

平成 31 年 4 月 19 日現在

機関番号：37114

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20553

研究課題名(和文) Collagen type-XIIによる歯槽骨再生に適した軟組織制御法の確立

研究課題名(英文) Establishment of soft tissue stabilizing method for alveolar bone regeneration via collagen type-XII.

研究代表者

堤 貴司 (Tsutsumi, Takashi)

福岡歯科大学・口腔歯学部・助教

研究者番号：70736652

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)：NPインプラント群ではtype-I, XIIコラーゲンいずれも有意な発現の変化を認めなかったが、PSインプラント群では、type-XIIコラーゲンの有意な発現の増加を認めた。また、細胞接着関連物質 integrin $\alpha 1, \beta 1$, connexin43の発現は、sham群、NP群と比べてPS群で有意に発現が増加していた。以上の結果から、NPインプラント群と比べてPSインプラント群周囲の軟組織ではtype XIIコラーゲンの有意な発現の増加しており、また細胞接着関連因子の発現の増加も認めたことからPSインプラント周囲軟組織は強固で安定した組織形態になっていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は、マウスによる咬合性外傷に関する研究を行い、歯根膜細胞表面においてカルシウムイオンチャネル TRPA1が発現し、その後歯根膜細胞より破骨細胞分化誘導能を持つケモカインCCL2が分泌され歯槽骨吸収を誘発していることを報告した。さらに、損傷を受けた歯根膜組織ではcollagen type-XIIの発現が有意に上昇し、ダメージを受けた歯根膜の組織安定性に関与していることを発見した。Collagen type-XIIは、組織の安定化に関与することが知られている。埋入したインプラント体終始組織の安定化における機能を解明できれば、再生療法の研究に一石を投じることができると考え本研究の着想に至った。

研究成果の概要(英文)：Precise mechanism of beneficial effect of PS implant is not clearly elucidated. For examining relation between submerging of PS implant and response of peri-implant soft tissue, we established PS implant rat model. Especially, we focused on collagen type-XII, collagen fiber binding type of collagen.

An expression level of collagen type-XII in PS group was significantly higher than sham and NPS group. On the contrary there was not significant difference expression level of collagen type-I in three groups. In PS group expression level of integrin $\alpha 1, \beta 1$, connexin43 cell adhesion factor was signify higher than sham, NPS group. Circular orientation of collagen fiber was observed in PS group peri-implant soft tissue at platform section. PS implant would provoke expression of collagen type-XII in peri-implant soft tissue. Followingly, circular orientation collagen fiber was induced and toughly formed, work beneficially for maintain of peri-implant bone.

研究分野：歯学

キーワード：歯学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯科補綴治療において、患者の歯槽骨の吸収の程度およびその骨質の状態は、治療計画の立案において深く考慮すべき因子であり、治療結果にも大きく影響してくる。骨吸収が著しい場合は、安定する義歯の作製は困難になり、インプラント治療を行う際には骨再生療法が必要になる場合がある。よって、歯槽骨の状態を良好に維持することは歯科治療の予後を左右するものといえる。しかし、抜歯後の歯槽骨の吸収のメカニズムは十分に解明されてはいない。また、歯槽骨に再生療法を施した場合の新生骨がどのようなメカニズムで生体本来の骨吸収・骨形成の骨リモデリングのサイクルに取り込まれ代謝を受けるのかについても、未だに不明な点が多く残されている。

最近、抜歯後の歯槽骨周囲の歯肉では、線維芽細胞の細胞骨格の変性が起こり歯肉が直下の歯槽骨にメカニカルストレス(MS)を与えるようになり、その結果歯槽骨の吸収を引き起こしている可能性を示唆する研究結果が報告された(Jaijam S et al.,2011)。我々は、既にマウスによる in vivo, in vitro 咬合性外傷モデルを用いた実験を行い、その結果 MS によって歯根膜細胞表面においてカルシウムイオンチャネル TRPA1 が発現し、その後歯根膜細胞より破骨細胞分化誘導能を持つケモカイン CCL2 が分泌され歯槽骨吸収を誘発していることを報告した(Goto K et al.;2011, Tsutsumi T et al.,2013),(Tsutsumi T et al.,2013)。さらに、MS によって損傷を受けた歯根膜組織では collagen type-XII の発現が有意に上昇し、ダメージを受けた歯根膜の組織安定性に関与していることを発見した。Collagen type-XII は、線維結合型コラーゲンの一種であり、collagen type-I と結合させ、組織の安定化に関与することが知られている。また collagen type-XII は、機械的刺激によって発現の制御を受け、外部からの侵襲の軽減もしくは回復に関与することが示唆されており軟組織の安定化に寄与する物質として機能すること期待されている。さらに、我々はラット顎骨に埋入したチタンインプラント体のプラットホーム部分にくびれを付与していた場合、通常の形態のインプラントの場合と比較して collagen type-XII の発現が有意に上昇していたことを発見した。よって我々は、collagen type-XII は、自己周囲の構造体を認識し発現を制御し、損傷を受けた組織の修復、安定化を担う性質があると考えている。また、くびれを付与したインプラント体は、歯槽骨吸収を長期に渡って抑制することが知られているため、collagen type-XII は周囲組織の形態や性質に応じた骨吸収・骨形成を制御する機能を有する可能性も示唆される。このことを踏まえ、本研究ではさらに再生療法による新生骨周囲の歯肉の collagen type-XII の発現を解析することにより、再生された歯槽骨に対する周囲軟組織の認識機構を明らかにしたいと考える。

2. 研究の目的

歯科補綴治療において、歯槽骨のレベルおよび骨質の状態は治療方針やその成果に関わる重要な要素である。しかし、抜歯後の歯槽骨の吸収のメカニズムおよび骨再生療法を行った場合のその後の骨リモデリングへの受け渡しの機序は、未だに明らかではない。我々は、既に歯根膜を対象とした咬合性外傷に関する研究でメカニカルストレス(MS)によって線維結合型コラーゲンである collagen type-XII の発現が上昇し、損傷を受けた歯根膜の組織安定性に関与していることを発見している。そこで、本研究ではプラットホームスイッチインプラント埋入後の歯槽骨周囲歯肉における collagen type-XII が骨代謝に与える影響を解析することにより、抜歯後の歯槽骨吸収のメカニズムを解明するとともに、再生療法による新生骨に対する軟組織の動態を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

ラットをフォールン(イソフルラン)吸入麻酔下にて、上顎第一臼歯近心部にチタンインプラントを埋入した。ラットは、以下の3群に分類した。

偽手術 (sham) 群: フラップを開けるのみ。

ノーマルプラットホーム(NP)インプラント群: NP インプラントを埋入。

プラットホームスイッチング(PS)インプラント群: PS インプラントを埋入。

【分子生物学的解析】

インプラント埋入 2,4 週後にインプラント周囲の歯肉 4mm x 4mm を採取し、RNA later stabilization reagent(QIAGEN)を含む RNA 抽出キットにて RNA 抽出した。リアルタイム PCR 法にて遺伝子の発現量を評価した。

・コラーゲン: type-I, type-XII

・細胞接着因子: integrin a1,b1

・細胞間接合因子: connexin 43

【病理組織学的解析】

インプラント埋入 4 週後にインプラント体を含んだ組織を採取し、EDTA 脱灰液にて 2 ヶ月脱灰の後にパラフィン包埋し HE 染色, azan 染色およびコラーゲンの免疫染色を行った。

4. 研究成果

抜歯後の歯槽骨の再生に適した軟組織条件の探索に関しては、安定して規格化した歯槽骨削除モデルの作製が困難であったことと、その後の骨再生材料の充填等が困難であったため、インプラント埋入による周囲軟組織の解析を優先した。

NP インプラント群では type-I, XII コラーゲンいずれも有意な発現の変化を認めなかったが、PS インプラント群では、type-XII コラーゲンの有意な発現の増加を認めた。また、細胞接着関連物質 integrin α 1, β 1, connexin43 の発現は、sham 群、NP 群と比べて PS 群で有意に発現が増加していた(図 1)。

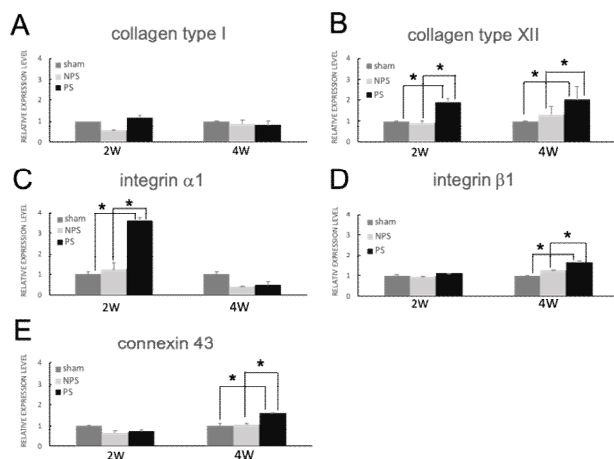


図 1.

以上の結果から、NP インプラント群と比べて PS インプラント群周囲の軟組織では type XII コラーゲンの有意な発現の増加しており、また細胞接着関連因子の発現の増加も認めたことから PS インプラント周囲軟組織は強固で安定した組織形態になっており、その際 type XII コラーゲンが重要な機能を有することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Micro-computed tomography for evaluating alveolar bone resorption induced by hyperocclusion.

Journal of prosthodontic research (62(3): 298-302, 2018)

Establishment of a standardized cell culture system on acrylic resin.

福岡歯科大学学会雑誌 (第 45 巻 1 号, 2019.03)

Effect of platform shape on the expression of type XII collagen and cell adhesion molecules in rat oral mucosa.

日本口腔インプラント学会誌 (第 31 巻第 3 号, 216-224, 2018)

〔学会発表〕(計 5 件)

プラットフォームスイッチングインプラントモデルにおける type-XII コラーゲンの動態

日本歯科医学会総会 (福岡).2016.11.

プラットフォームスイッチングインプラントモデルにおける type-XII コラーゲンの動態

歯科基礎医学会 (長野).2017.09.17-18.

マイクロ CT を用いた咬合性外傷モデルにおける歯槽骨吸収量の定量的解析.

日本補綴歯科学会九州支部大会 (鹿児島).2017.08.

マイクロ CT によるマウス咬合性外傷モデルにおける歯槽骨吸収量の定量的評価

日本補綴歯科学会第 127 回学術大会(岡山).2018.6.16-17.

軟組織よりアプローチするインプラント基礎研究の経緯と今後
平成 30 年度日本補綴歯科学会九州支部学術大会(熊本).2018.8.25.

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者 該当なし

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者 該当なし

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。