

平成 22 年 5 月 19 日現在

研究種目：若手(B)  
研究期間：2008～2009  
課題番号：20791430  
研究課題名(和文) 抗炎症・骨再生作用を兼ね備えた軟膏によるインプラント周囲炎の新治療法  
研究課題名(英文) New treatment of peri-implantitis with ointment which combine the effects of anti-inflammation and bone regeneration.  
研究代表者  
森山 泰子(MORIYAMA YASUKO)  
九州大学 大学院歯学研究院 学術研究員  
研究者番号：50452769

研究成果の概要(和文): インプラント周囲炎の治療法として、抗炎症・骨再生作用を兼ね備えた軟膏の作製を目的とした。高脂血症治療薬スタチンはコレステロールの生合成を阻害する働きがあり、全世界で使用されている副作用の少ない薬剤である。近年、このスタチンの骨形成作用が報告されており、我々は、歯科領域の骨再生に応用すべく研究を行ってきた。そして、ラット脛骨に埋入したインプラント周囲にスタチンを局所投与し、インプラント周囲骨の形成促進や石灰化促進することを明らかにした。また、このことに加え、近年さらにスタチンには抗炎症作用が報告されていることから、高脂血症治療薬スタチンを軟膏基剤に混ぜ、抗炎症、骨再生作用をもった、インプラント周囲炎の治療薬を作製し、効果を検討することとした。

ラット口腔内インプラントモデルは確立できたが、インプラント周囲炎モデルに関しては、炎症の判定に関して確定的なものが得られず、有意差が認められなかった。

軟膏基剤の選択は、高濃度のスタチンを各基剤に配合し、各基剤の特性を検討することとした。実験計画書にあるような溶出器Franz cellの使用が困難であったため、徐放したスタチンの量を吸光度にて計測した。その結果、白色ワセリン、プラスチックベース、親水軟膏の順に溶出速度の上昇が認められた。よって、軟膏の基剤としては白色ワセリンが一番適当であると考えられた。

動物実験では軟膏の作用時間が長いことが理想的であるのに対して、軟膏の口腔内での安定状態はあまり良くないので、効果が期待できないことがわかった。したがって、軟膏を口腔内に塗布した後に、唾液による流出などを防ぐために膜などをかぶせるなどの再検討が必要である。

研究成果の概要(英文): We try to make the ointment which had anti-inflammation and bone reproduction as a treatment for peri-implantites. It has been demonstrated that HMG-CoA reductase inhibitors ("statins"), which are widely used for cholesterol lowering, stimulates bone formation. And we previously showed that local application of fluvastatin at the implant site enhanced the osteogenesis around the titanium implant in early stages of healing. In addition, it has been reported that statin has anti-inflammatory effect, and transdermal application of statin promoted bone volume in rats model (Gutierrez at al. 2006). The aim of the present study was to investigate the effects of statin-containing ointment on peri-implant osteogenesis. The implant model in the rat mouth was able to be established. There was no differences between implant model in the rat mouth and peri-implantites model, because it was difficult to evaluate the inflammation. The selection of

the ointment base was assumed to mix a high density of Statin with each ointment, and to examine the characteristic of each ointment. The amount of the sustained delivery of the Statin was examined by measuring the absorbance. As a results, white vaseline has a lots of sustained-relese of statin. It is ideal that the ointment have a longer duration of action on the animal experiment, but the condition of ointment in oral are not good and the statin-containing ointment have no effect. Therefore, it is necessary that the reexamination such as covering with the film etc. to prevent the outflow with saliva after the ointment is spread in the mouth.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,420,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	960,000	3,760,000

研究分野：歯学

科研費の分科・細目：補綴系歯学

キーワード：インプラント周囲炎、スタチン、骨再生、抗炎症

1. 研究開始当初の背景

歯科インプラントは急速な普及をみせる中で、様々な材料やシステムが開発されているが、我々はインプラント適応拡大を目的に生体側からのアプローチを試みてきた。高脂血症治療薬スタチンの骨形成促進作用の報告(Mundy et al. 1999)を受け、これまでにラット脛骨へのインプラント埋入モデルにおいて、スタチンの全身投与によりインプラント周囲の新生骨量が有意に増加することを報告した(Ayukawa et al. 2004)。

また、同モデルにおいて、スタチンをキャリアと共に局所投与することにより、ある濃度においてインプラント周囲の新生骨量の有意な増加、加えてその新生骨の石灰化を促進すること、インプラントの初期の固定を強固にすることを示唆するデータを得た。(Moriyama et al. 2008)

インプラントはその高い成功率の裏で、失敗の1つとしてインプラント周囲炎の惹起が上げられる。インプラント周囲ではコラーゲン線維は平行に走行しているため、天然歯よりも組織破壊に対する抵抗性が低く、また線維芽細胞が少ないため炎症により破壊された組織を修復する

能力が小さいことから、インプラント周囲炎が進行すると撤去を余儀なくされることも多く、患者の負担は計り知れない。そこで骨形成促進作用のあるスタチンを使った、インプラント周囲炎をリカバーする方法を企画した。

2. 研究の目的

スタチンは過去の報告や我々の研究で骨形成促進作用があることが示唆されている。また、近年スタチンの多面的効果が報告されており、その一つとして抗炎症作用も示唆されている。この作用が周囲炎による周囲組織を破壊から保護する可能性や治癒・再生の起こりやすい環境を導く可能性も期待される。また、スタチンの経皮投与により、経口投与した場合よりも骨量が増加したことが報告されている(Gutierrez et al. 2006)ことから、周囲炎の基本的対処(感染源除去、インプラント表面清掃)後に、患部の口腔粘膜上からスタチンを浸透させることで、インプラント周囲炎に起こった粘膜炎症及び骨吸収を改善することが可能ではないかと考え、抗炎症・骨再生作用を兼ね備えた軟膏を作製することを目的とした。

本研究では、いくつかの軟膏の基剤を用い、スタチンの配合濃度、薬剤の溶出量や溶出速度を測定し、本目的に適当なものを検討する。また、作製した軟膏を用い、in vivoの実験を行い、その生体における効果を検討する。

### 3. 研究の方法

まず、ラット口腔内にインプラント周囲炎モデルを作製し、次に、スタチンを配合した抗炎症・骨形成促進作用を有する口腔内軟膏を作製する。このときに薬剤の溶出量、溶出速度、口腔内における操作性なども測定し、生体実験での条件を整える。インプラント周囲炎モデルを使用して、スタチン含有軟膏の効果を組織形態計測学的に検討する。

抗炎症・骨形成促進作用を有する口腔内軟膏の作製として、一般的に軟膏の基剤として多く用いられている白色ワセリン、プラスチック、親水軟膏の3種を用いて、スタチン含有量を1~10%とし、各々の製剤を調整する。また、増粘剤としてカルメロースナトリウム(CMC-Na)を使用し、口腔粘膜上での軟膏の付着を長時間維持するよう調合し、以下の項目について検討する。

また、スタチンの溶出性について、溶出試験では、生理食塩水を溶出液として、溶出器Franz cellを用いて溶出を行なう。

6、12、24、48、72時間後の溶出液を採取して、高速液体クロマトグラフィーによって各時間の溶出液中のスタチン濃度を測定し、溶出速度等を算出する。

すでに口腔内に用いられている様々な軟膏の組成を参考にし、利便性、薬効の滞留性・持続性を持ち合わせたものを作製することにより、患者に負担をできるだけかけない形で治療が可能な方法が確立できると考える。

得られた結果より、in vivoで行なうにあたって1日何回、何日間の連続塗布が必要かなどの情報をまとめ、予測を立てた上で次実験を行う。

続いて、インプラント周囲炎動物モデルにおける軟膏の効果について検討する。軟膏へのスタチンの調合により、スタチンの持続的な徐放が確認できれば、軟膏の生体内投与による骨形成効果を検討する。ラット・インプラント周囲炎モデルを使用し、現存の感染源を除去、口腔内に露出したインプラント表面を清掃する。次に、作製した軟膏を局所塗布した際の骨形成量の組織形態計測学的検討(標本作製、計測については現有機器で対応)を行う。この際、当研究室で行ってきたVillanueva Goldner染色にて既存骨や新

生骨を染色することで、新生骨の組成(石灰化骨、類骨の分布)も合わせて検討できる。

### 4. 研究成果

ラット口腔内インプラントモデルは確立できたが、インプラント周囲炎モデルに関しては、炎症の判定に関して確定的なものが得られず、有意差が認められなかった。

軟膏基剤の選択は、高濃度のスタチンを各基剤に配合し、各基剤の特性を検討することとした。実験計画書にあるような溶出器Franz cellの使用が困難であったため、徐放したスタチンの量を吸光度にて計測した。その結果、白色ワセリン、プラスチック、親水軟膏の順に溶出速度の上昇が認められた。よって、軟膏の基剤としては白色ワセリンが一番適当であると考えられた。

動物実験では軟膏の作用時間が長いことが理想的であるのに対して、軟膏の口腔内での安定状態はあまり良くないので、効果が期待できないことがわかった。したがって、軟膏を口腔内に塗布した後に、唾液による流出などを防ぐために膜などをかぶせるなどの再検討が必要である。

### 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)

Y. Moriyama, Y. Ayukawa, Yoichiro Ogino, Ikiru Atsuta, Mitsugu Todo, Yoshihiro Takao, Kiyoshi Koyano. Local application of fluvastatin improves peri-implant bone quality and mechanical properties: A rodent study. Acta Biomaterialia. 2010. (6) 1610-1618.

〔学会発表〕(計 4件)

森山泰子、鮎川保則、荻野洋一郎、熱田生、古谷野潔. インプラント治療における高脂血症治療薬スタチンの局所投与の効果. 生体-バイオマテリアル界面における生物学的・力学的相互作用. 2008.6月、福岡.

Y. Moriyama, Y. Ayukawa, M. Moriyama, Y. Ogino, I. Atsuta, K. Koyano. The enhancement of peri-implant osteogenesis by local application of statin. 86th IADR General Session & Exhibition. July, 2008, Toronto.

Y. Moriyama, Y. Ayukawa, I. Atsuta, K.

Koyano. Synergetic Effect of Sandblasted and Acid-Etched Surface and Statin on Peri-implant Osteogenesis in Rats. Asian Academy of Prosthodontics. April, 2009, Seoul.

Y. Moriyama. Synergetic effect of sandblasted and acid etched surface and statin on peri-implant osteogenesis. Nano/Amorphous Materials and Interface Science Symposium. August, 2009. Miyagi.

〔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：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究代表者  
森山 泰子 (50452769)

研究者番号：

(2)研究分担者  
( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
( )

研究者番号：