

期間番号 : 33602

研究種目 : 若手研究 (B)

研究期間 : 2009~2010

課題番号 : 21792103

研究課題名 (和文) 加齢に伴う実験的歯の移動における歯根膜組織の改造活性能

研究課題名 (英文) Quantitative analysis on effects of aging on orthodontic tooth movement.

研究代表者

影山 徹 (KAGEYAMA TORU)

松本歯科大学・歯学部・講師

研究者番号 : 80319102

研究成果の概要 (和文) : 加齢したモデル動物に実験的歯の移動を行い、歯根膜組織の分裂能変化と歯の移動量の関係を明らかにすることを目的とした。10~80週齢のラットを用い、上顎第一臼歯をスプリングにより2週間近心牽引した。水平断連続切片を作製し、PCNA免疫染色を行い、各週齢による歯の移動量及びPCNA陽性細胞数を定量化した。実験開始2週間後、矯正的歯の移動量は加齢に伴い減少した。PCNA陽性細胞数は全ての週齢において対照群に比べ上昇したが、加齢に伴い減少した。

研究成果の概要 (英文) : The purpose of this study was to investigate the effects of aging on the amount of tooth movement and concomitant changes of cell proliferation in the periodontal tissue adjacent to orthodontically treated tooth roots. Wistar rats of four different age groups (10, 30, 50, and 80 weeks of age) were used in the experiment. Maxillary first molars (M1) were retracted mesially with a nickel titanium alloy coil-spring for 2 weeks by a continuous force of 10 cN. Amount of tooth movement was measured the distance between the most mesial point of the M1 and the maxillary incisor at the gingival level. Parahorizontal serial sections of the first molar were made after tooth movement. The changes in periodontal tissue turnover were assessed histochemically and immunohistochemically. The sections were stained for PCNA activity. Two weeks after the start of tooth movement, the amount of tooth movement was found to decrease with age and was significantly different among the four age groups ( $P < 0.05$ ). The quantitative analysis demonstrated that, in all experimental groups, the number of PCNA positive cell in periodontal membrane increased significantly compared with that of each age-matched untreated group ( $P < 0.001$ ). However, the rate of increase decreased in an age-related manner.

交付決定額

(金額単位 : 円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野 : 医歯薬学

科研費の分科・細目 : 歯学・矯正・小児歯学

キーワード : 歯学・細胞・組織・歯根膜組織・歯の移動

### 1. 研究開始当初の背景

矯正臨床において、成長期に行う矯正治療より成人矯正では治療が長期に及ぶことが知られている。一方、歯科矯正基礎分野においては歯周組織の加齢変化に関して、骨形成活性および骨吸収活性が低下することが矯正的歯の移動に影響を与えることが知られているものの、加齢による歯根膜内の細胞活性能についてはいまだ解析が進んでいない。歯の移動実験については加齢により歯の移動量は低下する研究結果が得られているが (Angle Orthod. Vol67(1):67-72 1997)、加齢を伴う歯の移動と歯根膜組織の改造活性の関係については未だ明らかにされていない。加齢に伴う実験的歯の移動における歯根周囲歯槽骨の改造活性能については、申請者の研究グループによって、6 週齢から 100 週齢までのラットを資料として使用し、生理的条件下での加齢に伴う連続的な歯根周囲歯槽骨の骨吸収活性および骨形成活性を定量化した (Arch. Oral Biol 2007; 52: 44-50.) 後に、10 週齢から 80 週齢について歯の移動実験を行い、歯の移動量、骨吸収活性、骨形成活性の解析をし、その成果を報告 (Eur J Oral Sci 2007; 115: 124-130.) した。これらの活性は歯根膜の細胞分裂能より促されると考えられ、加齢と歯根膜組織の改造活性を増強するために、特に歯根膜内の血管新生が矯正的歯の移動にどのように関係しているのか明らかにする必要がある。

### 2. 研究の目的

申請者は加齢に伴う実験的歯の移動における歯根周囲歯槽骨の改造活性能を研究し、加齢に伴い歯根周囲歯槽骨の骨吸収活性および骨形成活性は低下することにより、矯正的歯の移動量が減少することを見出した (Arch. Oral Biol 2007; 52: 44-50., Eur J Oral Sci 2007; 115: 124-130.). 加齢と歯根膜組織の改造活性の関係については未だ明らかにされておらず、特に歯根膜内の細胞分裂能が矯正的歯の移動にどのように関係しているのか明らかにする必要がある。そこで、本研究では、10 週齢から 80 週齢のラット上顎第一臼歯を同一な規格で近心移動が可能な装置により実験的歯の移動を行った際、歯根膜組織の細胞分裂活性と矯正的歯の移動量との関係について解析する。

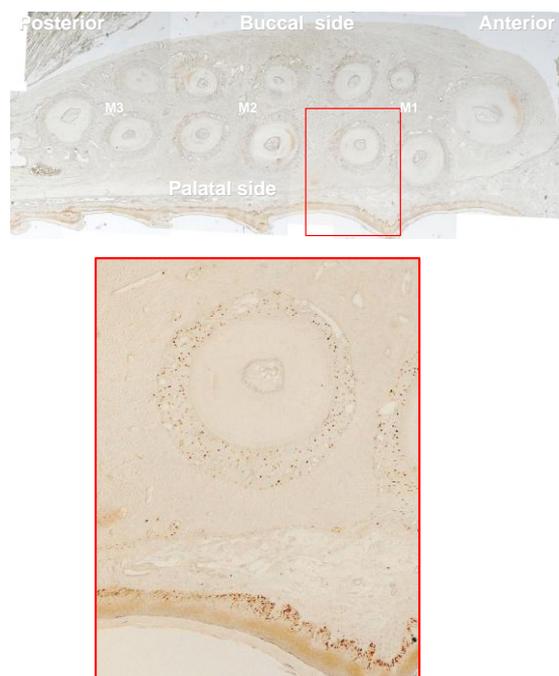
### 3. 研究の方法

1) 加齢モデル動物  
実験モデルには生理的条件下においてモデルリングパターンが一定しており、骨代謝が活発であるラットを用いた。加齢モデルは

骨形成活性および骨吸収活性が各週齢において明らかとなっている 10、30、50、80 週齢の Wistar 系雄性ラットを用いた。

#### 2) 観察部位

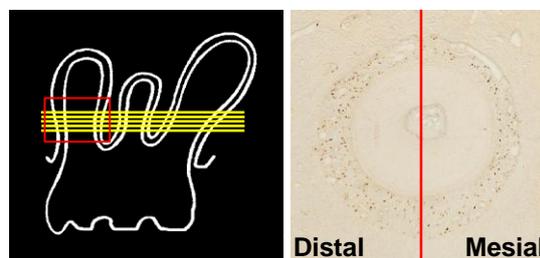
PCNA 免疫染色を行った生理的状況下のラット上顎および上顎第一臼歯遠心口蓋根の拡大像 (赤枠) を図に示す。



本研究における観察部位は、骨形成および骨吸収のパターンがはっきりしており、観察に適している上顎第一臼歯の遠心舌側根とした。上顎第一臼歯の遠心舌側根の歯根膜および上皮基底細胞層では PCNA 陽性細胞が多数観察された。

#### 3) 生理的状況下における分裂細胞活性

上顎第一臼歯の模式図および上顎第一臼歯遠心口蓋根の拡大像を図に示す。



脱灰標本より観察部位である M1 の咬合面と平行に根分岐部直下から厚さ約  $5 \mu\text{m}$  の水平断連続切片を作製した。この中から  $20 \mu\text{m}$  おきの 5 ブロックを計測試料とした。

Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) による免疫染色を行い、各週齢による歯の移動量及び PCNA 陽性細胞数をそれぞれ定量化

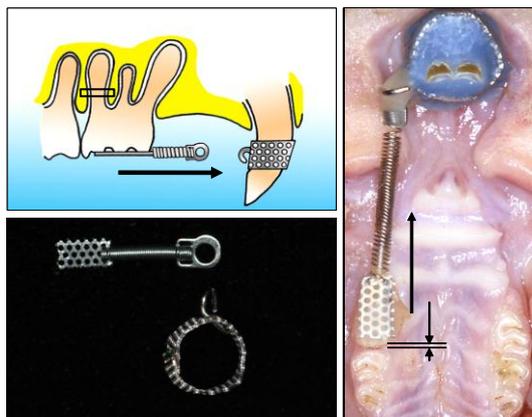
した。M1 遠心口蓋根は近心側、遠心側に 2 分し、PCNA 陽性細胞を計測した。また、歯槽骨壁の周長、セメント質外層の周長および、歯根膜の面積を画像解析ソフトウェア (NIH image, Version 1.62 National Institutes of Health, USA) を使用し計測した。

上記により得られたデータより、

- ① 歯槽壁上の PCNA 陽性細胞数/歯槽壁周長および歯槽壁 1 mm あたりの PCNA 陽性細胞数 (N. PCNAc/BS. number /mm)
- ② セメント質外層の PCNA 陽性細胞数/セメント質壁周長およびセメント質壁 1 mm あたりの PCNA 陽性細胞数 (N. PCNAc/CS. number /mm)
- ③ 歯根膜面積における PCNA 陽性細胞数および単位面積あたりの PCNA 陽性細胞数 (N. PCNAc/area. number /mm<sup>2</sup>)

をそれぞれ算出し、歯槽壁側、セメント質側および歯根膜における PCNA 陽性細胞数 10 週齢から 80 週齢による分散分析 (ANOVA) を行った。

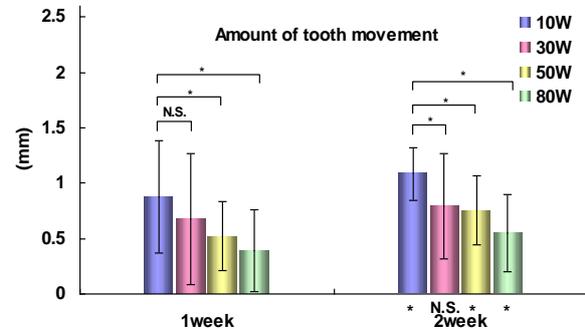
4) 実験的歯の移動における分裂細胞活性歯の移動に用いた矯正装置を図に示す。



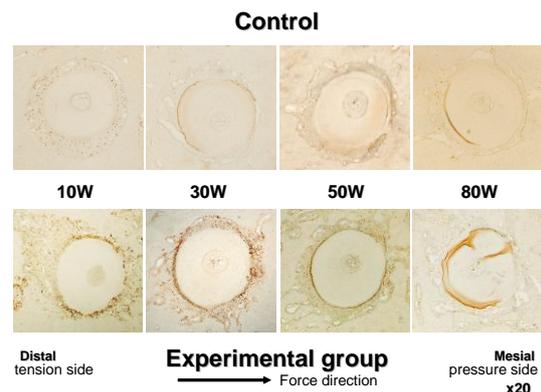
上顎第一臼歯を Ni-Ti 系クロードコイルスプリングによりバンドを介した切歯に接続し、10g の牽引力で近心方向に 2 週間牽引した。長期間にわたり一定の矯正力が加わるように配慮した。実験期間中、1 週間隔で歯の移動距離を計測した。移動量の計測は、歯の移動を行った方の移動距離から、反対側の移動距離を引いたものを移動量として算出した。実験終了後、生理的状況下と同様な方法により連続切片を作製し PCNA 免疫染色を行い、実験的歯の移動における分裂細胞活性の計測および統計処理を行った。また、同様な部位に Tetracycline-resistant acid phosphatase (TRAP) 染色を行い、各週齢における破骨細胞数を歯根周囲歯槽骨の吸収活性の指標とした。

#### 4. 研究成果

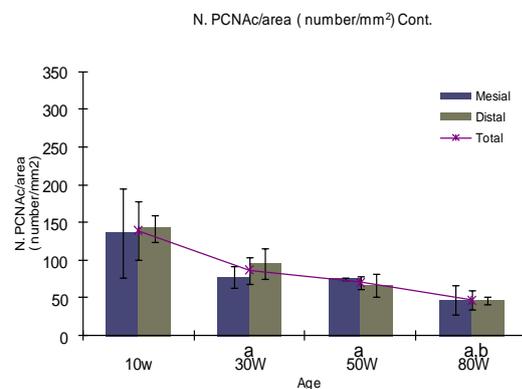
1) 実験終了 2 週間時の各週齢のラットにおける歯の牽引距離を図に示す。矯正的歯の移動量は、全ての週齢において、計測開始より 2 週間後は 1 週間後と比較して移動距離が大きかった。また、歯の移動距離は、計測開始より 1 週間後および 2 週間後ともに加齢に伴い有意な減少 ( $P < 0.05$ ) が認められた。

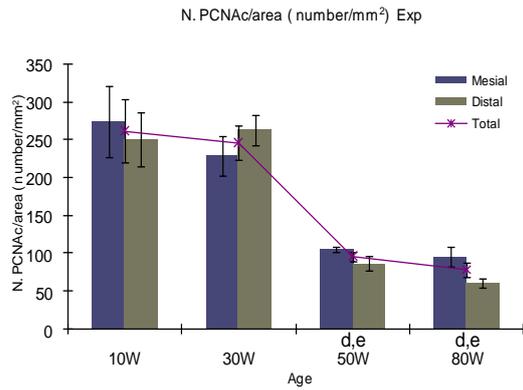


2) 生理的状況下および実験的歯の移動における分裂細胞活性について、PCNA 免疫染色を行った各週齢による比較を図に示す。PCNA 陽性細胞は実験群、対象群ともに 10W では多く観察され、加齢とおもに減少する傾向が認められた。

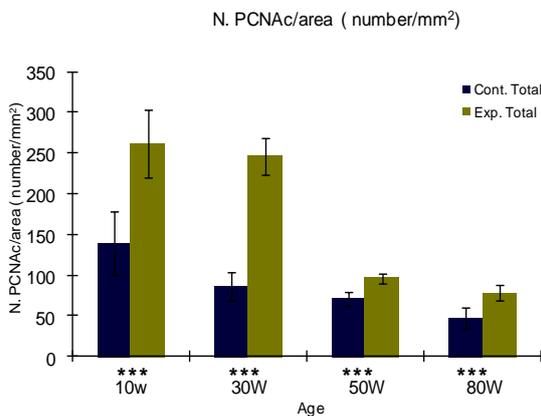
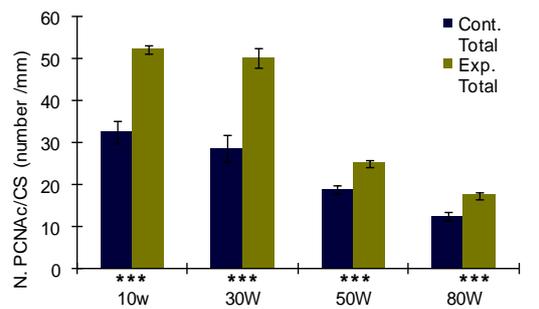
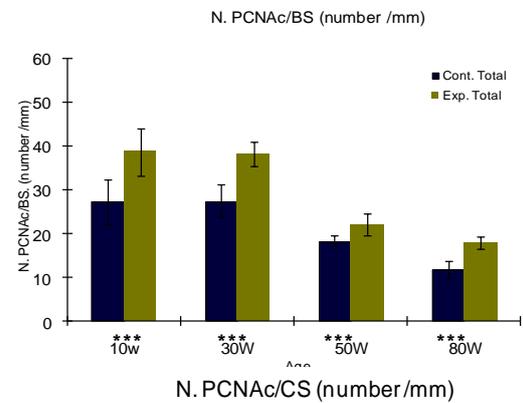


3) 歯根膜内における PCNA 陽性細胞数の計測および統計処理の結果を示す (下図)。歯根膜の近心側と遠心側による比較において、対象群、実験群ともに有意差は認められなかった。

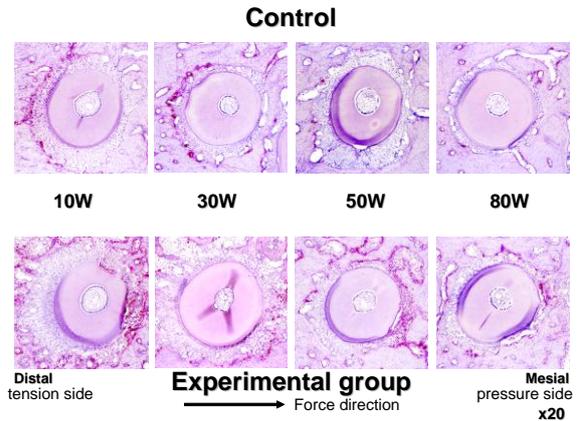




4) 対象群と実験群の比較において、N. PCNAc/BS., N. PCNAc/CS., N. PCNAc/area は加齢に伴い減少する傾向が認められたが、全ての週齢において PCNA 陽性細胞数は対照群に比べ有意に上昇(P < 0.001)した(下図).



下図に TRAP 染色による各週齢における破骨細胞数の組織像を示す。破骨細胞数は加齢に伴い有意に減少していた。



以上の結果より、全ての週齢のラットにおいて、矯正力により歯根膜内の細胞分裂能は上昇したが、加齢に伴い矯正力に反応する歯根膜内の細胞分裂能、歯根周囲組織の改造活性および歯の移動量の減少が認められた。以上より、加齢による歯根膜内の細胞分裂能の減少は、歯根周囲組織の改造活性を低下させ、矯正の歯の移動量に影響を与えることが明らかとなった。

#### 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)

[学会発表] (計 2 件)

① 影山 徹, 森山敬太, 清水麻里子, 影山康子, 山田一尋, 佐原紀行  
加齢に伴う歯根膜組織の改造活性と矯正歯の移動量との関係について  
第 68 回日本矯正歯科学会大会 2010 年 9 月 29 日, 横浜

② Kageyama T, Moriyama K, Shimizu M, Kageyama Y, Yamada K and Sahara N.  
Quantitative analysis on effects of aging on orthodontic tooth movement.  
The 88th General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research 2010 年 7 月 15 日 Barcelona, SPAIN

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

影山 徹 (KAGEYAMA TORU)  
松本歯科大学・歯学部・講師  
研究者番号: 80319102

(2) 研究分担者 ( )

研究者番号：

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号：