

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：32667

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K17297

研究課題名(和文) ブロック型人工骨補填材を用いた垂直的骨欠損に対する骨造成法の確立

研究課題名(英文) Establishment of bone augmentation technique using artificial bone blocks in vertical bone defects

研究代表者

中原 賢 (NAKAHARA, Ken)

日本歯科大学・新潟生命歯学部・教授

研究者番号：20610257

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)：垂直的骨欠損部位へのインプラント治療法を考えるうえで、人工骨による骨造成の情報是非常に有用である。そこで本研究では、深さ1.5 mmと3.5 mmの垂直的骨欠損に、ハイドロキシアパタイトを添加した  $\beta$ -TCPと  $\alpha$ -TCPのブロック型人工骨補填材を移植した動物実験モデルを作製し、骨造成6か月後にmicro-CTと組織学的手法を用いて観察した。これまで得た実験結果から、本研究で形成した比較的浅い垂直的骨欠損では、 $\beta$ -TCPのブロック骨が骨造成材料として適している可能性を示すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

垂直的骨欠損部位へのインプラント治療法は確立されておらず、垂直的骨欠損への人工骨補填材の移植についても検討の余地がある。そのため、垂直的骨欠損の深さと人工骨ブロックの種類に着目した本研究は、非常に重要な情報を与えられよう。今後さらに解析を進めていくことで、リン酸カルシウム系のブロック型人工骨補填材の特性を明らかにし、骨造成方法の確立や新規のインプラント埋入方法への応用など、インプラント治療の進展につながれると考えている。

研究成果の概要(英文)：Information of bone augmentation using artificial bone block is useful for thinking about implantation for atrophic alveolar bone. This study assessed the relation of the depth of bone defect and bone substitutes for vertical bone augmentation. Vertical bone defects were created at a depth of 1.5 mm or 3.5 mm on both sides of the mandible of beagle dogs. The following blocks of two materials were inserted in defects: the blocks of  $\beta$ -TCP + HA (mixture of  $\alpha$ -tricalcium phosphate and hydroxyapatite) and  $\alpha$ -TCP + HA (mixture of  $\beta$ -tricalcium phosphate and hydroxyapatite). The bone including the augmented area was harvested from animals euthanized at six months after augmentation and assessed by means of histology and micro-CT. The present findings implied that the block of  $\beta$ -TCP + HA not  $\alpha$ -TCP + HA might suit as a material for vertical bone augmentation in case of the depth of bone defect is comparative shallow.

研究分野：医歯薬学(口腔解剖学)

キーワード：歯学 歯科用インプラント 垂直的歯槽骨造成 人工骨補填材

## 1. 研究開始当初の背景

現在、歯科インプラント治療は代表的な補綴治療となっており、歯槽骨吸収部位へのインプラント埋入などの難症例も増えている。垂直的骨欠損部位に対しては、皮質骨などを用いて骨移植を行い、一定の治療期間をあけてインプラントを埋入する治療が一般的であるが、いまだに垂直的骨欠損部位へのインプラント治療法の確立には至っていない。

近年、垂直的骨欠損部位へのインプラント治療の手術方法として、自家骨ブロック移植とインプラント埋入の同時手術である Bone Ring technique (Peñarrocha-Diago et al. 2005; Stevens et al. 2010; Tekin et al. 2011) などの新しい方法もみられるようになった。Bone Ring technique では骨移植後の治療期間がなく、治療期間を短縮できる。我々は動物モデルを用いて、この Bone Ring technique の有効性を裏付けた (Nakahara et al., 2016; Nakahara et al., 2017)。

一方、垂直的骨欠損への骨移植材としては、いまだに自家骨が Gold Standard とされている。しかしながら、自家骨を用いた骨移植では、治療部位以外に侵襲を加えなければならないことや、骨の厚みを確保できる採取部位に限られるという欠点がある。そのため、様々な材料、様々な形状の人工骨補填材が生み出されている。

そこで我々は、Bone Ring technique への応用などを見据えて、科学研究費 (研究課題番号 15K20565) をもとに、イヌの垂直的骨欠損作製モデルにハイドロキシアパタイトを添加した  $\beta$ -TCP ( $\beta$ -TCP + HAp)、 $\beta$ -TCP ( $\beta$ -TCP + HAp) のブロック型人工骨補填材を移植した研究を行った。その結果、移植した人工骨補填材の内部や周囲に骨の形成や骨リモデリングがみられたが、人工骨補填材やその周囲骨の吸収も認められた。垂直的骨欠損への人工骨補填材の移植については、検討の余地がある。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、深さの異なる垂直的骨欠損に 2 種類のブロック型人工骨補填材を移植した動物実験モデルを用いて、それぞれの人工骨ブロックの有用性を検証し、至適サイズを検討することである。Micro-CT や組織学的手法を用いて、移植部位やその周囲を解析することで、今回用いた人工骨補填材が自家骨の代替材料となるか、その際の人工骨補填材の厚みの限界点はどこかを明らかにできると考えた。

## 3. 研究の方法 (図 1、2)

本研究は、日本歯科大学新潟生命歯学部 動物実験倫理審査委員会の承認を受けて行った (承認番号 2017-173)。

10 か月齢のビーグル犬 6 匹 (平均 12.3 kg) を用いて、すべての両側下顎前臼歯と第一後臼歯を抜去し、3 か月の治療期間経過後、抜歯部位に片側 2 箇所 of 垂直的骨欠損を作製した。骨欠損は、これまでの歯槽骨欠損モデルを用いた研究を参考にし、直径を 7.5-8.0 mm、深さをこれまでの研究で設定した 5 mm (研究課題番号 15K20565) の約 2/3 (3.5 mm) と約 1/3 (1.5 mm) と設定した。これらの骨欠損に、欠損と同サイズの  $\beta$ -TCP + HAp、 $\beta$ -TCP + HAp のブロックを挿入した (以下各群を  $\beta$ -TCP 1.5 mm、 $\beta$ -TCP 3.5 mm、 $\beta$ -TCP 1.5 mm、 $\beta$ -TCP 3.5 mm と記載)。ブロックは窩洞の下に穴を開け、糸を通して固定した。一定の治療期間の後、骨の形成・リモデリングを確認するため、安楽死 3 週前にアリザリンレッド、1 週前にカルセインという 2 種類の骨ラベリング剤を生体内投与した。骨造成後 6 か月で安楽死させ、骨造成部位とその周囲組織を一塊として採取した。採取した試料は浸漬固定後、Micro-CT 撮影し、硬組織量などの解析を行った。その後、試料を樹脂包埋し、作製した研磨切片のうち移植部位の中央部付近の切片を用いて、共焦点レーザー顕微鏡で骨ラベリング像を観察した。また染色 (Toluidine blue combined with basic fuchsin) を施し、移植部位とその周囲の組織を観察

した。

図 1 : 実験方法の模式図と移植した材料の写真

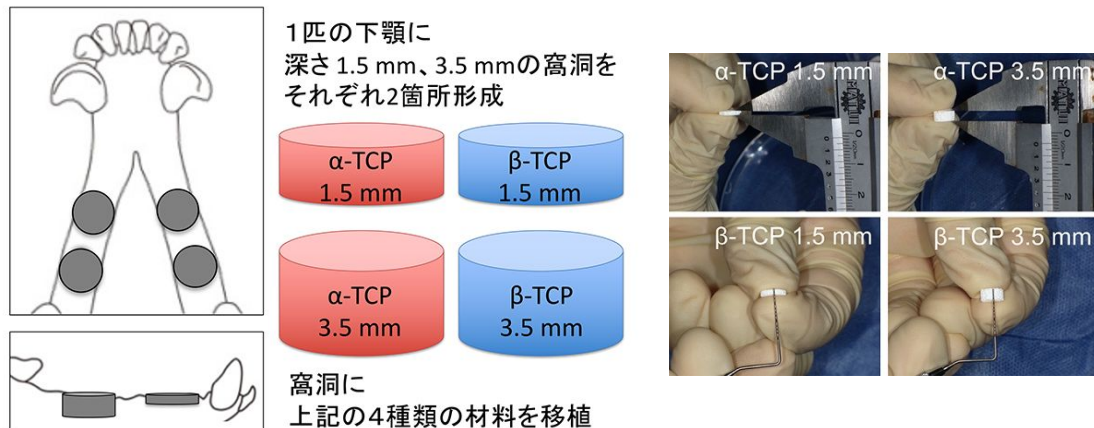
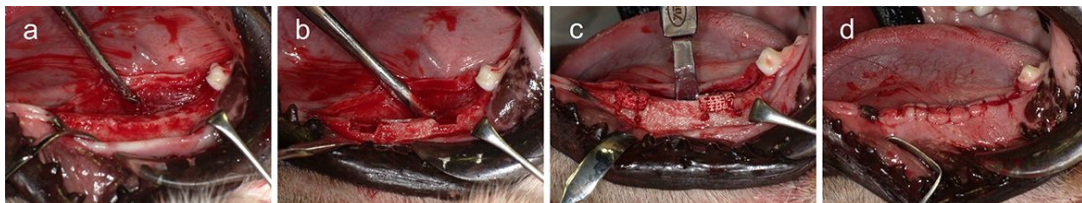


図 2 : 手術中の口腔内の様子



a. 骨窩洞形成前    b. 骨窩洞形成後    c. 骨補填材移植後    d. 縫合後

#### 4. 研究成果

6匹すべてのイヌは術後素早く回復し、その後も研究期間を通じて全身的な問題はなかった。また口腔内においても炎症所見はみられず、被覆粘膜の裂開も起こしていなかった。

##### Micro-CT 像の観察 (図 3)

各グループで様々なサンプルを含んでいた。 図 3 Micro-CT 像

骨と材料を合わせた硬組織の体積は、

-TCP 1.5 mm で中央値 12.75 mm<sup>3</sup>

(最小値 6.36 mm<sup>3</sup>-最大値 28.83 mm<sup>3</sup>)

-TCP 3.5 mm で中央値 63.85 mm<sup>3</sup>

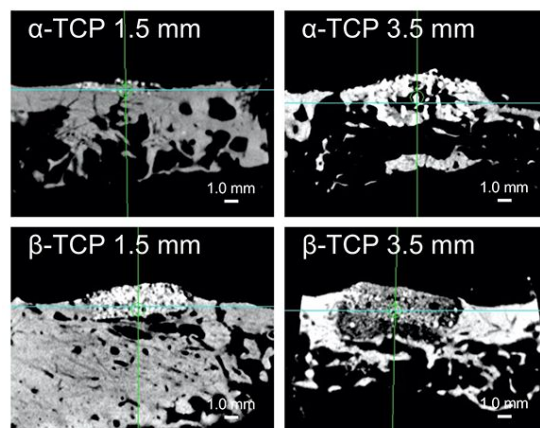
(最小値 46.05 mm<sup>3</sup>-最大値 74.72 mm<sup>3</sup>)

-TCP 1.5 mm で中央値 43.72 mm<sup>3</sup>

(最小値 31.21 mm<sup>3</sup>-最大値 58.74 mm<sup>3</sup>)

-TCP 3.5 mm で中央値 105.45 mm<sup>3</sup>

(最小値 47.41 mm<sup>3</sup>-最大値 114.89 mm<sup>3</sup>)



であった。また全体の組織に占める骨と材料を合わせた硬組織の割合は -TCP 1.5 mm で中央値 19.57%、 -TCP 3.5 mm で 42.84%、 -TCP 1.5 mm で 62.30%、 -TCP 3.5 mm で 66.61% であった。

##### 骨ラベリング像および染色像の観察 (図 4、図 5)

すべてのグループで様々なサンプルがみられた。

-TCP + Hap と -TCP + Hap の材料の形態は大きく異なっていたが、両材料とも 6 か月後の時点で残存していた。どちらの材料においても、移植部位の内部にラベルされた骨が散在してお



り、移植したブロックの内部に新生骨が形成されているようであった。

-TCP 1.5 mm では、移植部位に硬組織が存在しない部分がみられ、窩洞への材料の固定が不十分で、材料の一部が吸収されたことが推察されるサンプルが多くあった。同様に、-TCP 3.5 mm でも移植材料が吸収され、軟組織が存在している様子が観察された。一方で、ラベルされた骨のラインが周囲から移植部位に入り込んでいる様子もみられた。

-TCP 1.5 mm と -TCP 3.5 mm では、材料の形態を反映して小さな円形にラベルされた骨のラインが移植部位内部にみられた。-TCP 3.5 mm では周囲からラベルされたラインが材料の方に入り込んでいる様子も認められた。

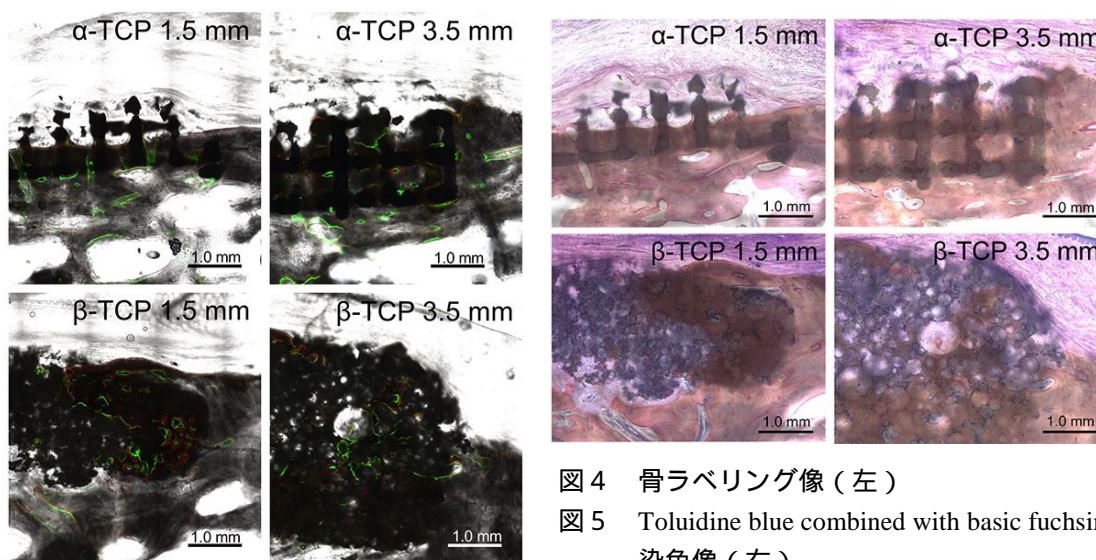


図4 骨ラベリング像(左)

図5 Toluidine blue combined with basic fuchsin 染色像(右)

Micro-CT 解析の硬組織の体積と割合において、今回のどちらの窩洞の深さ(材料の厚さ)でも -TCP + HApの方が大きな値を示したことから、今回の1.5 mm、3.5 mmという深さ(厚さ)では -TCP + HApのブロックの方が吸収されにくいことが推測された。-TCP + HApでは両窩洞で硬組織が少なかったことから、-TCP + HApは窩洞への材料の固定が困難であり、浅い窩洞への移植に向かない可能性が考えられた。特に、1.5 mmで硬組織の占める割合が小さかったことを考えると、このような欠損ではブロック型ではない形態あるいは別の種類の材料を移植すべきかもしれない。組織学的観察において、移植部位の内部や既存骨との境界部で新生骨の形成が行われていることが確認された一方で、材料が窩洞に固定されず、吸収されたような部位が存在し、特に -TCP + HApでよくみられたことは、上記の考察を裏付けているのかもしれない。しかしながら、今回のMicro-CT解析においては骨と骨補填材を分けていないため、明確な示唆を与えることは難しい。また、どちらの材料も今回の治癒期間である6か月では骨や他の組織に完全には置換せず、残存していたため、より長期間での観察により新たな情報が得られると考えられる。

本研究に関して、現在、論文投稿に向けて、組織学的解析および統計学的解析をさらに進めているところである。今後、より詳細な解析を行うことで、ブロック型の人工骨の特性を明らかにしたい。欠損の深さと人工骨ブロックの移植の関係に注目した本研究結果が、骨造成方法の確立、Bone Ring techniqueなどへの応用につながり、今後インプラント治療を進展させると期待している。

#### 引用文献

Peñarrocha-Diago M, Gómez-Adrián MD, García-Mira B, Ivorra-Sais M. Bone grafting

simultaneous to implant placement. Presentation of a case. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005; 10:444-447.

Stevens MR, Emam HA, Alaily ME, Sharawy M. Implant bone rings. One-stage three-dimensional bone transplant technique: a case report. *J Oral Implantol* 2010; 36:69-74.

Tekin U, Kocyigit DI, Sahin V. Symphyseal bone cylinders tapping with the dental implant into insufficiency bone situated esthetic area at one-stage surgery: a case report and the description of the new technique. *J Oral Implantol* 2011; 37:589-594.

Nakahara K, Haga-Tsujimura M, Sawada K, et al. Single-staged vs. two-staged implant placement using bone ring technique in vertically deficient alveolar ridges - Part 1: histomorphometric and micro-CT analysis. *Clin Oral Implants Res* 2016; 27:1384-1391.

Nakahara K, Haga-Tsujimura M, Sawada K, Kobayashi E, Schaller B, Saulacic N. Single-staged vs. two-staged implant placement in vertically deficient alveolar ridges using bone ring technique - Part 2: implant osseointegration. *Clin Oral Implants Res* 2017; 28:e31-38.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
スイス	ベルン大学			