

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 12 日現在

機関番号：33902

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25870861

研究課題名(和文) 神経制御による歯の移動のコントロールと歯槽骨骨量減少抑制薬の開発

研究課題名(英文) A control of tooth movement by sympathetic nervous system and development of anti-drug for alveolar bone loss

研究代表者

佐藤 琢麻 (Sato, Takuma)

愛知学院大学・歯学部・講師

研究者番号：80609868

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年、骨代謝に関する交感神経の関与が、注目を集めている。骨芽細胞および破骨細胞には、 α_2 アドレナリン受容体(α_2 -AR)が発現している。本研究では、交感神経が亢進している自然発症高血圧ラット(SHR)において、歯の移動に対する α_2 -AR遮断薬(ブトキサミン(BUT))の効果を調べた。SHRはウイスター京都ラット(WKY)と比較して歯の移動距離が増加し、BUT投与により減少が認められ、WKY群とSHR BUT投与群の間に有意差は認められなかった。また、BUT投与は、歯槽骨損失の回復に帰着した。これらの結果は、交感神経が歯の移動に関与し、BUTが歯の移動による歯槽骨の減少を抑制することを示唆する。

研究成果の概要(英文)：Recently, involvement of the sympathetic nervous system on bone metabolism has attracted attention. Osteoblastic and osteoclastic cells are presented α_2 -adrenergic receptor (α_2 -AR). In this study, the effects of butoxamine (BUT), a specific α_2 -AR antagonist on tooth movement were examined in spontaneously hypertensive rats (SHR) showing osteoporosis with hyperactivity of the sympathetic nervous system. The distance in the SHR control was longer than that in the Wistar-Kyoto rats (WKY) group, and no significant difference was found in the SHR treated with BUT compared with the WKY control. And BUT treatment resulted in a recovery of alveolar bone loss. These results suggest that the sympathetic nervous system is involved in tooth movement, and that BUT prevents alveolar bone loss by orthodontic tooth movement.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：歯の移動 交感神経 骨代謝 遮断薬 骨形成 骨吸収 骨量

1. 研究開始当初の背景

近年、骨芽細胞および破骨細胞の活動制御において交感神経系の関わりが明らかにされている。組織学的解析から哺乳類の骨は広く交感神経支配されており、交感神経により骨代謝の調節が行われている可能性がある。また、骨の大きさ、形状、構造、骨塩量は、力学的ストレスにより変化し、歯槽骨も交感神経系と歯の移動による力学的ストレスにより影響を受ける。

交感神経 α -遮断薬は、現在、高血圧症治療のための第一選択薬の1つに分類されており、心血管疾患で広く使われている。高血圧自然発症ラット (SHR) はウイスター京都ラット (WKY) と比較して、高血圧、心拍数の増加、血漿カテコールアミンレベル、ドーパミン水酸化酵素、チロシン水酸化酵素の上昇によって交感神経系の活性化が特徴づけられる。SHR は、皮質骨および海綿骨の減少と骨代謝回転の増加を示した。加えて、我々は SHR の骨形成が減少し、骨吸収が増加して、海綿骨が脆弱になり、骨減少をおこなっていることを示した。これらの知見は、SHR が交感神経系の機能亢進を伴う骨粗鬆症の適切なモデルであることを示唆する。我々は、低用量 (0.1, 1mg/kg) のプロプラノロール (PRO) (非選択的 α -遮断薬) とブトキサミン (BUT) (選択的 2-アドレナリン受容体 (AR) 遮断薬) が、SHR の減少した骨形成と増加した骨吸収に伴う海綿骨の脆弱性と骨減少を、血圧に影響を与えることなく、回復させることを示した。これらの結果は、高用量の α -遮断薬が骨芽細胞の活性に関わっていくらか抑制的な効果があり、低用量の α -遮断薬が交感神経系の機能亢進による骨粗鬆症を 2-AR 遮断を経て改善することを示唆した。

疫学的な研究は高血圧が大腿骨頸部の低い骨密度と骨減少と関係していることを証明した。そして、 α -遮断薬は骨粗鬆症と骨折治療のための治療薬の候補になり得ることを示した。動物実験では、PRO の低用量 (0.1, 1mg/kg) 投与は卵巣切除されたラットで骨量を増加させた。また、PTH と PRO の投与は卵巣切除されたマウスで骨量を改善した。この研究と整合して、我々も低用量 (0.1, 1mg/kg) の PRO が SHR で血圧に影響を及ぼすことなく骨損失と骨脆弱性を改善することを証明した。最近では、PRO (0.1, 1mg/kg) の低用量投与がラットで結紮によって誘発された歯根膜の骨吸収を抑制することも示されている。また、BUT は SHR の骨損失と骨脆弱性を予防した。0.1, 1mg/kg の BUT 投与では骨形成と吸収がともに改善されたが、10mg/kg では骨吸収のみが改善された。これは、低用量の α -AR 遮断薬が 2-AR 遮断経路を遮断することによって、交感神経系の機能亢進による骨粗鬆症の治療薬になり得ることを示唆している。これらの in vivo での研究は、明らかに低用量の α -遮断薬が骨のリモデリング

に影響し、骨粗鬆症に対して効果的であることを示している。しかし、歯の移動に対する遮断薬の効果は不明であった。

2. 研究の目的

近年、矯正治療を希望する成人患者が増加しており、その中には骨粗鬆症や、高血圧、歯周病などのいわゆる生活習慣病に罹患している患者も少なくない。こういった社会的背景からも、生活習慣病に悪影響を及ぼさない、低用量の α -遮断薬を用いた生体為害性のない骨代謝制御を可能にすることは、重要な研究課題である。本研究の目的は、歯の移動において、 α -遮断薬の骨代謝制御作用と一般的作用の一つである降圧作用の作用機序が用量によって異なることを応用し、骨特異的に作用する低用量 α -遮断薬によって交感神経制御による生体為害性のない歯の移動のコントロールを可能にすること、また、有病者 (骨粗鬆症、高血圧、歯周病) の矯正歯科治療における歯槽骨骨量減少抑制薬としての低用量 α -遮断薬の効果を検討し、歯槽骨骨量減少抑制薬の開発を行うことであった。

3. 研究の方法

(1) 実験動物および試薬

実験動物として、8週齢の雄性 SHR/1zm を用いた。また、対照ラットとして WKY/1zm を用いた。SHR および WKY 群に、1日1回、6週間 BUT (1mg/kg) を経口投与した。コントロール群には生理食塩水を投与した。

(2) 実験的歯の移動

投与開始2週間後から4週間、ラットの第一臼歯をニッケルチタンコイルスプリングにて牽引した。

(3) 組織学的解析

上顎歯槽骨の凍結切片を作製し、カルセインによるダブルラベリングの間隔 (7日) の平均距離からミネラル付加率 (MAR, $\mu\text{m}/\text{day}$) を算出後、骨形成率 (BFR) / 骨面 (BS) ($\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2/\text{day}$) を公式 $\text{MAR} \times (\text{single-labeled surface}/2\text{BS} + \text{double-labeled surface}/\text{BS})$ を用いて算出した。

また、上顎歯槽骨を脱灰後、パラフィン包埋切片を作製し、酒石酸塩耐性酸ホスファターゼ (TRAP) 染色を行った。骨面に認められた TRAP 染色陽性の多核細胞を、破骨細胞とした。組織形態計測は、ランダムに選択した 0.8 mm^2 (1.0 $\text{mm} \times 0.8 \text{mm}$) の領域内で行い、Parfitt らによる定義に従って、骨面における破骨細胞面 (Oc.S/BS) の定量化を行った。免疫組織化学染色は、チロシン水酸化酵素 (TH) 免疫反応性の神経線維を、avidin-biotin-horseradish peroxidase complex 法によって視覚化した。定量化には画像処理ソフトウェア (ImageJ) を用いた。

(4) 骨梁構造解析

マイクロCTにて上顎歯槽骨を撮影し、三次元構造解析ソフトウェア (TRI/3DBON)

を用いて、上顎の第一大臼歯の3つの歯根によって囲まれる領域(図3A)で定義された歯槽骨量(BV/TV)と骨梁数(Tb.N)を算出した。

(5) 血液生化学検査

腹大動脈から採取した血液サンプルを遠心分離後、血漿を採取し、オステオカルシン濃度とTRAP-5b活性を計測した。

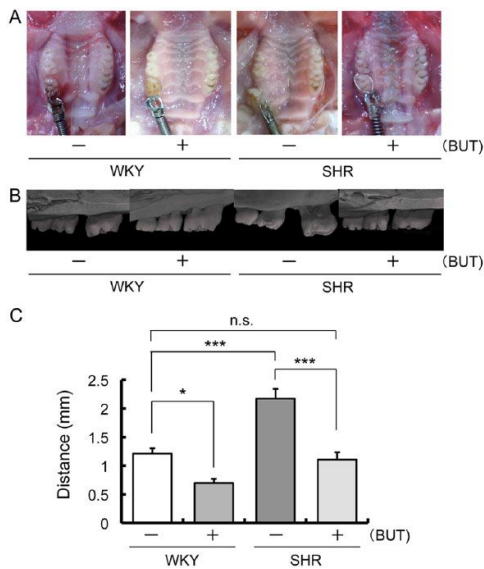
4. 研究成果

(1) 歯の移動

SHRコントロール群ではWKYコントロール群と比較して、歯の移動量が増加し、SHR BUT投与群で減少した(図1A、B)。

WKY BUT投与群はWKYコントロール群と比較して、歯の移動量が減少した。(図1A、B)

WKYコントロール群とSHR BUT投与群の間に有意差はなかった。(図1C)



(図1) 歯の移動距離

(n.s.: not significant.)

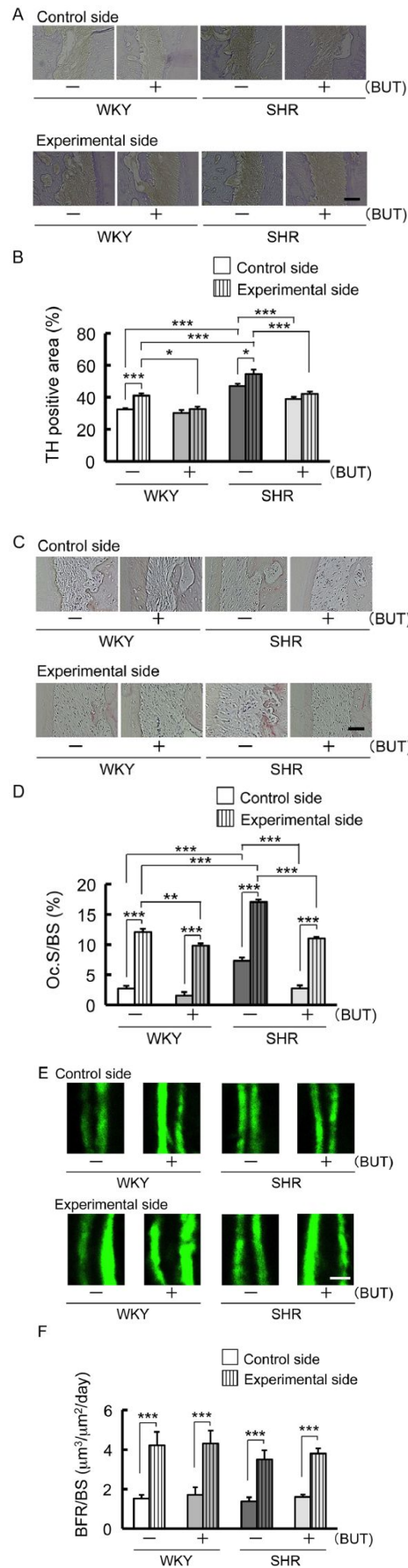
:p<0.05; :p<0.001)

(2) 組織学的解析

歯槽骨の組織学的解析において、免疫染色では、歯の移動によってWKYコントロール群とSHRコントロール群の圧迫側のTH(交感神経マーカー)陽性領域が増加した(図2A)。SHRコントロール群のTH陽性領域はWKYコントロール群と比較して増加し、SHR BUT投与群で減少した(図2B)。BUTは歯の移動によるTH陽性領域の増加を抑制した(図2B)。

圧迫側ではTRAP染色された破骨細胞が、歯槽骨上で観察された(図2C)。Oc.S/BSは、歯の移動によって増加した(図2D)。また、Oc.S/BSは、WKYコントロール群と比較して、SHRコントロール群で増加し、SHR BUT投与群で減少した(図2D)。

牽引側のカルセインダブルラベリングの間隔は歯の移動によって増加した(図2E)。BFR/BSの値は歯の移動によって増加した(図2F)。

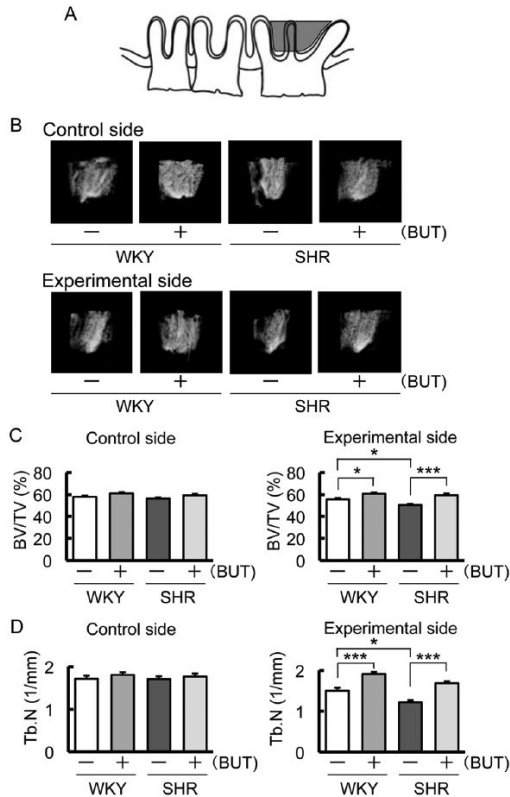


(図2) 組織学的解析

(:p<0.05; :p<0.01; :p<0.001)

(3) マイクロCT分析

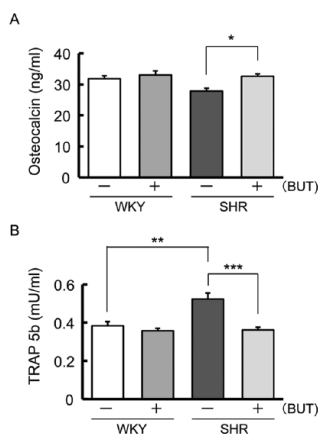
SHR コントロール群では WKY コントロール群と比較して、歯槽骨量が減少し、SHR BUT 投与群で増加した。(図 3B、C) BUT は歯の移動による骨量と骨梁数の減少を抑制した。(図 3C、D)



(図 3) 骨梁構造解析
(: $p<0.05$; : $p<0.001$)

(4) 血液生化学検査

オステオカルシン濃度は、SHR コントロール群と比較して SHR BUT 投与群で増加した(図 4A)。対照的に、血漿 TRAP-5b 活性は、WKY コントロール群と比較して SHR コントロール群で増加し、SHR BUT 投与群で減少した(図 4B)。



(図 4) 血液生化学検査
(: $p<0.05$; : $p<0.01$; : $p<0.001$)

骨粗鬆症、高血圧、歯周疾患のような基礎疾患がある歯科矯正処置患者は、最近増加している。これらの社会的背景から、基礎疾患に関して悪影響を及ぼさず歯の移動の制御を可能にすることは、重要な研究課題である。我々は先行研究において、交感神経が亢進している SHR で、骨に対する PRO の効果を調べた。結果は低用量 PRO には抗骨粗鬆症の効果があるが、高用量では示されないこと、そして、高用量 PRO の抗高血圧性の効果は低用量では示されないことを報告した。また、SHR は骨脆弱性が増加し、BUT の投与により骨損失が抑制されることを示した。2-AR の遮断により、抗骨粗鬆症の効果が引き起こされることが示唆された。これらの結果から、我々は歯の移動の制御が 2-AR 遮断によって可能になるのではないかと考えた。

本研究では、歯の移動と歯槽骨量において、BUT による 2-AR 遮断効果を調べた。

我々の結果は、歯の移動が末梢交感神経機能亢進の影響を受けることを示唆した。交感神経の亢進によって増加した SHR の歯の移動距離は、BUT 投与によって正常化された。

組織学的解析より、骨吸収と骨形成が歯の移動によって促進されることが示唆された。圧迫側において歯槽骨の破骨細胞と歯根膜の交感神経は増加した。そして、BUT 投与は破骨細胞と交感神経を減少させた。圧迫側における、骨吸収と交感神経の増加と BUT によるそれらの減少は、交感神経と骨吸収の関係を示唆する。これは、神経線維が骨の力学的受容器として作用することができ得るといふ仮説を支持する。しかしながら、本研究において、牽引側と交感神経の関係は、明らかにならなかった。

矯正歯の移動は、歯槽骨量の減少を起こす。我々の結果においても歯の移動による歯槽骨量の減少が認められた。WKY と SHR において反対側では歯槽骨量の減少がみとめられなかったのに対し、歯の移動を行った実験側では骨量の減少がみとめられ、WKY より SHR で減少した。驚くべきことに、BUT は歯の移動距離の抑制に加えて、歯の移動による骨量の減少を防止した。骨形成と吸収はともに歯の移動によって増加した、しかし、BUT による歯の移動と骨量減少の抑制効果は骨吸収の抑制によって起こされた。これは、BUT が歯科矯正治療の歯槽骨骨量減少抑制薬として有効である可能性を示す。

近年では、歯周疾患を伴う矯正歯科治療患者は増加する傾向にある、BUT はこれらの患者の歯槽骨減少抑制薬として効果的であるかもしれない。

そして、高血圧モデルラットである SHR の歯の移動量が増加した点は、注目値する。高血圧患者の矯正歯科治療において、歯の移動量の増加と骨量の減少が起こる可能性がある。BUT は、高血圧患者の矯正歯科治療において、骨量減少に効果的である可能性があ

る。

結論として、SHR コントロール群における歯の移動距離は、WKY コントロール群と比較して増加した。BUT 投与は、歯の移動距離を抑制した。BUT 投与は、歯の移動による歯槽骨骨量減少の回復に帰着した。これらの結果は、交感神経系が歯の移動に関与し、この移動が α -遮断薬によって制御され、BUT が矯正歯科治療の歯槽骨骨量減少抑制薬として有用である可能性を示す。

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 1 件)

(1) Sato Takuma, Miyazawa Ken, Suzuki Yasuhiko, Mizutani Yuka, Uchibori Shiho, Asaoka Ryo, Arai Michitsugu, Togari Akifumi, Goto Shigemi. Selective α -2-adrenergic Antagonist Butoxamine Reduces Orthodontic Tooth Movement. Journal of Dental Research, 93(8):807-812, 2014.

[学会発表] (計 3 件)

(1) Sato Takuma, Miyazawa Ken, Suzuki Yasuhiko, Mizutani Yuka, Uchibori Shiho, Asaoka Ryo , Arai Michitsugu, Togari Akifumi, Goto Shigemi. α -2-adrenergic receptor blockade decreases orthodontic tooth movement. 8th International Orthodontic Congress. 2015.9.27-30. London, UK

(2) Sato Takuma, Miyazawa Ken, Suzuki Yasuhiko, Hoshiai Satomi, Mizutani Yuka, Uchibori Shiho, Togari Akifumi, Goto Shigemi. Butoxamine, a selective α -2-adrenoceptor antagonist, prevents orthodontic tooth movement via the sympathetic nervous system. 90th Congress of the European Orthodontic Society. 2014.6.19-22. Warsaw, Poland

(3) Sato Takuma, Miyazawa Ken, Arai Michitsugu, Togari Akifumi, Goto Shigemi. Involvement of the sympathetic nervous system on tooth movement. The 113th American Association of Orthodontists Annual Session. 2013.5.5-7. Philadelphia, USA

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 琢麻 (SATO TAKUMA)

愛知学院大学・歯学部・講師

研究者番号 : 80609868