

機関番号：11301

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592255

研究課題名 (和文) 高解像度 PET ならびに FEM を用いたインプラント周囲骨代謝反応の検討

研究課題名 (英文) Bone metabolic activity around dental implants observed using fine PET

研究代表者

久保 圭 (KUBO KEI)

東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：10431511

研究成果の概要 (和文)：早期荷重が歯科インプラント周囲骨代謝活性に及ぼす影響を、動物用 PET (FinePET) を用いて経時的に評価することを目的とした。Wistar ラットの右側頸骨に、チタンインプラント 2 本を 13 mm 間隔で埋入し、翌日スプリングを用いて荷重を負荷した。負荷開始後 4,7,18 日目に  $^{18}\text{F}^-$  を静注し、1 時間後に PET scan を行った。評価は得られた像におけるインプラント周囲骨および対照の左側同部位に関心領域 (ROI) を設定、各 ROI における  $^{18}\text{F}^-$  の集積値を計測して実施した。その結果、骨代謝は 7 日後まで上昇し、28 日後には対照側レベルまで低下した。

研究成果の概要 (英文)：This study aimed to examine the influence of early loading on dynamic changes of bone metabolism around dental implants by using a Fine PET. Two titanium implants were inserted in the right tibiae of Wistar rats. 1 day after insertion, closed coil springs with 4.0 N were applied to the implants. The rats with  $^{18}\text{F}^-$  (5mCi/rat) intravenously-injected were scanned by PET scanner at 4, 7, 14, 28 days after load application. Round ROIs were set around the distal implant (right tibia) and at the intact side (left tibia). Longitudinal dynamic changes in bone metabolism were evaluated by examination of the accumulation count of  $^{18}\text{F}^-$  at each ROI. The results shows that early loading to the implant initially enhanced the bone metabolism around the implant, however, metabolic activity returned to pre-loading level with time despite a static force being applied to the implants.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴系歯学

キーワード：インプラント、骨代謝、定量評価、PET、FEM

## 1. 研究開始当初の背景

「分子イメージング (Molecular imaging)」とは、「生物が生きた状態のまま外部から生体内の遺伝子やタンパク質などの様々な分子の挙動を観察する技術」のことを指す。分子イメージングは、医学、薬学、工学の新しい境界・複合領域であり、方法論としては、

ポジトロン断層法 (Positron Emission Tomography: PET)、核磁気共鳴画像 (Magnetic Resonance Imaging: MRI)、光学イメージング (Optical Imaging) などの手法が用いられている。

分子イメージングは、これまで静的、定性的にしか判断できなかった生体内の変化を、

「分子レベル」で可視化することにより、動的、定量的に捉えることを可能とするもので、癌や精神疾患などの超早期診断が可能になる技術として、大きな期待が寄せられている。

そこで我々が着目したのは分子イメージング的手法を用いて、歯科の領域において重大な関心事項である骨代謝を、動的、定量的に捉えるということである。歯および周囲歯槽骨の欠損に対する補綴歯科治療では、人工の補綴装置を介してメカニカルストレスが顎骨に伝達し、その際の荷重量が適切であれば、骨組織は適応すると言われている。しかし、顎骨における、メカニカルストレスに対する骨組織のリアルタイムな変化を把握する研究は少なく、先行研究のほとんどが組織学的評価やX線写真による評価である。これらは各段階における断片的な面の静態を捉えただけにすぎない。一方、骨に生じている劇的な動態を、同一個体同一部位で経時的に把握することを可能にするのが分子イメージング的手法である。我々はこれまでも骨シンチグラフィを用いてラット抜歯後義歯装着に伴う義歯床下の骨代謝の評価などを行ってきた。

現在、欠損補綴の選択肢の1つとして幅広く臨床応用されている歯科インプラント治療の最大の関心事は、患者のQOLを考慮した近年の医療理念に合う骨結合(オッセオインテグレーション)獲得までの期間の短縮であり、このことから早期に荷重を負荷することでオッセオインテグレーション獲得までの期間を短縮し、最終補綴装置装着までの期間を飛躍的に短縮することを可能とする即時荷重、早期荷重が注目を浴びている。患者のQOLの向上のため、早期に確実なオッセオインテグレーションを獲得し、如何にそれを長期にわたり維持するかという方向性のもと、これら即時、早期荷重に対する様々なプロトコルが試されているが、そのほとんどは明確な生物学的なエビデンスが得られないまま、臨床経験主導のもと進められ、長期予後も明らかではないのが現状である。

2007年、本学工学研究科とサイクロトロン・ラジオアイソトープセンターにより開発された実用型動物用半導体PET装置(Fine PET)は、これまで我々が使用していた骨シンチグラフィよりも空間分解能に優れ(世界で初めて1mm以下の空間分解能を獲得)、3次元的な解析も可能であり、インプラント周囲の骨代謝活性についてより詳細な検討を行うことが可能である。

PETイメージングによりインプラント周囲の骨代謝活性を経時的に観察する手法は、国内外を見ても他に例が無く極めて独創的であり、有意義である。

## 2. 研究の目的

そこで本研究ではこのFine PET装置を用いて、ラット脛骨へのインプラント体埋入モデルにおける、早期荷重負荷下のインプラント体周囲の骨代謝の状況を経時的、定量的に評価、検討することにより、即時荷重、早期荷重の生物学的な根拠を得ることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) インプラント埋入

本実験は東北大学動物実験センターに申請し、認可されたものである。使用するインプラントは歯科矯正治療で固定源として一般的に臨床で使用されている、純チタン製インプラント(オーソアンカー<sup>®</sup>、デンツプライ三金)で、直径 $\phi$ 1.2 mm、長さ9.25 mmのものである。Wistar系雄性ラット(12週齢)の右足脛骨に、全身麻酔下(ペントバルビタールナトリウム、50 mg/kg)にてこのインプラント2本を脛骨の長軸に対して垂直かつ2本が互いに平行になるように埋入した。1本目のインプラントは脛骨膝関節より5 mm下方に、2本目は1本目より13 mm遠位に埋入した(Fig. 1)。埋入は無菌的条件下にて実施した。

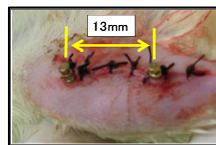


Fig.1 Photograph of right pelvic limb. Two implants were placed perpendicular to long axis of tibia at interval of 13 mm.

### (2) 荷重負荷

埋入翌日に2本のインプラント間にクロズドコイルスプリング(SENTALLOY<sup>®</sup>、トミー・インターナショナル)を用いて4.0 N(2.0 N $\times$ 2本)の荷重を負荷した(Fig. 2)。このスプリングは有効長の10~22 mmの範囲で持続的な負荷を与えられる特徴を有する。

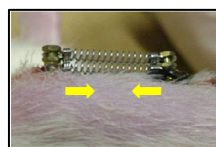


Fig.2 Attached closed coil springs. One day after implant insertion, closed coil springs were attached to implant head.

### (3) PET scan

骨代謝活性の経時変化を観察するため、 $^{18}\text{F}$ - (5 mCi/rat)を尾静脈より投与し、投与1時間後にFine PETを用いてイソフルレン吸入麻酔下にて撮像を行った。収集時間は毎回60分とし、撮像は負荷開始後4、7、14、28日目に行った(Fig. 3)。フッ化物イオンは、骨代謝の盛んな部位において、新生骨中のハイドロキシアパタイトの水酸基と容易に置換してフルオロアパタイトを形成する。したがって $^{18}\text{F}$ 集積は新生骨形成の活発な領域を反映することから、インプラント周囲の骨変化を評価する指標となるものと判

断し、今回 RI トレーサとして採用した。また、インプラントの部位を同定するため、X線 CT 装置 (SCANXmate-E090, コムスキャンテクノ) を使用して CT 画像の撮像を実施した。

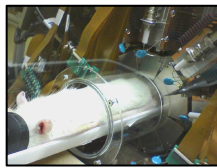


Fig.3 Set-up for image taking. The PET scanning was carried out for 60min with inhalation anesthesia (isoflurane).

### (3) 画像解析

撮像終了後同時係数補正、画像の再構成を行い、データを PC に転送後、画像解析ソフト Image J にて画像解析を行った。評価は遠位のインプラント周囲骨およびコントロールの左足同部位に円形の関心領域 (ROI) を設定、各 ROI における  $^{18}\text{F}$ - の集積値を計測し、左側と右側の集積値を比較、これを指標として行った。統計学的検討は、統計処理ソフト SPSS® を用い、Tukey の検定により行った。

### 4. 研究成果

得られた画像により、 $^{18}\text{F}$ - のインプラント周囲への著明な集積が確認された (荷重開始 7 日後) (Fig. 4)。上図に Axial 画像を、下図に Coronal 画像, Saggital 画像を示す。上図中のカラーバーは集積値の割合を示し、赤いほど集積値が高く、青いほど集積値が低いことを表している。

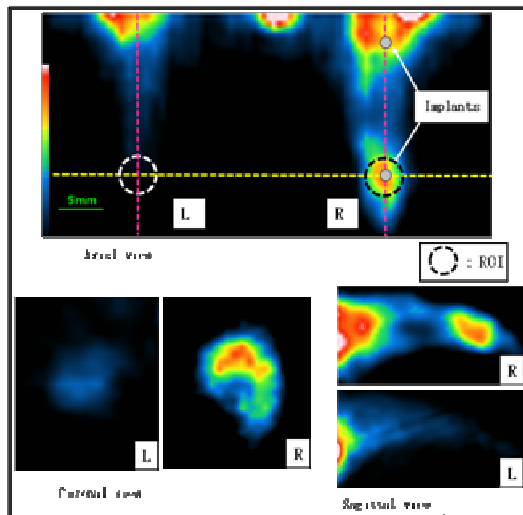


Fig.4 PET imaging 7 days after loading. Matrix size was  $256 \times 256$ . Right tibia around loaded implants showed remarkably high accumulation counts. Round ROIs were set around the distal implant (right tibia) and at the intact side (left tibia).

また、インプラントの部位を同定する目的で撮像したマイクロ CT 画像との重ね合わせにより、海綿骨領域に限局した高い集積が確認された (Fig. 5)。

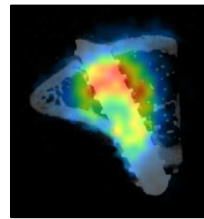


Fig.5 Coronal fusion image combined PET image and micro CT image. This image showed that cancellous bone around loaded implant showed higher accumulation counts than that for cortical bone.

負荷開始後 7 日目までインプラント周囲の ROI における集積値は大きく上昇し、その後は一定負荷下であるにもかかわらず徐々に下降した。負荷開始後 14 日目まで、左側に対して有意に高い集積を示したが、28 日目では有意差は観察されなかった (Fig. 6)。

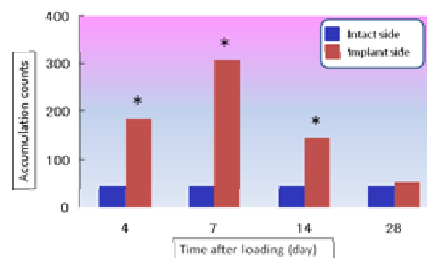


Fig.6 Change in accumulation counts of [F-18] Fluoride ions after loading with coil spring. Accumulation counts of implant side initially increased until 7 days, then, they gradually decreased from the peak level to the pre-loading level.

新生骨形成を反映する  $^{18}\text{F}$ - の集積を、被験動物を屠殺することなく、同一個体、同一部位で経時的に評価できること、骨シンチグラフィでは分析できなかった領域までより詳細に分析できることから、本方法は、インプラント周囲骨における骨代謝を評価するのに適した手段であった。得られた PET 画像は、インプラント周囲骨における  $^{18}\text{F}$ - の集積を高精細に描出できていることが、CT 画像と重ね合わせて解剖学的な位置関係を明確にすることにより示された。

今回の結果より、荷重を早期に開始した場合においても、過去に我々が報告してきた骨シンチグラフィによる無負荷時のオッセオインテグレーション獲得 (2) と同様、インプラント周囲骨の骨代謝回転は一定期間亢進し、その後、一定負荷下であるにもかかわらず定常状態に達すること、さらに、埋入翌日に荷重を負荷したことによってオッセオインテグレーションの獲得に要する期間が延長することはないということが示唆された。

一般的にインプラントへのオーバーローディングは骨吸収を促進、新生骨を抑制し、逆に無負荷においても周囲骨形成には負の影響をもたらすと言われており、インプラント周囲骨へは適切な負荷を安定した状態で与えることが理想的と考えられている (3)。そこで、今後荷重開始時期・荷重量の両観点か

らさらなる検討を重ねることで、インプラント埋入後早期に荷重を開始しても長期予後を良好に保つための極めて有用な知見が得られると思われる。

#### 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1件)

1. Sasaki H, Koyama S, Yokoyama M, Yamaguchi K, Itoh M, Sasaki K

Bone metabolic activity around dental implants under loading observed using bone scintigraphy

The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants (査読有)

23:827-834, 2008

[学会発表] (計6件)

1. M. Yamamoto, M. Yokoyama, S. Koyama, H. Sasaki, Y. Funaki, Y. Kikuchi, H. Yamazaki, K. Ishii, K. Sasaki

Influence of early loading on bone metabolic activity around dental implants IADR GENERAL SESSION 2010

JULY 14-17, 2010

Center Convencions International Barcelona Spain

2. 山本未央, 横山政宣, 小山重人, 佐々木洋人, 佐々木啓一

即時荷重, 早期荷重負荷の相違がインプラント周囲骨代謝活性に及ぼす影響

第39回日本口腔インプラント学会学術大会 大阪国際会議場 2009年9月25-27日 大阪

3. 山本 未央, 横山 政宣, 高橋 春江, 遠藤 康男, 佐々木 啓一

窒素含有 bisphosphonate の骨との結合におよぼす etidronate の効果に関する分子イメージング的検討

第51回歯科基礎医学会学術大会 2009年9月9-11日 朱鷺メッセ 新潟コンベンションセンター (新潟)

講演要旨集 P117

4. 山本未央, 横山政宣, 佐々木洋人, 小山重人, 船木善仁, 菊池洋平, 中村賢司, 中沢浩一, 山崎浩道, 石井慶造, 佐々木啓一

高解像度 PET を用いた即時, 早期荷重負荷時の歯科インプラント周囲骨代謝活性に関する研究

第6回東北大学バイオサイエンスシンポジウム 2009年6月16日 仙台国際センター(仙台)

5. 山本未央, 横山政宣, 佐々木洋人, 小山重人, 船木善仁,

菊池洋平, 中村賢司, 中沢浩一, 山崎浩道, 石井慶造, 佐々木啓一

Imaging of Bone Metabolism

—Nuclear Medicine Approach Using Fine PET—

第1回半導体 PET カメラワークショップ/ユーザーズミーティング 2009年4月25日

千里ライフサイエンスセンター(大阪)

6. 横山政宣, 山本未央, 佐々木洋人, 小山重人, 佐々木啓一

即時荷重負荷後のインプラント周囲骨代謝活性—骨シンチグラフィを用いた核医学的な評価—

第28回(社)日本口腔インプラント学会 東北・北海道支部総会・学術大会2008年

10月11-12日 仙台情報・産業プラザ

[図書] (計1件)

1. M. Yamamoto, M. Yokoyama, S. Koyama, Y. Funaki, Y. Kikuchi, K. Nakamura, K. Nakazawa, H. Yamazaki, K. Ishii, K. Sasaki

Evaluation of Bone Metabolism of Temporomandibular Joint by using high resolution PET scanner.

Interface Oral Health Science, Springer 190-192, 2010

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

久保 圭 (KUBO KEI)

東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号: 10431511

##### (2) 研究分担者

佐々木 啓一 (SASAKI KEIICHI)

東北大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号: 30178644

横山 政宣 (YOKOYAMA MASAYOSHI)

東北大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号: 20396500

##### (3) 連携研究者