

機関番号：16101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21791903

研究課題名（和文） インプラント周囲炎における新規バイオマーカーの検討

研究課題名（英文） Research of new biomarker of implantitis

研究代表者 長尾 大輔 (NAGAO DAISUKE)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・助教

研究者番号：90432749

研究成果の概要（和文）：

インプラント周囲炎患者、歯周炎患者において、歯肉溝滲出液中の γ -GTP、PGE2、IL-1、カルプロテクチンのタンパク量が健常患者よりも有意に増加した。また、インプラント周囲炎患者、歯周炎患者の両者において有意な差は認められなかった。これより、 γ -GTP、PGE2、IL-1、カルプロテクチンはインプラント周囲炎患者のバイオマーカーになりうると思われた。

研究成果の概要（英文）：

In patients of implantitis and periodontitis, protein levels of gingival crevicular fluid of gamma-glutamyltransferase, PGE2, IL-1, Calprotectin was upregulated. Also no significant differences were observed in both patients with implantitis and periodontitis patients. It has been thought that gamma-glutamyltransferase, PGE2, IL-1, and Calprotectin can be biomarkers of patients with implantitis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,800,000	540,000	2,340,000

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：歯科補綴学一般

1. 研究開始当初の背景

歯、歯列の欠損に対する補綴治療として、インプラント治療はもはや確立された選択肢であり、さらに近年のインプラント体の形状や表面性状の改良によって、インプラントの成功率も向上している。しかしながら、イ

ンプラントへの過剰な負担荷重により、インプラント周囲の骨吸収がおこり、予後不良となったり、天然歯が歯周炎を発症するのと同様に、インプラントもまた細菌感染によるインプラント周囲炎をおこす。インプラント周囲炎についてもその発症メカニズムについてはいろいろ研究がなされており、インプラ

ント周囲粘膜は天然歯周囲に比較して、血管が少ない、コラーゲン線維の構成比が違うなどの防御機構の違いから、天然歯における歯周炎よりもより進行しやすい、ということが分かっており、そのため、早期に診断、治療することが重要である。

現在、歯周病の診断としては、プロービングデプス、X線検査などの主観的な診断方法のほかに、歯肉溝滲出液中のカルプロテクチン、ディフェンシンなどの抗菌ペプチドや、コラゲナーゼ、 β グルクロニダーゼ、アルカリフォスファターゼなどの酵素、プロスタグランジン E2 (PGE 2)、インターロイキン 1 (IL-1)、TNF- α 、のような炎症性サイトカインのレベルの上昇といったバイオマーカーのような客観的な診断方法が研究、開発されている。インプラント周囲炎においてもまた、これらの抗菌ペプチド、サイトカインなどがバイオマーカーとなりうると考えられている。

最近では、骨粗鬆症における骨吸収マーカーとして、 γ -GTP (γ -グルタミルトランスペプチダーゼ: GGT) が注目されている。 γ -GTP は、肝臓や腎臓、膵臓などに多く存在する酵素蛋白質で、酵素の分泌と吸収に関与し、アルコール性・薬剤性などの肝障害が起こると血液中に出てくるため、肝機能マーカーとして広く健康診断などに使われているが、骨髄細胞に作用させると破骨細胞の形成を促進するという報告もあり、歯周炎患者の歯肉溝滲出液中にも含まれているという報告もあるが、あまり調査されていない。

2. 研究の目的

本研究では、骨吸収マーカーである γ -GTP に注目し、 γ -GTP が歯周病と同様にインプラント周囲炎のバイオマーカーとなりうるのかどうかを検討した。さらに PGE 2、IL-1、

カルプロテクチンのタンパク量についても比較検討を行った。

3. 研究の方法

本研究は、徳島大学病院倫理委員会の承認を得て行われた。徳島大学病院歯科通院患者を対象とし、次の診察、検査を行い、健常者と歯周病患者を選択した。

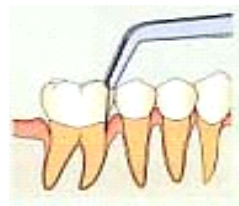
①歯周組織検査：プロービングデプスが 5mm 以上ある

②X線診査：骨吸収像がみられる

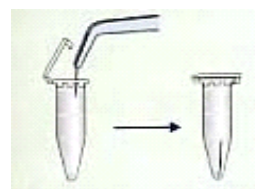
①と②を満たすものを歯周病患者とする。

その結果、歯周炎患者は 40 名、健常者は 40 名をサンプルとした。

健常者、歯周病患者の歯肉溝にペーパーポイントにて滲出液を採取した。あらかじめ準備したエッペンドルフチューブに、採取したペーパーポイントを Tris Buffer 50 μ l の中に 4℃で 24 時間浸漬し、測定まで -20℃で保存した。その後、総タンパク量を測定した後、ELISA 法にて、PGE 2、IL-1、 γ -GTP、カルプロテクチンの量を測定し比較検討した。



ペーパーポイントを歯肉溝、インプラント周囲歯肉溝へ 10 秒間挿入



採取したペーパーポイントに 0.5% 牛血清アルブミン含有リン酸緩衝液 (PBS) を 50 μ l を加え、20 分間連続的に振とうさせ PBS に溶出させる。

同様に、健常インプラント治療患者とインプラント周囲炎患者を選択する。対象者には次の診査を行った。

- ① インプラント周囲組織検査：プロービングデプスが5 mm以上ある
- ② X線診査：インプラント周囲骨吸収像がみられる
- ③ その他の臨床所見：インプラント周囲の発赤、排膿が認められる。

①、②、③を満たすものをインプラント周囲炎患者とした。その結果、インプラント周囲炎患者は20名、インプラント健常者は30名をそれぞれサンプルとした。

次に健常者のインプラント周囲溝、インプラント周囲炎患者の周囲溝にペーパーポイントにて滲出液を採取した。あらかじめ準備したエッペンドルフチューブに、採取したペーパーポイントをTris Buffer 50 μ lの中に4°Cで24時間浸漬し、測定まで-20°Cで保存した。その後、総タンパク量を測定した後、ELISA法にて、PGE₂、IL-1、 γ -GTP、カルプロテクチンの量を測定し比較検討した。

4. 研究成果

まず、健常歯周組織患者と歯周炎患者との間の歯肉溝滲出液中のPGE₂、IL-1、 γ -GTP、カルプロテクチン量を比較検討した。その結果、PGE₂、IL-1、 γ -GTP、カルプロテクチンともに、歯周炎患者において、健常者よりもそれぞれのタンパク量が多く、有意な差が認められた。

また、インプラント周囲炎患者とインプラント健常者においてPGE₂、IL-1、 γ -GTP、カルプロテクチン量を比較検討した。その結果、PGE₂、IL-1、 γ -GTP、カルプロテクチンともに、インプラント周囲炎患者において、インプラント健常者よりもタンパク量が多く、

有意な差が認められた(図1, 2, 3, 4)。

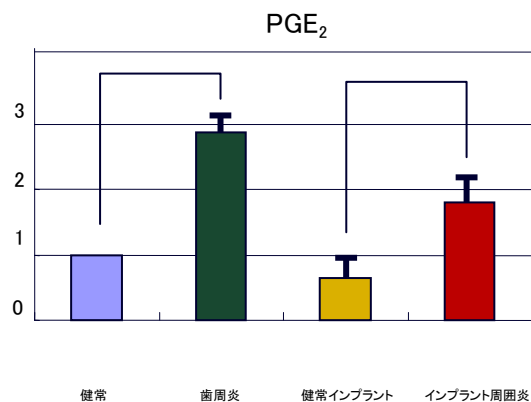


図1. 滲出液中のPGE₂量の割合

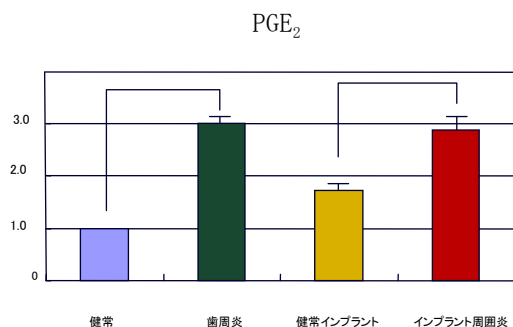


図2. 滲出液中のIL-1量の割合

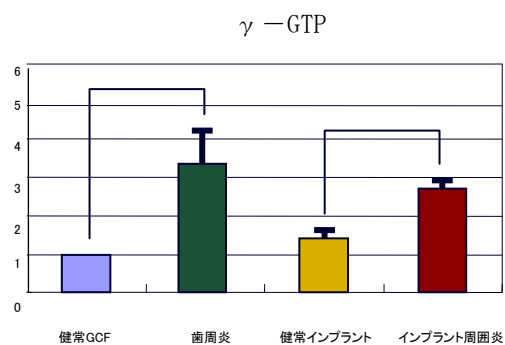


図3. 滲出液中の γ -GTP量の割合

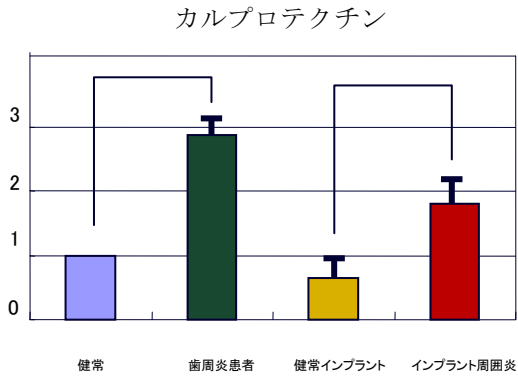


図 4. 滲出液中のカルプロテクチン量の割合

さらに、歯周炎患者とインプラント周囲炎患者との間の滲出液中の PGE2、IL-1、 γ -GTP、カルプロテクチンのタンパク量の差には有意な差は認められなかった (図 1, 2, 3, 4)。

結論

以上より、PGE2、IL-1、 γ -GTP、カルプロテクチンは歯周炎患者のバイオマーカーになるだけでなく、インプラント周囲炎患者のバイオマーカーと成りうることが示唆された。

今後は、さらにサンプル数を増やし、また、周囲炎の重篤度により、これらのタンパク量に差は生じるのかを検討していく予定である。

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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 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:

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 長尾 大輔 (NAGAO DAISUKE)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス

研究部・助教

研究者番号: 90432749