

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20439

研究課題名(和文)インプラント周囲炎の生物学的病態解明と免疫学的治療法の開発

研究課題名(英文)Elucidation of the biological pathology of peri-implantitis and development of immunological therapy.

研究代表者

三野 卓哉(Mino, Takuya)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：10625718

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：インプラント周囲炎は細菌感染による疾患であるが、未だ細菌構成は明らかではない。我々は、6名のインプラント周囲炎罹患インプラント体の滲出液から、属レベルでクラスター解析を行った。その結果、複数のインプラント周囲炎部に認められたものの、歯周病罹患歯には認めなかった菌として5種、そして複数のインプラント周囲炎部に認められたものの、健全インプラント体には認めなかった菌として5種が同定された。

研究成果の概要(英文)：It is well known that peri-implantitis is caused by bacterial infection but the constitution of bacteria causing peri-implantitis is still unclear. We did cluster analysis of NGS to investigate the bacterial flora of peri-implant exudate which was extracted from 6 patients suffering from peri-implantitis. As a result, we found five kinds of bacteria in peri-implantitis site which were not found in periodontitis teeth, and another five kinds of bacteria which were not found in normal implants.

研究分野：歯科補綴学，口腔インプラント学

キーワード：口腔インプラント インプラント周囲炎 免疫応答 次世代シーケンサー メタゲノム解析

1. 研究開始当初の背景

口腔インプラント治療の急激な普及に伴い、我々はインプラント周囲炎という新たな病態に遭遇するようになった。インプラント周囲炎の発症率は過去の研究から2%から10%程度と報告されており、進行性の骨吸収を伴う重篤なインプラント周囲炎は、インプラント体の動揺を引きおこし、ひいてはインプラント体除去に至ることも多く、患者に大きな不利益を生じさせる。したがって、その病態を解明し、インプラント周囲炎が重篤化する前にその病態を正確に診断し、進行性骨吸収を予防・停止させることは、臨床的観点に立つと大変重要な課題である。

これまでのインプラント周囲炎局所の細菌叢に関する報告は、あくまでも単離培養可能な菌種に限るが、歯周病病原細菌と類似していると報告されている。一方で、単離培養不能な菌種が90%以上を占めるという口腔内細菌構成の全体像は明らかでない。また、インプラント体周囲組織は、天然歯と比較して、その構成組織成分や構造の違いから急激に骨破壊へと進展しやすいとも報告されることから、同一宿主内でもインプラント周囲と天然歯周囲の局所的な免疫応答のメカニズムの違いが、双方の骨破壊速度の違いを生んでいる可能性が考えられた。

2. 研究の目的

インプラント周囲炎の病態解明には、細菌学的観点のみならず宿主の免疫学的観点からのアプローチが不可欠であると考えられることから、本研究では、インプラント体周囲組織の細菌構成や歯肉溝浸出液中炎症性サイトカインと臨床診査結果とを照らし合わせ、生物学的変化との関連性を明確にすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1)岡山大学大学院医歯薬学総合研究科生命倫理審査委員会へ研究遂行の許可申請を行った。

(2)インプラント周囲炎患者の抽出

下記の選定基準に則って、研究対象患者の抽出を行った。

<包含基準>

20歳以上の患者、性別は問わない、後述の診断基準により、インプラント周囲炎と診断された患者、同一口腔内に、インプラント周囲炎に罹患していないインプラント体を有する患者、同一口腔内に、歯周病罹患歯と非罹患歯を有する患者(歯周病罹患歯は、4mm以上の歯周ポケットを有する歯とする)、研究参加に同意した患者、とした。

本研究のインプラント周囲炎の診断基準は規格化デンタルX線写真で、インプラント体周囲の生理的骨吸収範囲(年間0.2mm以内の骨吸収)を超える骨吸収像を認めること、インプラント体周囲のプロビングデプスが4mm以上であること、インプラント体周囲からの排膿を認めることとした。

<除外基準>

過去2週間に抗菌薬投与を受けている患者、ステロイドや免疫抑制剤など、免疫に影響を与える薬剤を服用している患者、自己免疫疾患患者、とした。

(3)臨床検体のサンプリングおよび解析

インプラント周囲炎患者から下記の試料を採取した。②～⑤は、①の同一患者内コントロールとして採取した。インプラント周囲炎罹患部の周囲ポケット内滲出液、インプラント周囲炎非罹患部(健全インプラント体)の周囲ポケット内滲出液、健全天然歯周囲の歯肉溝滲出液、歯周病罹患歯周囲の歯肉溝滲出液、唾液(細菌叢の標準化に使用)

具体的にはインプラント周囲炎罹患イン

プラント体，健全インプラント体，健全歯および歯周病罹患歯それぞれの周囲ポケットからペーパーポイントを用いて歯肉溝浸出液を採取した．さらに，自然唾液を採取した．自然唾液は日内変動が大きいので，最も安定している「朝食もしくは口腔清掃後 2 時間以降経過した午前中」の条件下でサンプリングした．

得られた臨床検体は次世代シーケンサーを用いた 16SrRNA 解析を行った．その結果を基に，インプラント周囲炎の細菌叢を網羅的に把握した．なお，解析の効率化を図り，信頼性を高めるため，サンプルはペアにしてブラインド化の後，受託解析サービスを利用した．

(4)臨床診査

臨床的リスク因子の同定のため，表 1 に示す項目の臨床診査を行った．この項目には，インプラント周囲炎の罹患リスク因子の関与も検討するため，全身診査項目と埋入手術時の所見も加えた．

表 1. 臨床パラメーター

インプラント周囲診査	口腔内診査
発赤の有無	歯周組織検査
腫脹の有無	細菌検査
PD	ブラークコントロール
BOPの有無	咬合状態
pusの有無	ブラキシズムの有無
動揺度	対合歯の種類
埋入手術時の所見	全身診査
インプラント体の種類	喫煙状態
埋入トルク値	糖尿病の有無
水平的・垂直的骨量	骨粗鬆症の有無
骨増生の有無	出血傾向
即時負荷，即時修復の有無	服薬状況

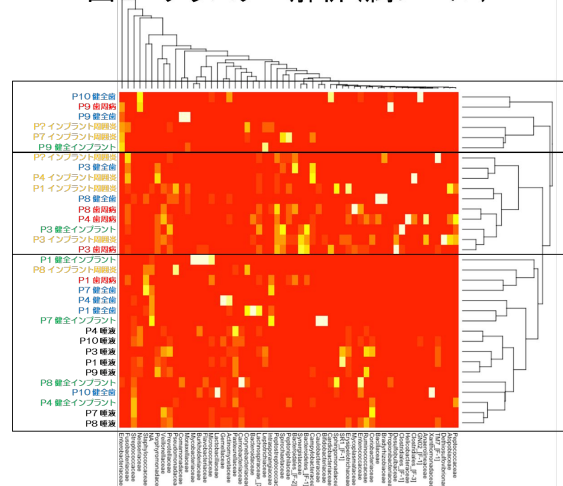
4 . 研究成果

選定基準を満たすインプラント周囲炎患者 9 名（診査時平均年齢：66.6 歳，男性 / 女性：2 / 7 名，感染インプラント周囲の平均プロービングデプス値：5.2mm，喫煙 / 非喫煙：2 / 7 名）の口腔内の平均インプラント体埋入本数は 3.4 本であり，インプラント周囲炎と診断されたインプラント体本数は 1.1 本であった．インプラント周

囲炎と診断されたインプラント体周囲の最大プロービング値は 10mm であった．

まず，9 名の検体を用いて，インプラント・天然歯周囲滲出液から，16SrRNA 解析に供する DNA の回収が，個体差やサンプル量の影響を受けずに可能であること，およびシーケンス前に実施する PCR の非特異的な増幅が起きていないことを確認した．そして，患者 9 名分の検体から細菌 DNA を抽出し，16SrRNA 解析を実施し，カウント数が 10 以下の細菌に関しては，非特異的な検出とみなし，除外した．そして，患者 6 名分の検体から属レベルでクラスター解析を行った．その結果，唾液はすべて同一のクラスターに分類されたが，インプラント周囲炎罹患インプラント体は同一のクラスターには分類されなかった(図 1)．また，6 名中 2 名以上のインプラント周囲炎罹患インプラント体に認められた菌種のうち，歯周病罹患歯には認めなかった菌として 5 種，そして 6 名中 2 名以上のインプラント周囲炎罹患インプラント体に認められた菌種のうち，健全インプラント体には認めなかった菌として 5 種が同定された．

図 1 クラスター解析(属レベル)



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

該当なし

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三野 卓哉 (Mino Takuya)

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：10625718

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし

(4) 研究協力者

窪木 拓男

研究者番号：00225195

大野 充昭

研究者番号：60613156

大野 彩

研究者番号：20584626