

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K19060

研究課題名（和文）早期な新生骨形成が可能な生体骨アパタイトを利用したインプラント表面処理法の開発

研究課題名（英文）Development of implant surface treatment method using living bone apatite that enables early formation of new bone

研究代表者

佐藤 佳奈美（藤田佳奈美）（SATO, Kanami）

日本大学・松戸歯学部・専修医

研究者番号：00801177

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）：生体の骨と同等な生体骨アパタイト:synthetic bone mineral (SBM)の開発を行った。SBMを表面処理したインプラントをラットの大腿骨内へ埋入することで、形成される新生骨に着目し、SBMの表面処理が早期な骨形成や骨質向上への有用性を明らかにすることを目的とした。インプラントはブラスト処理：12本と、ブラスト+SBMコーティング処理：12本を用意し、実験は8週齢24頭のWistarラットを用い、9週齢時に全身麻酔下で左側大腿骨にインプラント埋入手術を行う。埋入2週と4週後に屠殺を行い、体重測定、引抜き強度、骨密度、骨密度イメージングおよび病理観察による比較を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯科インプラント治療は歯の喪失により咀嚼機能の回復や審美性の改善に対して有効な治療法として、今日では日常の臨床で多く利用している。インプラント治療を経験する患者に対するアンケート調査で、76%の患者は長い治療期間に不満がある。SBMを局所に用いることでインプラント治療の成功率の向上、治療期間の短縮に貢献できると考えている。

研究成果の概要（英文）：We have been developing synthetic bone mineral (SBM), which is equivalent to biological bone, and have focused on the new bone formed by implanting SBM-treated implants into the femur of rats, in order to clarify the usefulness of SBM surface treatment for early bone formation and improvement of bone quality. The aim of the study was to determine the usefulness of SBM surface treatment for early bone formation and bone quality improvement. Twelve implants were prepared with blast treatment: 12 implants and 12 implants with blast + SBM coating treatment, and the experiment was conducted using 24 8-week-old Wistar rats, with implant placement in the left femur under general anaesthesia at 9 weeks of age. Slaughter was performed 2 and 4 weeks after implantation and comparisons were made using body weight measurements, pull-out strength, bone mineral density, bone mineral density imaging and pathological observations.

研究分野：動物実験

キーワード：リン酸カルシウム 動物実験 マイクロCT 新生骨 骨梁構造 組織観察

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

インプラント治療の成否は、インプラント体埋入後に形成される新生骨がインプラント周囲の結合により骨結合するか否かにより大きな影響を受ける。また、高齢者のインプラント治療または骨粗鬆症患者では十分な海綿骨の支持が得られずに骨密度(bone mineral density: BMD)や骨質の低下が疑われることからインプラント治療の適否を慎重に検討する必要性がある。インプラント埋入時に骨幅の不足や骨量不足の際には自家骨移植が臨床的に有効な方法であり、骨増量法のゴールドスタンダードと言われている。しかし、自家骨移植は骨を採取部位への侵襲と採取できる骨量に限界があることが問題となり、種々の生体材料や生体材料を scaffold (細胞の足場)とする再生医療の研究が盛んに行われている。骨再建用の生体材料としては、リン酸三カルシウムやハイドロキシアパタイトが既に臨床応用されている。リン酸三カルシウムは吸収性の生体材料ではあるが、元来生体には存在しない物質で、吸収も不完全であり、時に炎症を惹起する。一方、ハイドロキシアパタイトは優れた骨伝導性を示すが、体内で吸収されずに再生された骨の中に異物として残存するという欠点がある。

2. 研究の目的

SBM を表面処理したインプラントをラット大腿骨内へ埋入することで、インプラント周囲に形成される新生骨に着目し、SBM の表面処理が早期な骨形成や骨質向上への有用性を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 動物実験

日本大学松戸歯学部動物実験倫理委員会 (AP19MAS002-2) により承認された。24 頭の 8 週齢の Wistar ラットが研究に用いた。2 頭のラットはランダムに 2 に分けられた。ラットは個別に飼育を行い、餌と水は自由に摂取できるようにし、温度と相対湿度は $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ と $50\% \pm 1\%$ に維持した。

(2) インプラント表面処理

インプラントは Ti-6%Al-4%V 合金製で、サイズは直径 1.2mm、高さ 4.0mm の円柱とし、上端から 0.5mm の位置に引張試験用の通し穴を作成した 24 本を用いた。24 本のインプラントは直径 $110\mu\text{m}$ のプラスト粉末によるプラスト処理と超音波洗浄を行った 12 本をコントロール群で用い、残りの 12 本は SBM コーティング処理を施したインプラントを実験群で用いた。インプラントへの SBM コーティング法は 100ml の $0.3\% \text{H}_3\text{PO}_4$ に 0.4 g の SBM 粉末を混和後、沈殿した上澄液を採取した。インプラントはシャーレに直立させ、その中に上澄液を浸漬させた状態で、75 恒温槽の中で 24 時間放置した。すべてのラットは、全身麻酔下で、9 週齢で大腿骨にインプラント埋入手術を行った。手術では直径 1.2mm のドリルを使用して、大腿骨に穴を開けた。次に、骨の加熱を避けるために生理食塩水で洗浄しながら、埋入した。埋入 2 週と 4 週後には各群でそれぞれ 6 頭の中からランダムに 1 頭を組織観察用とし、残りの 5 頭は引き抜き強度と BMD カラーイメージング用に割り当て、炭酸ガスにて安楽死させた。

(3) 引き抜き強度

インプラント本体と骨の接着強度を評価するために、引き抜き試験を実施した。インプラント上部とロードセルを 50mm 離し、クロスヘッド速度 $1.0\text{mm}/\text{min}$ の引き抜き試験には、インストロン型万能試験機を使用した。

(4) BMD および BMD カラーイメージング

インプラント本周囲新生骨の骨密度を定量化および視覚化するために、BMD および BMD カラーイメージングの測定を行った。引き抜き試験後、大腿骨は、R_mCT2 を用いてマイクロコンピュータ断層撮影を行った。測定後には R_mCT 画像解析ソフトウェアを使用して、スキャンしたデータを使用して 3 次元モデルを生成した。

(5) 組織学的顕微鏡観察

ダイヤモンドディスクを使用して、長軸の midpoint で大腿骨を切断した。骨組織を 70~80% エタノール系列で脱水し、続いて 100% アセトンで脱水し、メタクリル酸メチルアクリル樹脂に包埋し、硬化させた。ダイヤモンドディスクを使用してインプラントの長軸に垂直な $30\sim 40\mu\text{m}$ のセクションに切断され、最終的な厚さ $30\mu\text{m}$ に研磨され、Villanueva Goldner 染色で染色され、骨幹領域から非脱灰標本とし、インプラント周囲の新生骨形成を顕微鏡で観察した。

(6) 統計分析

結果のすべての値は、平均 \pm 標準偏差として示した。Student-t 検定は、体重、引き抜き強度および BMD 測定の結果に使用され、対照群と SBM 群 (バージョン 22.0、SPSS、シカゴ、イリノイ州、米国) の間に差は存在しないという帰無仮説とした。

4. 研究成果

(1) 引き抜き強度

引き抜き強度の結果を Fig. 1 に示す。インプラント埋入2週後のコントロール群は 1.8 ± 0.4 N で SBM 群は 18.6 ± 2.7 N で SBM 群が有意に高い結果 ($P < 0.01$) となった。インプラント埋入4週後のコントロール群は 4.4 ± 1.3 N で SBM 群は 24.4 ± 5.1 N で SBM 群が有意に高い結果 $P < 0.01$ となった。群内比較において、コントロール群はインプラント埋入2週後と比較して4週後で有意に高い結果 ($P < 0.05$) となった。また SBM 群はインプラント埋入2週後と比較して4週後で有意に高い結果 ($P < 0.05$) となった。

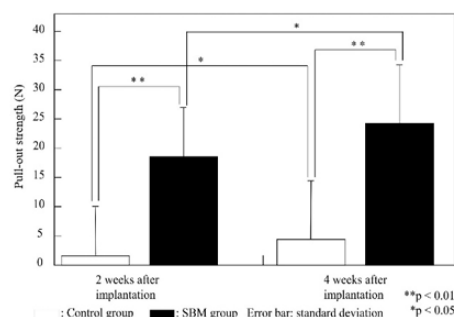


Fig. 1 Result of between- and within-group comparisons of pull-out strength.

(2) 骨密度

BMDの結果を Fig.2 に示す。埋入2週後における SBM 群の BMD は 770.0 ± 49.7 mg/cm³ であり、対照群の BMD は (437.8 ± 71.0 mg/cm³; 群間比較: $P < 0.01$)。埋入4週後における SBM 群の BMD は 957.9 ± 40.0 mg/cm³ であり、対照群の約 2.0 倍となった (489.1 ± 37.9 mg/cm³; 群間比較、 $P < 0.01$)。SBM 群は埋入2週後から4週後で統計的に有意な BMD の増加を示した (群間比較、 $P < 0.05$)。

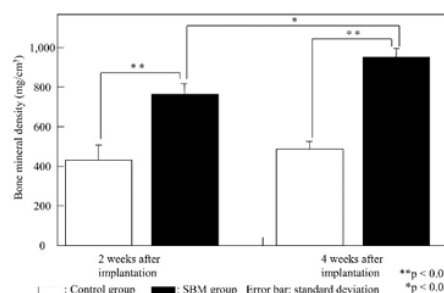


Fig.2

(3) BMD カラーイメージング

コントロール群の埋入2週後でインプラント周囲に形成された新生骨の BMD 濃度を6色に分けた結果を Fig. 3(a) と埋入4週後を Fig. 3(b) に示す。また SBM 群で埋入2週後を Fig. 3(c) と埋入4週後を Fig. 3(d) に示す。インプラント埋入2週後のコントロール群 (Fig. 3(a)) はおおよそ青色で低い BMD の新生骨でインプラントを覆い、一部皮質骨に近い部分の新生骨 (Fig. 3(a) で左端) は赤色から緑色に示す BMD を示したが、新生骨は薄い骨幅であった。インプラント埋入4週後のコントロール群 (Fig. 3(b)) は一部に赤、黄、緑、および青色を示す BMD を示し、2週に比べて BMD の濃度は若干高かったが、新生骨の幅はほぼ同様であった。インプラント埋入2週後の SBM 群 (Fig. 3(c)) はインプラント周囲をおおよそ緑色から黄色で中程度の BMD の新生骨で覆われ、一部はオレンジ色から赤色に示す BMD を示した。新生骨はインプラント周囲から骨髓部に広がるやや高い BMD の新生骨を観察した。インプラント埋入4週後の SBM 群 (Fig. 3(d)) はおおよそ黄色からオレンジ色でやや高い BMD の新生骨で覆われ、一部は赤色に示す BMD を示し、埋入後2週の SBM 群 (Fig. 3(c)) と比べて color scale の高い BMD であった。新生骨はインプラント周囲から骨髓部全体に広がる高い BMD の新生骨を観察した。

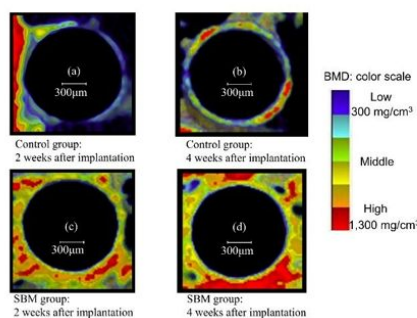


Fig.3

(4) 組織学的顕微鏡観察

Fig. 4 (b)ではインプラント周囲に骨髄を内張りするように赤色に染色される類骨(矢印)の形成がみられた。コントロール群で埋入4週後の弱拡大像をFig. 4 (c)に、強拡大像をFig. 4 (d)に示す。Fig. 4 (c)ではインプラント周囲の石灰化様の新生骨の形成とインプラント上方に皮質骨と繋がる緑色に染色された新生骨の形成がFig. 4 (a)と比較してより強くみられた。Fig. 4 (d)ではインプラント周囲の骨髄内の類骨(矢印)の形成がコントロール群の2週(Fig. 4 (b))と比較してより強くみられた。SBM群でインプラント埋入2週後の弱拡大像をFig. 5 (a)に、強拡大像をFig. 5 (b)に示す。Fig. 5 (a)ではインプラント周囲の石灰化骨の形成とインプラント上方に接する皮質骨内の骨髄の形成がコントロール群(Fig. 4 (a))と比較してより強くみられ、インプラントのほぼ全周を類骨と新生骨で取り囲んでいた。Fig. 5 (b)ではインプラント周囲の骨髄内の類骨(矢印)の形成がコントロール群(Fig. 4 (b))と比較してより強くみられた。SBM群でインプラント埋入4週後の弱拡大像をFig. 5 (c)に、強拡大像をFig. 5 (d)に示す。Fig. 5 (c)ではインプラント周囲の皮質骨側からインプラントの3/5位の壁面に沿って緑色に染色される石灰化骨の形成がみられ、4週のコントロール群(Fig. 4 (c))と比較してインプラントが皮質骨に接する部分の両側の石灰化骨形成がより強く観察された。Fig. 5 (d)では緑色に染色される石灰化骨の中に赤色に染色される類骨(矢印)の形成が観察された。

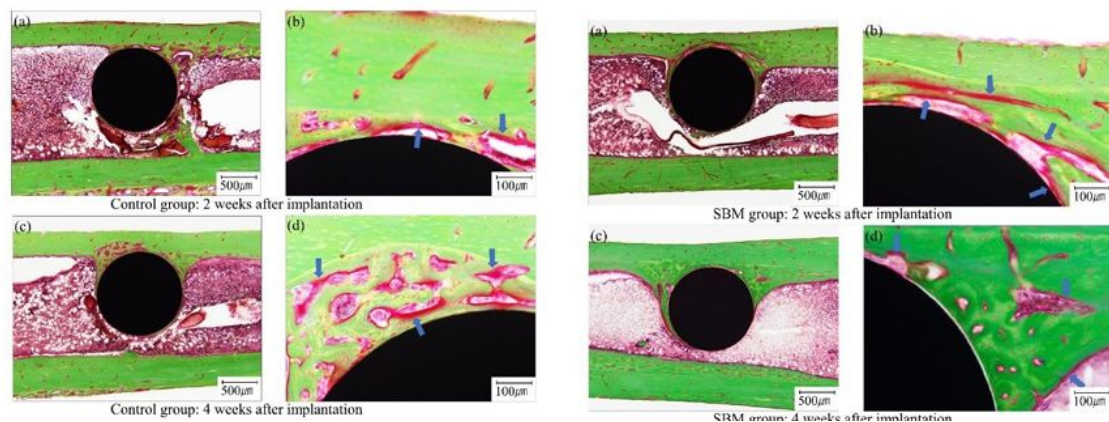


Fig.4

Fig.5

<引用文献>

Sakkas A, Wilde F, Heufelder M, et.al.
Autogenous bone grafts in oral implantology-is it still a "gold standard"? A consecutive review of 279 patients with 456 clinical procedures. Int J Implant Dent 3: 23, 2017 doi: 10.1186/s40729-017-0084-4

Uchida A, Araki N, Shinto Y, et. al. The use of calcium hydroxyapatite ceramic in bone tumour surgery. J Bone Joint Surg Br 72: 298-302, 1990

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 Nakada Hiroshi, Watanabe Takehiro, Takahashi Takahiro, Sato Hiroki, Isaji Daisuke, Sato Kanami, Kimoto Suguru, Mijares Dindo Q., Zhang Yu, Kawai Yasuhiko	4. 巻 30
2. 論文標題 Coating Dental Implants with Synthetic Bone Mineral for Early New Bone Formation &i>in Vivo&i>;	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Hard Tissue Biology	6. 最初と最後の頁 339 ~ 346
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2485/jhtb.30.339	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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------