

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23792422

研究課題名(和文)成長期における顎関節形成不全改善とOA発症および進行との関連

研究課題名(英文)The relationship between recovery from TMJ dysplasia during growth and progress and advance of OA

研究代表者

武居 真希(TAKEI, MAKI)

東京医科歯科大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：50547445

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文):3週齢ラットを固形飼料飼育群(対照群)と液状飼料飼育群(顎関節形成不全群)の2群に分けた。さらにそれらを9週齢から非生理的負荷(開口3時間×5日間)を加える群と無処置の群に分け、固形飼料飼育+非生理的負荷群、液状飼料飼育+非生理的負荷群の計4群とした。その結果、液状飼料飼育+非生理的負荷群ではマイクロCTにより軟骨下骨の骨梁構造に顕著な退行性変化が認められていた下顎頭中央部から後方部で、MMP-13陽性細胞数の有意な増加を認めた。さらに同部位に限局してOA様変化である無細胞領域が観察され、成長期の咀嚼機能低下に伴う顎関節形成不全が顎関節OAの発症および進行に関連することが明らかにされた。

研究成果の概要(英文):3-week-old male rats were divided into four groups. The first group served as the control. In the second group, nonphysiological loadings were applied to the TMJs by repetitive, steady mouth-opening (3 h/day for 5 days) from 9 weeks of age. Both groups received a normal hard diet. The third and fourth groups were fed a liquid diet and the rats in fourth group were similarly forced to open their jaws.

As a results, feeding a liquid diet during growth caused TMJ dysplasia. The cancellous structure of the subchondral bone and condylar cartilage showed degenerative changes in the superior and posterior regions of the condyle in TMJ dysplasia + nonphysiological loading group. Especially, OA-like changes (cell free areas) were also observed in only same regions. These results suggested that TMJ dysplasia caused by feeding a liquid diet during growth might be correlated with onset and advance of TMJ-OA.

研究分野：矯正・小児系歯学

キーワード：顎関節形成不全 顎関節変形性関節症、成長期 液状飼料飼育 非生理的負荷 マイクロCT カテプシンK マトリックスメタロプロテアーゼ - 13

1. 研究開始当初の背景

変形性関節症 (OA) は様々な関節に発症し、その罹患率は年齢とともに増加することが知られており、今後患者数は増加の一途をたどると予想されている。膝関節における OA の原因として、形態異常、不安定性、筋力低下等が指摘されている。膝関節は大きな圧縮応力が頻繁にかかりやすい領域であり、その大きさ、頻度は劣るものの、顎関節もそれに近い環境下にあるものと推測され、顎関節における OA の病因とも大きく関与していると考えられる。しかしながら、いまだ不明な点が多く、OA のメカニズムを解明し、予防法および治療法を考案することは重要な課題である。

また下顎頭軟骨は顎関節に対する負荷吸収や、関節窩と下顎頭の摩擦防止により、円滑な顎運動遂行の一端を担っており、変性した場合には顎運動に支障をきたす。軟骨の変性は主成分である型コラーゲンをコラゲナーゼが分解することにより起こり、軟骨の細胞外基質の構造や構成を変化させる。コラゲナーゼである Matrix Metalloproteinase (MMP) は関節疾患の進行に関与しており、特に MMP-13 は膝関節や顎関節 OA の軟骨の変性に関与していると報告されている。

さらに近年、膝関節 OA において、軟骨基質の主要成分であるタイプコラーゲンを分解し、さらに骨破壊を進行させると言われているカテプシン K の関与が報告されている。カテプシン K は、これまで OA の軟骨破壊の原因として知られている MMP-13 とはコラーゲン分解部位が異なるだけでなく、至適 pH が 6 以下であるため炎症状態下でのコラーゲン分解活性が高まるので、OA の増悪化に関わりが深いと考えられる。

2. 研究の目的

過去の報告により OA 発症の背景として、下顎頭の形態異常が示唆されており、形成不全が認められる顎関節および成長期に形成不全が改善された顎関節において、負荷の増大による OA 発症、進行のメカニズムの解明を行う。

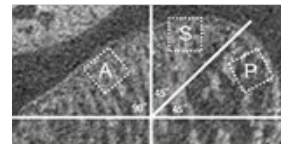
本研究では、成長期における咀嚼機能の低下に伴う顎関節の形成不全が顎関節 OA の発症および進行を誘発するが、成長期に顎関節の形成不全を改善するとそれらが軽減されるという仮説の下、OA の『顎関節の成長発育と OA 発症および進行との関連を解明する』ことを研究の全体構想として掲げ、「成長期における顎関節形成不全改善が OA 発症および進行に及ぼす影響を知る」とこととした。

3. 研究の方法

3 週齢雄性 Wistar 系ラットを固形飼料飼育群 (対照群: C 群) と液状飼料飼育群 (顎関節形成不全群: L 群) の 2 群に分けた。さらにそれらを 9 週齢から非生理的負荷 開口 3 時間 × 5 日間 を加える群 (W 群) と無処置の群に分け、固形飼料飼育 + 非生理的負荷群 (W 群)、液状飼料飼育 + 非生理的負荷群 (LW 群) の計 4 群とした。

- (1) 開口終了の 9 週 + 5 日齢においてラットを屠殺し、4% パラホルムアルデヒドにより灌流固定を行った後、マイクロ CT を用いた下顎頭の形態解析を行った。パラメータとして骨量: BV/TV (Bone Volume Fraction)、骨梁幅: Tb.Th (Trabecular Thickness)、骨梁数: Tb.N (Trabecular Number)、骨梁間隔: Tb.Sp (Trabecular Separation)、骨梁中心距離: Tb.Spac (Trabecular Spacing) を用いた。下顎頭矢状断面中央を選択し、前方半分 (前方部: A)、後方部四分の一 (後方部: P) およびそれらの間の領域 (中央部: S) の 3 部位に分け、計測した。【Fig.1】

【Fig.1】



- (2) 形態的評価後、4.13% EDTA にて 8 週間脱灰後、パラフィン包埋し、6 μ m 厚顎関節矢状断切片を作製した。中央部の切片に対して組織学的評価として、Toluidine blue 染色切片において下顎頭矢状断面中央部の軟骨細胞層の厚径を各群 3 部位全てにおいて計測した。また抗 MMP-13 抗体の免疫組織化学染色を行い、単位面積あたりの MMP-13 陽性細胞数を (1) 同様に 3 部位に分けて計測した。
- (3) 統計学的評価としてマンホイットニーの U 検定およびボンフェローニ補正を行った。(*: p<0.05, **: p<0.01)

4. 研究成果

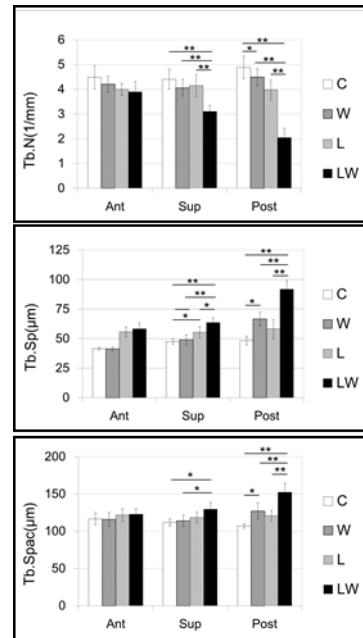
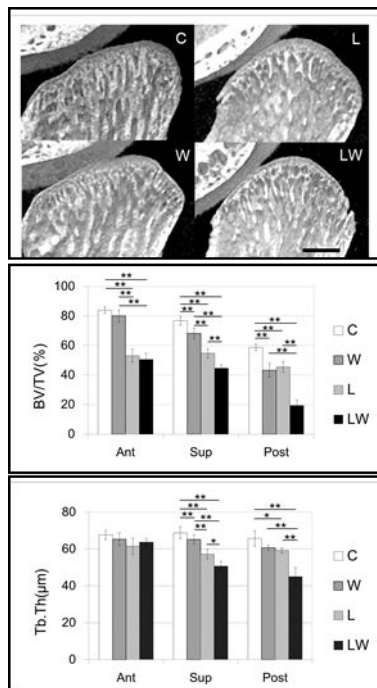
- (1) 実験期間を通して、4 群間に体重について有意な差は認められなかった。開口装置は直径 0.9 mm コバルトクロム合金ワイヤーを用いて、最大開口位 (上下顎切歯間距離: 20 mm) で維持されるように作製した。
- (2) マイクロ CT による形態解析の結果から、L 群は 3 部位全てにおいて骨量 (BV/TV) が有意に減少した。以上より液状飼料飼育により咀嚼筋力を低下させることで顎

関節の形成不全が生じることを明らかとした。さらに開口による非生理的負荷をかけることで下顎頭中央から後方部において骨量が有意に減少し、LW群の下顎頭中央から後方部では軟骨下骨の骨梁構造に顕著な退行性変化が認められ、骨量、骨量幅、骨量数の有意な減少や骨量間隔、骨梁中心間距離の有意な増加が認められた。【Fig.2】(Bar = 1mm)

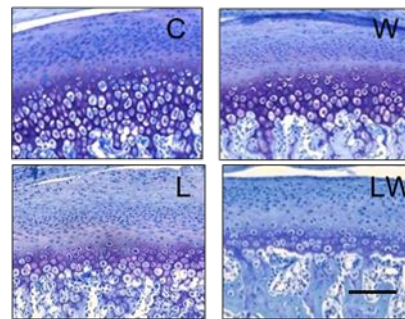
- (3) Toluidine blue 染色において、軟骨層厚径はC群と比較して実験群全ての3部位において減少した。LW群の下顎頭中央から後方部では軟骨細胞層区分の乱れが認められた。【Fig.3】(Bar=100 μ m)
- (4) LW群の下顎頭中央部から後方部で、MMP-13陽性細胞数の有意な増加を認めた。さらに同部位の下顎頭軟骨成熟層に限局して無細胞領域(*)が観察され、他の領域では認められない軟骨変性およびOA様変化が特異的に認められた。【Fig.4】(Bar=100 μ m)

以上のことから、成長期の咀嚼機能低下に伴う顎関節形成不全が顎関節OAの発症および進行に関連することが明らかにされた。今後、顎関節形成不全から回復させた際の下顎頭軟骨下骨の形態学的評価および下顎頭軟骨のカテプシンK、MMP-13の発現を組織学的に比較検討する予定である。

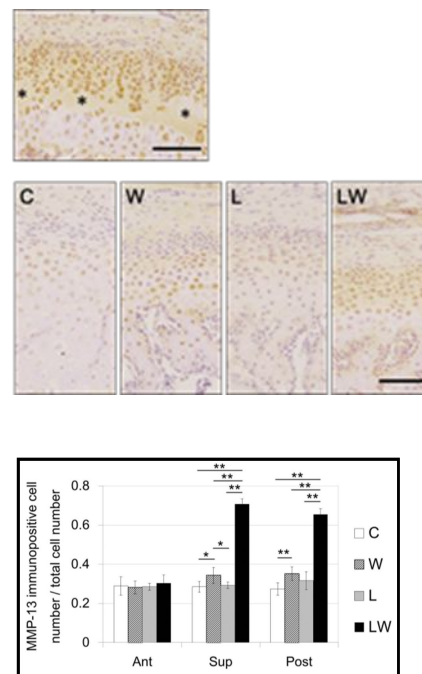
【Fig.2】



【Fig.3】



【Fig.4】



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)

[雑誌論文](計3件)

- (1) Yuhei IKEDA, Ikuo YONEMITSU, Maki TAKEI, Shunichi SHIBATA, Takashi ONO

Nonphysiological loading leads to osteoarthritis-like changes in temporomandibular joint in growing rats

The 46th Annual Scientific Congress
Korean Association of Orthodontists
Page39. 2013.

- (2) 池田侑平、米満郁男、武居真希、
柴田俊一、小野卓史

成長期ラットの機能低下した顎関節は
非生理的負荷に対して OA 様変化を引き
起こす

第 73 回日本矯正歯科学会大会プログラ
ム・抄録集 Page190. 2014.

- (3) Yuhei Ikeda, Ikuo Yonemitsu, Maki Takei, Shunichi Shibata, Takashi Ono

Mechanical loading leads to osteoarthritis-like changes in the hypofunctional temporomandibular joint in rats

Archives of Oral Biology
Volume 59, Issue 12, December 2014,
Page 1368-1376
[doi:10.1016/j.archoralbio.2014.08.010](https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.08.010)

(査読有)

[学会発表](計2件)

- (1) Yuhei IKEDA, Ikuo YONEMITSU, Maki TAKEI, Shunichi SHIBATA, Takashi ONO

Nonphysiological loading leads to osteoarthritis-like changes in temporomandibular joint in growing rats

The 46th Annual Scientific Congress
Korean Association of Orthodontists
2013/10/31 ~ 2013/11/2
済州 (韓国)

Excellent Posterboard Presentation
Award 受賞

- (2) 池田侑平、米満郁男、武居真希、
柴田俊一、小野卓史
成長期ラットの機能低下した顎関節は
非生理的負荷に対して OA 様変化を引き
起こす
第 73 回日本矯正歯科学会大会
2014/10/20~22
幕張メッセ (千葉・幕張)

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
武居 真希 (TAKEI MAKI)
東京医科歯科大学・歯学部・非常勤講師
研究者番号：50547445
- (2) 研究分担者
米満 郁男 (YONEMITSU IKUO)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究
科・助教
研究者番号：00431940
- (3) 連携研究者
池田 侑平 (IKEDA YUHEI)
大学院生