

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 29 日現在

機関番号：27102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2014

課題番号：26670842

研究課題名(和文) コラーゲン架橋分析による非侵襲的顎骨骨質リスク検査への挑戦

研究課題名(英文) Challenge to the non-invasive bone quality risk inspection by collagen cross-linking analysis.

研究代表者

細川 隆司 (Hosokawa, Ryuji)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：60211546

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：骨密度と骨質から規定される骨強度は、歯科インプラント治療において重要な因子と考えられているが、骨質を術前CT検査だけで評価することは難しく、その客観的評価方法は未だ確立されていない。本研究では、骨内におけるコラーゲン架橋に着目し、酸化ストレスにより骨内の非生理的架橋が増加するとされる高ホモシステイン血症モデルを用いて、脆性破壊強度を測定することで非生理的架橋が骨に与える影響を明らかにすることを目的とした。その結果、ウサギ大腿骨において実験群は最大荷重と破断力に対して有意差を認めるが、ラマン分光測定により非生理的架橋が増加していることから、「硬いが脆い骨」に変化している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Bone strength defined by the bone density and bone quality is considered an important factor in dental implant treatment. However, it is difficult to evaluate the bone quality only preoperative CT scan, its objective evaluation methods are not established yet. In this study, we research on collagen cross-link in bone, using hyperhomocysteinemia model that is a non-enzymatic cross-link of bone increased by oxidative stress, bone non-enzymatic cross-link by measuring the brittle fracture strength. It was intended to clarify the bone effect.

As a result, the experimental group in rabbit femur admit significant differences with respect to the maximum force and the breaking force. But the non-enzymatic cross-link is increased by Raman spectroscopy, so bone quality may change to "hard but brittle bones".

研究分野：補綴・理工系歯学

キーワード：骨質 ナノインデンテーション コラーゲン架橋

1. 研究開始当初の背景

骨や関節、筋肉など運動器の衰えや障害で介護が必要になる可能性の高い状態を口コモティブシンドローム(運動器症候群)と呼び、高齢社会における「新しい国民病」とも言われ始め、早急な対策が求められている(「健康日本21」平成25年度開始第2次計画案)。とくに、骨密度(単位体積あたり骨塩量)が高く骨粗鬆症とは診断されないが容易に骨折する『骨質の劣化』については、その機序の解明と臨床的対応が喫緊の課題として求められている。現在まで、抜歯された後の歯槽骨(顎骨歯槽突起)は吸収するが、その吸収量やスピードは個人差があり、局所的あるいは、全身的要因が骨吸収パターンに影響を与えていること(*J Prosthet Dent.* 67(6):820-6, 1992)、血中 estrogen level との関連(*J Prosthet Dent.* 73(3):304-10, 1995)などを明らかにしてきたものの、骨質に関しては臨床的には重要な因子と考へてはいたが、これまで口腔顎顔面領域ではほとんど研究が進んでいなかった。

近年、骨折しやすい骨としにくい骨の違いを明らかにする研究が進み、骨強度に影響を及ぼす因子として骨の微細構造とともに、コラーゲン架橋(クロスリンク)が注目されている。コラーゲン架橋は形成機序や機能の差により二つに分類される。いわゆる「生理的架橋」と、酵素反応を介さずに形成される「非生理的架橋」である。非生理的架橋は、老化や糖尿病、腎障害の病態にも関わりのあるAGEs(advanced glycation end products)と呼ばれるものであり、中でもペントシジンはコラーゲン架橋の代表的なAGEsである。これまでの研究から「生理的架橋」はコラーゲン線維の強度を高める「善玉架橋」であるのに対し、AGEs 架橋はコラーゲン線維を脆弱化させる「悪玉架橋」と考えられるようになってきた。これに関連して、Yamamoto らは閉経後の2型糖尿病患者では血中ペントシジン高値が独立した骨折リスクとなることを報告している(*J Clin Endocrinol Metab* 93: 1013-1019, 2007)。

2. 研究の目的

研究の背景より、血中のホモシステイン測定や尿中もしくは血中のペントシジン測定は、骨密度のみでは評価できない易骨折性を予測できる骨質劣化マーカーとなる可能性が極めて高い。本研究の目的は、骨質に密接に関わっている『コラーゲン架橋』と『ナノストラクチャー』に焦点を当て、骨質の劣化した骨に対する『非侵襲的顎骨骨質検査法の確立』を目指すとともに、メカノバイオロジーと分子モジュレーションを駆使した研究デザインにより骨質自体の局所的改質を狙い安全確実なインプラント治療を目指すものである。

3. 研究の方法

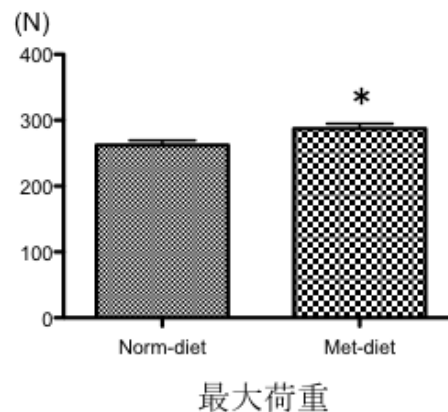
九州歯科大学研究倫理委員会の承認(承認番号 13-4)を得た後、17-18 週齢ニュージールランド白色種雌性ウサギ 20 匹を用いて、実験群と対照群それぞれ 10 匹に対して全身麻酔下にて卵巣摘出手術(OVX)を行った。手術後、実験群 10 匹に対して 1%L-メチオニン混合固形試料を 1 日あたり 100g、16 週間給餌させ、高ホモシステイン血症を誘発させた(以下 Met-diet 群)。対照群には実験動物用固形試料 RC-4 を同じく 16 週間給餌した(以下 Norm-diet 群)。投与開始から 16 週経過後の剖検時に右側大腿骨を採取した。骨強度計(MZ-500S、株式会社マルトー)を用いて三点曲げ試験(支点間距離:80mm、計測速度:5 mm/min)により右大腿骨の骨幹部(骨中央)における骨強度(最大荷重、剛性及び破断エネルギー)を測定した。また、血中のペントシジン、ホモシステイン量を測定し、2 群間における有意差の有無を調べた。骨試料に関しては、ラマン分光計を用いて骨試料表面の生理的架橋と非生理的架橋の差を計測した。

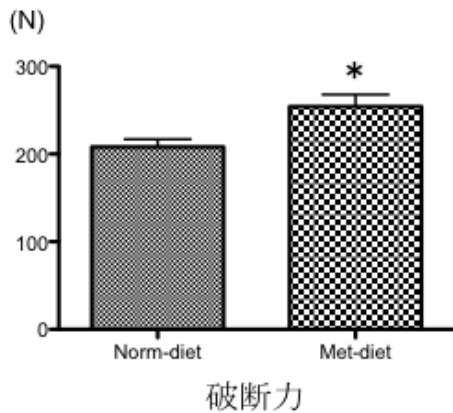
4. 研究成果

1) 大腿骨三点曲げ試験

大腿骨 3 点曲げ試験について、最大荷重と破断力において Met-diet 群(287.26 ± 24.10N、254.09 ± 43.88N)の方が Norm-diet 群(262.23 ± 22.8N、208.11 ± 27.74N)よりも有意に高い値を示した(P < 0.05)。

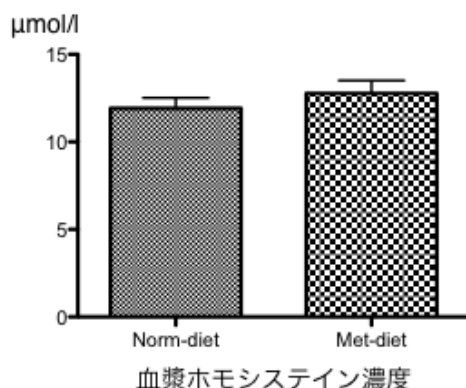
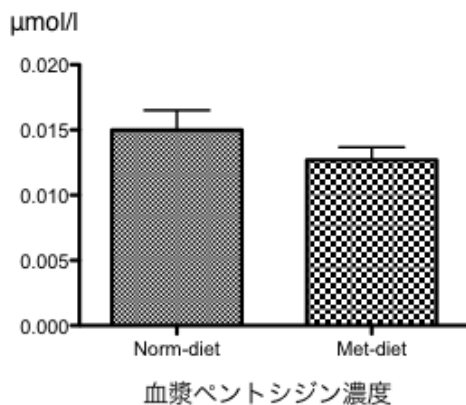
一方破断時間、破断変形はやや低値の傾向を、Stiffness、破断エネルギーはやや高値の傾向を示したが、有意な差は認めなかった。





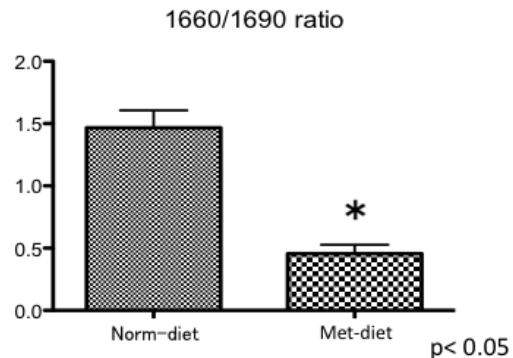
2) 血中ペントシジン、ホモシステイン測定

両群間における血中ペントシジンとホモシステインを測定した。その結果、ペントシジンは Met-diet 群 0.0127 ± 0.0031 ($\mu\text{g/mL}$) に対して Norm-diet 群 0.015 ± 0.0048 ($\mu\text{g/mL}$)、ホモシステインは Met-diet 群 12.774 ± 2.304 ($\mu\text{mol/L}$) に対して Norm-diet 群 11.9161 ($\mu\text{mol/L}$) となり、2 群間における有意差は認めなかった。



3) ラマン分光測定

骨表面における生理的架橋と非生理的架橋の差を調べる為にラマン分光計を用いて測定を行った。その結果、生理的架橋を表す $1660/1690\text{cm}^{-1}$ におけるピーク比において両群間に有意な差を認めた。



得られた結果より、ウサギ大腿骨において実験群は最大荷重と破断力に対して有意差を認めるが、ラマン分光測定により非生理的架橋が増加していることから、非生理的架橋が骨内に増加することによって「硬いが脆い骨」に変化している可能性が示唆された。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

日本補綴歯科学会学術大会第 123 回学術大会
ポスター発表

「インプラント治療における骨質診断は可能か?—コラーゲン架橋から骨質を考える—」
我如古清太, 正木千尋, 妹尾吉訓, 向井知理,
向坊太郎, 近藤祐介, 中本哲白, 細川隆司

92nd General Session & Exhibition of the
IADR CAPE TOWN, SOUTH AFRICA · JUNE
25-28, 2014 Poster Session 「Non-enzymatic
collagen cross-links degrade bone quality
in implant treatment.」

K. GANEKO, C. MASAKI, Y. SEO, C. MUKAI, T. MUKAI
BO, Y. KONDO, T. NAKAMOTO, and R. HOSOKAWA

第 44 回公益社団法人日本口腔インプラント
学会学術大会

一般口演

「非酵素的コラーゲン架橋によって骨強度
の劣化は起こるか?—卵巣摘出および高メチ
オニン食による検討—」

我如古清太, 正木千尋, 駒井英基, 岡本耕造,
細川隆司

〔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 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
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

細川 隆司 (HOSOKAWA RYUJI)
九州歯科大学・歯学部・教授
研究者番号：60211546

(2)研究分担者

正木 千尋 (MASAKI CHIHIRO)
九州歯科大学・歯学部・助教
研究者番号：60397940

近藤 祐介 (KONDO YUSUKE)
九州歯科大学・歯学部・助教
研究者番号：00611287

(3)連携研究者

我如古 清太 (GANEKO KIYOTA)
九州歯科大学・歯学部・その他
研究者番号：80759382