

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 19 日現在

機関番号：17301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15711

研究課題名(和文)PTH製剤の間歇的局所輸送による革新的なグラフトレス骨増生法の開発

研究課題名(英文)Development of bone augmentation using intermittent PTH administration without bone grafts

研究代表者

澤瀬 隆(SAWASE, Takashi)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・教授

研究者番号：80253681

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)：卵巣摘出誘発性骨粗鬆症ラットの第一大臼歯を抜歯後3週でインプラントを埋入し、PTH製剤の間歇投与を3週間と5週間行って、インプラント周囲骨組織の骨量、オッセオインテグレーション、ならびに骨質(骨細胞ネットワーク、コラーゲン線維の配向性、生体アパタイト結晶の配向性)の検討を行った。その結果、PTHの間歇皮下投与群では生理食塩水投与群と比較して有意な骨量の増大とオッセオインテグレーションの向上が認められた。さらに骨細胞ネットワークを発達させ、コラーゲン線維と生体アパタイト結晶の配向性を変化させた。さらにこのモデルを用いて規則的繰り返し荷重をインプラントに与えた結果、骨質は有意な適応変化を示した。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to investigate the effect of intermittent PTH administration on bone quality and quantity around implants in rat maxillae. Ovariectomized rats were used. Implants were placed at 3 weeks after tooth extraction of both maxillary first molars. Bone volume, osseointegration and bone quality around implants were analyzed at 3 and 5 weeks after intermittent PTH administrations. Intermittent PTH administrations significantly increased bone volume around implants and enhanced osseointegration as compared with saline group. Moreover, intermittent PTH injections significantly developed osteocyte network, and induced the preferential alignment of collagen/biological apatite c-axis. Combination therapy of PTH and mechanical load adapted bone quality around implants.

研究分野：インプラント歯学

キーワード：デンタルインプラント PTH 間歇的投与 持続的投与 骨量 骨質 オッセオインテグレーション

1. 研究開始当初の背景

インプラント治療は欠損歯列の回復手段として確固たる地位を確立しているものの、インプラント埋入に際して骨量不足と診断され、骨増生を必要とすることが希ではない。これまでに様々な他家、異種、人工骨補填材料が開発されたものの、倫理性、安全性、骨組織との置換効率の面で危惧されるところが多く、いまだ骨増生のゴールドスタンダードはドナーサイトが必要な自家骨移植とされている。安全 + 低侵襲 + 簡便性をみたく新たな骨増生法は喫緊の課題である。一方、2010年に副甲状腺ホルモン(PTH)製剤(フォルテオ®)という骨粗鬆症治療薬が日本で認可された。PTH製剤は間歇的投与(毎日の皮下注射)で強力な骨形成作用を示す。そこで申請者らはPTH製剤を用いて動物実験を行い、1)抜歯後の**PTH製剤の間歇的投与(皮下注射)は、歯槽骨幅の増大と高さの減少抑制を起す**ことを、また、2)抜歯部位周囲軟組織にPTH製剤を間歇的投与しても治療効果は皮下注射と同じであることを証明した。以上の研究成果から、**PTH製剤を利用することで現在の骨増生の概念を一新し、移植材料がなくとも骨増生が可能ではないかと考えたことが本研究の学術的背景である。**

2. 研究の目的

補綴歯科治療において、高度に吸収した顎堤はインプラント治療や義歯治療を困難にすることから、顎骨再生を確実に挙げる技術の開発が重要課題となっている。国内で認可を受ける移植材料は自家骨と人工骨補填材のみだが、自家骨移植は外科的侵襲や合併症のリスクを伴うこと、また、異物である人工移

植材料は骨組織との理想的な置換が難しいことが示されており、低侵襲で効果的な骨増生法の開発が求められている。本研究では、近年骨粗鬆症治療薬として認可された副甲状腺ホルモン(PTH)製剤に着目し、**PTH製剤の間歇的局所輸送によるインプラント周囲骨増生を提案する。さらに、PTH製剤の顎骨に与える影響を分子生物学的に解明し、革新的なグラフトレス骨増生法を開発することが目的である。**

3. 研究の方法

(1) 持続的局所輸送型 Alza 社製 ALZET®ポンプの間歇的局所輸送型への改良

改良したポンプを卵巣摘出誘発性骨粗鬆症ラットに埋め込み、第一大臼歯の抜歯を行う。

屠殺を行い、皮下投与群と局所輸送群で各データに差がないかどうかを検討する。

(2) 卵巣摘出誘発性骨粗鬆症ラットの第一大臼歯を抜歯して3週間後にインプラントを埋入し、間歇的局所輸送型ポンプと皮下投与をそれぞれ適応して、インプラント周囲骨組織の骨量、骨質、オッセオインテグレーションなどを比較検討し、さらに全身への影響も比較検討する。

4. 研究成果

(1) サンプルを取り寄せて種々検討を行ったが、間歇的なPTH投与装置に変更することは極めて困難であった。試作品をラットに埋め込みその効果を検討したが、骨量は減少したことから、間歇性もしくは持続性に起因して骨量が減少した可能性が考えられた。以上

から間歇的な皮下投与にて実験を継続することとした。

(2) 卵巣摘出誘発性骨粗鬆症ラットの第一大臼歯を抜歯して3週間後にインプラントを埋入し、さらにPTH製剤を3週間、5週間にわたり間歇投与を行い、インプラント周囲骨組織の骨量、オッセオインテグレーション、ならびに骨質(骨細胞ネットワークの発達度合い、コラーゲン線維の配向性、ならびに生体アパタイト結晶の配向性)についての検討を行った。その結果、PTHの間歇皮下投与群では生理食塩水投与群と比較して有意な骨量の増大、オッセオインテグレーションの向上が認められた。さらに骨細胞ネットワークを発達させ、コラーゲン線維と生体アパタイト結晶の配向性を変化させた。さらにこのモデルを用いて、咀嚼荷重を模倣した規則的繰り返し荷重をインプラントに与えた結果、骨質はさらに有意な適応変化を示した。

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13件)

- (1) Suzuki K, Chosa N, Sawada S, Takizawa N, Yaegashi T, Ishisaki A. Enhancement of anti-inflammatory and osteogenic abilities of mesenchymal stem cells via cell-to-cell adhesion to periodontal ligament-derived fibroblasts. (査読あり) *Stem Cells Int.* 3296498. 2017.
- (2) Kuroshima S*, Nakano T, Ishimoto T, Sasaki M, Inoue M, Yasutake M, Sawase T. Optimally Oriented Grooves on Dental

Implants Improves Bone Quality around Implants under Repetitive Mechanical Loading. *Acta Biomaterialia*. (査読あり) 48: 433-444. 2017. doi: 10.1016/j.actbio.2016.11.021.

- (3) Chiba T, Ishisaki A, Kyakumoto S, Shibata T, Yamada H, Kamo M. Transforming growth factor- β 1 suppresses bone morphogenetic protein-2-induced mesenchymal-epithelial transition in HSC-4 human oral squamous cell carcinoma cells via Smad1/5/9 pathway suppression. (査読あり) *Oncol. Rep.* 37: 713-720. 2017.
- (4) 黒嶋伸一郎, 澤瀬 隆. 荷重により変化するインプラント周囲の骨細胞ネットワークと「骨質」. 日本歯科先端科学技術研究所学会誌 (査読あり) 第22巻2号. 95 - 98. 2016.
- (5) Yasutake M[†], Kuroshima S[†], Ishimoto T, Nakano T, Sawase T. Influence of Implant Neck Design on Bone Formation under Mechanical Repetitive Loading: Histomorphometric and Microcomputed Tomographic Studies in Rabbit Tibiae. *Implant Dent.* (査読あり) 25(2): 171-178. 2016 ([†]Authors contributed equally to this work.).
- (6) Hino M, Kamo M, Saito D, Kyakumoto S, Shibata T, Mizuki H, Ishisaki A. Transforming growth factor- β 1 induces invasion ability of HSC-4 human squamous cell carcinoma cells through the Slug/Wnt-5b/MMP-10 signaling axis. *J. Biochem.* (査読あり) 159: 631-640. 2016.

- (7) Komatsu Y, Ibi M, Chosa N, Kyakumoto S, Kamo M, Shibata T, Sugiyama Y, Ishisaki A. Zoledronic acid suppresses transforming growth factor- β -induced fibrogenesis by human gingival fibroblasts. *Int. J. Mol. Med.* (査読あり) 38: 139-147. 2016.
- (8) Igarashi Y, Chosa N, Sawada S, Kondo H, Yaegashi T, Ishisaki A. VEGF-C and TGF- β reciprocally regulate mesenchymal stem cell commitment to differentiation into lymphatic endothelial or osteoblastic phenotypes. *Int. J. Mol. Med.*(査読あり) 37: 1005-1013: 2016.
- (9) Sawada S, Chosa N, Takizawa N, Yokota J, Igarashi Y, Tomoda K, Kondo H, Yaegashi T, Ishisaki A. Establishment of mesenchymal stem cell lines derived from the bone marrow of GFP-transgenic mice exhibiting diversity in intracellular TGF- β and BMP signaling. *Mol. Med. Rep.* (査読あり) 13: 2023-2031. 2016.
- (10) 黒嶋伸一郎, 安武宗徳, 宮原健治, 中野貴由, 澤瀬 隆. 繰り返し荷重によるインプラント周囲骨組織の骨質向上. 顎顔面バイオメカニクス学会誌.(査読あり) 第19巻1号, 23-24. 2015.
- (11) Sasaki M[†], Kuroshima S^{†*}, Aoki Y, Inaba N, Sawase T: Ultrastructural Alterations of Osteocyte Morphology via Loaded Implants in Rabbit Tibiae. *J Biomech.* (査読あり) 48(15): 4130-4141. 2015. doi: 10.1016/j.jbiomech.2015.10.025.
(*Corresponding author, [†]Authors contributed equally to this work.)
- (12) 黒嶋伸一郎: 骨質評価が変えるオッセオインテグレーションの新展開. 日本口腔インプラント学会誌.(査読あり) 28(1): 4-10. 2015.
- (13) Kuroshima S, Yasutake M, Tsuiki K, Nakano T, Sawase T: Structural and Qualitative Bone Remodeling around Repetitive Loaded Implants in Rabbits. *Clin Implant Dent Relat Res.*(査読あり) Spp12: e699-e710.2015. doi: 10.1111/cid. 12318.
- [学会発表](計14件)
- (1) 黒嶋伸一郎, 佐々木宗輝, 稲葉菜緒, 右藤友督, 澤瀬 隆. 規則的な繰り返し荷重はインプラントデザインの相違により骨細胞に異なった影響を与える. 公益社団法人日本口腔インプラント学会第34回九州支部学術大会. 公益社団法人日本口腔インプラント学会第34回九州支部学術大会プログラム・抄録集. p69. 平成29年1月21日~1月22日(22日発表). 熊本市民会館(熊本県, 熊本市).
- (2) 井上真愛弥, 佐々木宗輝, 黒嶋伸一郎, 澤瀬 隆. 規則的繰り返し荷重がインプラントグループ内の骨細胞に与える影響. 平成28年度第23回日本歯科医学会総会. 第23回日本歯科医学会総会プログラム・抄録集 p69, #DSP011. 平成28年10月21日~10月23日(23日発表). 福岡国際会議場(福岡県, 福岡市).
- (3) 佐々木宗輝, 黒嶋伸一郎, 中野貴由, 澤瀬 隆. インプラントを介した機械的荷重が骨細胞・骨細管系とアパタイト配向性に与える影響. 平成28年度第23回日本歯科医学会総会. 第23回日本歯科医学会総会プログラム・抄録集 P24, #P142. 平成28年10月21日~10月23日(21日

- ~ 22 日発表). 福岡国際会議場(福岡県, 福岡市).
- (4) 加藤初実, 黒嶋伸一郎, 右藤友督, 青木ユリ, 澤瀬 隆. 下顎骨に埋入されたグループ付きインプラント周囲骨組織に咬合力が与える影響. 第 46 回公益社団法人日本口腔インプラント学会学術大会. 第 29 巻特別号. p60. 平成 28 年 9 月 16 日 ~ 9 月 18 日 (18 日発表). 名古屋国際会議場 (愛知県, 名古屋市).
- (5) Sasaki M, Kuroshima S, Maaya Inoue, Sawase T. Combination effect of implant design and mechanical load on osteocytes around dental implants in rabbit tibiae. The Joint Annual Scientific Meetings 2016 of the Endocrine Society of Australia, the Society for Reproductive Biology and the Australia and New Zealand Bone & Mineral Society. 08/21-08/24/2016Scientific Program. p6. Presentation number #338. 22 日発表. クイーンズランド, オーストラリア.
- (6) 黒嶋伸一郎, 中野貴由, 稲葉菜緒, 右藤友督, 石本卓也, 澤瀬 隆. インプラントデザインに起因する繰り返し荷重がもたらす骨質の適応変化. 第 34 回日本骨代謝学会学術集会. プログラム抄録集. p214. 平成 28 年 7 月 20 - 23 日 (21 日発表). 大阪国際会議場 (大阪府, 大阪市).
- (7) 黒嶋伸一郎, 加来 賢, 石本卓也, 佐々木宗輝. 骨質研究がもたらす歯科補綴治療のイノベーション. 公益社団法人日本補綴歯科学会 第 125 回学術大会プログラム・抄録集 日本補綴歯科学会誌・8 巻 125 回特別号. p103. 平成 28 年 7 月 8 - 10 日 (8 日発表). 石川県立音楽堂, ANA クラウンプラザホテル金沢(石川県, 石川市).
- (8) Sasaki M, Kuroshima S, Nakano T, Sawase T. Influence of Mechanical Loading on Alignment of Biological Apatite Crystallites and Lacunar-canalicular System in Rabbits. The American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR) 2015 Annual Meeting, 10.9-12, 2015. Program & Abstracts: 150, 2015. シアトル (アメリカ合衆国).
- (9) 佐々木宗輝, 黒嶋伸一郎, 中野貴由, 澤瀬 隆. 繰り返し荷重がインプラント周囲骨のオステオネットワークと生体アパタイト結晶の優先配向に与える影響. 第 45 回公益社団法人日本口腔インプラント学会学術大会. 第 28 巻特別号. p177. 平成 27 年 9 月 21 日 ~ 9 月 23 日 (22 日発表). ホテルグランヴィア岡山 (岡山県, 岡山市).
- (10) 黒嶋伸一郎, 安武宗徳, 中野貴由, 澤瀬 隆. 繰り返し荷重がもたらす骨質の適応変化に寄与するインプラントデザインの検討. 第 45 回公益社団法人日本口腔インプラント学会学術大会. 第 28 巻特別号. p173. 平成 27 年 9 月 21 日 ~ 9 月 23 日 (22 日発表). ホテルグランヴィア岡山 (岡山県, 岡山市).
- (11) 佐々木宗輝, 黒嶋伸一郎, 中野貴由, 澤瀬 隆. 機械的荷重によるインプラント周囲骨のオステオネットワークと生体アパタイトの優先配向の変化. 第 57 回歯科基礎医学会学術大会. プログラム抄録集. p60. 平成 27 年 9 月 11 日 - 9 月 13 日 (12 日発表). 朱鷺メッセコンベンションセンター (新潟県, 新潟市).

- (12) 佐々木宗輝，黒嶋伸一郎，中野貴由，澤瀬 隆．インプラントを介した機械的荷重が骨細胞・骨細管系とアパタイト配向性に与える影響．第33回日本骨代謝学会学術集会．プログラム抄録集．p160.平成27年7月24 - 25日(23日発表)．京王プラザホテル(東京都，新宿区)．
- (13) 黒嶋伸一郎，佐々木宗輝，青木ユリ，稲葉奈緒，澤瀬 隆．インプラントを介した規則的繰返し荷重が骨細胞ネットワークに与える影響．日本補綴歯科学会誌・7巻124回特別号．p61．平成27年5月29 - 31日(30日発表)．大宮ソニックシティ(埼玉県，埼玉市)．

6．研究組織

(1)研究代表者

澤瀬 隆 (SAWASE, Takashi)

長崎大学 医歯薬学総合研究科(歯学系)・教授

研究者番号：80253681

(2)研究分担者

黒嶋 伸一郎 (KUROSHIMA, Shinichiro)

長崎大学・病院(歯学系)・講師

研究者番号：40443915

佐々木 宗輝 (SASAKI, Muneteru)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・助教

研究者番号：10706336

(3)連携研究者

石崎 明 (ISHISAKI, Akira)

岩手医科大学・歯学部・教授