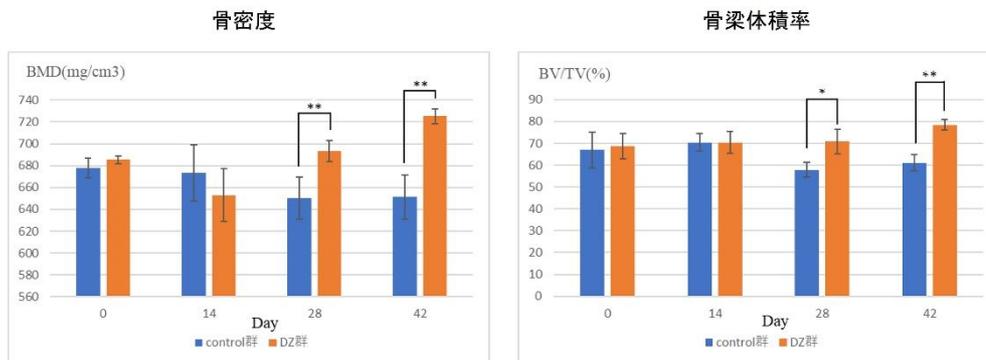


図 6. 骨密度と骨梁体積

(引用文献)

- 1) Nakayama E et al, Int J Oral- Med Sci, 17 (1) :18-26, 2018,
- 2) Yamaguchi M et al, Int J Oral- Med Sci, 17 (1) :27-32, 2018.
- 3) Strong AL et al, Stem Cell Res Ther, 5(4):105, 2014,
- 4) Rassi C M et al, J Bone Miner Res, 17: 630-638, 2002.
- 5) 鹿野ら, 第 77 回日本矯正歯科学会大会, 2018.10.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4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 Mayu Kurasawa-Kanao, Tadasu Sugimori, Kotaro Ito, Mami Shimizu, Yutaka Enomoto, 2 Takashi Kaneda, Shinichi Negishi	4. 巻 21
2. 論文標題 Association of Computed Tomography Values of the Tooth Root and Alveolar Bone with Orthodontic Root Resorption	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Oral-Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 71-81
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5466/ijoms.21.71	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 瀬端真知, 清水真美, 根岸慎一, 櫻井三央子, 葛西一貴	4. 巻 48
2. 論文標題 下顎前歯先天性欠如と上顎埋伏過剰歯を伴うAngle II級症例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日大口腔科学	6. 最初と最後の頁 74-81
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 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 -

1. 著者名 Sakurai Mioko, Shimizu Mami	4. 巻 79
2. 論文標題 Daidzein induces bone morphogenetic protein-2 and runt-related transcription 2 on periodontal ligament cells after experimental tooth movement	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Orthodontic Waves	6. 最初と最後の頁 145 ~ 151
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/13440241.2020.1839208	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 田畑薫, 清水真美, 菊田純, 森泉瑛加, 中島稜太, 根岸慎一	4. 巻 in press
2. 論文標題 動的矯正歯科治療後のDaidzeinの骨吸収抑制効果の検討	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Clinical and Investigative Orthodontics (Japanese Edition)	6. 最初と最後の頁 in press
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 清水真美, 田畑薫, 中島稜太, 櫻井三央子, 鹿野瑞貴, 根岸慎一	4. 巻 50
2. 論文標題 矯正歯科治療後の伸展骨芽細胞におけるDaidzeinの骨形成促進効果の検討	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 日大口腔科学	6. 最初と最後の頁 42-48
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 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 山下えりか, 菊田純, 清水真美, 泉福英信, 根岸慎一
2. 発表標題 至適矯正力によるジグリングが歯根吸収のシグナル伝達へ及ぼす影響
3. 学会等名 第81回日本矯正歯科学会学術大会 & 第9回日韓ジョイントシンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 船崎紅緒, 清水真美, 菊田純, 疋田拓史, 根岸慎一
2. 発表標題 歯科矯正治療中に生じる歯根吸収におけるセメント芽細胞のアポトーシスとWntシグナルの関連性について
3. 学会等名 第81回日本矯正歯科学会学術大会 & 第9回日韓ジョイントシンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉森匡, 山口大, 菊田純, 清水真美, 根岸慎一
2. 発表標題 Micro-osteoperforationsは歯根吸収の進行を増悪せずに矯正学的歯の移動速度を促進させる
3. 学会等名 第81回日本矯正歯科学会学術大会 & 第9回日韓ジョイントシンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金尾茉優、杉森匡、伊東浩太郎、清水真美、榎本豊、金田隆、根岸慎一
2. 発表標題 歯根および歯槽骨の Computed tomography 値が、矯正歯科治療時に生じる歯根吸収に及ぼす影響
3. 学会等名 第22回 日本大学口腔科学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 櫻井三央子、清水真美、疋田拓史、鹿野瑞貴、葛西一貴
2. 発表標題 矯正歯科治療後の後戻りに対するdaidzeinの抑制効果
3. 学会等名 第20回日本大学口腔科学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mioko Sakurai, Mami Shimizu, Takuji Hikida, Mizuki Kano, Kazutaka Kasa
2. 発表標題 Daidzein inhibits the relapse to promote osteogenic differentiation of human periodontal ligaments cells after orthodontic treatment
3. 学会等名 The 9th International Orthodontic Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mioko Sakurai, Mami Shimizu
2. 発表標題 Daidzein induces osteogenesis of human periodontal ligament cells via the expression of BMP-2 and Runx2
3. 学会等名 96th Congress of the European Orthodontic Society (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mami Shimizu, Mioko Sakurai, Takuji Hikida, Kazutaka Kasai
2. 発表標題 Daidzein promotes bone formation after rapid maxillary expansion
3. 学会等名 96th Congress of the European Orthodontic Society (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田畑薫, 中島稜太, 中山瑛加, 疋田拓史, 菊田純, 清水真美, 根岸慎一
2. 発表標題 Daidzeinによる歯科矯正治療後の骨吸収抑制効果について
3. 学会等名 第82回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 清水真美, 田畑薫, 中島稜太, 鹿野瑞貴, 根岸慎一
2. 発表標題 Daidzeinは矯正的な歯の移動後の骨芽細胞に作用し骨形成を促進する
3. 学会等名 第82回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中島稜太, 田畑薫, 清水真美, 疋田曜子, 根岸慎一
2. 発表標題 壮年期矯正患者におけるDaidzeinの矯正治療後の後戻り抑制効果の検討
3. 学会等名 第82回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kaoru TABATA., Ryouta NAKAJIMA., Takehiro IWANE., Erika NAKAYAMA., Takuji HIKIDA., Jun KIKUTA., Mami SHIMIZU., Shinichi NEGISHI.
2. 発表標題 The effect of Daidzein on the suppression of bone resorption after orthodontic treatment
3. 学会等名 第14回台湾口腔矯正醫學會 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Mami SHIMIZU., Kaoru TABATA., Ryouta NAKAJIMA., Mizuki KANO., Shinichi NEGISHI
2. 発表標題 Daidzein promotes the osteogenic of osteoblast after orthodontic tooth movement.
3. 学会等名 第14回台湾口腔矯正醫學會 (国際学会)
4. 発表年 2023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