

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 10 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25463049

研究課題名(和文) オッセオインテグレーション獲得後におけるBP製剤が及ぼす影響に関する先駆的研究

研究課題名(英文) Pioneering research of the effect of Bisphosphonate to achieved osseointegrated implants

研究代表者

和田 誠大 (WADA, MASAHIRO)

大阪大学・歯学部附属病院・講師

研究者番号：20452451

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ラットにおけるインテグレーションモデルに対するBP製剤の中長期的な影響を検討した。またオッセオインテグレーションを獲得したインプラント周囲に人工的にバイオフィルムを塗布し、インプラント周囲炎との関連も検討した。その結果、短期投与同様、各種比較において有意な差は認められなかった。加えてバイオフィルムを付着した際においても有意な差は認めず、オッセオインテグレーションの喪失あるいはMRONJ様所見は示さなかった。

研究成果の概要(英文)：We examined the medium-and-long term influence of Bisphosphonate (BP) on implant integration rat model. In addition, we applied bacterial biofilm around the implant which got osseointegration artificially and examined the effect of BP. As a result, the meaningful difference was not recognized in various comparisons biomarkers as well as the dosage for a short term. In addition, we did not recognize the meaningful difference even if we put biofilm and did not show the loss of the osseointegration or MRONJ.

研究分野：インプラント治療 インプラント周囲炎

キーワード：ビスフォスフォネート

## 1. 研究開始当初の背景

近年、歯科治療においてインプラント治療は予知性の高い治療の一つとして選択肢にあげられる。特に顎骨とのオッセオインテグレーションの獲得に関しては、表面正常の改良やコンピューターシミュレーションの開発、リスクファクターの統計学的解析などをもとに、臨床の現場においても高い成功率が得られ、またその後の生存率に関する多くの長期経過症例の蓄積がなされるようになり、インプラント治療の確実性は今後も飛躍的に向上していくことに疑う余地はない。

一方、2003年に Marx<sup>1)</sup>によりビスフォスフォネート製剤 (BP 製剤) による顎骨の壊死が最初に報告されて以来、同様の報告が多くなされるようになり、BP 製剤関連顎骨壊死は臨床的に注目されている。BP 製剤は骨粗鬆症等の治療 (経口剤) や悪性腫瘍時の高カルシウム血症、多発性骨髄腫による骨病変及び固形癌骨転移による骨病変、乳癌の溶骨性骨転移等の治療 (注射剤) に用いられる薬剤であるが、米国の報告では BP 製剤の静脈投与による顎骨壊死の発症頻度は 0.8~12%、経口投与された場合においても 10 万人あたり 0.7 件の発症頻度であったという報告がある。さらに抜歯などの口腔外科処置や歯周病は、その発症頻度を 7 倍にするとの報告もなされている。現実にはインプラント治療に関してこれまでに実態調査がなされていないものの、BP 製剤服用者に対する顎骨壊死の予防については慎重な対応が求められることが必須である。インプラント治療の成功率に関わるリスクファクターとして、糖尿病、喫煙に加え、骨粗鬆症やそれに伴う BP 製剤の使用などが明らかとなっているが、これら

の多くはインプラント治療前の患者においてのみ議論されていること、実際に日本口腔外科学会および米国口腔外科学会のガイドラインにおいても、BP 製剤を投与されているもの、もしくはこれから投与される予定にあるものに対してインプラント治療は相対的禁忌としているものの、オッセオインテグレーション獲得後におけるこれらのリスクファクター、特に BP 製剤の影響については明らかとなっておらず、明確なコンセンサスは現在のところ皆無である。以上の背景からオッセオインテグレーション獲得後の BP 製剤の投与がオッセオインテグレーションやその周囲骨に及ぼす影響について検討を行ってきたが、ラット大腿骨を用いて検討を短期的に行い、有用なデータを得てきたため、本研究では、投与期間を延長もしくはバイオフィルム存在下での BP 製剤の影響について検討を行うことを目的とした。

## 2. 研究の目的

これまでの研究において確立したラット大腿骨におけるオッセオインテグレーションモデルを用いて、BP 製剤のより長期的投与下における除去トルクの計測ならびに骨形成マーカー (BAP)、および骨吸収マーカー (NTX) の経時的な測定を行うことで、オッセオインテグレーション獲得後における骨動態の検討を行うとともに、2004年に Berglundh<sup>2)</sup>らがインプラント周囲炎を発症している歯槽骨に破骨細胞の過剰集積することを報告しており、BP 製剤の破骨細胞抑制作用を考慮し、インプラント周囲骨の組織形態学的ならびに免疫組織学的手法を用いた検討を行う。またこれらを確認の後、より

臨床病態を想定し、実験用インプラント周囲ヘリガチャーワイヤーを結紮しインプラント周囲炎を発症させた状態にて同様の評価を行うことを目的とする。

### 3. 研究の方法

4週齢 Wistar 系ラット大腿骨に対し、チタン製のインプラント体( 2mm × 2mm )の埋入を行う。これまでの研究により明らかとなった12週後よりBP製剤を1日1回連日腹腔内投与し、ラットを屠殺する前日まで投与を行う。各群のラットは、それぞれ5匹とし、投与期間は1週間、1か月、3か月および6か月とする。投与期間中は、合わせてBAP、NTXの計測による骨動態の変化や除去トルク計測によるオッセオインテグレーションの評価を行う。なお使用するBP製剤は、ゾレドロネート(ゾレドロン酸/ZOL (2-(imidazol-1-yl)-1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate)とし、コントロールとして、エチドロネート(ETI (disodium(1-hydroxyethylidene))diphosphonate)、リセドロネート(RIS (monosodium 1-hydroxy-2-pyridin-3-ylethylidenediphosphonate hemipentahydrate))とする。なおコントロールとして大腿骨部の切開、剥離のみの擬似手術を施行した群を作製し、BAP、NTXの測定を行い比較検討する。またこれら骨動態の評価と並行し、各タイムポイントでのインプラント体の除去トルクの測定及び組織切片の作製を行い、インプラント体と骨との結合強度を評価する。BAP、NTXの変化と実際の除去トルクの変化やインプラント周囲の骨形

成の状態からBP製剤長期投与の影響を検討する。この後、インプラント周囲炎発症部位の歯槽骨に破骨細胞が集積するとの知見から、破骨細胞に対して抑制的に作用するBP製剤の影響を検討するためにラットにおけるインプラント周囲炎発症モデルを作製する。具体的には埋入した実験用インプラントのオッセオインテグレーション確立後、二次手術ののち Berglundh らが確立した手法を用いて、リガチャーワイヤーを結紮し、バイオフィルムを塗布し人為的にインプラント周囲炎を発症させる。なおインプラント周囲炎の発症確認には、NTXの測定ならびに組織切片ならびに免疫組織学的手法( TRAP 染色 )にて破骨細胞の発現確認を行う。

### 4. 研究成果

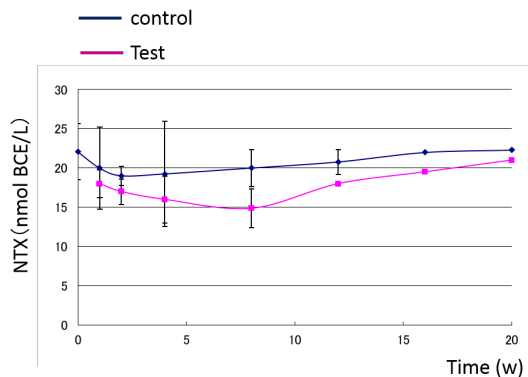
4週齢 Wistar 系ラット大腿骨に対し、チタン製のインプラント体( 2mm × 2mm )の埋入を行い、経時的に骨形成マーカーである骨型アルカリフォスファターゼ(BAP)および骨吸収マーカーであるI型コラーゲン架橋N-テロペプチド(NTX)の測定を行った。



実験用インプラント



BP 製剤の中長期的な影響を検討する目的で最大 20 週間投与を行って検討を行った結果、短期投と同様、各種比較において有意な差は認められなかった。



加えてバイオフィルムを付着した際においても有意な差は認めず、オッセオインテグレーションの喪失あるいは MRONJ 様所見は示さなかった。本研究は動物実験であるため結論を述べることはできないが、実際の臨床においては、BP 製剤がオッセオインテグレーションに与える影響について懸念されているものの、BP 製剤のみでは問題となる影響を及ぼさない可能性が考えられる。BP 製剤が投与された上で、喫煙、歯周病菌等の現在、インプラント周囲炎のリスクインディケータと考えられている因子や咬合圧など複数の因子が影響し、インプラント周囲炎やインテグレーションの喪失が生じることが想定される。

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 件)

[学会発表](計 件)

[図書](計 件)

[産業財産権]  
出願状況(計 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

和田誠大 (WADA MASAHIRO)  
大阪大学・歯学研究科・講師  
研究者番号：20452451

(2) 研究分担者

奥野幾久 (OKUNO IKUHISA)  
大阪大学・歯学研究科・招へい教員  
研究者番号：30362677