

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K10154

研究課題名(和文) 矯正学的歯の移動時における低出力超音波パルスによる骨改造亢進機構の解析

研究課題名(英文) The role of LIPUS in enhancement of bone remodeling during orthodontic tooth movement

研究代表者

福永 智広 (Fukunaga, Tomohiro)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：70362994

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：長期間にわたる矯正歯科治療は、う蝕や歯周病などの発生に関与するため、治療期間の短縮が望まれており、歯槽骨骨改造を亢進させることが重要であると考えられている。低出力超音波パルス(LIPUS)は、非侵襲的な機械的刺激である。本研究では、矯正学的歯の移動時の骨改造における機械的刺激の影響を解析した。矯正学的歯の移動に機械的刺激を負荷すると、圧迫側に多くの破骨細胞が認められ、歯の移動の亢進が認められた。さらに、矯正学的歯の移動時に生じる圧迫側の破骨細胞形成において、電位依存性ナトリウムチャンネルSCN3Bが侵害受容伝達に関与し、破骨細胞活性を調節している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

矯正学的歯の移動時に生じる圧迫側および牽引側の組織学的変化を実験動物を用いて詳細に解析することにより、矯正学的歯の移動時に生じる骨改造機構の一端を解明することができた。さらに矯正学的歯の移動に機械的刺激を負荷すると、圧迫側における破骨細胞による骨吸収を促進することにより、歯の移動距離が増加することが明らかとなり、機械的刺激の負荷による矯正学的歯の移動の亢進の可能性が示唆された。これらの研究成果は、矯正学的歯の移動を促進する骨改造亢進機構の解明に繋がり、矯正歯科臨床に貢献できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Orthodontic treatment often needs long duration, is associated with risks such as dental caries and periodontal diseases. Therefore, it is very important to shorten the duration of treatment by stimulating bone remodeling. LIPUS stimulation is a kind of non-invasive physical mechanical stress. In this study, the effects of mechanical stimulation on bone remodeling during experimental tooth movement were analyzed. When mechanical stimulation was applied to experimental tooth movement, the number of osteoclasts were significantly increased on the compression side of tooth movement compared with that of without mechanical stimulation, leading to the acceleration of orthodontic tooth movement. In addition, neural sodium voltage-gated channel beta subunit 3 may be associated with nociceptive transmission and regulate osteoclast activity in the periodontal ligament on the compression side of orthodontic tooth movement.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：歯の移動 骨改造 機械的刺激

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯の移動には数年の期間を要するため、長期間、口腔内に装置を装着することとなり、審美的問題だけでなく口腔衛生状態の悪化によるう蝕や歯周病の発症リスクを高めることになる。従って、矯正歯科臨床では、治療期間の短縮が望まれている。歯に矯正力を負荷すると、圧迫側では破骨細胞による骨吸収が生じ、牽引側では骨芽細胞による骨形成が誘導され、いわゆる骨改造が生じ、歯が一定の方向に移動する。従って、矯正歯科治療における治療期間の短縮には、歯槽骨骨改造を亢進させることが重要であると考えられている。また、骨内部に存在する骨細胞がメカノセンサーとして機械的刺激を感知し、骨改造を制御していることが明らかにされつつある。一方、低出力超音波パルスは、非侵襲的な微弱で物理的な機械的刺激であるが、骨形成作用を有することが報告されているため、矯正学的歯の移動時における骨改造を亢進させる可能性が示唆されるが、そのメカニズムは不明である。

2. 研究の目的

矯正学的歯の移動を促進する新たな治療方法として、矯正学的歯の移動時における低出力超音波パルスによる骨改造亢進機構を実験動物に矯正学的歯の移動を適応した *in vivo* の系および培養破骨細胞や骨細胞を用いた *in vitro* の系の両アプローチにより解析することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) マウスおよびラットを用いた矯正学的歯の移動モデルの作製

7週齢雄性 C57BL/6 マウスの上顎切歯に、直径 0.012 インチのニッケル・チタン製ワイヤーを装着し、10g の荷重が水平的かつ持続的に加わるように調節して、上顎右側第一臼歯を口蓋側へ 14 日間移動させた。装置を装着しないマウスをコントロールとした。同様に 25 週齢雄性 Wistar ラットを用いて矯正学的歯の移動モデルを作製し、矯正学的歯の移動開始から 1, 7, 9, 14, 21, 28 日後にシリコン印象材を用いて上顎歯列の印象採得を行い、歯科用超硬石膏による石膏模型を作製した。得られた石膏模型を用いて歯の移動距離を測定した。

(2) 機械的刺激負荷モデルの作製

25 週齢雄性 Wistar ラットを用いた矯正学的歯の移動モデルにおいて、微弱な機械的刺激を口腔内から歯の移動開始後 0, 1, 7, 14 日後に負荷した。機械的刺激を負荷しない群をコントロールとした。

(3) マウスおよびラットの上顎組織切片の作製

マウスを用いた矯正学的歯の移動実験では、矯正学的歯の移動開始から 0, 1, 3, 5, 7, 14 日後にマウスを全身麻酔下でザンボニー固定液を用いて灌流固定を行った。上顎骨を摘出後、同固定液を用いて後固定を行い、10%エチレンジアミン四酢酸(EDTA)にて 7 日間脱灰後、20%スクロース/PBS に浸漬し、OCT コンパウンドで包埋した。クリオスタットを用い、咬合平面に平行な水平断で厚さ 8 μm の連続切片を作製した。ラットを用いた矯正学的歯の移動実験では、矯正学的歯の移動開始から 9 日後にラットを全身麻酔下で 4%パラホルムアルデヒドを用いて灌流固定を行った。上顎骨を摘出後、同固定液を用いて浸漬固定を行い、20% EDTA にて 2 週間脱灰後、上昇エタノール系列で脱水、キシレンによる透徹を行った後に、パラフィン包埋した。ミクロトームを用いて、厚さ 5 μm の水平断連続切片を作製した。

(4) マウスおよびラットにおける矯正学的歯の移動時の圧迫側および牽引側の組織学的および免疫組織化学的検索

得られた組織切片に対して、ヘマトキシリン-エオジン染色および酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ(TRAP)染色を行った。TRAP 染色では TRAP 陽性の 3 核以上の多核細胞を破骨細胞として計測した。免疫組織化学的検索では、電位依存性ナトリウムチャンネルアルファサブユニット(SCN7A)とベータサブユニット(SCN3B), CGRP および TGF- β 1 に対する抗体を用いた。発色には、3,3-diamino-benzidine tetrachloride と nickel ammonium sulphate あるいは 3,3-diamino-benzidine tetrachloride のみを基質として反応させた。

(5) 培養破骨細胞に対する機械的刺激の負荷

マウス破骨細胞前駆細胞様細胞株 RAW264.7 細胞および骨細胞様細胞株 murine long bone osteocyte Y4 (MLO-Y4)細胞を使用した。MLO-Y4 細胞に 1 分間、機械的刺激を負荷し、0, 5, 15, 30, 60 分後にタンパク質を回収した。さらに、MLO-Y4 細胞に 1 分間の機械的刺激の負荷後、RAW264.7 細胞を添加し、MLO-Y4 細胞と RAW264.7 細胞を 8 日間、共培養し、破骨細胞形成を誘導した。

4. 研究成果

(1) ラット矯正学的歯の移動時における移動距離の経時的変化について

ラットを用いた矯正学的歯の移動実験における歯の移動距離は、歯の移動開始 1 日後で歯の初期移動が見られたが、歯の移動開始後 1 日から 7 日までは有意な増加は認められなかった。その後、歯の移動開始後 7 日から 14 日にかけて大きく増加し、28 日まで緩やかな増加が認められた。一方、矯正学的歯の移動に機械的刺激を負荷することにより、矯正学的歯の移動距離は、歯の移動開始後 1 日までは機械的刺激非負荷群と同様であったが、1 日から 7 日にかけても増加を認め、歯の移動開始後 7 日では有意な増加を認めた。さらに、矯正学的歯の移動開始後 9 日においても機械的刺激の負荷により非常に大きな増加を示し、その後も機械的刺激非負荷群に比較して大きな歯の移動距離を示し、28 日には約 2 倍の移動距離に達していた。しかしながら、機械的刺激負荷と同時に TGF- β レセプターの阻害剤である SB431542 を局所的に投与すると、機械的刺激負荷により増加した矯正学的歯の移動量が阻害され、機械的刺激非負荷群と同様な移動距離に変化していた。

(2) マウスおよびラット矯正学的歯の移動時における圧迫側および牽引側の歯周組織の組織学的変化について

マウスを用いた矯正学的歯の移動実験では、歯の移動開始 0 日では、圧迫側および牽引側の歯根膜幅はほぼ一致し、歯根膜は規則正しく配列し、吸収窩もほとんど認められなかった。しかしながら、歯の移動開始後 1 日から 5 日では、歯根膜幅は圧迫側で牽引側より狭くなり、3 日と 5 日では圧迫側において歯槽骨表面に吸収窩が認められ、多核の細胞が存在していた。歯の移動開始後 7 日と 14 日では歯根膜の幅は圧迫側と牽引側で大きな差は認められなくなった。また、SCN3B 陽性の神経線維は、歯根膜においてコントロール群ではほとんど認められなかったが、矯正学的歯の移動開始後 5 日目には圧迫側歯根膜において増加し、吸収窩に存在する TRAP 陽性多核細胞に近接しているものも認められ、これらの神経線維は CGRP 陽性であった。その後、歯の移動開始 7~14 日には SCN3B 陽性神経は減少した。一方、SCN7A 陽性神経は、圧迫側において矯正学的歯の移動により減少していた。以上より、SCN3B は、矯正学的歯の移動時において侵害受容伝達に関与し、破骨細胞活性を調節している可能性が示唆された。ラットを用いた歯の移動実験では、矯正学的歯の移動開始後 9 日において、圧迫側歯槽骨に TRAP 陽性の破骨細胞がコントロール群に比較し有意に多く認められ、さらに、機械的刺激の負荷によりさらに多くの TRAP 陽性破骨細胞が認められ、その増加量は有意に多かった。一方、牽引側の歯槽骨では、コントロール群、歯の移動群、歯の移動に機械的刺激を負荷した群、いずれにおいても TRAP 陽性破骨細胞数はわずかに認めるのみであった。TGF- β の発現は、矯正学的歯の移動開始後 9 日において圧迫側歯槽骨に存在する骨細胞に発現し、TGF- β 発現骨細胞数はコントロール群に比較して有意に増加していた。さらに、TGF- β 発現骨細胞数は、機械的刺激の負荷により有意な増加を示した。一方、牽引側における TGF- β 発現骨細胞数はコントロール群、歯の移動群、歯の移動に機械的刺激を負荷した群で有意な差は認められなかった。

(3) 機械的刺激の負荷により亢進される破骨細胞形成と TGF- β の関係について

MLO-Y4 細胞に 1 分間の機械的刺激を負荷後、経時的な TGF- β の発現量をウェスタンブロッティングによって解析した。機械的刺激の負荷から 15 分後より TGF- β の発現量は有意に増加し、機械的刺激負荷後 30 分でピークに達し、その後 60 分後においても 0 分に比べ有意に高い発現量を示した。次に、TGF- β 1 に対する siRNA を MLO-Y4 細胞に導入し、ウェスタンブロッティングにより MLO-Y4 細胞における TGF- β 1 発現の減少を確認後、機械的刺激を負荷し、RAW264.7 細胞との共培養を 8 日間行い、破骨細胞形成への影響を検討した。その結果、MLO-Y4 細胞と RAW264.7 細胞の共培養により TRAP 陽性の破骨細胞の形成が認められたが、機械的刺激の負荷により TRAP 陽性破骨細胞数は有意に増加していた。しかしながら、siRNA により MLO-Y4 細胞における TGF- β 1 発現を減少させると、機械的刺激負荷により増加した TRAP 陽性破骨細胞数は機械的刺激を負荷していない MLO-Y4 細胞と RAW264.7 細胞との共培養と同程度まで減少した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sasaki Kiyu, Takeshita Nobuo, Fukunaga Tomohiro, Seiryu Masahiro, Sakamoto Mayuri, Oyanagi Toshihito, Maeda Toshihiro, Takano-Yamamoto Teruko	4. 巻 44
2. 論文標題 Vibration accelerates orthodontic tooth movement by inducing osteoclastogenesis via transforming growth factor- signalling in osteocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Orthodontics	6. 最初と最後の頁 698 ~ 704
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ejo/cjac036	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 Sato Tadasu, Yajima Takehiro, Saijyo Shiori, Shimazaki Kenichiro, Nishitani Tomiko, Hoshika Tomohiro, Nishitani Yoshihiro, Ichikawa Hiroyuki, Mizoguchi Itaru, Fukunaga Tomohiro	4. 巻 238
2. 論文標題 Distribution of alpha-synuclein in the rat cranial sensory ganglia, and oro-cervical regions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger	6. 最初と最後の頁 151776 ~ 151776
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.aanat.2021.151776	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 Tanaka Atsushi, Shoji Noriaki, Kojima Ikuho, Kumasaka Akira, Sakamoto Maya, Sasaki Kiyu, Fukunaga Tomohiro, Mizoguchi Itaru, Tominaga Teiji, Iikubo Masahiro	4. 巻 38
2. 論文標題 A comparative study on cephalometric differences in maxillofacial morphology between skeletal Class III cases with and without acromegaly: a pilot study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oral Radiology	6. 最初と最後の頁 224 ~ 233
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11282-021-00548-0	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 Shigemi Shohei, Sato Tadasu, Sakamoto Mayuri, Yajima Takehiro, Honda Takahiro, Tsumaki Hiroka, Deguchi Toru, Ichikawa Hiroyuki, Fukunaga Tomohiro, Mizoguchi Itaru	4. 巻 13
2. 論文標題 The role of TRPV2 as a regulator on the osteoclast differentiation during orthodontic tooth movement in rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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/s41598-023-41019-2	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 該当する

1. 著者名 Ito Arata, Mayama Atsushi, Oyanagi Toshihito, Ogura Hiroki, Seiryu Masahiro, Fukunaga Tomohiro, Kitaura Hideki, Mizoguchi Itaru	4. 巻 93
2. 論文標題 Three-dimensional morphologic analysis of the maxillary alveolar bone after anterior tooth retraction with temporary anchorage devices	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Angle Orthodontist	6. 最初と最後の頁 667 ~ 674
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2319/120122-827.1	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 -

1. 著者名 Nishitani Tomiko, Mitoh Yoshihiro, Yajima Takehiro, Tachiya Daisuke, Hoshika Tomohiro, Fukunaga Tomohiro, Nishitani Yoshihiro, Yoshida Ryusuke, Mizoguchi Itaru, Ichikawa Hiroyuki, Sato Tadasu	4. 巻 -
2. 論文標題 Distribution of alpha synuclein in rat salivary glands	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 The Anatomical Record	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) 10.1002/ar.25395	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 Nagayama Tessei, Fukunaga Tomohiro, Yajima Takehiro, Shigemi Shohei, Sakamoto Mayuri, Seiryu Masahiro, Ichikawa Hiroyuki, Mizoguchi Itaru, Sato Tadasu	4. 巻 -
2. 論文標題 Neural sodium voltage-gated channel beta subunit 3 and alpha subunit 7 distributions in mouse periodontal ligaments after experimental tooth movement	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Clinical and Investigative Orthodontics	6. 最初と最後の頁 1 ~ 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/27705781.2024.2336324	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6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 岸川 明子, 福永 智広, 清流 正弘, 茂見 翔平, 溝口 到
2. 発表標題 下顎関節突起切除術を併用し矯正歯科治療を行った片側性下顎関節突起過形成を伴う顔面非対称症例
3. 学会等名 第37回東北矯正歯科学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂本 麻由里、福永 智広、溝口 到
2. 発表標題 片顎抜歯を伴う非外科的治療により形態および顎口腔機能の改善が認められた骨格性下顎前突症例
3. 学会等名 第80回日本矯正歯科学会学術大会&第5回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 茂見 翔平、福永 智広、岸川 明子、溝口 到
2. 発表標題 片側性冠状縫合早期癒合による顔面非対称患者の顎顔面形態および顎機能の特徴
3. 学会等名 第39回東北矯正歯科学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 茂見 翔平、福永 智広、今野 正裕、上地 潤、吉澤 光弘、岸川 明子、今井 啓道、溝口 到
2. 発表標題 片側性冠状縫合早期癒合を伴う顔面非対称患者における顎顔面形態および顎口腔機能の特徴
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 茂見 翔平、佐藤 匡、坂本 麻由里、本田 貴洋、妻木 ひろか、出口 徹、市川 博之、福永 智広、溝口 到
2. 発表標題 ラット矯正学的歯の移動時における破骨細胞分化のTRPV2の制御因子としての役割
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 安野 梢、吉田 倫子、伊藤 新、穴田 一生、福永 智広、溝口 到
2. 発表標題 軟食摂取が顎関節円板のproteoglycan mRNA発現に及ぼす影響
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

〔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	溝口 到 (Mizoguchi Itaru) (20200032)	東北大学・歯学研究科・教授 (11301)	
研究 分担者	坂本 麻由里 (Sakamoto Mayuri) (20846422)	東北大学・大学病院・医員 (11301)	

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
---------	---------