

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11795

研究課題名(和文)メカノバイオロジー機構に基づくインプラント周囲骨リモデリング賦活化プロトコル

研究課題名(英文)Study of mechano-biology in peri-implant bone healing under various loadings

研究代表者

高橋 健太 (Kenta, Takahashi)

東北大学・歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：30792642

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、メカノバイオロジー機構の理解に基づいたミクロスケールからマクロスケールの力刺激の最適化を行い、個体・部位レベルでの力刺激による骨リモデリングシミュレーションシステムの構築、インプラント周囲骨リモデリングを賦活化する力刺激プロトコルを提案することを目的とする。力刺激に関しては、低周波機械刺激、低強度・高周波振動刺激(LMHF loading)および低出力超音波パルス刺激(LIPUS)を用い、それぞれのインプラント周囲骨への影響や組み合わせた際の効果を評価した。その結果、LIPUSとLMHF loadingを併用の有効性や、顎骨においても振動刺激の骨形成を促進す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

欠損補綴の選択肢である歯科インプラント治療は、非常に高い成功率を示す一方で、治療を希望する患者の2割以上が不十分な骨質・骨量のため、治療自体を断念してしまっている。さらに超高齢者社会を迎え、全身疾患を持つ患者(糖尿病・骨粗鬆症等)にインプラント治療を提供する状況も少なくない。また患者QOLのさらなる向上のため即時・早期荷重といった治療法のニーズも高くなり、様々な場面でより効率的で確実な治療プロトコルが必要とされている。本研究では、低強度・高周波振動刺激(LMHF loading)をはじめとしたミクロスケールからマクロスケールの機械的刺激が骨形成促進作用について検討を行った。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on the mechano-biology of peri-implant bone healing with various loadings. As test conditions, low frequency loading, low magnitude-high frequency (LMHF) loading and low intensity pulsed ultra-sound (LIPUS) are used. The combination of LIPUS and LMHF loading may promote osteogenic activity around the implant. However, further study of the stimulation conditions of LIPUS and LMHF loading is necessary to better understand the osteogenic effects and the relationship between the two stimuli. LMHF loading positively influenced peri-implant bone healing in the early healing period in beagle dog mandible.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：インプラント 高周波振動刺激 超音波パルス オッセオインテグレーション メカノバイオロジー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯科インプラント治療の成功への鍵は、感染制御とともにインプラント体に加わる機能時負荷を制御し、生体機能との調和を保つことにある。力学的挙動はインプラントの予後への影響は感染等と比べ大きくないという見解が主流だったが、最近のデータでは長期的な骨形態変化を評価すると、力学的環境が骨形態の経年的な変化に大きく反映しているという知見も挙がっている(文献1)。超高齢者社会を迎え、全身疾患を持つ患者(糖尿病・骨粗鬆症等)にインプラント治療を提供する状況も少なくない。さらに患者 QOL のさらなる向上のため即時・早期荷重といった治療法のニーズも高くなり、様々な場面でより効率的で確実な治療プロトコルが必要とされている。一方、これまで研究代表者らは、低強度・高周波振動刺激(LMHF loading)をはじめとしたミクロスケールからマクロスケールの機械的刺激が骨形成促進作用について知見を蓄積してきた。

骨リモデリング賦活化を有するミクロスケールからマクロスケールの機械的刺激について

(1) 高周波の振動刺激(LMHF loading): 分担者の小川らは、LMHF loading のインプラントオッセオインテグレーションおよび周囲骨への有効性を確認し、振動条件(時間的因子および周波数・加速度など)や直接・間接刺激など刺激の与え方により、効率的な効果発現を得ることを報告してきた。

(2) 低周波領域の機械的刺激: 一方、低周波の機械的刺激、すなわち日常的な機械的負荷は、骨の形成・吸収、つまり骨代謝活性に大きく関与している。Frost の Mechanostat theory をはじめとする多くの知見から、機械的刺激環境は骨のホメオスタシスの重要因子の一つとされる。インプラント周囲骨では過負荷、特に埋入後の早期のオーバーロードはインプラント loss につながる不適切な環境因子の一つとされる一方で、制御された適切な負荷は、周囲骨へ positive な影響を与えるとされている。

(3) 低出力超音波パルス(LIPUS): パルス化した微弱な超音波刺激を生体外から対象骨に照射し、骨折の治癒促進と治療期間を短縮する技術として整形外科で用いられる物理刺激療法で、近年の保険適応を受け、新鮮骨折から比較的治癒困難な難治性骨折まで広く応用されている。しかしながら、LIPUS の歯科用インプラントへの適用は知見が少なく、臨床応用に至るエビデンス構築には至っていないのが現状である。

2. 研究の目的

そこで本研究では、骨質や骨量の不利なケースのインプラント治療において、オッセオインテグレーションや周囲骨形成を促進する LMHF loading や低周波領域の機械的刺激、さらには LIPUS 等の様々な物理的刺激方法を組み合わせる臨床応用するインプラント治療支援を最終的な目的とし、本研究ではラット脛骨インプラント埋入モデルを用いてインプラント周囲骨形成に対する LIPUS と LMHF loading の影響とその併用効果、また歯科インプラントを用いてイヌ顎骨モデルにて、当該刺激効果に関する検討を行った。

3. 研究の方法

検討1 LIPUS と LMHF loading (WBV: Whole body vibration による刺激付与) の検討

(1) 実験動物

雄性 Wistar 系ラット(15週齢)を用いた。本研究は、東北大学環境・安全委員会動物実験専門委員会の承認のもと、東北大学医学系研究科附属動物実験施設にて実施した。

(2) 外科手術

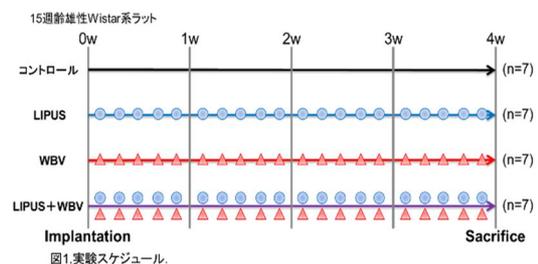
2.5%イソフルランを用いた全身麻酔下において、両側脛骨に滅菌生理食塩水注水下のもとカスタムメイドの純チタン製インプラント(表面は機械加工のみ、直径 2mm、長さ 13mm、cp-Titanium Grade 2)を膝関節から約 10mm の位置に、脛骨長軸とほぼ垂直に bi-cortical に埋入した。その後 5-0 ポリグリコール酸縫合糸(松田医科工業株式会社)にて縫合した。

(3) 刺激の付与

LIPUS + WBV 群、LIPUS 群、WBV 群、コントロール群の 4 群(各群 n=7)を設定し、外科手術翌日から次の条件の刺激を付与した。LIPUS 刺激は、2.5%イソフルランを用いた全身麻酔下において、埋入部位に周波数 1.5MHz、繰り返し周波数 1kHz、パルス幅 200 μ 秒、超音波出力 30mW/cm²、照射時間 20 分/日、週 5 日の条件で行った(オステオトロン D², 伊藤超短波株式会社)。WBV は振動刺激装置にて、加速度 0.5G、周波数 50Hz、刺激時間 15 分/日、週 5 日の条件で行った(Big Wave G-Master, 旭製作所)。LIPUS + WBV 群は LIPUS 群と WBV 群と同様の刺激条件で両方の刺激を付与した。

(4) サンプルの作製

埋入後 4 週にて屠殺、インプラントと脛骨を一塊にして摘出した。片側は除去トルク試験を用いたオッセオインテグレーションの生体力学的強度、対側はマイクロ CT 画像解析を用いてインプラント周囲骨の骨密度、および組織・組織形態学的評価に用いた。



(5) 除去トルク試験

トルクゲージ(ATG1.5CN/ATG12CN, 東日製作所)にて、インプラント埋入時の回転方向と逆方向へ水平回転荷重を加えていき、インプラントが水平回転を起こすまでの最大回転荷重(除去トルク値(Removable torque value(cN/m)))を計測した。

(6) マイクロCT画像解析

マイクロCT撮影装置(ScanXmate-D225RSS270, コムスキャンテクノ社)にて、管電圧200kV, 管電流100 μ A, 解像度10.654 μ m, スライス厚0.05mmの撮影条件下にて対側脛骨をのマイクロCT画像撮影を行った。撮影した画像を三次元構築後、インプラントの長軸と脛骨の長軸に平行な矢状方向でインプラントの中心を通る断面画像について、ImageJ(Rasband, W.S. ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MA, USA)を用い、インプラント周囲皮質骨及び海綿骨内に設定したROI(0.4 \times 0.4mm)の相対グレイ値(Relative Gray(RG)値:水=0, インプラント=100)を評価した。

(7) 組織・組織形態学的評価

マイクロCT撮影終了後、インプラントの長軸方向で矢状方向に非脱灰標本を作製し、Villanueva Goldner染色を施した。作製した標本は、光学顕微鏡(LeicaDM3000, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)にて組織学的観察、画像解析ソフト(Adobe Photoshop CS6: Adobe System Inc, USA, ImageJ: U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MA, USA)を用いて、下記の骨の形態組織パラメータを評価した。

骨-インプラント接触率(BIC; %): 骨-インプラント接触面積の総和(μ m)/骨-インプラント接触領域におけるインプラント体の全長(μ m) \times 100

インプラント周囲骨量(BV/TV; %): ROI内の骨面積(μ m²)/ROI全体の面積(μ m²) \times 100
ROIはインプラント体から0~100 μ m(BV/TV_ROI1), 100~500 μ m(BV/TV_ROI2)の2領域に設定した。

(8) 統計解析

本研究で設定した4群間の比較には、一元配置分散分析およびTukey's HSD testにより多重比較を行った。統計解析ソフト(SPSS ver. 21.0, Chicago, IL, USA)を用い、有意水準 α は5%とした。

検討2 イヌ顎骨インプラント埋入モデルを用いた局所的振動刺激効果の検討

(1) 実験動物:

ビーグル犬(male adult): n=6

(2) 外科手術

全身麻酔化にて、下顎骨にデンタルインプラント(Aadva Standard implant Narrow, 3.3 X 8mm, GC, Japan)を片側に3本ずつ計6本埋入、ヒーリングアバットメント装着

(3) 刺激の付与

片側はカスタムメイド loading device (振幅8 μ m, 100 Hz)にて刺激、反対側はコントロールオステルISQ・インプラント安定度の計測(1回/週)

(4) サンプルの作製

埋入後2, 8週にて屠殺、インプラントと顎骨を一塊にして摘出。

(5) マイクロCT画像解析

マイクロCT撮影装置(ScanXmate-D225RSS270, コムスキャンテクノ社)にて、検討1と同様に相対グレイ値(Relative Gray(RG)値:水=0, インプラント=100)にて評価。

(6) 組織・組織形態学的評価

マイクロCT撮影終了後、検討1と同様に非脱灰標本を作製、Villanueva Goldner染色を施した。光学顕微鏡にて組織学的観察、画像解析ソフトを用いて、骨-インプラント接触率(BIC; %)およびインプラント周囲骨量(BV/TV; %)を算出。

(7) 統計解析

本研究で設定した2群間の比較には、Paired t-testを行った。ISQの比較には2元配置分散分析を行った。

4. 研究成果

検討1

(1) 除去トルク試験およびマイクロCT画像解析除去トルク値、皮質骨の相対グレイ値の平均値は、各群間に有意な差は認められなかったものの、LIPUS+WBV群は他の群と比べ高い値となる傾向を認めた(図2, 図3b)。また、海綿骨の相対グレイ値においては、LIPUS+WBV群はコントロール群と比べ有意に高い値を示した($p<0.05$)(図3a)。

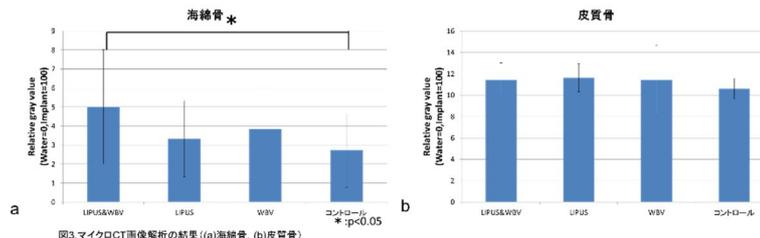
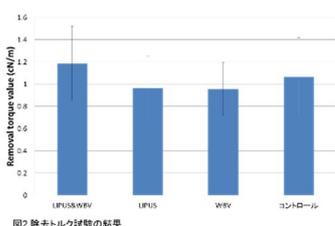
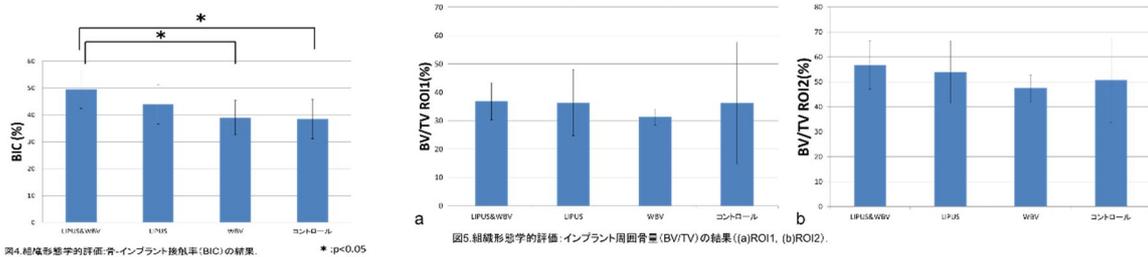


図3 マイクロCT画像解析の結果 ((a)海綿骨, (b)皮質骨) * $p<0.05$

(2) 組織・組織形態学的評価

BIC の平均値は, LIPUS + WBV 群が他の群と比べ高い値を示し, LIPUS + WBV 群は WBV 群およびコントロール群と比べ有意に高い値を示した ($p < 0.05$) (図 4). BV/TV の平均値は, 各群間に有意な差は認められなかったものの, ROI1 および ROI2 の範囲とも LIPUS + WBV 群が他の群と比べ高い値を示す傾向が認められた (図 5a,b).



本検討結果から, LIPUS と LMHF loading を併用することで, それぞれが有するインプラント周囲の骨形成活性効果をより促進する可能性が示唆された. しかしながら, より骨形成活性効果を得ることや両刺激の関連性をより把握するためには LIPUS と LMHF loading のそれぞれの刺激条件についてはさらなる検討が必要であると考えられた.

検討 2

(1) 図 6, 7 に埋入後の口腔内の写真およびマイクロ CT 画像の一例を示す.



図 6

図 7

(2) ISQ 値の経時的変化を下図に示す. 埋入後 1 ~ 2 週にて Stability dip を認めた.

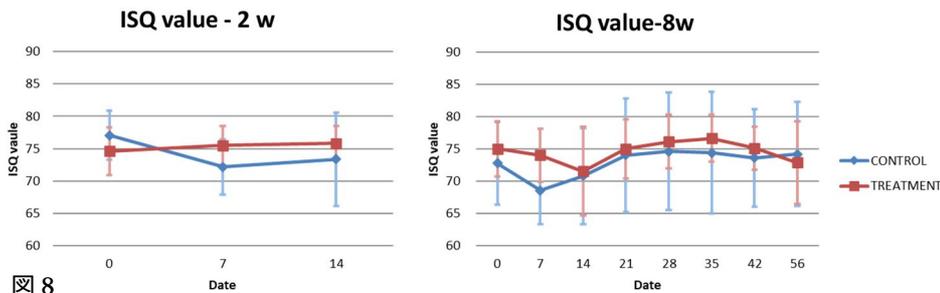


図 8

(3) 組織・組織形態学的評価

BIC および BV/TV 値を右表に示す (Table 1, 2). ROI 2 の BV/TV 値において刺激群はコントロールに比べ有意に高い値を示した. それ以外は統計学的に有意な差は認めなかったものの, すべてにおいて刺激群が高い値を示す傾向が認められた.

Table 1

Healing time	Group	Total	Direction		Position	
			Angle A	Angle B	Above-implant	Below-implant
2 weeks	Treatment	14.0 ± 4.0	13.4 ± 5.6	14.33 ± 4.0	13.5 ± 4.9	14.5 ± 3.9
	Control	13.0 ± 4.0	12.3 ± 5.3	14.2 ± 6.6	12.30 ± 5.9	14.1 ± 6.0
8 weeks	Treatment	11.0 ± 3.0	10.32 ± 3.0	12.28 ± 3.8	10.2 ± 4.2	12.3 ± 3.5
	Control	13.0 ± 2.0	13.8 ± 3.8	11.7 ± 3.2	12.3 ± 4.8	13.0 ± 2.2

Table 2

Healing time	Group	BIC value	Bone (BV/TV)			Osteoid bone (BV/TV)		
			ROI1	ROI2	ROI1 + ROI2	ROI1	ROI2	ROI1 + ROI2
2 weeks	Treatment	0.19 ± 0.17	0.09 ± 0.16	0.30 ± 0.28*	0.19 ± 0.18	0.18 ± 0.13	0.15 ± 0.11	0.16 ± 0.09
	Control	0.15 ± 0.12	0.14 ± 0.52	0.20 ± 0.18*	0.23 ± 0.26	0.24 ± 0.5	0.17 ± 0.35	0.18 ± 0.37
8 weeks	Treatment	0.31 ± 0.18	0.14 ± 0.18	0.41 ± 0.23	0.26 ± 0.31	0.27 ± 0.13	0.19 ± 0.21	0.21 ± 0.19
	Control	0.28 ± 0.35	0.13 ± 0.15	0.37 ± 0.18	0.23 ± 0.15	0.25 ± 0.13	0.17 ± 0.10	0.19 ± 0.10

本検討結果から, 顎骨にてデンタルインプラントを用いたモデルにおいて LMHF loading を局所に用いることでインプラント周囲骨形成効果やオッセオインテグレーションに有利に作用することが示唆された.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Wang S, Ogawa T, Zheng S, Miyashita M, Tenkumo T, Gu Z, Lian W, Sasaki K.	4. 巻 62
2. 論文標題 The effect of low-magnitude high-frequency loading on peri-implant bone healing and implant osseointegration in Beagle dogs	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Prosthodontic Research.	6. 最初と最後の頁 497-502
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jpjor.2018.07.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小川 徹 (Ogawa Toru) (50372321)	東北大学・歯学研究科・准教授 (11301)	
研究分担者	内藤 英樹 (Naito Hideki) (50361142)	東北大学・工学研究科・准教授 (11301)	
研究分担者	末永 華子 (Suenaga Hanako) (00508939)	東北大学・歯学研究科・助教 (11301)	削除：2018年12月11日
研究分担者	佐々木 啓一 (Sasaki Keiichi) (30178644)	東北大学・歯学研究科・教授 (11301)	