

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11162

研究課題名(和文) 過剰な咬合力により発生した骨吸収を回復する分子の探索とその応用

研究課題名(英文) Investigation of inhibitors for bone resorption caused by excess occlusal load

研究代表者

牧平 清超 (MAKHIRA, Seicho)

九州大学・歯学研究院・准教授

研究者番号：80304450

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)：メカニカルストレス下での骨形成に ephrinB2 と EphB4 が密接に関連しているとの報告がある。本研究ではそれらの骨形成促進効果を検討した。その結果、ephrinB2 をコーティングしたインプラント体によって歯槽骨の Osterix の発現低下を抑制することが *in vivo* の実験系で示唆された。つまり、ephrinB2 をコーティングしたインプラント体は、圧縮によるインプラント体周辺の骨吸収を抑制するまたは骨分化を促進する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The communication between ephrin/Eph family was recently shown to be involved in cell differentiation under mechanical stress. To understand the roles of ephrinB2 and EphB4 in alveolar bone under initial mechanical stress of dental implant replacement, *in vivo* experiment was carried out. The mini-implant surface immobilised with ephrinB2-Fc recovered the suppression of Osterix. Taken together, the present results suggest that increased binding of ephrinB2 and EphB4 in osteoblast cells exposed to initial mechanical force, especially compressive force, may be involved in alveolar bone recovery.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：メカニカルストレス ephrin Eph 圧縮

1. 研究開始当初の背景

補綴歯科領域では、過剰な局所的咬合による咬合性外傷や不適な義歯床下において病的な骨吸収が認められ補綴治療をさらに困難にすることがある。失った骨を回復するために骨形成能を回復する方法の開発が必要である。しかしながら歯とその周囲の骨は常に咬合力に曝される。そのため回復方法を開発するためには荷重を考慮にいたしたアプローチが近道と考えられる。メカニカルストレスに関しては*in vitro* の装置が発展し、そのメカニズムが分子レベルで解明できるようになってきた。申請者はephrinB2-Eph B4 のシグナル伝達が過剰なメカニカルストレスに関与している可能性を示すデータを予備実験で得ている。

インプラント治療の失敗は、オッセオインテグレーションを獲得できないことによる早期の予後不良と、獲得されたオッセオインテグレーションを維持できないことによる晩期の喪失に分類することができる。オッセオインテグレーションは非常に強固で安定しているものの過剰な咬合力や細菌感染によってインプラント周囲の骨吸収が引き起こされることがある。

や の骨吸収を回復するためには荷重を考慮にいたしたアプローチが必要である。

2. 研究の目的

1. 過剰な荷重がかかった状況で骨芽細胞、破骨細胞上の分子の動態を検索する。

2. 過剰な咬合力による病変部位へのephrin B2 の生体材料への固定化による供給または局所投与が骨芽細胞の分化および骨形成に与える影響を検討する。

3. 研究の方法

in vitro の実験結果をもとに九州大学動物実験倫理委員会の承認を得た後 (承認番号 A25-138), 実験プロトコルに従ってラットの口蓋部にミニインプラント体 (純チタン

製) を埋入した。埋入窩形成のみを行ったもの (以下コントロール群)、埋入トルク値 10 Nmm (以下, 10 N 群 過小な負荷の想定)、20 Nmm (以下, 20 N 群 適切な負荷の想定)、および 30 Nmm (以下, 30 N 群 過剰な負荷の想定) の 4 群に分けた。埋入 3 時間後にインプラント周囲より骨組織を採取後, RNA を回収し, Osterix, EphB4 および ephrinB2 mRNA の発現を real-time RT-PCR を用いて解析した。次に, ephrinB2-Fc もしくは EphB4-Fc をコーティングしたミニインプラント体をラットの口蓋に埋入した。コントロール群, コーティングを行っていないミニインプラント体 (非コーティング群), ephrinB2-Fc をコーティングしたもの (ephrinB2 コーティング群)、EphB4-Fc をコーティングしたもの (EphB4 コーティング群) の 4 群に分け、同様にインプラント周囲より骨組織を採取後、Osterix mRNA の発現を real-time RT-PCR を用いて解析した。

4. 研究成果

埋入トルクの負荷は、インプラント周囲骨のOsterix mRNAの発現をコントロール群と比較して有意に抑制した ($p < 0.01$)。一方、EphA2とephrinA2 mRNAの発現には影響を与えなかった ($p > 0.05$)。また、10 N群はコントロール群と比較し、EphB4 mRNAの発現が有意に増加し、20 N群ではephrinB2 mRNA の発現が有意に増加した ($p < 0.05$) (図 1)。

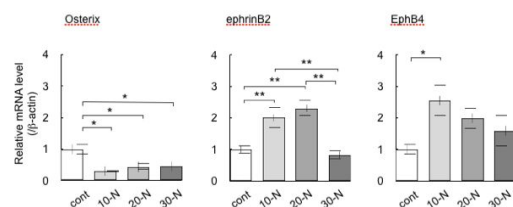


図1

ephrinB2 コーティング群では Osterix mRNA の発現はコントロール群と同レベルであり、非コーティング群と比較して有

意に高かった ($p < 0.05$)。一方、EphB4コーティング群は非コーティング群と比較し、この発現量に有意な差を認めなかった ($p > 0.05$) (図2)。

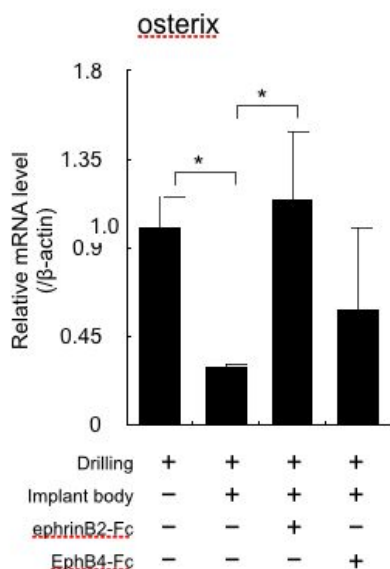


図2

以上より過小から過大な埋入トルクの負荷による初期メカニカルストレスによって骨芽細胞の分化は低下し、逆にEphB4 mRNA, ephrinB2 mRNAの発現が上昇することが示された。この分化抑制に対してEphB4-Fcは影響を与えなかったがephrinB2-Fcは抑制的に作用した。

本実験の実験結果より、骨芽細胞において圧縮力により増加した ephrinB2 のレセプターである EphB4 はインプラント埋入後経時的に起こる一次固定力の変化に関連がある可能性が示唆された。

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3件)

- 1) Takahiro Shuto, Takanori Wachi, Yoshinori Shinohara, Hiroki Nikawa, Seicho Makihara
Increase in receptor activator of nuclear factor kB ligand/osteoprotegerin ration in

peri-implant gingiva exposed to Porphyromonas gingivitis lipopolysaccharide
Journal of Dental Sciences 11, 8-16, 2016 (査読あり)

- 2) 和智貴紀, 首藤崇裕, 篠原義憲, 的野良就, 牧平清超

フッ素化合物歯面塗布剤によるチタンの腐食と溶出

日本インプラント学会誌 29, 12-19, 2016 (査読あり)

- 3) Kazuyuki Kitamura, Yuichi Mine, Wataru Koto, Takanori Wachi, Yoshinori Shinohara, Seicho Makihira, Kiyoshi Koyano

Roles of EphrinB2 and EphB4 in Alveolar Bone under Initial Compressive Mechanical Stress of Dental Implant Replacement

Journal of Dentistry & Oral Disorders 4, 1-6, 2018 (査読あり)

[学会発表](計1件)

- 1) 北村和幸, 篠原義憲, 和智貴紀, 古藤航, 栗田賢一, 寺崎崇人, 牧平清超

インプラント埋入時のメカニカルストレスによるEphとephrinの発現変化

日本補綴歯科学会第125回学術大会, 2016年7月9日-10日

[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：

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

牧平 清超 (MAKIHIRA, Seicho)

九州大学・歯学研究院・准教授

研究者番号：80304450

(2)研究分担者

峯 裕一 (MINE, Yuichi)

九州大学・医学研究院・講師

研究者番号：60605989

研究分担者

諸井 亮司 (MOROI, Ryoji)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：70325471

研究分担者

篠原 義憲 (SHINOHARA, Yoshinori)

九州大学・歯学研究院・共同研究員

研究者番号：00423533

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()