

平成 30 年 5 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11148

研究課題名(和文) 骨粗鬆症インプラント埋入モデルへの低強度・高周波振動刺激と新規骨形成促進剤の応用

研究課題名(英文) Application of effect of low-magnitude and high-frequency loading and bone anabolic agents on peri-implant bone in a osteoporosis model

研究代表者

横山 政宣 (YOKOYAMA, Masayoshi)

東北大学・歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：20396500

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：骨粗鬆症患者に対しても確実かつ効率的にインプラント治療を行うことを最終目的とし、本研究では、ラット骨粗鬆症-インプラントモデルにおける、低強度・高周波振動刺激(Low magnitude and High Frequency: LMHF loading)と骨粗鬆症の新規骨形成促進剤の併用による、インプラント周囲骨治癒及びオッセオインテグレーション獲得に対する効果を検討した。その結果、LMHF loadingとPTH製剤の相加効果が認められた。さらに、そのosteogenicな効果は、LMHF loadingは皮質骨に、PTH製剤は海綿骨に対して効果が高く、その作用部位は異なることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to examine the effect of low-magnitude, high-frequency (LMHF) loading, and bone anabolic agents such as parathyroid hormone (PTH) on peri-implant bone healing in an osteoporosis model, and to assess their combined effects on these processes. The findings suggest that LMHF loading and PTH can act locally and additively on the bone healing process, improving the condition of implant osseointegration.

研究分野：補綴・理工系歯学

キーワード：歯学 オッセオインテグレーション インプラント 骨粗鬆症 PTH 高周波振動刺激

### 1. 研究開始当初の背景

インプラント治療は欠損補綴治療における主要な選択肢の一つである。現在の超高齢社会においては、インプラント治療に対してこれまで高リスクと判断されてきた全身疾患患者においても、インプラント治療が有効であるケースも少なくない。しかし、高リスクである骨粗鬆症患者にインプラント治療を行ったケースでは、骨強度の劣化による初期固定の失敗、骨代謝低下によるオッセオインテグレーションの獲得不良、ビスホスホネート系製剤関連顎骨壊死 (BRONJ) など、様々な障害を及ぼすことも事実である。

これまで骨粗鬆症の標準的な治療法としてビスホスホネート系 (BP) 製剤を用いた薬物療法が行われてきたが、消化管障害、大腿骨転子下及び近位大腿骨骨幹部の非定型骨折、さらには BRONJ 等の副作用等、問題点も数多く挙げられている。近年、骨吸収抑制剤である BP 製剤に対して、骨形成促進剤である副甲状腺ホルモン (PTH) 製剤が、著しい骨密度の低下や既に骨折の生じている重篤な骨粗鬆症、難治性骨折や骨折の遷延治癒などの新薬として注目されている。歯科顎口腔領域においても、この PTH の強力な骨形成促進効果に関する研究がなされており、インプラントのオッセオインテグレーション獲得促進 (Almagro et al., 2013; Kuchler et al., 2011; Shirota et al., 2003)、顎骨の骨量・骨密度の改善 (Miller et al., 1997) や歯周病による骨吸収の予防効果 (Barros et al., 2003) が報告されている。また、PTH 以外の骨形成促進剤として、新規活性型ビタミン D<sub>3</sub> 製剤 (エルデカルシトール) も近年の骨代謝関連の研究トピックの一つとされている。エルデカルシトールには、従来型活性型ビタミン D<sub>3</sub> 製剤と比較して、明らかな骨密度増加作用や強力な骨折抑制効果がある (Uchiyama et al., 2002) と言われており、PTH と同様にインプラント治療への応用も期待できる。

一方、骨折治癒・骨粗鬆症治療のための非薬物的な治療法として、Rubin ら (2001) により報告された低強度・高周波振動刺激療法 (LMHF loading) が、医科、特に整形外科領域で注目を集めている。その後の研究から、その妥当性・信頼性に関する知見が蓄積され、骨粗鬆症患者への臨床応用がなされるまでに至っている。その現象のメカニズムこそ不明な点が多いものの、非薬物療法というメリットも大きく、新たな治療オプションとして期待されている。代表者らは、この振動刺激による骨形成活性効果が歯科インプラント治療へ応用可能であると着想し、ルーベンカソリック大学 (ベルギー) との共同研究により、インプラントを埋入した健常ラット脛骨モデルを用い、全身的に振動刺激を適用し、その有効性を明らかにし、さらに振動刺激の持続時間や刺激回数などの時間的パラメータが、その効果に影響を与えることを報告した (Ogawa et al., 2011)。また、当教室の

Hatori ら (2014) は、OVX ラットを用い LMHF loading と BP 製剤との併用の影響について検討を加えたが、両者の併用による相乗効果は認められなかった。この結果を受けて申請者らは、骨細胞系を抑制する BPs に対し、骨芽細胞系を活性化させる PTH と骨形成促進効果を持つ LMHF loading を併用すれば相乗効果が得られる可能性が高いと仮定した。

### 2. 研究の目的

本研究は、骨粗鬆症患者に対しても確実にかつ効率的にインプラント治療を行うことを目的とし、骨粗鬆症-インプラント埋入モデルにおける、

- (1) LMHF loading の局所応用の骨形成活性効果の確認と、最適刺激条件の詳細を解明する。
- (2) LMHF loading と新規骨形成促進剤 (PTH, エルデカルシトール) の併用による、インプラント周囲骨治癒及びオッセオインテグレーション獲得への影響を検討する。

### 3. 研究の方法

図 1a に研究プロトコルを示す。11 週齢雌性 Wistar 系ラットに卵巣摘出術を行い、2 週間飼育後、3 群に分け生理食塩水 5ml/日、BP 製剤 Alendronate (Ale) 15 µg/kg/日、PTH 40 µg/kg/日を 3 週間、皮下投与した。その後、両側脛骨にチタン製インプラント (2mm × 13mm) を埋入 (図 1b,c)、翌日より投薬を再開、各群をさらに 2 群に分け、1 群には振動刺激装置 (Big Wave G-Master, 旭製作所, 東京, 日本) にて加速度 0.5G、周波数 50Hz、刺激時間 15 分/日、週 5 日の条件で全身的な低強度高周波振動刺激 (WBV) を付与した (図 1d,e)。埋入後 4 週にて屠殺し、片側脛骨は除去トルク試験に、対側は、インプラント及び脛骨の長軸方向に平行な矢状断面において、マイクロ CT 画像解析及び組織形態学的評価に供した (各群 n=7)。

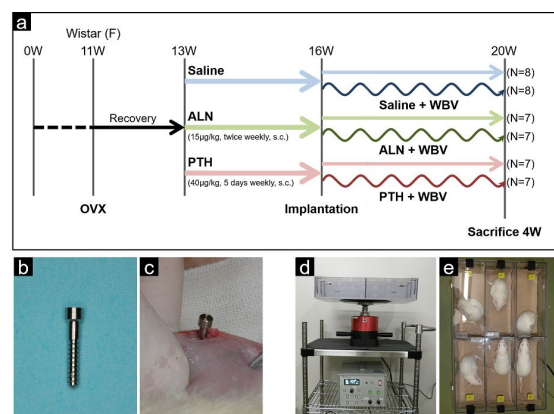


図 1 研究方法

マイクロ CT 画像解析では、骨密度の指標としてインプラント周囲皮質骨及び海綿骨内に設定した ROI の相対グレイ値 (水=0、インプラント=100) を評価した。マイクロ CT 画

像解析終了後，Villanueva Goldner 染色を施した非脱灰研磨標本を作製し，骨-インプラント接触率（BIC）及びインプラント周囲骨量（BV/TV）について組織形態学的評価を行った。

#### 4. 研究成果

図2に除去トルク試験の結果を示す。除去トルク値は，無刺激群に比べ WBV 付与群で，また Saline, Ale 投与群に比べ PTH 投与群で有意に高値を示した ( $P < 0.01$ )。特に，PTH+WBV 群では，他群と比較し高値を示す傾向がみられた。

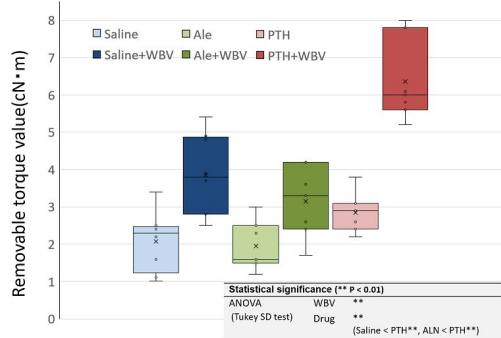


図2 除去トルク試験の結果

図3にマイクロCT画像解析の結果を示す。皮質骨における相対グレイ値は，WBV 付与群が無刺激群に比べ有意に高値を示した ( $P < 0.01$ )。投与薬剤の違いによる差は認められなかった (図3a)。一方，海綿骨では PTH 投与群は Saline, Ale 投与群と比べ有意に高値を示した ( $P < 0.01$ )。振動刺激の有無による有意差は認められなかった (図3b)。

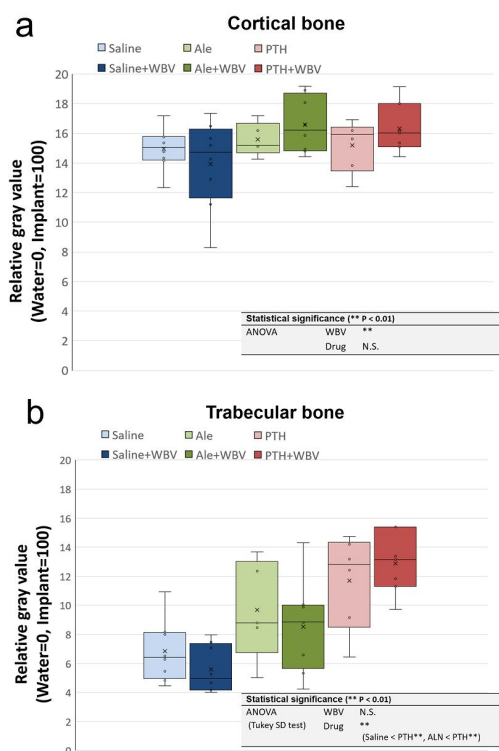


図3 マイクロCT画像解析の結果

組織学的には，WBV 付与群は無刺激群に比べ皮質骨の形成量が多く，PTH 投与群は Saline, Ale 投与群と比べ海綿骨の形成量が多い傾向にあった。特に PTH+WBV 群では，他群に比較して著明な骨形成がみられた (図4)。

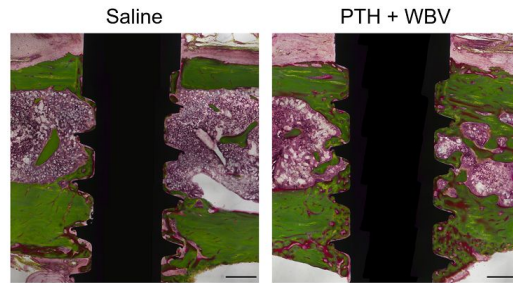


図4 組織像の一例

図5及び6に組織形態学的評価の結果を示す。BICは，無刺激群に比べ WBV 付与群で，また Saline, Ale 投与群に比べ PTH 投与群で有意に高値を示した ( $P < 0.01$ )。BIC, BV/TV いずれにおいても，PTH 投与群、特に PTH+WBV 群で高値を示す傾向がみられた。

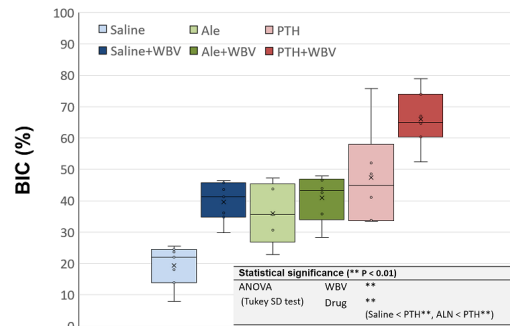


図5 組織形態学的評価 (BIC) の結果

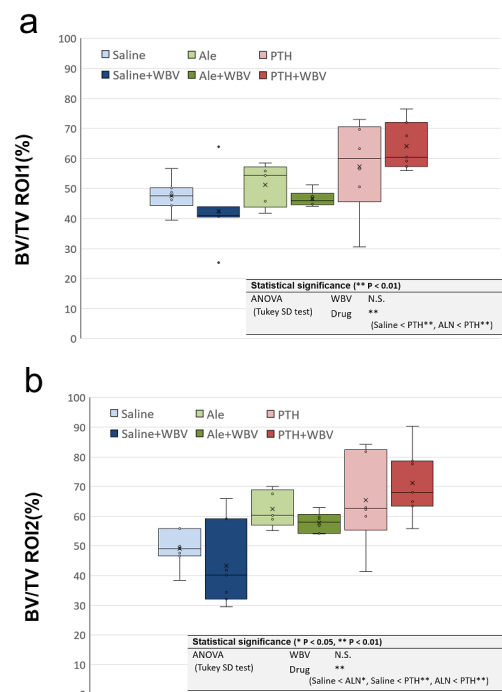


図6 組織形態学的評価 (BV/TV) の結果

以上の結果より、LMHF loading と PTH 製剤により、インプラント周囲骨形成が相加的に促進することが明らかになった。また、インプラント周囲皮質骨の治癒過程には LMHF loading が、インプラント周囲海綿骨の治癒過程には薬剤の種類が影響を与えることが明らかになった。特に、LMHF loading と PTH 製剤の併用した場合、PTH によりインプラント周囲に緻密な海綿骨が形成されると同時に、振動刺激がインプラント周囲皮質骨に作用することでオッセオインテグレーションを強化していることが示唆された。

#### 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)

Shibamoto A, Ogawa T, Duyck J, Vandamme K, Naert I, Sasaki K.  
Effect of high-frequency loading and parathyroid hormone administration on peri-implant bone healing and osseointegration.  
Int J Oral Sci. 2018; 10(1):6. DOI: 10.1038/s41368-018-0009-y.

##### [学会発表](計4件)

Shibamoto, T. Ogawa, M. Yokoyama, K. Vandamme, J. Duyck, I. Naert, K. Sasaki. Enhancement of implant osseointegration by high-frequency loading and parathyroid hormone. The 45th Annual Meeting of the AADR, 16-19/3/2016.

Aya Shibamoto, Toru Ogawa, Joke Duyck, Ignace Naert, Keiichi Sasaki. Osteogenetic effect of low-magnitude high-frequency loading and parathyroid hormone on implant interface in ovariectomized rats. The 6th International Symposium for Interface Oral Health Science, 18-19/1/2016.

Aya Shibamoto, Toru Ogawa, Yoshiaki Kanda, Joke Duyck, Ignace Naert, Keiichi Sasaki. Influence of low-magnitude high-frequency loading and parathyroid hormone on peri-implant bone healing and osseointegration in OVX rats. HKU-Tohoku University 1st Bilateral Dental Symposium, 16/10/2015.

柴本 彩, 小川 徹, Duyck Joke, Naert Ignace, 佐々木 啓一. 骨粗鬆症インプラントモデルにおける低強度高周波振動刺激と PTH の骨形成促進効果. 第 124

回日本補綴歯科学会学術大会,  
30-31/5/2015.

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

横山 政宣 (YOKOYAMA, Masayoshi)  
東北大学・歯学研究科・大学院非常勤講師  
研究者番号: 20396500

##### (2)研究分担者

小川 徹 (OGAWA, Toru)  
東北大学・歯学研究科・准教授  
研究者番号: 50372321

神田 佳明 (KANDA, Yoshiaki)  
東北大学・歯学研究科・大学院非常勤講師  
研究者番号: 00709123

佐々木 啓一 (SASAKI, Keiichi)  
東北大学・歯学研究科・教授  
研究者番号: 30178644