

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17179

研究課題名（和文）骨細胞の咬合力応答に着目したインプラント周囲骨代謝バランスの解明

研究課題名（英文）Analysis of peri-implant bone metabolism focused on the occlusal force response of osteocytes

研究代表者

竹村 陽子 (Takemura, Yoko)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：60778869

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：咬合負荷時のインプラント周囲骨代謝を解明するため骨細胞に着目し検討を行った。ラット顎骨インプラント埋入モデルにおいて、適正な咬合荷重では非荷重と比較し骨細胞ネットワークの活性化や死細胞数の増加を認めた。一方過剰な咬合荷重ではインプラントの早期脱落を認めた。骨細胞様細胞株を用いた応力負荷実験において、アポトーシス細胞の増加やconnexin43の発現増加を認めた。以上の結果より、メカニカルストレスの大きさが骨代謝のバランスに関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔インプラント治療は歯を喪失した患者の有効な選択肢であるが、治療経過においてインプラント周囲骨吸収を生じることがある。応力と骨代謝には密接な関係があることが知られているが、咬合負荷時のインプラント周囲骨代謝に関しては未解明である。そこで応力感知細胞である骨細胞に着目し、過剰な咬合負荷では早期のインプラント脱落を生じ、適正な咬合負荷では骨細胞ネットワークの活性化が生じることを解析した。これらの知見は、インプラントをより長期に安定して活用するための第一歩に繋がると考えられ、咬合調整の重要性や口腔全体の応力バランスの維持の重要性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to investigate how the occlusal force affect the peri-implant bone metabolism focusing on the osteocytes. In vivo study, we established rat jaw bone implant model. Loading activated osteocytes network and increased dead cells compared to non-loading. Over-loading accelerated loss of osseointegration. In vitro study, we developed the apparatus for stimulating three-dimensional cultured ML0-Y4. Loading increased apoptosis cells and connexin43 expression. It was suggested that mechanical stress was involved in the balance of peri-implant bone metabolism.

研究分野：口腔インプラント学

キーワード：インプラント 骨細胞 メカニカルストレス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔インプラント治療は歯を喪失した患者にとって重要な選択肢として確立されている。インプラント治療の最大の目的な咬合、咀嚼の機能回復であり、インプラント周囲骨が咬合力というメカニカルストレスに適正に応答することが求められる。インプラントの5年生存率は97.2%とも言われ、多くの場合、機能時にインプラント周囲骨において適切な骨リモデリングが行われていると考えられる。一方で、平均寿命の伸びとともにインプラントが口腔内で機能する期間も長期化しており、インプラント周囲炎等の周囲骨吸収や機能不全のリスクが増加している。インプラント周囲炎の原因としては細菌感染のほか、過重負荷等の「力」の問題が関与していると考えられているが、咬合負荷時のインプラント周囲骨代謝のメカニズムについては未だ解明されていない。

2. 研究の目的

インプラント体はオッセオインテグレーションしており、骨組織と直接結合しているため、咬合力がダイレクトに骨に伝達される。また、埋入時や初期固定を得るのに有利となるスクリュー形態によるスレッド周囲の複雑なひずみや、マイクロダメージが生じるといった歯根膜を有する天然歯とは異なる特徴がある。つまり、インプラント周囲骨においては「力」の影響がより顕著に現れると考えられ、その解明が長期に安定したインプラント治療を患者に提供する第一歩になると考えられる。そこで、骨組織における応力感知細胞(メカノセンサー)として近年注目されている骨細胞に着目した。骨細胞はマイクロダメージ部位を検出し、それを標的としたリモデリング(ターゲットリモデリング)の起点となり、骨細胞の三次元ネットワークや種々の因子を作用させて破骨細胞や骨芽細胞を調整していると報告されている。そこで、咬合負荷時のインプラント周囲骨代謝のメカニズムや骨質に与える影響を解明することを目的とし解析を行うこととした。

3. 研究の方法

in vitro 実験

骨細胞様細胞株 ML0-Y4 の三次元ゲル包埋培養系に、スレッドを模した形態のチタンプレートによる反復刺激を付与するインプラント周囲骨の骨細胞ネットワーク再現装置を本学工学研究院とコラボレーションを行うことで開発した。十分に骨細胞の三次元ネットワーク構造を再現した上で、刺激付与を行わない非荷重群と、1Hz、24時間の反復刺激付与を行う荷重群を設定し、刺激後の細胞の生死、アポトーシス、遺伝子発現に関して検討を行った。

in vivo 実験

5週齢雄性 Wistar 系ラットの右側第一臼歯を抜去し、抜歯窩歯肉が治癒した後にチタン製スクリュー型インプラントを歯肉の同等の高さに埋入して、ラット顎骨インプラント埋入モデルを作製した。オッセオインテグレーション獲得を行う3週間の免荷期間の後、咬合荷重負荷の影響を観察するために上部構造の高径により4つのモデルを作製した。隣在歯より低い状態を維持した咬合付与無しモデル、隣在歯と同様の高さを与えた適正咬合荷重モデル、明らかに高くした過重咬合負荷モデル、最初は適正過重を負荷し4週後に過重負荷に変更した咬合荷重変更モデルの4種類を作製し検討を行った。

4. 研究成果

in vitro 実験

三次元ゲル包埋培養中のチタンプレートに反復運動を付与すると周囲骨細胞におけるアポトーシスが増加し、real-time RT-PCR法において RANKL、connexin43 遺伝子発現の上昇を認めた。また培養上清を添加したマウス骨髄細胞培養において ALP 活性の増加を認めた。反復刺激により骨細胞アポトーシスが生じターゲットリモデリングの機構が働いている可能性が示された。また、ギャップジャンクション阻害剤であるヘプタノールを添加した群においては、ギャップジャンクション構成因子である connexin43 の発現が減少し、死細胞数が増加したため、機械的刺激への抵抗性の低下が考えられた。

in vivo 実験

咬合荷重の負荷形態を変えたラット顎骨インプラント埋入モデルを作製し解析を行った。咬合付与無しモデルと比較し、適正咬合荷重負荷モデルにおいては、スレッド間の TRAP 陽性細胞の増加を認めた。また、骨細胞における sclerostin や connexin43 の発現増加も認めた。隣在歯と比較し、明らかに上部構造を高くした群(過重咬合負荷モデル群)においては、早期の上部構造の脱離や、早期のインプラント体脱離を認めた。隣在歯と比較し、上部構造を同程度の高さに設定した群(適正咬合負荷モデル群)においては、過重負荷モデル群と比較し、インプラント脱離時期が遅く、脱離するインプラントも少ない傾向を認めた。また、適正負荷の状況から、1ヶ月後に過重負荷に変えたモデル(咬合荷重変更モデル)ではその後1週間におけるインプラントの脱離は認めなかった。これらの結果よりインプラントに咬合荷重を開始した際には、初期の咬合調整の重要性が示唆された。また咬合を付与することでリモデリングの開始につながる骨吸収の開始が示唆され、その後の骨質がどのように変化していくのか骨形成に関する検討や長期の観察も継続して行く必要があると考えられた。

今後、継続した解析を行い、長期に安定したインプラント治療への示唆を得ていきたいと考え

ている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takemura Yoko, Moriyama Yasuko, Ayukawa Yasunori, Kurata Kosaku, Rakhmatia Yunia D., Koyano Kiyoshi	4. 巻 107
2. 論文標題 Mechanical loading induced osteocyte apoptosis and connexin 43 expression in three-dimensional cell culture and dental implant model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Materials Research Part A	6. 最初と最後の頁 815 ~ 827
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jbm.a.36597	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 富田陽子, 森山泰子, 鮎川保則, 張浩森, 今井実喜生, 古谷野潔
2. 発表標題 咬合荷重下におけるインプラント周囲骨代謝への骨細胞の関与
3. 学会等名 日本補綴歯科学会第 126 回学術大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----