

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11160

研究課題名(和文) インテリジェント人工骨を用いる骨質改善療法の確立

研究課題名(英文) Establishment of bone quality improvement therapy using intelligent artificial bone

研究代表者

土井 一矢 (DOI, KAZUYA)

広島大学・医歯薬保健学研究科(歯)・助教

研究者番号：80444686

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)：本件研究は骨質および骨代謝の低下した条件下での骨欠損部に対して、多孔性ハイドロキシアパタイトへポリリン酸を吸着させたインテリジェント人工骨およびPTHの間歇投与による骨質改善療法を行い、同部へのインプラント埋入および骨支持の状態を評価し、その有用性を検討した。ポリリン酸とPTHは相互作用を示し、骨芽細胞の活性化を促進した。骨欠損部への骨再生も同様に早期の骨形成を確認した。このような骨質改善部でのインプラント支持の評価では、埋入時の初期固定およびオッセオインテグレーション獲得の促進を達成した。

研究成果の概要(英文)：In this study, bone quality improvement therapy using combination methods of intelligent arterial bone: polyphosphate integrated porous HA and intermittent PTH administration was assessment under conditions of reduced bone quality and metabolism. The combination methods indicated the promotion of osteoblast activation, enhancement bone formation and establishment implant stability: preferable primary stability and achievement osseointegration in rabbit osteoporosis model.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：PTH 骨粗鬆症 骨質

1. 研究開始当初の背景

インプラント治療において、埋入部位の骨量が不足する場合、骨再生療法により骨欠損部の骨形成を埋入前に達成する必要がある。骨粗鬆症のような骨質および骨代謝活性が低下している病態では骨形成が十分に得られず、インプラント治療の予後が悪くなる可能性がある。我々は骨伝導に優れる多孔性ハイドロキシアパタイトに生体活性作用を持つポリリン酸を吸着させたインテリジェント人工骨は骨再生を促進することを明らかとしてきた。一方、間歇投与により骨代謝を活性化させる作用を持つ副甲状腺ホルモンはすでに骨粗鬆症の治療として用いられている。そこで、これらを組み合わせることでインプラント治療に適応する新たな骨質改善療法の可能性に着想した。

2. 研究の目的

本研究の目的は骨伝導に優れる多孔性ハイドロキシアパタイトにポリリン酸を吸着させたインテリジェント人工骨と間歇投与により骨代謝を活性化させる作用を持つ副甲状腺ホルモンを併用することによる骨質改善および骨形成促進、さらにインプラント支持に及ぼす影響を検討する。以上から、その有用性を明らかとすることでインテリジェント人工骨を用いる骨質改善療法の確立を目指すことである。

3. 研究の方法

(1) ポリリン酸と副甲状腺ホルモン (PTH) による骨芽細胞活性促進の検討:

ポリリン酸吸着アパタイトの作製のため、連通多孔性アパタイトプレートを 25% 濃度ポリリン酸溶液に浸漬 (4 時間) させ、電位差による結合処理後、遠心分離および乾燥処理を行った。以上の工程によりポリリン酸吸着アパタイトプレートを準備する。準備したポリリン酸吸着プレートに MC3T3-E1 細胞を播種 (1×10^6 / ml) し、骨分化誘導培地で 3, 9, 12, および 18 日間、培養する。培養条件は アパタイトプレート (コントロール) ポリリン酸吸着アパタイトプレート アパタイトプレート+PTH 投与 ポリリン酸吸着アパタイトプレート+PTH 投与、の 4 群とする。培養後、アルカリファスファターゼによる測定、石灰化度の評価としてアリザリンレッド S 染色による石灰化度の観察を行った。

(2) 副甲状腺ホルモン (PTH) の間歇投与およびインテリジェント人工骨のステロイド性骨粗鬆症条件下における骨欠損部の骨形成の評価:

ニュージーランドホワイトラビット 20 羽に卵巣摘出を行い、4 週間副腎ステロイド (メチルプレドニゾロン) を投与し、ステロイド性骨粗鬆症モデルを製作した。同動物の両側大腿骨に規定の骨窩 (直径 3 mm, 深さ: 5 mm) を形成し連通多孔性ハイドロキシアパタイトおよびインテリジェント人工骨をそれぞれ

埋入した。10 羽には PTH を 4 週間間歇投与し、のこり 10 羽には同条件にて生理的食塩水の間歇投与を行った。4 週後にインプラント埋入窩の形成を行った後、組織ブロックを採取し、マイクロ CT による観察、脱灰標本を作製しヘマトキシ・エオジン染色を行い組織学的および組織形態計測として骨欠損部の新生骨面積率測定を行い骨形成状態の評価を行った。

(3) 副甲状腺ホルモン (PTH) の間歇投与およびインテリジェント人工骨によるオッセオインテグレーション獲得の検討:

実験 (2) の条件において、インプラント埋入から 4 週間の観察期間を設け、オッセオインテグレーションの評価として、共振周波分析によるインプラント安定係数 (ISQ 値) の測定、組織学的観察および組織形態計測として骨接触率、骨形成率の測定を行った。

4. 研究成果

(1) ポリリン酸と PTH による骨芽細胞活性促進の検討:

鎖長 65 ポリリン酸が骨芽細胞様細胞に対して、アルカリフォスファターゼ活性の上昇、アリザリンレッド染色による石灰化の促進がみられた。PTH 投与においても同様の骨形成促進効果を示した。これらの効果は作用機序が異なることから Positive control として用いたポリリン酸および PTH 併用群は相乗効果を示し、その分化促進作用は同群が最も高い値を示した。以上より、これらより生体応用においても骨形成促進効果を期待できることが示唆された。

(2) 副甲状腺ホルモン (PTH) の間歇投与およびインテリジェント人工骨のステロイド性骨粗鬆症条件下における骨欠損部の骨形成の評価:

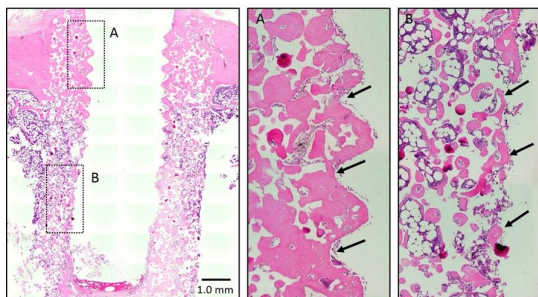
インテリジェント人工骨および PTH 投与群では他の群と比較して材料中心部においても骨組織が観察され、また材料外周に位置する骨髄組織周囲においても皮質骨領域から連続している骨梁構造が顕著に観察できた。インプラント埋入の評価においても、埋入初期トルク値および周囲骨梁形成も有意に高い値を示し、良好な初期固定の獲得が確認できた。

以上より、ステロイド性骨粗鬆症条件下においてインテリジェント人工骨および PTH 投与群は有意に骨形成促進効果を示し、また骨質改善効果を持つことが明らかとなった。

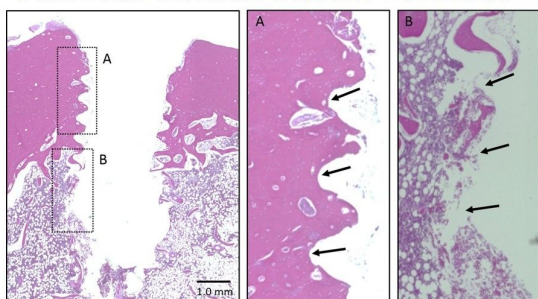
(3) 副甲状腺ホルモン (PTH) の間歇投与およびインテリジェント人工骨によるオッセオインテグレーション獲得の検討:

埋入時の初期固定は実験 (2) と同じ結果であった。継時的な ISQ 値の測定ではインテリジェント人工骨+PTH 投与群は常に高い値を示していた。コントロール群は、埋入時の初期固定は低かったものの、継時的に上昇傾向を認め 4 週間において 60 以上の値を示し、一般的なオッセオインテグレーション獲得

としての評価値に達していた。骨接触率、骨形成の評価においても、インテリジェント人工骨+PTH投与群はコントロール群に対して高い値を示していた。以上の結果より、骨質および骨代謝低下を示す骨粗鬆モデルにおいて、インテリジェント人工骨およびPTH投与を併用する骨質改善療法はインプラント治療において、初期固定の獲得、オッセオインテグレーション獲得の促進、これらを達成することができた。

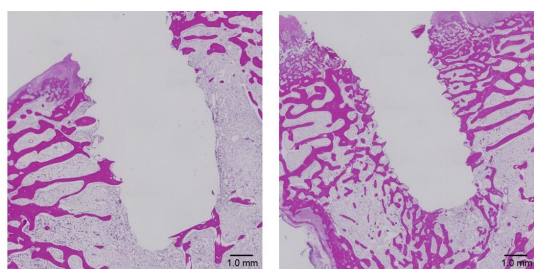


多孔性HAを用いた骨再建部に形成したインプラント埋入窩



既存骨部に形成したインプラント埋入窩

図1：多孔性アパタイトによる骨再建部に形成したインプラント埋入窩の評価。深部まで骨形成が観察されインプラントを良好に支持することができる。



既存骨・インプラント埋入窩

PTH骨質改善部・インプラント埋入窩

図2：PTHによる骨質改善を行った部位に形成したインプラント埋入窩の評価。PTH条件下では周囲骨の骨梁の形成が促進されておりインプラントを良好に支持することができる。

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5件)

Okii Y, Doi K, Makihara Y, Kobatake R, Kubo T, Tsuga K.
Effects of intermittent continual

administration of parathyroid hormone on implant stability in the presence of osteoporosis: an in vivo study using resonance frequency analysis in a rabbit model. *Journal of Applied Oral Science*(査読有). 25:498-505. 2017
doi: 10.1590/1678-7757-2016-0561.

Makihara Y, Doi K, Oki Y, Kobatake R, Kubo T, Tsuga K. Stability of implants placed in bone reconstructed with block-type interconnected porous Hydroxyapatite. *Journal of Hard Tissue Biology*(査読有). 26:393-398. 2017
doi: 10.2485/jhtb.26.393.

Doi K, Kubo T, Kajihara S, Makihara Y, Oue H, Oki Y, Perrotti V, Piattelli A, Akagawa Y, Tsuga K. A stability evaluation of a novel titanium dental implant/interconnected porous hydroxyapatite complex under functional loading conditions. *Dental Material Journal*(査読有). 36:647-653. 2017
doi: 10.4012/dmj.2016-346.

Doi K, Kubo T, Makihara Y, Oue H, Morita K, Oki Y, Kajihara S, Tsuga K. Osseointegration aspects of placed implant in bone reconstruction with newly developed block-type interconnected porous hydroxyapatite. *Journal of Applied Oral Science*(査読有). 24:325-331. 2016
doi: 10.1590/1678-775720150597.

Oki Y, Doi K, Makihara Y, Kubo T, Oue H, Tsuga K. Intermittent administration of parathyroid hormone enhances primary stability of dental implants in a bone-reduced rabbit model. *Journal of Oral Science*(査読有). 58:241-246. 2016
doi: 10.2334/josnusd.15-0717.

[学会発表](計7件)

沖 佳史, 副甲状腺ホルモンの間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるオッセオインテグレーションの獲得に及ぼす影響. 第47回日本口腔インプラント学会学術大会.2017

Oki Y. Intermittent Parathyroid Hormone Administration is Effective to Achieve Favourable Primary Stability and Osseointegration in Rabbit Osteoporosis Model. The 11th Scientific Meeting of the Asian Academy of Osseointegration (Bangkok). 2016

Doi K. Evaluation of Implant Stability in Implant/Interconnected Porous

Hydroxyapatite Complex Under Functional Loading Location. The 94th General Session and Exhibition of the International Association for Dental Research (Seoul).2016

土井一矢. Intermittent parathyroid hormone administration enhances primary stability and osseointegration on glucocorticoid induced osteoporosis. 広島カンファレンス 平和セミナー (招待講演). 2015

Oki Y. Effect of intermittent parathyroid hormone administration on osseointegration aspects in rabbitosteoporosis model. The 6th Hiroshima Conference on Education and Science in Dentistry (Hiroshima). 2015

Doi K. Effect of intermittent parathyroid hormone (PTH) administration on osseointegration aspects in rabbit osteoporosis model. The 24rd European Association for Osseointegration (Stockholm). 2015

沖 佳史, 副甲状腺ホルモン間歇投与がインプラントの初期固定および骨支持に及ぼす影響 - 骨質低下ラビットモデルでの検討. 第45回日本口腔インプラント学会学術大会. 2015

6. 研究組織

(1)研究代表者

土井 一矢 (DOI, Kazuya)

広島大学・医歯薬保健学研究科・助教

研究者番号：80444686

(2)研究分担者

岡崎 洋平 (OKAZAKI, Yohei)

広島大学・病院(歯)・助教

研究者番号：00706998

研究分担者

日浅 恭 (HIASA, Kyo)

広島大学・病院(歯)・講師

研究者番号：60304432

(H28年度より除外, 退職のため)