

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25463074

研究課題名(和文)PCR発症リスク因子の解明とPTH(1-34)間歇投与による予防法の開発

研究課題名(英文)Clarification of risk factors for progressive condylar resorption and development of prevention method with intermittent PTH(1-34) treatment

研究代表者

小林 正治 (Kobayashi, Tadaharu)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：80195792

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：顎矯正手術後のPCR症例では、下顎頭の著明な吸収と下顎枝の短縮を特徴とするが、その病因は明らかでない。

ラット下顎骨延長モデルでは、下顎頭部の骨吸収を認め、特に免疫抑制剤タクロリムス投与ラットでは骨吸収が重度であったことから、過度な力学的負荷と骨強度の低下がPCRの発症要因であると考えられた。

顎変形症患者を対象とした臨床研究では、下顎前突傾向が強いほど骨形成マーカーと骨吸収マーカーが高値を示して骨代謝が亢進していた。一方、PCRの危険因子を検出することはできなかったが、下顎後退患者では下顎頭体積が小さく、骨密度が高い結果を示し、下顎頭の成長障害や退行性変化が下顎後退の発症要因であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Progressive condylar resorption (PCR) following orthognathic surgery is characterized by reduction of condylar volume and decrease of ramus height. However, etiology of PCR remains unclear.

In our experimental study with rat mandibular distraction model, morphological findings after distraction indicated deformation of the condyle, especially in the rats receiving Tacrolimus. The findings suggest that overloading to the condyle and decrease of bone strength are key factors for PCR.

In our clinical study using patients with jaw deformities, bone formation and resorption markers tended to be higher in patients with a protrusive mandible. On the other hand, patients with mandibular retrusion had a higher tendency to have small and dense condylar processes. The results suggest that growth depression or a degenerative change in the mandibular condyle is involved in the pathogenesis of mandibular retrusion, although risk factors for progressive condylar resorption were not determined.

研究分野：外科系歯学

キーワード：PCR 骨強度 骨粗鬆症ラット 骨代謝マーカー 顎変形症

1. 研究開始当初の背景

顎顔面形態ならびに正常な咬合関係と咀嚼機能を回復することを目的に、下顎骨後退や開咬を呈する患者では下顎骨前方移動術が施行されるが、近年術後に下顎頭の著明な吸収により下顎骨の後方への後戻りを認める症例が報告されるようになり、本病態は PCR (Progressive Condylar Resorption) の呼称で下顎骨の後戻りの主たる原因として注目されている。われわれも、これまでに臨床において PCR を発症した症例を報告した。

PCR の発症リスク因子として、術前の下顎後退の重症度と手術時前方移動量が抽出されたが、下顎後退量が大きいにもかかわらず、PCR を発症しない症例も認められることから、PCR の発症には、下顎頭部にかかる力学的負荷の量と負荷に対する骨の許容力(骨強度)が関与していると考えられる。

PCR の発症メカニズムを形態学的ならびに免疫組織化学的に解明し、その予防法を開発するためには、PCR 発症動物モデルが有用と考えられるが、これまでにそのような動物モデルは報告されていない。そこで、下顎頭部に力学的負荷をかける実験系として、われわれが確立したラット下顎骨延長モデルを用いて下顎骨延長後の下顎頭部をマイクロ CT 画像ならびに組織学的に観察したところ、明らかな骨吸収像が認められた。さらに、力学的負荷に対する骨の許容力(骨強度)を低下させるために、免疫抑制剤 FK506(1mg/kg)を連日投与して作製した骨粗鬆症ラットに下顎骨延長を行う PCR 発症モデルラットを確立できると考えた。一方、われわれはラット下顎骨延長モデルにおいて骨粗鬆症治療に用いられる PTH (1-34) 間歇投与による骨形成促進効果を報告した (OOOO, 114(1), e36-e42, 2012)。PTH (1-34) の間歇投与が骨芽細胞に対して増殖、分化、寿命など複数の作用点を介して骨形成を促進し、骨量を増加させて骨密度と力学的強度を高めることから、PCR 発症モデルラットに PTH (1-34) を間歇投与することにより PCR 発症予防法の開発が期待できると考えた。

われわれは、顎変形症患者の顎関節 CT 画像を用いて下顎頭形態を観察したところ、下顎後退症や非対称症例において高率に下顎頭に Erosion や Deformity 等の骨変化を認めた(日口外誌 57(8) : 441-451, 2011)ことから、下顎後退症や非対称症例ではその発症にも骨強度が関与している可能性があると考えられる。これまで顎変形症における顎顔面形態と骨密度ならびに骨代謝マーカとの関連を検討した報告はないが、退行性変化を示す顎変形症や PCR 発症と骨密度ならびに骨代謝マーカとの関連が明らかになれば、PCR 発症予防法の開発にも寄与できると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、実験的手法として免疫抑制剤タクロリムス (FK506) を投与して骨粗鬆症

を発症したラットに下顎骨延長を行い、PCR 発症メカニズムを検索した。

さらに、顎変形症患者を対象として、破骨細胞や骨芽細胞活性の指標となる骨代謝マーカ測定値ならびに踵骨と下顎頭の骨密度と顎矯正手術前後の顎顔面形態との関連を調査し、PCR の発症リスク因子を検討した。

3. 研究の方法

(1) 研究1 : ラットモデルを用いた PCR 発症メカニズムの検索

実験動物には、雄性 Wistar 系ラットを用い、生後 5 週より免疫抑制剤タクロリムス (FK506) (1mg/kg) を連日筋肉注射して骨粗鬆症ラットを作製した。対照群には基剤のみを投与した。10 週齢時に下顎骨体部において骨切りと延長装置の装着を行った。骨延長装置は、チタンマイクロスクリューと矯正用エクステンションプレートを用いて自作したものを用いた。セボフルレンで麻酔導入後、抱水クロラルを腹腔内投与して麻酔を施し、1%キシロカイン 0.2ml を局所麻酔後に右側顎下部に切開を加え、下顎骨を露出させ、下顎骨体部において骨切りを行い、延長装置の可動性を確認して創を縫合した (写真 1)。

写真 1. 骨延長装置の装着



下顎骨延長実験プロトコル (図 1) に従って、5 日後より延長を開始し、1 回 0.175mm の牽引延長を 1 日 2 回施行し、10 日間かけて合計 3.5mm の牽引延長を行い PCR 発症モデルラットを作製する。骨延長終了後 1 週と 3 週に屠殺し、4%パラホルムアルデヒドによる灌流固定を行った。

図 1. 実験プロトコル



下顎頭部の形態ならびに骨密度の評価には μ CT ((株) 日鉄エレックス製マイクロフォーカス) を用い、非脱灰標本のスキャンニングにより得られたデータから三次元画像を作製して下顎頭部の微細骨梁構造を観察するとともに、定量的評価を行った。

(2) 研究2 : 顎変形症の症型と骨密度ならびに骨代謝マーカとの関連

対象は本研究に同意の得られた顎変形症女性患者 55 名とした。側方セファロ写真を用いて顎顔面形態分析を行い、下顎の前後的位置から骨格性 I 級(7 名)、II 級(9 名)、III 級(39 名)の 3 つの群に分類した。

① 定量的超音波 (QUS) 測定装置を用いた

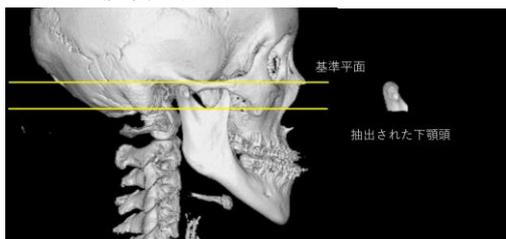
踵骨骨密度測定

QUS 測定装置を用いて踵骨の超音波速度 (SOS) と超音波減衰係数 (BUA) を測定し、骨塩密度を反映するとされる stiffness index (SI) を算出した。

② 下顎頭部の骨密度測定

CT を撮影した 43 名では、CT データから画像解析ソフトを用いて下顎骨関節突起の全体積 (TV)、骨体積 (BV) ならびに骨塩密度 (BV/TV) を測定した (写真 2)。

写真 2. 下顎頭の抽出



③ 骨代謝マーカーの測定

骨形成マーカーとして血清中のオステオカルシン (OC) と骨アルカリフォスファターゼ (BAP) を測定し、骨吸収マーカーとして血清中の酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (TRACP-5b) と尿中のデオキシピリジノリン (DPD) を測定した。

4. 研究成果

(1) 研究 1 : ラットモデルを用いた PCR 発症メカニズムの検索

タクロリムスを投与したラットは投与していないものより下顎頭の皮質骨が菲薄化していることが μ CT の 3D 構築画像より認められた。また、下顎頭内部の骨梁の解析を行ったところ、タクロリムスを投与したラットは骨梁が細く、数が少なく、骨梁間の距離が大きくなっていった。

タクロリムスを投与し下顎骨延長をしたラットと、対照群の下顎骨延長ラットの下顎頭を、 μ CT の 3D 構築画像で比較すると、力学的負荷による下顎頭の形態の変化に違いがある様子が認められた。いずれのラットの 3D 構築画像も下顎頭の前外側にある稜の連続性を断つような骨吸収を示したが、タクロリムスを投与したラットではその骨吸収の程度 (深さ・断裂した骨梁の長さ) が通常の状態より大きくなっていった (写真 3)。

下顎頭内部の骨梁の太さ (Tb.Th)、数 (Tb.N)、骨梁間の距離 (Tb.Sp) を下顎骨延長の有無で比較したところ、タクロリムスの投与の有無にかかわらず、下顎骨延長したラットの方の骨梁が細く、少なく、骨梁間の距離が大きくなっていった (図 2)。

上記の結果より、タクロリムスの投与によってラットの下顎頭の骨の形成は抑制され、そこに異常な力学的負荷を与えると、タクロ

リムスを投与しないものに比べて下顎頭の形態の変化が大きくなることが示された。また、下顎骨延長による異常な力学的負荷が下顎頭部の骨形成に影響を与えていると考えられることが示された。

写真 3. 骨延長終了後 3 週の下顎頭 μ CT 所見

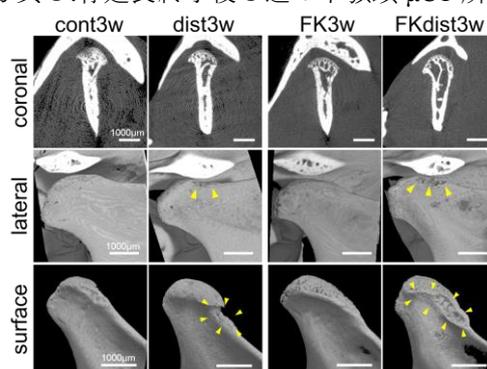
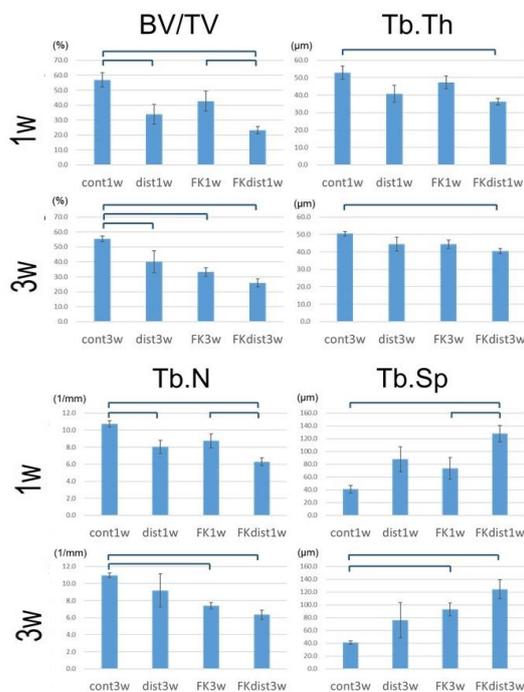


図 2. 下顎頭部の定量的評価



(2) 研究 2 : 顎変形症の症型と骨密度ならびに骨代謝マーカーとの関連

各群間において骨代謝マーカーに有意差は認められなかったが、BAP と TRACP-5b は下顎骨の前後的位置を表すセファロ写真分析項目と有意な相関を認め、ともに下顎前突傾向が強いほど高値を示し、骨代謝が亢進していることが示唆された (表 1)。また、TRACP-5b と SOS ならびに SI とは正の相関を認めた (表 2)。

下顎骨関節突起の TV と BV/TV は下顎骨の前後的位置を表すセファロ写真分析項目と有意な相関を認め、骨格性 II 級群の TV は骨格性 III 級群と比べ有意に小さく、骨格性 II 級群の BV/TV は骨格性 I、III 級群と比べ有意に高かったことから、下顎後退は下顎頭の成

長障害もしくは退行性変化の結果であると
考えられた (表3)。

表1. 顎顔面形態分析と骨代謝マーカーとの
相関係数

	OC	BAP	TRACP-5b	DPD
Facial angle	0.11	0.32 *	0.27 *	0.16
A-B plane angle	0.07	0.35 **	0.36 **	0.18
Mandibular plane angle	-0.05	-0.21	-0.20	-0.15
Y- axis	-0.08	-0.27	-0.29 *	-0.16
SNA	0.09	0.04	-0.12	-0.03
SNB	0.14	0.31 *	0.23	0.16
ANB	-0.08	-0.35 **	-0.39 **	-0.19
Gonial angle	0.02	0.18	0.11	0.02
Ramus inclination	-0.13	-0.35 **	-0.29 *	-0.20

**P<0.01, *P<0.05

表2. 踵骨骨密度測定結果と顎顔面形態分析
ならびに骨代謝マーカーとの相関係数

	SOS	BUA	Stiffness index
Facial angle	0.01	-0.06	-0.02
A-B plane angle	0.03	0.07	0.05
Mandibular plane angle	0.07	0.09	0.08
Y- axis	-0.001	0.09	0.05
SNA	-0.001	-0.07	-0.02
SNB	0.04	0.04	0.06
ANB	-0.07	-0.10	-0.09
Gonial angle	-0.13	0.09	-0.05
Ramus inclination	0.06	0.02	0.03
OC	0.19	0.05	0.19
BAP	0.07	0.03	0.12
TRACP-5b	0.37 **	0.24	0.38 **
DPD	0.26	0.04	0.25

**P<0.01

表3. 下顎頭の分析結果

	TV (mm ³)	BV/TV (%)
Skeletal class I (N=7)	1705±372	83.0±1.0]*
Skeletal class II (N=6)	1124±428]**	93.9±4.8]**
Skeletal class III (N=30)	2049±427	82.5±6.5

Values are given as means ± SD. **P<0.01, *P<0.05

またTVならびにBV/TVと骨代謝マーカー
に関連性は認められなかったが、BV/TVと踵骨
のSOS、BUAならびにSIとの間には有意な
相関を認めた (表4)。

本研究では測定時点で下顎頭の吸収が進行
している患者がいなかったため、PCRの発症
に関与する危険因子を検出することはでき
なかったが、今後PCRの危険因子に関する
研究を様々な角度から行う必要があると考
える。

表4. 顎顔面形態分析結果と下顎頭分析結果
との相関係数

	TV	BV/TV
Facial angle	0.48 **	-0.41 **
A-B plane angle	0.46 **	-0.39 **
Mandibular plane	-0.40 **	0.22
Y- axis	-0.35 **	0.29
SNA	-0.11	0.23
SNB	0.39 **	-0.20
ANB	-0.41 **	0.35 *
Gonial angle	0.06	-0.40 **
Ramus inclination	-0.34 *	0.45 **
OC	0.05	0.09
BAP	0.04	-0.2
TRACP-5b	-0.09	-0.13
DPD	-0.02	0.04
SOS	-0.31	0.44 **
BUA	-0.12	0.49 **
Stiffness index	-0.11	0.55 **

**P<0.01, *P<0.05

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計2件)

- ① Daisuke Saito, Toshihiko Mikami, Yohei Oda, Daichi Hasebe, Hideyoshi Nishiyama, Isao Saito, Tadaharu Kobayashi: Relationships among maxillofacial morphologies, bone properties and bone metabolic markers in patients with jaw deformities. Int J Oral Maxillofac Surg. 2016 Mar 10. doi: 10.1016/j.ijom.2016.02.003. [Epub ahead of print]. 査読有.
- ② Naoko Sakagami, Tadaharu Kobayashi, Kayoko Nozawa-Inoue, Kimimitsu Oda, Taku Kojima, Takeyasu Maeda, Chikara Saito: A histologic study of deformation of the mandibular condyle caused by distraction in a rat model. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2014 Sep;118(3):284-94. 査読有.

[学会発表] (計12件)

- ① Tadaharu Kobayashi: Risk factors for progressive condylar resorption following orthognathic surgery. 23rd European Association for Cranio Maxillo-Facial Surgery Congress. Sep. 13-16, 2016, London, UK.
- ② Daisuke Suda1, Atsushi Ohazama, Takeyasu Maeda, Tadaharu Kobayashi: The relation between bone strength and mandibular condylar resorption following mandibular distraction in a rat model. 23rd European Association for Cranio MaxilloFacial Surgery Congress, Sep. 13-16, 2016, London, UK.
- ③ 小林正治: 顎矯正手術後の顎骨安定度に影響を及ぼす要因. 第70回日本口腔科学会学術集会シンポジウム3「顎矯正手

- 術後の骨格安定度を科学する」, 2016年4月16-17日, 福岡国際会議場(福岡県福岡市).
- ④ Daisuke Suda, Atsushi Ohazama, Takeyasu Maeda, Tadaharu Kobayashi: Influences of Acceleration of Bone Loss on the Mandibular Condylar Bone Following Mandibular Distraction in a Rat Model. Indonesia-Niigata University collaborative symposium in Lombok, Jan. 9-11th 2016, Lombok, Indonesia.
- ⑤ Daisuke Suda, Atsushi Ohazama, Takeyasu Maeda, Tadaharu Kobayashi: Effects of FK506 on the mandibular condylar bone following mandibular distraction in a rat model. The 54th Congress of Korean Association of Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgeons, Nov. 12-14, 2015. Buyeo, Korea.
- ⑥ 齋藤大輔, 三上俊彦, 小田陽平, 長谷部大地, 西山秀昌, 齋藤 功, 小林正治: 顎変形症患者における顎顔面形態と骨代謝ならびに骨質の評価. 第69回日本口腔科学会学術集会, 2015年5月13-15日, 大阪国際会議場(大阪府大阪市).
- ⑦ 齋藤大輔, 三上俊彦, 小田陽平, 長谷部大地, 西山秀昌, 小林正治: 顎変形症患者における顎顔面形態と骨代謝マーカーならびに骨密度との関連性. 平成26年度新潟歯学会第二回例会, 2014年11月8日, 新潟大学歯学部(新潟県新潟市).
- ⑧ 小林正治: 下顎骨前方移動術後のPCR発症リスク因子. 第59回日本口腔外科学会総会・学術大会シンポジウム8: 「進行性下顎頭吸収(PCR)の発症リスク因子と対策」, 2014年10月17-19日, 幕張メッセ(千葉県千葉市).
- ⑨ Tadaharu Kobayashi: Relations between orthognathic surgery and temporomandibular joint disorders. 96th AAOMS Annual Meeting, breakout sessions for the upcoming Orthognathic Surgery Module, September 9-13, 2014, Honolulu, USA.
- ⑩ 小林正治: 顎変形症と顎関節. 平成26年度新潟歯学会第一回例会学術講演, 2014年7月12日, 新潟大学歯学部(新潟県新潟市).
- ⑪ 小林正治: 骨格性II級症例に対する外科的矯正治療 - 顎矯正手術の適用術式と留意点 -. 日本顎変形症学会第10回教育研修会, 2014年6月9日, 福岡国際会議場(福岡県福岡市).
- ⑫ Tadaharu Kobayashi, Daichi Hasebe, Taku Kojima, Akinori Funayama, Toshihiko Mikami, Kanae Niimi, Michiko Yoshizawa, Chikara Saito: Risk factors for progressive condylar resorption after mandibular advancement. 21st International Conference on Oral and Maxillofacial Surgery, 21-24 October, 2013, Barcelona, Spain.

[図書] (計 0件)

[産業財産権]
○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

小林 正治 (KOBAYASHI TADAHARU)
新潟大学・医歯学系・教授
研究者番号: 80195792

(2)研究分担者

船山 昭典 (FUNAYAMA AKINORI)
新潟大学・医歯学系・助教
研究者番号: 80529686

小島 拓 (KOJIMA TAKU)

新潟大学・医歯学系・助教
研究者番号: 90515777

三上 俊彦 (MIKAMI TOSHIHIKO)

新潟大学・医歯学総合病院・特任助教
研究者番号: 90595745

(3)連携研究者

井上 佳世子 (INOUE KAYOKO)
新潟大学・医歯学系・特任准教授
研究者番号: 90303130