HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	糖尿病ラットにおける矯正力による歯槽骨改造現象に関する研究
Author(s)	関, 淳也; 佐藤, 嘉晃; 飯田, 順一郎
Citation	北海道歯学雑誌, 32(2), 135-146
Issue Date	2012-03
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/48708
Type	article
File Information	04-seki_gencho.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

原　著

糖尿病ラットにおける矯正力による歯槽骨改造現象に関する研究

関　　淳也　　佐藤　嘉晃　　飯田順一郎

抄　録：近年，歯科矯正治療を希望する年齢層が高まっており，生活習慣病を有する年齢層の受診も少なくない．これに伴い糖尿病予備軍に矯正治療を行う機会も増加していると考えられるが，インスリン欠乏や高血糖などの糖尿病の症状が矯正治療に与える影響に関しては不明な点が多い．本研究では，ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットを用いて２種類の持続力を加え，歯周組織の変化を評価することにより，糖尿病の条件下における適切な矯正力について検討した．実験動物には，10週齢のWistar系雄性ラット20匹を用い，それぞれ非糖尿病群と糖尿病群に分けた．歯の移動にはNiTiコイルスプリングを用い，荷重条件をそれぞれの群で６gと13gの２種に分けた．また，左側に荷重負荷を施し右側は対照とした．４群５匹ずつの上顎切歯を固定源として左側第一臼歯の近心移動を７日間行った．なお，糖尿病群の歯の移動はストレプトゾトシンによる糖尿病誘発から２日後に開始した．実験終了後，上顎骨を切り出し，EDTAによる脱灰後，通法に従いパラフィンに包埋し咬合平面に平行に厚さ５μmの連続切片を作製し，HE染色を施した．第一臼歯の髄床底から根尖側寄り400μmの切片を起点とし，根尖側方向に50μm間隔で，400μm～550μm，650μm～800μmまでの切片８枚を選択し，光学顕微鏡的観察を行った．また，骨リモデリングの定量解析のため，各切片の第一臼歯歯根の歯髄腔の中心点を結んだ５角形を設定した．この５角形から歯根部分を除いた面積を規準とし，中に分布する骨面積の割合を計測し評価対象とした．結果は以下に示す通りである．⑴400μm～550μmの範囲では，糖尿病13g群は，非糖尿病６g群，非糖尿病13g群に対して，糖尿病６g群は非糖尿病６g群に対して骨面積の割合が有意に小さかった．⑵650μm～800μmの範囲では，糖尿病13g群は，非糖尿病６g群，非糖尿病13g群，糖尿病６g群に対して有意に小さかった．以上より，糖尿病患者に対する荷重条件としては弱い力が望ましい可能性がある．

キーワード：糖尿病，矯正力，歯槽骨リモデリング

緒　　言

近年，矯正治療を希望する年齢層が高まっており，40代以降での初診も少なからず存在する[1,2]．このような患者においてはいわゆる生活習慣病を有する場合も少なくないと考えられる[3]．中でも糖尿病は年齢の上昇とともに有病率も増加することがわかっており[4]，我が国においては40歳以上では10人に１人が糖尿病であるといわれている[5]．現時点では，全世界で糖尿病は21世紀の人類の健康を脅かす疾病の１つであることは疑う余地がないといわれている[6]．平成19年国民健康・栄養調査において糖尿病の指標の一つであるHbA_{1c}が6.1％以上である人，または現在糖尿病の治療を受けている人とで構成される“糖尿病が強く疑われる人”は約890万人，HbA_{1c}5.6％以上6.1％未満で現在糖尿病の治療を受けていない人で構成される“糖尿病の可能性が否定できない人”は約1320万人で，合計2210万人であり今後さらに増加することが予想されている[7]．さらに，糖尿病が強く疑われる人のうち糖尿病の治療を受けている人は55.7％であり[7]，糖尿病患者においても長期間にわたって血糖管理することが難しいのが現状である．一方，世界の215の国と地域における20－79歳の糖尿病有病率・有病者数は，2007年で5.9％の２億4600万人，2025年の予測では7.1％の３億8000万人になると推計されており，我が国のみならず世界規模でも糖尿病者が増加することが危惧されている[8]．

糖尿病はインスリン作用不足により生じる全身の代謝異常をきたす疾患群で慢性の高血糖を主徴とする疾患である．歯科領域においても糖尿病は重要な疾患であり，歯周疾患を誘発する全身的な要因の１つである[9-12]．一方，歯科矯正治療は顎骨を中心とした歯周組織の改変を伴う治療であり，急激なリモデリングを生じることから，糖尿病を有する場合には細心の注意が必要となる疾患であると報告

〒060-8586 北海道札幌市北区北13条西７丁目
北海道大学大学院歯学研究科口腔機能学講座（主任：飯田順一郎 教授）

されている[13]．すべての歯科治療に先だって，糖尿病に対する治療・管理が必要であることはいうまでもなく，歯科矯正治療についても，血糖値のコントロールが重要であることが報告されている[14, 15]．しかし，血糖値に問題のあるもののインスリンや経口薬を用いた治療にまでは至っていない者も含め，いわゆる高血糖を有する患者に対して矯正治療を行う機会は今後増加すると推察される．現時点で，このような高血糖を有する患者に対してどのような力を加える治療が適切なのかを示唆する報告はない．

本研究では，streptozotocin誘発糖尿病ラットを用いて力の異なる２種類の矯正力を加え，歯周組織の変化について検討し安全な歯の移動に対する矯正力を知ることを目的とした．

材料と方法

１．実験動物

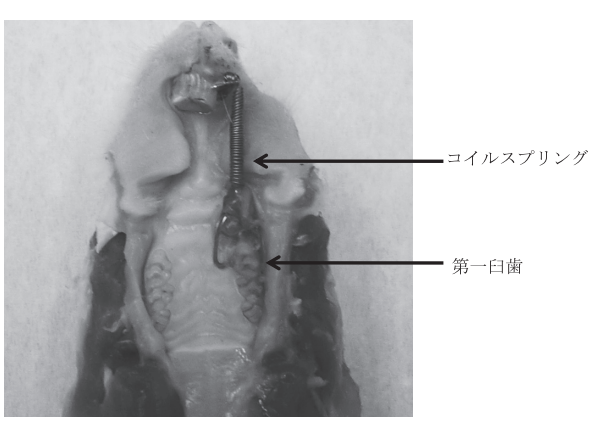
生後10週齢のWistar系雄性ラット20匹を用い，それぞれ非糖尿病群10匹，糖尿病群10匹に分けた．歯の移動にはNiTiコイルスプリングを用い，弱い力（Light continuous force）を想定した初期荷重６g（６gf/0.12mm径，アクトメント㈱，埼玉）と，強い力（Heavy continuous force）を想定した13g（13gf/0.15mm径，トミーインターナショナル㈱，東京）の２種類のNiTiコイルスプリングを使用した．非糖尿病と糖尿病群の各10匹をそれぞれ２群の５匹ずつに分け，おのおのの群に６gと13gの荷重群を設けて実験群とした．さらに，歯の移動には左側を用い，右側は荷重を負荷しない対照とした．すなわち，荷重を負荷しない右側から非糖尿病対照群と糖尿病対照群を実験群と同数抽出した．なお，歯の移動は，糖尿病の誘発から２日後に開始し，歯の移動期間を７日間に設定した．本動物実験は北海道大学大学院歯学研究科・歯学部動物実験委員会が定めた「北海道大学動物実験実施マニュアル（平成19年４月１日北海道大学動物実験委員会）」，「国立大学法人北海道大学動物実験に関する規定」（平成19年４月１日海大達第61号）に基づき行った．

２．糖尿病誘発

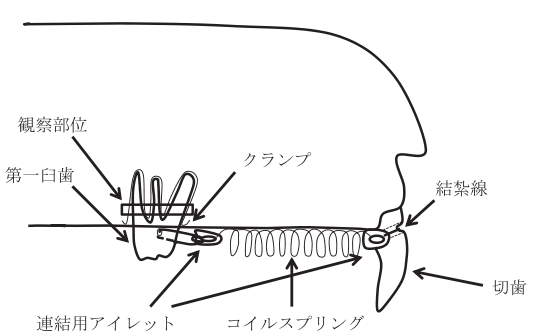
糖尿病の誘発には，膵臓ランゲルハンス島β細胞の萎縮，崩壊をもたらし低インスリン状態にするstreptozotocin（和光純薬工業㈱，大阪，以下STZと略す）投与による方法を用いた[16]．ジエチルエーテルにて吸入麻酔を施し，STZ50mgを0.05mlの0.1Mクエン酸・クエン酸ナトリウム緩衝液（pH4.5）に加えて溶解し，生理食塩水0.95mlを加えたものを，体重１kg当たり50mgの割合で腹腔内に投与し，２日後の血糖値が300mg/dl以上のラットを糖尿病群として実験に用いた．血糖値の測定をグルコース・オキシダーゼ法にて糖尿病誘発前，STZ投与２日後，STZ投与５日後，屠殺時に尾静脈より血液サンプルを採取し行った．実験期間中ラットは金属製ゲージで飼育し，固形飼料，水道水の自由摂取など，同一の生活条件下で飼育した．また実験期間中は定時に体重測定（STZ投与直前，装置装着時，３日後，１週間後）を行った．

３．歯の移動方法

STZ投与から２日後に，４群のラットの歯の移動を桐野ら17）の方法に従って行った．すなわち，所定の実験条件に従い，非糖尿病群，糖尿病群ともに，６gまたは13gの持続的な力を発揮するNiTiコイルスプリングを切歯及び左側第一臼歯に装着し，第一臼歯の近心移動を行った．上顎切歯の歯頚部には，歯の全周にわたり歯科用のエンジン及びラウンドバーを用いて深さ約0.5mmの溝を形成し，切歯の結紮の固定のための補強とした．また，上顎左側第一臼歯部には，頰面と舌面に浅い半球形の小窩（深さ約0.3mm）を形成してアイレット連結部の離脱防止のための補強とした．さらに，ラット切歯の萌出による装置の脱落を防ぐため，装置の切歯部のみを４日目に付け替えた．また結合部はスーパーボンド（サンメディカル㈱，滋賀）で固定した（図１）．



a：咬合面観



b：側面観（模式図）

図１：実験装置

４．観察方法

設定した実験期間の７日間を経過した実験動物に８％抱水クロラール腹腔内投与による深麻酔を施し，４％パラフォルムアルデヒド固定液（pH7.2, ４℃）を用いて上行大動脈より灌流固定を行った．灌流固定後に断頭し上顎骨を摘出後，同固定液にて24時間の浸漬固定を行った．その後，上顎骨は10％EDTA（４℃）で脱灰し，通法に従いパラフィン包埋した．試料から咬合平面に平行な水平断の連続薄切標本（５μm厚さ）を作製し，薄切片にヘマトキシリンエオジン染色を施した．次に，髄床底部より根尖側方向400μm～550μmおよび650μm～800μmを観察および計測部位と設定した．同部の400μmから800μmまでの切片のうち，400μm，450μm，500μm，550μm（以下400μm～550μm），ならびに650μm，700μm，750μm，800μm（以下650μm～800μm），４切片ずつ合計８枚を選択して光学顕微鏡による定性的観察および骨リモデリングの評価を行った（図２）．なお，400μm～550μmはほぼ歯槽骨頂付近，650μm～800μmはこれよりわずか根尖側よりであるものの，歯根全長に対しては歯槽骨頂付近の観察部位となる．骨のリモデリングの評価には骨面積を指標とした．計測方法を図３に示す．選択した８枚の切片に対して，第一臼歯の５歯根すべての歯髄腔の中心点を結んだ５角形を設定し同部の面積を計測した．さらに，５歯根のうち，５角形内にあるセメント質や歯髄腔を含めた歯根部分の面積を計測し（図中斜線部分），これを５角形部分の面積から除いた部分を算出してその切片の規準面積とした．一方，この５角形内に分布する歯槽骨面積を計測し，基準面積に対する計測された歯槽骨面積の割合を計算してこれを骨面積比率とした．なお面積の計測はすべて画像解析ソフトImage-Pro Plus（Media Cybernetics，Maryland，USA）を用いた．

５．統計処理

統計処理に関しては，各群の400μm，450μm，500μm，550μm，および650μm，700μm，750μm，800μm，それぞれの骨面積比率を用いて検討を行った．骨面積比率の比較に関しては，対照群の糖尿病群および非糖尿病群それぞれ

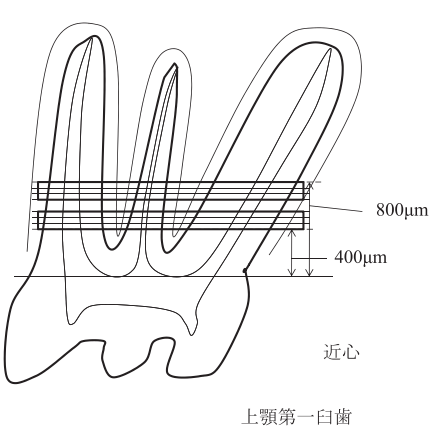


図２：観察部位

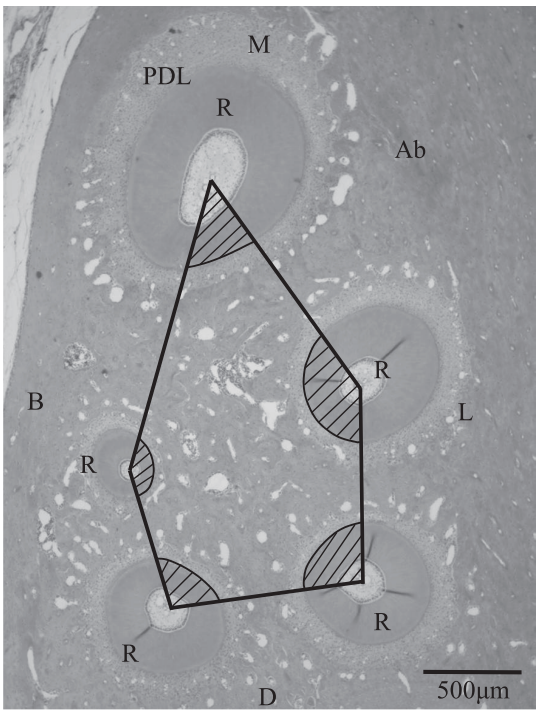


図３：骨面積比率の計測方法
第一臼歯の５歯根すべての歯髄腔の中心を結んだ５角形から，５角形内の斜線で示す歯根部分の面積を引いて，基準面積とした．さらにこの中に分布する歯槽骨面積の割合を算出し骨面積比率とした．Ab：歯槽骨，R：歯根，PDL：歯根膜，M：近心，D：遠心，B：頰側，L：舌側

における400μm～550μmと650μm～800μmとの比較に対してはPaired t-testを用い，糖尿病群と非糖尿病群のそれぞれの同一部位での比較には，Student's t-testを用いた．一方，実験群に対しては同一部位同士で一元配置分散分析（one-way ANOVA）を行い，Post hoc testとして，群間の多重比較にはTukey法を用いた．統計学的解析には，解析ソフトDr. SPSS Ⅱ for Windows（エス・ピー・エス・エス㈱，東京）を用いた．有意水準は$p<0.05$とした．なお，測定誤差を判断するため，骨面積は２週間後に，同一の研究者（J.S）が全て再計測した．１度目の計測と２度目の計測では一元配置分散分析では統計学的に有意な差は認められなかった．

結　　果

１．体重と血糖値の変化

糖尿病群では，STZ投与後２日目から，糖尿病に特徴的な全身所見，すなわち多飲，多食，頻尿の傾向が現れ，全身の体毛の艶が悪化し，その状態は実験期間中継続した．

また，全身状態を把握するために，装置装着時，装置装着後３日目，装置装着後７日目に体重を計測し，糖尿病群ではこれらに加えSTZ投与直前にも体重計測を行った（図４）．非糖尿病群，糖尿病群ともに実験期間を通じて体重は減少傾向が認められた．糖尿病群では，STZ投与後に体

重が減少し，その後も減少傾向が続いたため，同時期の非糖尿病群と比較するとやや体重が少なかった．

血糖値の変化を図５に示す．実験期間を通じて非糖尿病群の血糖値は，109mg/dl～216mg/dlの範囲で安定した値を示した．一方，糖尿病群では，STZ投与２日後に血糖値は急激に上昇しており，実験終了まで300mg/dl以上の血糖値が維持されていた．

２．光学顕微鏡による所見

１）対照群（非糖尿病対照群，糖尿病対照群）

髄床底を基準に根尖方向400μm～550μmの４切片および650μm～800μmの４切片のうち，おのおのから代表例として400μmと650μmの非糖尿病対照群の組織像を図６に示す．なお，今後の表記もすべて髄床底を基準とし，根尖方向へ向かった距離とし，代表例もすべて400μmと650μmの組織像とした．どちらの部位もともに第一臼歯を取り囲むように歯槽骨が分布していた．歯根膜はほぼ均質な幅で歯根を取り囲んでいた．しかし，400μmと650μmとでは組織像に違いがみられ，歯根同士は400μmでは650μmに比して互いに近接して分布していた．さらに，歯槽骨内に占める骨髄腔は650μmに比して相対的に400μmで広く認められ，互いに連結して大きな骨髄腔になっている部位もみられた．このような骨髄腔の分布はおもに歯根により取り囲まれる中央付近に多数見られた．

糖尿病対照群の400μmと650μmの組織像を図７に示す．組織学的には，非糖尿病対照群と同様の所見であった．ここでも，歯槽骨内に占める骨髄腔は650μmに比して相対的

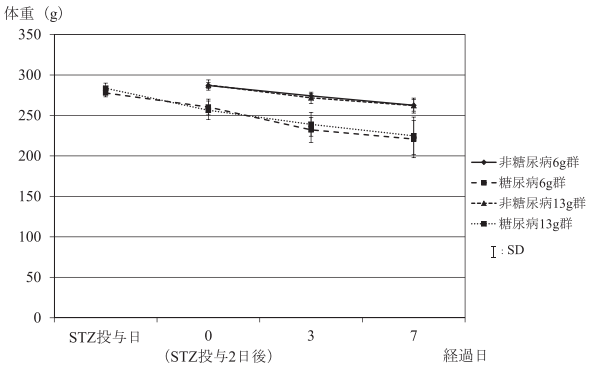


図４：実験期間を通じての体重変化

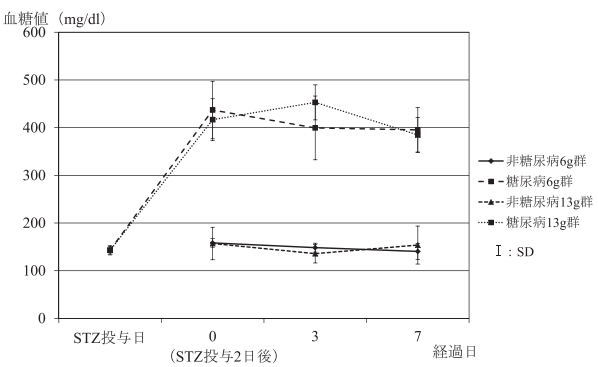
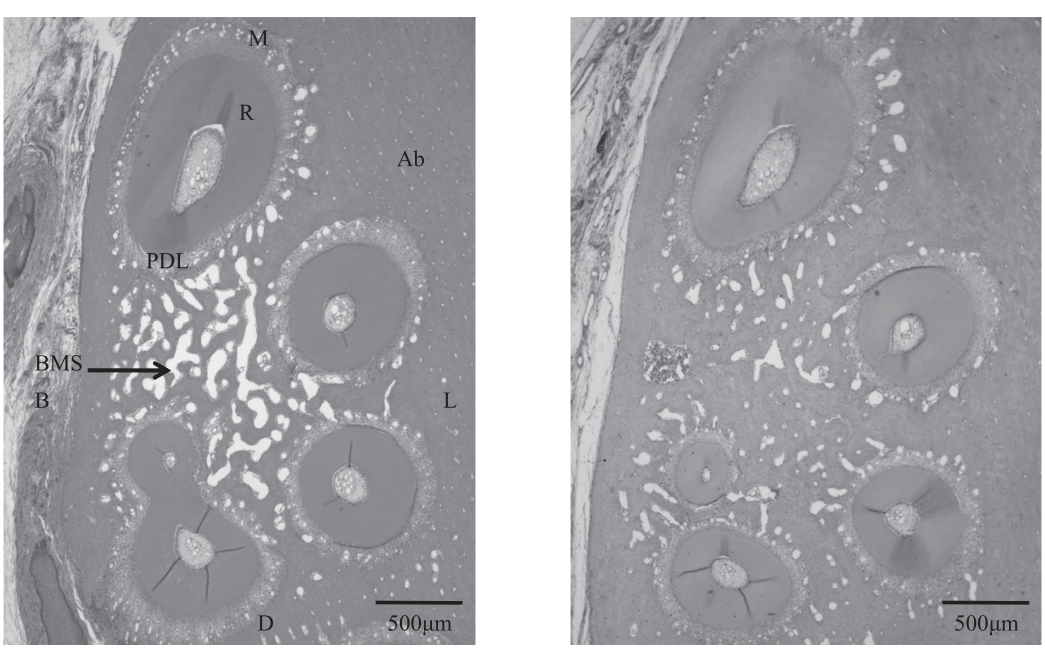


図５：実験期間中の血糖値の変化

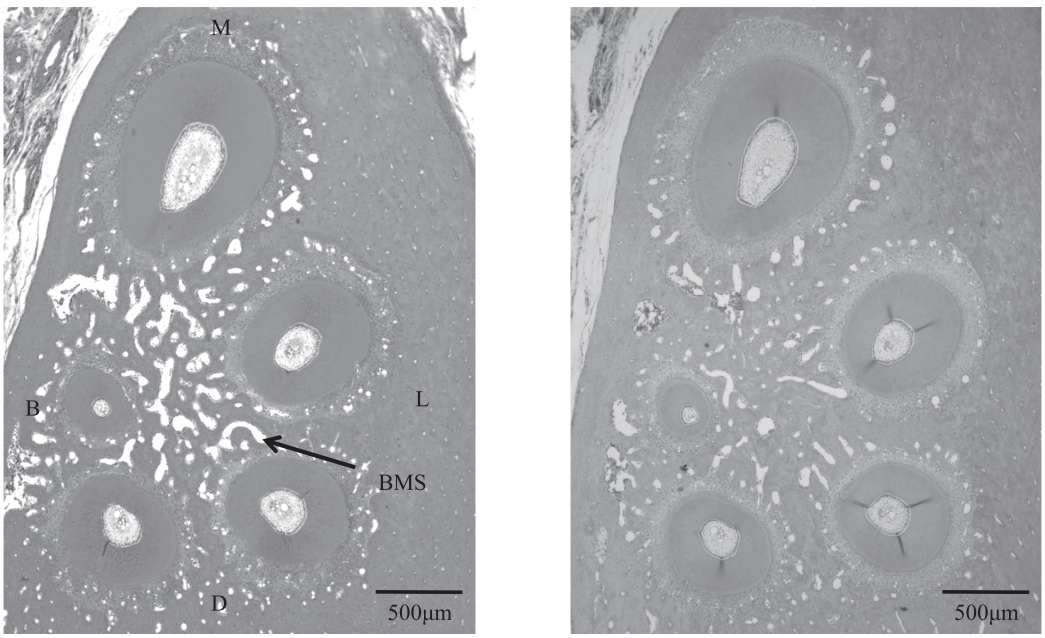


非糖尿病対照群400μm　　非糖尿病対照群650μm

図６：非糖尿病対照群の組織像

左：400μm　　右：650μm

Ab：歯槽骨，R：歯根，PDL：歯根膜，M：近心，D：遠心，B：頬側，L：舌側，BMS：骨髄腔



糖尿病対照群400μm　　糖尿病対照群650μm

図７：糖尿病対照群の組織像
M：近心，D：遠心，B：頬側，L：舌側，BMS：骨髄腔

に400μmで広く認められ，互いに連結して大きな骨髄腔になっている部位もみられた．このような骨髄腔の分布はおもに歯根により取り囲まれる中央付近に多数見られた．

２）実験群

⑴　非糖尿病６g群および糖尿病６g群の400μm～550μmの所見

図８に非糖尿病６g群および糖尿病６g群の400μmにおける組織像の一例を示す．両群ともすべての歯根の近心歯槽骨に吸収像および硝子様変性組織がみられた．さらに，歯根に取り囲まれる歯槽骨は対照群と異なり広く吸収が認められた．このため，隣接する歯根との間に歯槽骨が存在しない部位もみられた．一方牽引側ではわずかに歯槽骨の形成すなわち新たな骨稜の形成が見られる部位も認められた．このような所見は550μmまでの切片においても比較的近似した所見であった．

⑵　非糖尿病６g群および糖尿病６g群の650μm～800μmの所見

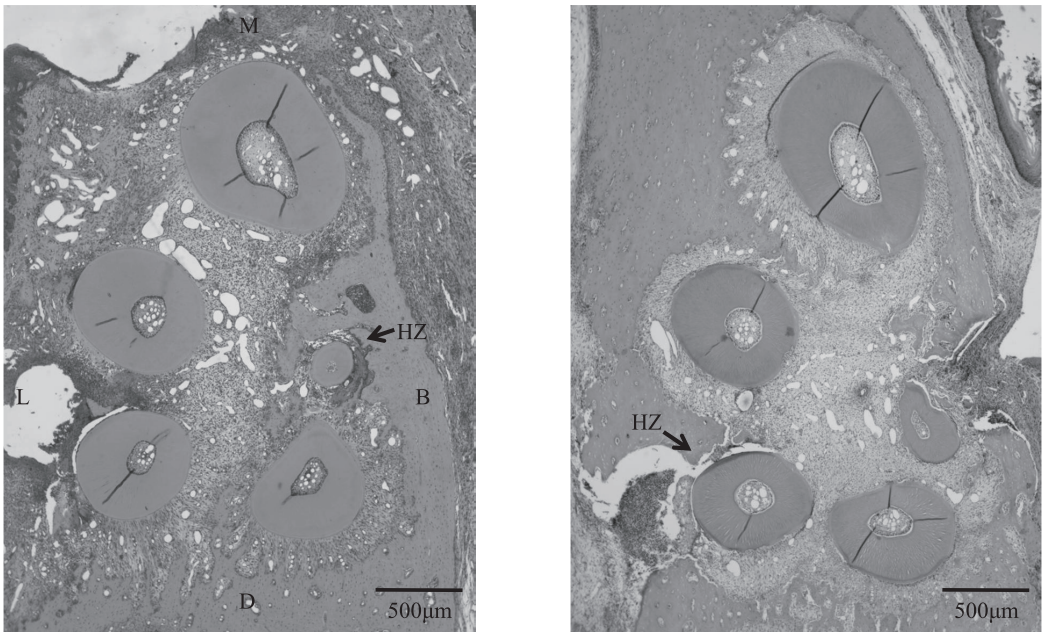
図９に非糖尿病６g群および糖尿病６g群の650μmにおける組織像の一例を示す．両群とも歯根の近心歯槽骨に吸収像がみられ，一部に硝子様変性組織がみられた．さらに，歯根の取り囲む歯槽骨は対照群と異なり歯槽骨の吸収が認められた．しかし，これらの所見はより歯槽骨頂付近の像である400μm～550μmに比して大きく異なり，歯根に囲まれる部位の歯槽骨は比較的広範に残存していた．一方牽引側ではわずかに歯槽骨の形成が見られる部位も認められた．このような所見は800μmまでの切片においても比較的近似した所見であった．

⑶　非糖尿病13g群および糖尿病13g群の400μm～550μmの所見

図10に非糖尿病13g群および糖尿病13g群の組織像の400μmにおける一例を示す．両群とも近心歯槽骨に吸収像および硝子様変性組織がみられ，さらに，歯根に取り囲まれる歯槽骨は対照群と異なり広く吸収が認められ，ほとんど分布が認められなかった．一方牽引側ではわずかに歯槽骨の形成が見られる部位も認められた．このような所見は550μmの切片においても比較的近似した所見であった．

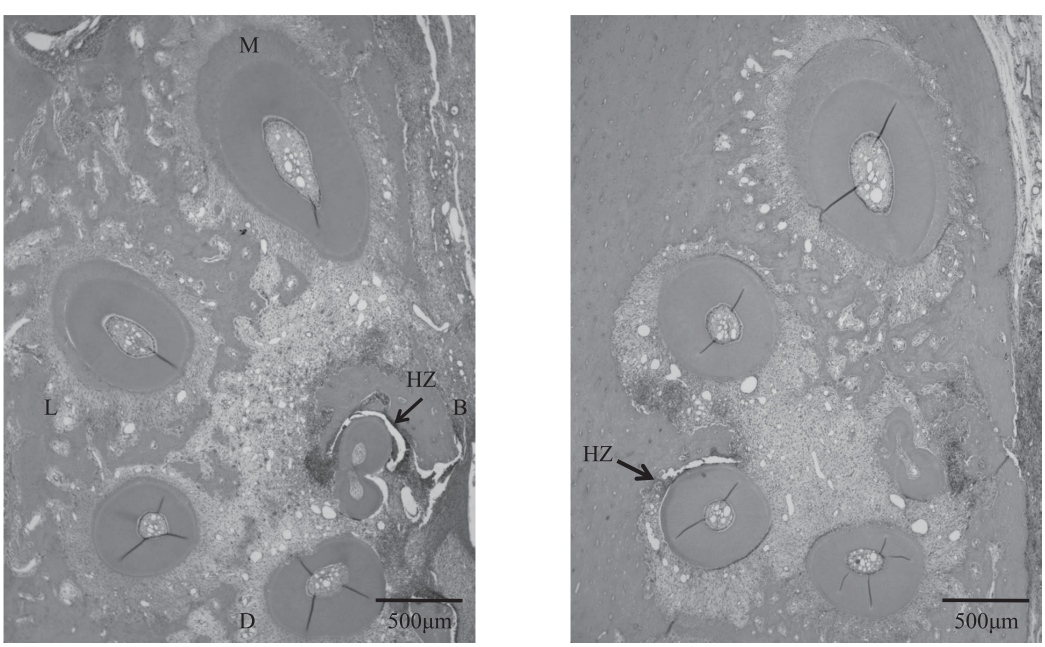
⑷　非糖尿病13g群および糖尿病13g群の650μm～800μmの所見

図11に非糖尿病13g群および糖尿病13g群の650μmにおける組織像の一例を示す．非糖尿病13g群では，歯根の近心歯槽骨に吸収像および硝子様変性組織がみられ，さらに，歯根に取り囲まれる歯槽骨は対照群と異なり歯槽骨の吸収が認められた．しかし，これらの所見はより歯槽骨頂付近の像である400μm～550μmに比して大きく異なり，歯根に囲まれる部位の歯槽骨は比較的広範に残存していた．このような所見は800μm根尖方向の切片においても比較的近似した所見であった．一方，糖尿病13g群では非糖尿病13g群と大きく所見が異なっていた．すなわち，歯根に囲まれる歯槽骨は非糖尿病13g群が比較的広範に残存していたのに対して，ほとんど残存しておらず，広く歯槽骨が吸収されている所見が認められた．なお，このような所見は800μm根尖方向の切片においても比較的近似した所見であった．一方，両群とも牽引側ではわずかに歯槽骨の形成が見られる部位も認められた．



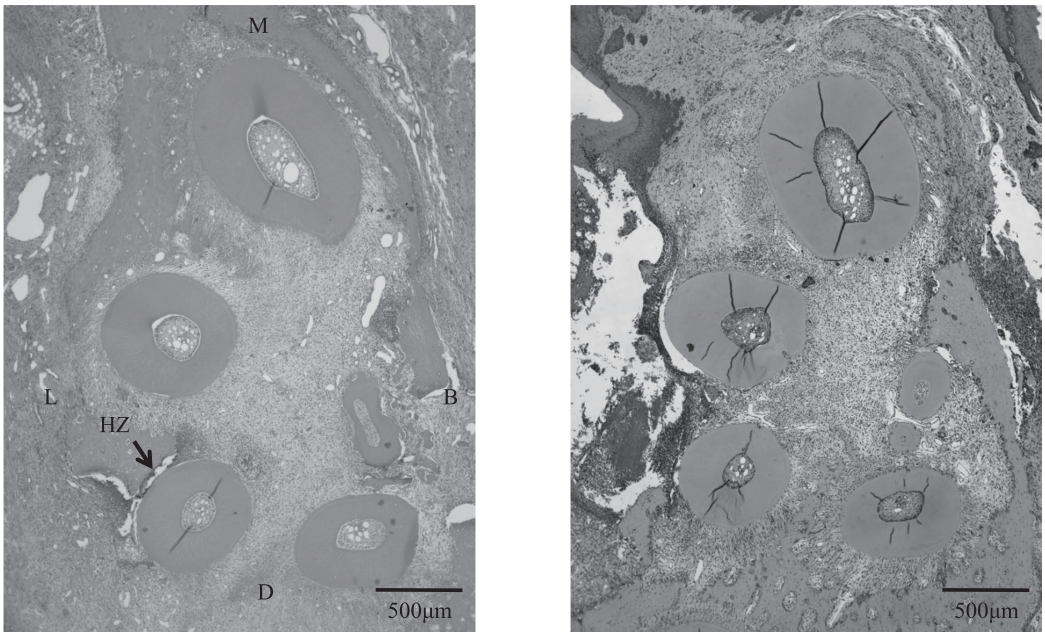
非糖尿病６g群400μm　　糖尿病６g群400μm

図８：非糖尿病６g群および糖尿病６g群の髄床底から400μm根尖側の組織像
M：近心，D：遠心，B：頬側，L：舌側，HZ：硝子様変性組織



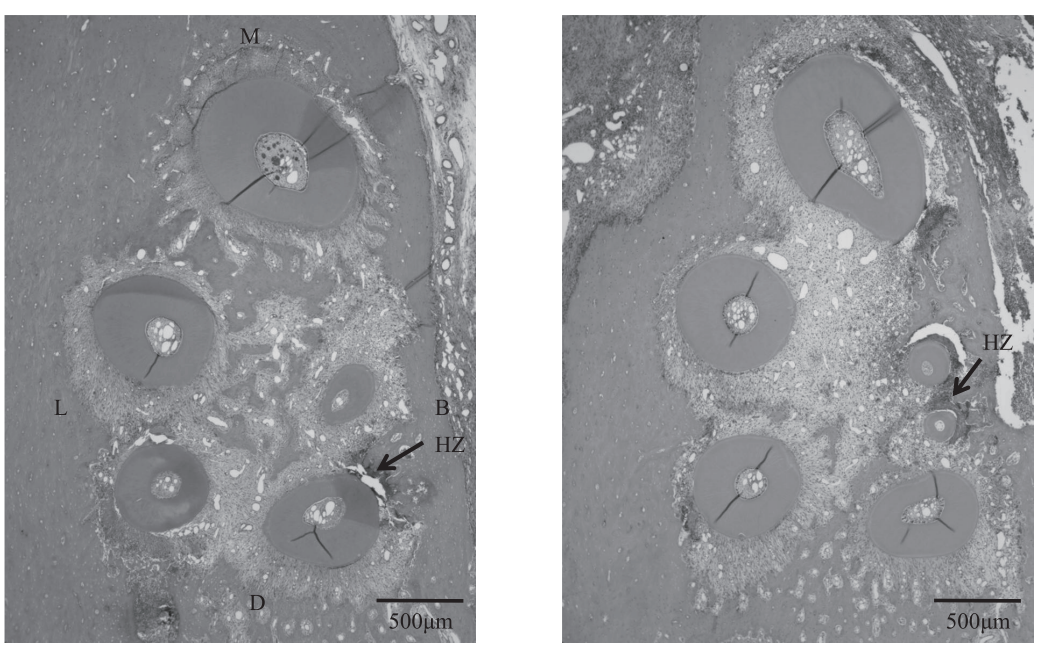
非糖尿病６g群650μm　　糖尿病６g群650μm

図９：非糖尿病６g群および糖尿病６g群の髄床底から650μm根尖側の組織像
M：近心，D：遠心，B：頬側，L：舌側，HZ：硝子様変性組織



非糖尿病13g群400μm　　糖尿病13g群400μm

図10：非糖尿病13g群および糖尿病13g群の髄床底から400μm根尖側の組織像
M：近心，D：遠心，B：頬側，L：舌側，HZ：硝子様変性組織



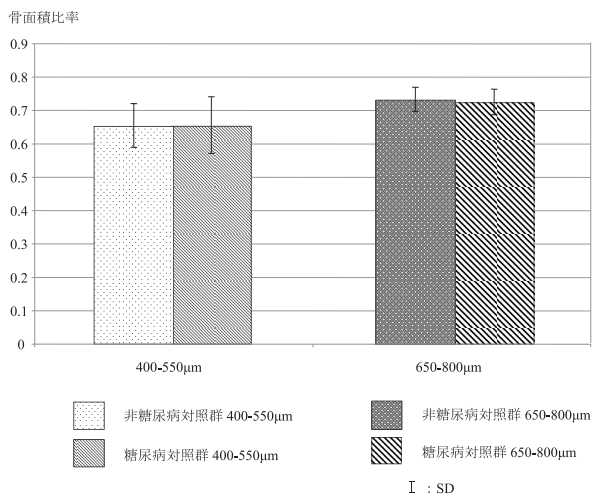
非糖尿病13g群650μm　　糖尿病13g群650μm

図11：非糖尿病13g群および糖尿病13g群の髄床底から650μm根尖側の組織像
M：近心，D：遠心，B：頬側，L：舌側，HZ：硝子様変性組織

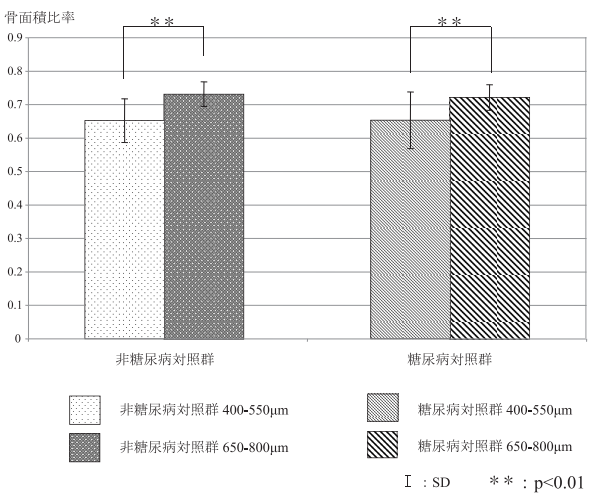
３．骨面積比率

図12-aに非糖尿病対照群と糖尿病対照群における400μm～550μmの範囲での各切片の骨面積比率の平均値，ならびに650μm～800μmの範囲での各切片の骨面積比率の平均値を示す．またStudent's t-testにて差異を検討した．これより，荷重を加えていない非糖尿病対照群と糖尿病対照群との間で骨面積比率に有意な差は見られなかった．一方，図12-bに示すように非糖尿病対照群，糖尿病対照群それぞれの中で400μm～550μmと650μm～800μmの骨面積比率をPaired t-testにて差異を検討したところ，どちらの群においても400μm～550μmでは骨面積比率が650μm～800μmに比して有意に小さな値を示した．

図13に荷重を負荷した実験群の400μm～550μmにおける骨面積比率を示す．これより，糖尿病群13g群においては，非糖尿病６g群，非糖尿病13g群に対して，糖尿病６g群は非糖尿病６g群に対して有意に小さな値を示した．図14に650μm～800μmにおける骨面積比率を示す．これより，糖尿病13g群においては，非糖尿病６g群，非糖尿病13g群，糖尿病６g群のいずれに対しても有意に小さな値を示した．



a：非糖尿病対照群と糖尿病対照群それぞれの髄床底から400μm～550μm，および650μm～800μmにおける骨面積比率の比較



b：非糖尿病対照群と糖尿病対照群の群内における髄床底から400μm～550μmと650μm～800μmとの骨面積比率比較

図12：非糖尿病対照群と糖尿病対照群における髄床底から400μm～550μmと650μm～800μmにおける骨面積比率の比較

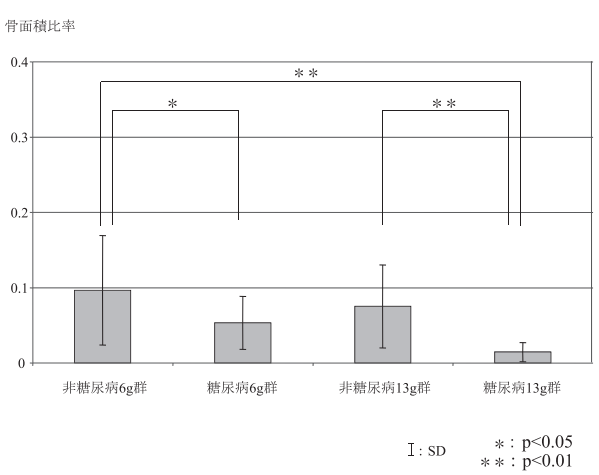


図13：実験群の髄床底から400μm～550μmにおける骨面積比率

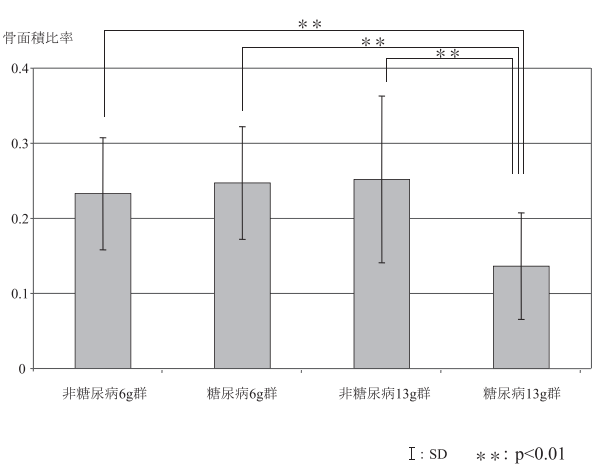


図14：実験群の髄床底から650μm～800μmにおける骨面積比率

考　　察

糖尿病患者における主症状は，口渇，多飲，多尿，体重減少などに加え，神経障害，網膜症，腎症，動脈硬化症，骨減少症等多彩な病態が認められる[18-20]．こうした病態は歯科領域の疾患とも関連が深く，歯周病の誘発・増悪因子であること，抜歯などの手術に伴う術後感染，などが多数報告されており，歯科治療に際して細心の注意が必要であると述べられている[9-12, 21-26]．しかし，歯科を受診する患者には，すでに糖尿病に対する治療が行われている患者の他，HbA_{1c}5.6％以上6.1％未満で現在糖尿病の治療を受けていない人で構成される“糖尿病の可能性が否定できない約1320万人[7]”の一部も該当していることは言うまでもない．さらに，今後このような糖尿病患者および可能性が否定できない人の数は増加することが予想されていることを考えると[7]，歯科を受診する患者の一定数はこのような状況にあるという前提で治療にのぞむ必要があると考える．

昨今，矯正歯科治療においては，成人の患者が増加しており[1, 2]糖尿病患者が増加する30代，40代以降の患者も多く受診している[5]．これらの矯正治療を希望する患者の中にはいわゆる便宜抜歯や外科的矯正治療を要する者も含まれている事から，矯正歯科治療にとっても糖尿病は注意すべき疾患である．さらに，加茂[13]やBensch[14]らによると，矯正歯科治療についても血糖値のコントロールは重要であることが報告されている[13, 14]．一般に糖尿病患者が血糖値のコントロールなしに矯正歯科を受診する場面は少ないと考えられるが，“糖尿病の可能性が否定できない人”が我が国において1320万人にのぼることを考えると血糖値が比較的高いものの薬等によるコントロールがなされていない状況で来院する患者が少なからず存在すると考えられる．このような状態で矯正歯科を受診する患者においては，糖尿病による合併症などを考慮することも必要であるが，むしろ，インスリン欠乏状態や高血糖状態が矯正治療の際の歯の移動で生じる歯槽骨のリモデリングに対してどのような影響を与えるのかを知ることが重要であると考える．本研究ではSTZ投与後２日目で高血糖状態になってからすぐに実験を開始することにより，合併症などの影響が少なく，インスリン欠乏と高血糖のみが歯の移動の際に生じる骨リモデリングにどのような影響を及ぼすかについてより検討しやすい実験条件を設定しえたと考える．

インスリン欠乏状態ならびに高血糖を有する患者において，どのような歯の移動様相を示すかを組織学的に検討した報告は少ない．加茂[13]は，ラットに10gの持続的力を加えて歯周組織の変化を検討し，歯の移動が著しく障害される可能性があることを考察している．一方，冨永[27]は，血糖コントロールの良否により，骨の改造機転に違いが認められ，血糖コントロールが不良な状態では，歯の移動において移動時間が長期化し，さらに骨の改造機転が低下しているため歯周組織に障害的変化をもたらす可能性があると報告している．これらより，糖尿病を有する場合，骨の改造に何らかの影響をあたえることは理解されるものの，糖尿病を誘発して時間がたっているこれらの実験では合併症による影響も否定できない．また，実際に矯正治療を行う際の適切な荷重の大きさの概念についての記載はない．本研究では，これらのことを背景として，弱い持続力として６gを，強い持続力として13gのバネを用いる事で，荷重条件の違いが歯周組織のリモデリングにどのような影響を与えるのかについての検討を，合併症の少ないと考えられる高血糖状態の早期の段階で実験することとした．なお，得られた歯周組織の変化より，荷重条件についてはさらに強い方と弱い方に幅を持たせた検討も必要であると考えられ，今後の課題である．

観察部位は根分岐部に近い歯槽骨頂付近とした．すなわち，骨質が十分であり組織変化が顕著に観察されやすい部位である髄床底から400μm～800μmの切片を選択した．今回の矯正装置による歯の移動はいわゆる傾斜移動であるが，このような移動様式では歯周組織に応力の勾配が生じ，部位により大きく組織反応の異なることがわかっている[28]．このような点ならびに，切片の抽出部位を動物間で可及的に一定にするために今回の観察部位の設定に至った．さらに，佐藤らは，歯槽骨頂付近では力の伝達する部位が広範囲にわたることや，骨髄腔の分布状況やそこから歯根膜に至る開口部の分布などの解剖学的形態差により，生体反応が大きく異なることも示している[28]．これより，歯槽骨頂でも，解剖学的な違いが組織変化に差異を与える可能性があると考え，400μm～550μmおよび650μm～800μmの２つの部位に分けて検討を行う事とした．

実験結果より，対照群においては骨面積比率においても光学顕微鏡からの観察においても，糖尿病対照群も非糖尿病対照群との間に大きな差異は見られなかった．これは，高血糖の状態にしてからの経過時間が短く，合併症などの影響による骨の代謝障害[29]に至っていないためと考えられる．一方，両群とも400μm～550μmの骨面積比率は，650μm～800μmに比して有意に小さかったことから，歯槽骨頂付近は歯根に囲まれる部位の骨量が少ないことが示された．これは，光学顕微鏡による観察から，歯根の近接や，骨髄腔の分布に依存するものと考えられる．

次に，荷重を加えた群では４群すべてで歯槽骨吸収の進行が観察された．650μm～800μmにおいては，糖尿病13g群が非糖尿病６g，13g群ならびに糖尿病６g群に比して有意に骨面積比率が低かった．すなわち，強い力という荷重条件と糖尿病とが重なることで骨面積の低下を生じさせたこととなる．糖尿病性骨減少症は，インスリン欠乏状態，高血糖状態，骨基質のAGE（advanced glycation end-product）化，合併症の影響による骨芽細胞不全による骨形成の低下が最も大きな要因であると考えられてい

る[19,20,29]．稲葉[29]は糖尿病における骨減少の原因を以下のように多面的に考えている．(1) インスリン欠乏：骨芽細胞はインスリンに対する特異的受容体を持つため，インスリンが欠乏すると骨芽細胞の数が減少する．(2) 高血糖状態：高血糖状態は，尿糖排泄を増加させ，Caバランスが負となる．そのため骨吸収が促進され，骨量が低下する．この状態は，主に糖尿病発症早期もしくはコントロール不良例に多くみられ，さらに高血糖による細胞内ソルビトール蓄積を介して破骨細胞性骨吸収はより促進される．(3) AGE化：糖尿病下では骨基質の主成分であるⅠ型コラーゲンのAGE化が促進され骨質が劣化する．さらにAGE化が促進されると破骨細胞による骨吸収が促進される．(4) 合併症による影響：糖尿病の合併症の１つに血管障害がある．これにより骨への血流量が減少することで骨芽細胞の機能低下が起こる可能性が考えられる．さらに，尾田[30]はSTZ糖尿病ラットの抜歯窩の修復において，電顕的に骨芽細胞と骨細胞の細胞小器官の発達不良を観察し，骨基質の生産障害および石灰化異常を報告しており，高血糖による骨芽細胞の形態異常と機能低下の可能性を示唆している．また，鈴木ら[19]はin vitroの系において高グルコース存在下で破骨細胞が増加するとの報告[31]と，インスリン非依存型モデルラットを用いた実験で，血中の酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼが対照群と比較して高値であり，破骨細胞の機能が亢進している可能性があるとの報告[32]から，糖尿病病態下では破骨細胞機能が亢進し，骨吸収は促進していると考察している．本研究では，高血糖状態になってから早期に実験を行っていることをふまえると，おもに，AGE化や合併症による骨の減少よりも，インスリン欠乏による骨芽細胞への影響や高血糖状態による破骨細胞の機能亢進がリモデリングに影響したと考えられる．また，このことが，糖尿病単独の影響のみならず強い力という荷重条件との相乗効果で骨面積の減少が引き起こされた一因とも考えられる．強い力という観点からは，歯周組織におよぶ応力との関連から，穿下性骨吸収や背部骨吸収による三次元的な歯槽骨吸収が生じやすい環境にあり[28,33]，破骨細胞を誘導する力が及んだ範囲で糖尿病の影響が加味されたことによると考えられる．

一方，400μm～550μmにおいては残存する歯槽骨は少なく，特に糖尿病群では荷重に関わらず骨面積比率は低かった．このことは，650μm～800μmとは異なる事象である．対照群において400μm～550μmの部位は650μm～800μmに比して有意に骨面積比率が小さいことより，吸収の進行程度によっては歯槽骨が失われやすい解剖学的背景があると考えられる．すなわち，必ずしも強い力でなくとも，容易に豊富な骨髄腔から背部骨吸収などが生じ，これに糖尿病の因子が加わる事で骨面積比率の程度に差が生じたものとも考えられる．このことは，日常臨床を考える際，荷重条件によらず，高血糖を有するものについては，歯槽骨頂の喪失に注意した治療が必要になることを示唆するものである．

糖尿病における骨の吸収や添加についての基礎的な部分は現時点では不明な点が多いため今後の検討課題である．しかし，以上より，高血糖，低インスリンを有するラットに対しては，13gの荷重条件は骨を大きく減少させる可能性を有している事が示唆された．このことから，糖尿病を有するものに対する荷重条件としては弱い力が望ましい可能性がある事がわかった．

結　　論

糖尿病ラットでは，強い力が加わると広範な歯槽骨の減少が生じる可能性があることが示唆された．この結果から糖尿病患者やその予備軍に対して矯正治療を安全に行うためには，弱い力を使用することが望ましい可能性がある．

謝　　辞

本研究の一部は，文部科学省科学研究費補助金基盤研究(C)21592585および文部科学省科学研究費補助金若手研究(B)21792052の補助により行った．また，実験を行うにあたりご理解，ご協力下さいました北海道大学大学院歯学研究科口腔機能学講座歯科矯正学教室の皆様，北海道大学大学院歯学研究科学術支援部の皆様に心よりお礼申し上げます．

参　考　文　献

1）岩崎万喜子，山本照子，永田裕保，山城隆，三間雄司，高田健治，作田守：過去12年間に大阪大学歯学部付属病院矯正科で治療を開始した成人患者の受診状況．日矯歯誌　53：696-703，1994.
2）白賀のり子，上岡寛，片岡伴記，植田紘貴，安藤涼子，石原嘉人，柳田剛志，村上隆，黒坂寛，菅原康代，本城正，川邉紀章，山城隆：岡山大学病院矯正歯科における来院患者の実態調査．岡山歯誌　28：107-114，2009.
3）島本和明：高齢者における生活習慣病．日老医誌　44：551-555，2007.
4）森本彩，西村理明，田嶋尚子：序論　糖尿病の疫学糖尿病患者の推移と将来．日本臨牀，66　増刊３　新時代の糖尿病学：30-35，2008.
5）厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室：平成14年糖尿病実態調査（速報）．臨床栄養　103：607-612，2003.
6）Zimmet P, Alberti KG, Shaw J : Global and societal implications of the diabetes epidemic. Nature 414 : 782-787, 2001.
7）森淳一郎：国民健康・栄養調査からみる糖尿病．Diabetes Frontier 20 : 402-405，2009.
8）西村理明：【新しい糖尿病の臨床】糖尿病に関する基

礎知識　糖尿病の頻度・疫学．診断と治療，95　増刊：26-34，2007.
9）柴崎貞二：【新しい糖尿病の臨床】糖尿病合併症　糖尿病と歯周病．診断と治療，95　増刊：338-345，2007.
10）Tervonen T, Karjalainen K.: Periodontal disease related to diabetic status. A pilot study of the response to periodontal therapy in type 1 diabetes. J Clin Periodontol 24 : 505-510, 997.
11）Nishimura F, Kono T, Fujimoto C, Iwamoto Y, Murayama Y.: Negative effects of chronic inflammatory periodontal disease on diabetes mellitus. J Int Acad Periodontol 2 : 49-55, 2000.
12）Nelson RG, Shlossman M, Budding LM, Pettitt DJ, Saad MF, Genco RJ, Knowler WC.: Periodontal disease and NIDDM in Pima Indians. Diabetes Care 13 : 836-840, 1990.
13）加茂直久：糖尿病条件下におけるラットの歯の移動に関する組織学的研究．日矯歯誌　52：1-14，1993.
14）Bensch L, Braem M, Van Acker K, Willems G : Orthodontic treatment considerations in patients with diabetes mellitus. Am J Orthod Dentofacial Orthop 123 : 74-78, 2003.
15）Shah AA, Sandler J.: Limiting factors in orthodontic treatment : 2.The biological limitations of orthodontic treatment. Dent Update 33 : 100-110, 2006.
16）小畑俊剛，横山敦郎，山本悟，川崎貴生，尾田充孝，飯塚正，向後隆男：Osseointegration獲得後のチタンインプラント周囲の骨組織に及ぼすstreptozotocin誘発糖尿病の影響．歯基礎誌　44：19-28，2002.
17）桐野靖子，土屋俊夫，栗原三郎，千葉元永，三浦不二夫：超弾性力による歯の移動実験．日矯歯誌　50：315-324，1991.
18）葛谷健：【糖尿病の新しい診断基準と分類をめぐって】糖尿病の新しい分類と診断基準の概要．プラクティス 16：259-263，1999.
19）鈴木清，滝澤誠，石田均：糖尿病性骨減少症．日本栄養・食糧学会誌　52：35-39，1999.
20）石田均：糖尿病性骨減少症の病態生理学的研究．日本栄養・食糧学会誌　62：235-243，2009.
21）橋本幸：アロキサン糖尿病ラットの抜歯創治癒過程に関する実験的研究．口病誌　30：307-328，1963.
22）Firatli E : The relationship between clinical periodontal status and inslin-dependent diabetes mellitus. Results after 5years. J Periodontol 68 : 136-140, 1997.
23）Taylor GW, Burt BA, Becker MP, Genco RJ, Shlossman M, Knowler WC, Pettitt DJ : Non-inslin dependent diabetes mellitus and alveolar bone loss progression over 2 years. J periodontol 69 : 76-83, 1998.
24）Takahasihi K, Nisimura F, Kurihara M, Iwamoto Y, Takashiba S, Miyata T, Murayama Y : Subgingival microflora and antibody responses against periodontal bacteria of young Japanese patients with type 1 diabetes mellitus. J Int Acad Periodontol 3 : 104-111, 2001.
25）Tsai C, Hayes C, Taylor GW : Glycemic control of type2 diabetes and severe periodontal disease in the US adult population. Community Dent Oral Epidemiol 30 : 182-192, 2002.
26）Al-Shammari KF, Al-Ansari JM, Moussa NM, Ben-Nakhi A, Al-Arouj M, Wang HL : Association of periodontal disease severity with diabetes duration and diabetic complications in patients with type 1 diabetes mellitus. J Int Acad Periodontol 8 : 109-114, 2009.
27）冨永宗嗣：自然発症糖尿病ラットにおける実験的歯の移動に関する病理組織学的研究．福岡歯大会誌　22：247-268，1995.
28）佐藤嘉晃，石川博之，中村進治，脇田稔：矯正力を加えた際の圧迫側歯周組織の経時的な変化．日矯歯誌 54：177-192，1995.
29）稲葉雅章：糖尿病による骨粗鬆症の臨床的重要性．Progress in Medicine 28 : 951-955, 2008.
30）尾田充孝：Streptozotocin誘発糖尿病ラットにおける骨代謝に関する病理形態学的研究．歯基礎誌　35：157-185，1993.
31）Williams JP, Blair HC, McDonald JM, McKenna MA, Jordan SE, Willifora J, Hardy RW：Regulation of osteoclastic bone resorption by glucose. Biochem Biophys Res Comm 235 : 646-651, 1997.
32）Suzuki K, Ishida H, Taeshita N, Taguchi Y, Sugimoto C, Nosaka K, Seino Y : Circulating levels of tartrate-resistant acid phosphatase in rat models of non-insulin dependent diabetes mellitus. J Diab Comp 12 : 176-180, 1998.
33）西平守正，佐藤嘉晃，森川一，山本克之，石川博之，中村進治：実験的歯科矯正における破骨細胞出現部位の応力解析．顎顔面バイオメカニクス学会誌　2：27-35，1996.

Hokkaido J. Dent. Sci., 32 : 135-146, 2012.

ORIGINAL

The effects of orthodontic force on alveolar bone remodeling in diabetic rats

Junya Seki, Yoshiaki Sato and Junichiro Iida

ABSTRACT : Recently increasing numbers of adults are likely to receive orthodontic treatment and there may be many patients with diseases typical of adults among these. Diabetes mellitus (DM) is a systemic disease affecting a considerable number of such patients. However, little information has been reported of the optimum mechanical force for diabetic patients. The purpose of this study was to examine the effects of orthodontic force on periodontal tissue with both light and heavy forces by the streptozotocin (STZ)- diabetic rat model. The maxillary left first molar of 20 rats was moved mesially by two conditions, 6g (10 rats) or 13g (10 rats), with a continuously applied force generated by a nickel-titanium alloy closed coil spring for 7 days. Half of the rats at each force levels were injected with streptozotocin (STZ), making a total of 4 groups. The maxillary right side of the molars was used as controls. On day 7 of the tooth movement, the rats were sacrificed and the maxillae were immediately removed, fixed in a solution of 10% neutral buffered formalin overnight, decalcified in 10% EDTA, and embedded in paraffin with conventional methods. Then, 5μm thick horizontal serial sections of the first molar were made with a microtome and stained with H&E for the histological investigations. Further, 4 sections among the 400-550μm and also among the 650-800μm sections from the floor of the pulp chamber of the first molar were selected at 50μm intervals. Light microscopic observations of the histological changes in the periodontal tissues were also made. The centers of five pulp cavities of each first molar were linked to form a pentagon, and the ratio of the alveolar bone area within this pentagon to the area without roots was calculated as the alveolar bone area ratio in each rat using computer image analysis software. The results were : (1) In the 400-550μm range, the alveolar bone area ratio of the DM 13g group was statistically significantly smaller than the non-DM groups with both applied forces. And the alveolar bone area ratio of the DM 6g group was statistically significantly smaller than the non-DM 6g groups. (2) In the 650-800μm range, the alveolar bone area ratio of the DM 13g group was statistically significantly smaller than the other three groups. The results suggest that it is necessary to use lighter forces in the orthodontic treatment of DM patients.

Key Words : Diabetes mellitus, orthodontic force, alveolar bone remodeling

Department of Orthodontics, Division of Oral Functional Science, Hokkaido University Graduate School of Dental medicine (Director : Prof. Junichiro Iida) Kita 13, Nishi 7 Kita-ku, Sapporo 060-8586, Japan