

平成 21 年 5 月 18 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007 年度～2008 年度

課題番号：19592232

研究課題名（和文） 歯科インプラントの生物学的安定に関する検索

研究課題名（英文） A histological investigation of biological stability including tissue reaction to titanium dental implantation in rat maxilla

研究代表者

藤井 規孝（FUJII NORITAKA）

新潟大学・医歯学総合病院・教授

研究者番号：90313527

研究成果の概要：

歯科インプラント成功の絶対的な基準として骨結合の獲得があげられる。これは歯科インプラントが顎骨と直接接する状態で治癒することを示すものであるが、インプラントを埋入するために骨の切削を行うと周辺の骨に異常が生じることについてはあまり注目されていない。本研究はインプラント埋入時に傷害を受けた骨の動態を探るものであり、従来の研究とは異なる視点からインプラント周囲骨を組織学的に検索したものである。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴理工系歯学

キーワード：歯科インプラント、オッセオインテグレーション、ラット、チタン、生体組織反応、

1. 研究開始当初の背景

(1) 歯科インプラント臨床応用の拡大

歯科インプラントは社会的な認知度も高まり、その臨床応用は年々拡大している。しかしながら、絶えず臨床先行型で進められている傾向が強く、基礎的なデータはまだ不足している部分が多い。

(2) 過去の実験結果における疑問点

申請者らは過去にラット上顎骨を用いたインプラント植立実験モデルを開発した。この

実験の結果、インプラントがいわゆる骨結合を獲得したとされる状態においても、インプラント周囲には窩洞形成時に傷害を受けたと考えられる正常とは異なる状態を示す骨の領域（骨細胞が消失した骨組織）が残存していることを明らかにした。

このことから、インプラントの臨床的な治癒と組織学的な治癒、すなわちインプラントが生物学的に異常の認められない骨組織に囲まれる状態になるまでには時間的な差があるのではないかという疑問が生じた。

(3) 従来の研究の情報不足

生体の骨を切削すれば、なんらかのダメージを与えることは容易に想像できる。しかしながら、従来の報告においてインプラント周囲に窩洞形成時に傷害を受けた領域が生じることについて触れているものはほとんどみられず、インプラントと骨組織の界面構造の詳細や骨の形成方向を探るものがほとんどであった。

以上の点から、現在の歯科臨床においてインプラント成功の絶対的な基準とされている骨結合の獲得について、これまでとは異なる視点から再度見直す必要があると考え、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究の目的は、現在歯科臨床においても多用されている純チタン製インプラントの骨結合について、生物学的な意味においても治癒が完了したといえる時期を探ることである。

すなわち、骨結合獲得後にもインプラント周囲に残存する傷害を受けた領域（骨細胞が消失した領域）が正常な骨組織に置換されるまでの期間を明らかにし、その動態を組織学的および免疫組織化学的に詳細に調べることである。

3. 研究の方法

(1) 実験モデル

実験動物には4週齢雄性 wistar 系ラットを用いた。上顎第一臼歯を抜歯し、4週後にこの部位にまず歯科用エンジンリーマー#90（先端直径0.9mm）、次いでピーソリーマー#3（先端直径約1.10mm）を用いて骨窩洞形成を行い、純チタン製インプラント（直径約1.13mm）を埋入した。

(2) 観察（治癒）期間

我々が行った過去の報告（J.Periodontol. 69(4):485-495. (1998)）により、この実験モデルを利用した場合、インプラントは埋入後1ヶ月（4週間）にインプラント周囲が骨に囲まれるいわゆる骨結合を獲得した状態になることが明らかにされているため、本研究では治癒期間を以下のように設定した。

- 埋入 1ヶ月後
- 1.5ヶ月後
- 2ヶ月後
- 2.5ヶ月後
- 3ヶ月後
- 3.5ヶ月後
- 4～9ヶ月後の各月毎
- 12ヶ月後

(3) 観察方法

上記治癒期間毎に動物を4%PFA（パラフォルムアルデヒド）を用いて灌流固定し、インプラントごと上顎骨を切り出して試料とした。その後、この試料に対して4℃下で10%EDTAを使用して脱灰を行い、インプラントを慎重に除去した後、通法に従って組織切片を作成した。

このようにして作成した組織切片に以下に記す各種染色を施し、顕微鏡で観察を行った。なお、すべての観察部位はインプラント側壁部とした。

① 組織学的観察：H-E染色およびAzan染色
インプラント周囲組織の概要を把握

② 酵素組織化学的観察：ALP/TRAPase 二重染色

骨形成系細胞（ALP）、骨吸収系細胞（TRAP）の動態を観察

③ 免疫組織化学的観察：抗 OPN（オステオボンチン）、BSP（ボーンシアロプロテイン）、type I コラーゲン抗体

骨基質タンパクの発現を観察

さらに、インプラント周囲における新生骨形成量を確認するためにカルセインを腹腔内投与し（灌流固定の20日前と5日前）、骨ラベリングを行った。また、インプラント周囲の骨質を検討する目的でEPMAを用いてCa、P、Mg元素解析を行った。

4. 研究成果

(1) 実験結果

① 組織学的観察：H-E、Azan染色

過去の報告同様、インプラントは埋入1ヶ月後において骨結合を獲得するものの、インプラント周囲の骨には傷害を受けた（骨細胞が消失した）領域が認められた。この傷害領域はその後徐々に減少（代謝吸収されて新生骨に置換）し、インプラント埋入から3ヶ月後にはほとんどが消失しており、6ヶ月後以降においてはインプラント周囲骨に成熟した骨組織の特徴である層板状の構造が認められるようになった。

② 酵素組織化学的観察：ALP/TRAPase 染色
術後1ヶ月ではインプラントに近接する骨髓腔の内面に骨芽細胞と思われる立方体のALP陽性細胞と破骨細胞と思われる多核で比較的大型のTRAP陽性細胞が多数認められた。これらの細胞はいずれも経時的に減少し、形態的にも扁平化する傾向がみられた。さらに、インプラント埋入3ヶ月後以降はどちらも骨髓腔の血管周囲にわずかに認められる程度となった。

③ 免疫組織化学的観察：OPN、BSP、type I コラーゲン

術後1ヶ月において、いずれの抗体に対して

も骨基質に強い免疫陽性反応が認められ、特にセメントラインに一致して強いOPN、BSPの発現が観察された。その後、すべての抗体において陽性反応は経時的に減少する傾向が認められた。

・骨ラベリング

カルセインによってラベリングされた2本の蛍光ラインの間で示される15日間に形成された新生骨の量はインプラント埋入1ヶ月後と比較して3ヶ月、6ヶ月後において明らかに増加していた。また、3ヶ月後以降ではインプラント周囲骨と天然歯周囲骨を比べても新生骨形成量にほとんど差がないことがわかった。

・EPMA 元素分析 (Ca, P, Mg マッピング)

正常な骨組織に多く含まれるCa、Pはインプラント埋入後、その周囲骨内に明らかな増加傾向が認められた。この傾向は特にインプラントに近接する部位において術後1ヶ月～2ヶ月の間で顕著であったが、2.5ヶ月以降はインプラント周囲の骨全体においてCa、Pの濃度は一定になった。CaとPを比較すると、術後2ヶ月まではPよりCaが低濃度で分布するのに対し、3ヶ月後以降ではほぼ同じ値を示すことが明らかになった。一方、骨組織にとって微量元素であるMgについてはすべての観察期間において一様に低い値を示し、インプラント近傍とその他の部位を比べてもあまり差は認められなかった。

(2)本研究の主な成果

今回の結果により、インプラントが骨結合を獲得した(骨組織に囲まれた)時点では、インプラント周囲に正常とは異なる骨質の傷害領域が残存し、このような傷害領域が正常な骨組織に置換されるまでには更なる治癒期間を必要とすることが判明した。ラットの場合、インプラントが骨結合を獲得するまでに1ヶ月、その後インプラント周囲が正常な骨組織で囲まれるようになるまでには最低2ヶ月(術後3ヶ月)が必要であった。もちろん、この結果を単純にヒトに当てはめるわけにはいかないが、実際の臨床において、治療早期における失敗がある程度期間を経た後に生じる失敗に比べて少ないというインプラントの予後調査との関係を推察すると、骨結合獲得までに要する期間の3倍が組織学的にも認めることのできる治癒期間であるという結果は興味深い。インプラントを用いて治療を行った結果、如何に天然歯と見分けがつかなくなったとしても、純チタンの生体親和性がどれだけ高いとしても、インプラントが生体にとって異物であることになんら変わりはない。このような観点からインプラントの骨結合を見直す

と、骨結合を獲得した直後は異物の周りを変性した骨が取り囲んでいる状態であると捉えることができる。少なくとも生体の中に変性した組織が存在している状況は決して好ましいとはいえない。本研究の最大の成果はインプラントが骨結合を獲得する時期とインプラント周囲が正常な骨組織に置換され、生物学的に安定する時期は一致していないことを明らかにした点にある。このことは臨床先行で進められているインプラント治療に警鐘を鳴らすとともに、今後インプラント治療が更なる発展を遂げるために必要な基礎的データを提示するものであると考える。

(3)得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

上記のように、本研究の結果は歯科インプラントの臨床において絶対的な成功基準とされている骨結合を再度検証するものである。国内外を検索しても、本研究のような視点からインプラントの骨結合を調査した報告はまったくみられない。従って、今回の結果が歯科インプラントの臨床に与えるインパクトは決して少なくはないと考えられる。

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 6 件)

- ① M. Haga, N. Fujii, K. Inoue, S. Nomura, K. Oda, K. Uoshima, T. Maeda
Detailed Process of Bone Remodeling after Achievement of Osseointegration in Rat Implantation Model
The Anatomical Record、292、38-47、(2009)、査読有
- ② Haga M, Fujii N, Nozawa-Inoue K, Uoshima K, Nomura S, Maeda T.
The long-term response of the bone surrounding a titanium implant in the rat maxilla; the detailed process of bone remodeling following osseointegration.
18th Annual Scientific Meeting of Australian and New Zealand Bone and Mineral Society Abstract Book、88、(2008)、査読無
- ③ Haga M, Fujii N, Nozawa-Inoue K, Uoshima K, Nomura S, Maeda T.
Bone remodeling following osseointegration in a rat maxilla implantation model. 86th General session of international association for dental research,
32th Annual Meeting of the CADR

- J. Dent. Res., 87, 3286, (2008)、査読無
- ④ 羽下麻衣子、藤井規孝、魚島勝美、野村修一
 ラット上顎骨におけるチタンインプラント周囲骨組織の長期的変化
 日本補綴歯科学会雑誌、52、124、(2008)、査読無
- ⑤ 羽下麻衣子、藤井規孝、野澤-井上佳世子、魚島勝美、前田健康
 ラット上顎骨におけるインプラント周囲骨組織
 歯科基礎医学会雑誌、50、139、(2008)、査読無
- ⑥ 羽下麻衣子、藤井規孝、野澤-井上佳世子、野村修一、魚島勝美、前田健康
 ラット上顎骨におけるチタンインプラント周囲骨組織の長期的変化
 解剖学雑誌、83、184、(2008)、査読無

[学会発表] (計 4 件)

- ① Haga M, Fujii N, Nozawa-Inoue K, Uoshima K, Nomura S, Maeda T.
 The long-term response of the bone surrounding a titanium implant in the rat maxilla; the detailed process of bone remodeling following osseointegration.
 18th Annual Scientific Meeting of Australian and New Zealand Bone and Mineral Society
 2008年8月29日、Melbourne
- ② Haga M, Fujii N, Nozawa-Inoue K, Uoshima K, Nomura S, Maeda T.
 Bone remodeling following osseointegration in a rat maxilla implantation model. 86th General session of international association for dental research
 32th Annual Meeting of the CADR
 2008年7月3日、Toronto
- ③ 羽下麻衣子、藤井規孝、魚島勝美、野村修一
 ラット上顎骨におけるチタンインプラント周囲組織の長期的変化
 日本補綴歯科学会第117回学術大会、第1回日本・中国・韓国補綴歯科学会共催学術大会
 2008年6月7日、名古屋
- ④ 羽下麻衣子、藤井規孝、野澤-井上佳世子、魚島勝美、前田健康
 ラット上顎骨におけるインプラント周囲骨組織
 第50回歯科基礎医学会学術大会・総会
 2008年9月25日、有明

[図書] (計 0 件)

[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

藤井 規孝 (Fujii Noritaka)

新潟大学・医歯学総合病院・教授

研究者番号：90313527

(2) 研究分担者

田口 裕哉 (Taguchi Yuya)

新潟大学・医歯学総合病院・助教

研究者番号：60397143

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

羽下 麻衣子 (Haga Maiko)

新潟大学・医歯学総合研究科・大学院生