

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：34408

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17106

研究課題名(和文)全体表面酸化ナノ改質による先制医療志向型インプラント周囲炎予防戦略の創製

研究課題名(英文)Creation of preemptive medical-oriented peri-implantitis prevention strategy by nano-modification of surface oxidation

研究代表者

山脇 勲(Yamawaki, Isao)

大阪歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：70805176

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):糖尿病の重症度に応じてグルコース濃度を5.5, 8.0, 12, 24mMの4濃度に調節して硬組織形成を評価したところ、8.0mMで硬組織形成が著しく低下したが、それ以上の高グルコース濃度では逆に硬組織形成が増加した。しかし、骨質をCa/Pのバランスによって評価すると、高グルコース濃度では通常のグルコース濃度で形成された硬組織と比較して、骨質が低下しており、吸収されやすい硬組織が形成されていた。以上の結果から、糖尿病患者でインプラント治療を行う前後の血糖値のコントロールが不十分であると、たとえ硬組織が形成されていたとしても、その後急激に硬組織が吸収されて減少する可能性が高いことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病患者の数は増え続けており、今後の展開は広がる一方である。現在注目されているナノテクノロジーの1つである材料表面のナノ構造制御に着目しており、表面構造制御の方法も比較的簡易であることから様々なインプラント材料への表面構造の改変ができ、生体親和性の著しく向上した抗菌性を有したインプラントの創製が期待できる点である。この結果は歯牙喪失リスクの高い糖尿病患者に対して、血糖値コントロールとインプラントのナノ構造制御をすることで、安全にインプラント手術という選択肢を提示することができ、糖尿病患者のQOLの向上に大きく貢献できるものであると考える。

研究成果の概要(英文): In a population of poorly controlled diabetic patients, biochemical markers of bone resorption were reduced in association with improved glycemic control, suggesting that hyperglycemia in patients with type II DM has an adverse impact on bone metabolism. The dental management of patients with diabetes requires special attention to their treatment planning and management, especially post-treatment. Proactive coordination of care with physicians to help ensure proper glycemic control is critical for long-term successful periodontal and implant prosthesis. Patients should be assessed regularly for statements of implant. If a patient has DM, it should be treated definitively by establishing glycemic control, and controlling other complications managed in coordination with the patient's physician.

研究分野：歯周病学

キーワード：糖尿病 インプラント 硬組織形成

### 1. 研究開始当初の背景

インプラント補綴の有する症例数が増加するにつれて、インプラント周囲炎の報告も増えてきているのが現状である。インプラント周囲炎の罹患率は5年後3.4%、10年後5.8-16.9%とインプラント埋入後の時間経過により高まっていくと報告されている。さらに、生活習慣病で最も罹患患者数が多い糖尿病患者は、非糖尿病患者と比較して歯周病が重症化しやすく、結果的に喪失歯の増加に繋がる。つまり、糖尿病に罹患している患者に対し、インプラント補綴をする機会も今後増加することが予想される。

糖尿病患者におけるインプラント治療は創傷治癒期間が長いとの報告があり、このような患者では不完全なオッセオインテグレーション期間にインプラント周囲炎を惹起させる細菌に晒されるリスクが高いのは明白である。しかし、一旦オッセオインテグレーションが強固に獲得できれば、糖尿病患者においても非糖尿病患者と同程度のオッセオインテグレーション量が獲得できると報告されている。よって、早期オッセオインテグレーションの強固な獲得と歯周病原細菌に対する抗菌性が術後インプラント周囲炎予防の最大の課題として挙げられる。

### 2. 研究の目的

現在、インプラントのチタン表面処理には様々な方法が存在する。我々は10Mの水酸化ナトリウムに24時間の浸漬攪拌処理を行うことで、チタン表面にナノレベルの微細構造を析出し、この酸化ナノ構造析出純チタンが硬組織分化を促進することを報告した。そこでさらに、グルコース濃度がナノレベル表面制御構造チタン表面上での硬組織形成に及ぼす影響について報告している。本研究では、インプラント周囲炎関連菌への抗菌性と早期オッセオインテグレーションを獲得するシステムを解明することを目指し、糖尿病罹患患者に対するインプラント治療の成功率の上昇と長期的な予後良好状態の確立を目的とする。

### 3. 研究の方法

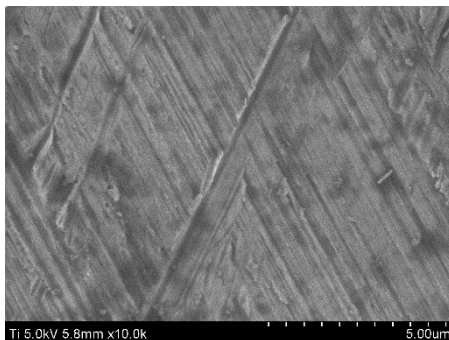
(1) JIS規格2級の純チタンを#1200まで研磨し、10M水酸化ナトリウムに24時間浸漬し、チタン上にナノ構造を析出させ、その後600°Cで1時間の焼成し酸化ナノ構造析出純チタンを作製した。酸化ナノ構造析出純チタンプレート上に糖尿病モデルラットの骨髄間葉系幹細胞を播種し、血糖値を参考にグルコース濃度を5.5、8.0、12、24mMに調節した状態で、硬組織分化を行った。その後、インスリン濃度(0、6.875、27.5、110 $\mu$ U/mL)に調整した培養液にて、同様に硬組織分化への影響を評価した。次に慢性歯周炎・インプラント周囲炎の関連細菌であるPorphyromonas gingivalis菌存在下にて骨髄間葉細胞を培養し、硬組織誘導能、抗菌性、炎症性サイトカインの抑制を評価した。

(2) 酸化ナノ構造析出純チタンプレート上にPorphyromonas gingivalis菌を播種し、24時間後に培養液を除去し、チタン表面に付着したPorphyromonas gingivalis菌を回収し、CDC血液寒天培地にて培養し、コロニー数の測定を行った。

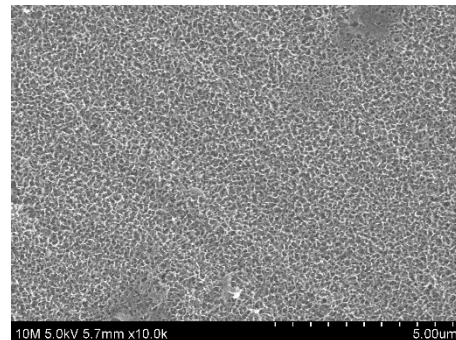
(3) II型糖尿病モデルラットに酸化ナノ構造を析出した純チタンインプラント体を歯周病原細菌存在下にて生体内に埋入した場合、糖尿病ラットのインプラント埋入周囲骨組織に与える組織の評価を行った。

### 4. 研究成果

酸化ナノ構造析出純チタンプレートの表面構造をSEMにて観察したところ、表面にナノレベルの微細なネットワーク状の構造物を観察できた。さらに、チタン表面の元素解析を行ったところ、無処理純チタンと比較して、炭素の著明な減少を認めた。これは、チタン表面の不純物が除去されていることを示唆した。

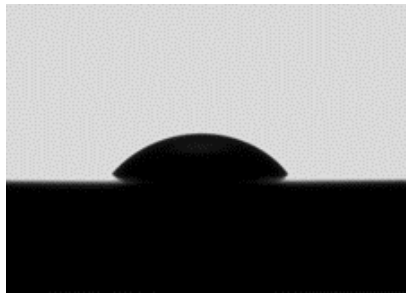


コントロール

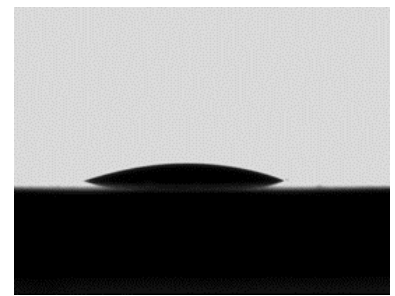


酸化ナノ構造析出純チタン

また親水性については、酸化ナノ構造析出純チタンプレートは無処理純チタンと比較して著明な親水性を獲得していた。



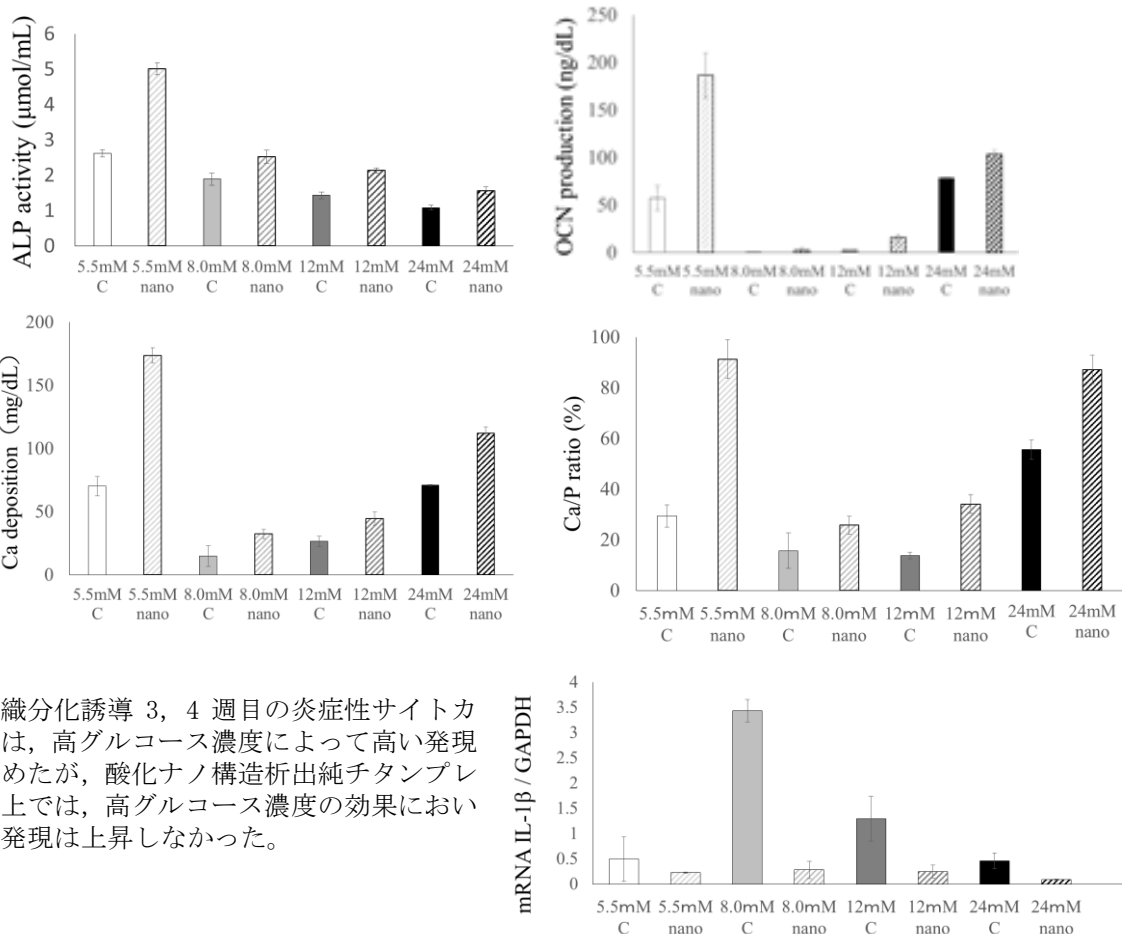
コントロール



酸化ナノ構造析出純チタン

酸化ナノ構造析出純チタンプレート上に糖尿病モデルラットの骨髄間葉系幹細胞を播種し、細胞増殖を評価したところ、酸化ナノ構造析出純チタンプレートは無処理純チタンと比較して有意な細胞増殖を示した。

硬組織分化誘導 1 週目の ALP 活性は両チタン群においてグルコース濃度の上昇とともに減少した。これとは対照的に、硬組織分化誘導 4 週目 OCN 産生量と Ca 析出量がグルコース濃度 8.0 mM で著明に減少したが、8.0 mM より高濃度になるとグルコース濃度上昇とともに増加した。Ca/P 比はグルコース濃度に関係しており、OCN 産生量および Ca 析出量に類似した傾向を示した。

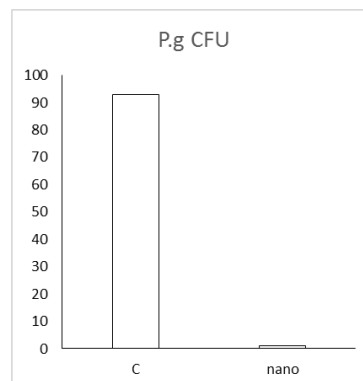


硬組織分化誘導 3, 4 週目の炎症性サイトカインは、高グルコース濃度によって高い発現を認めたが、酸化ナノ構造析出純チタンプレート上では、高グルコース濃度の効果においても発現は上昇しなかった。

以上の結果から、高グルコース濃度では無処理チタン上であっても、酸化ナノ構造析出純チタンプレート上であっても硬組織形成量は増加した。しかしながら、骨質は通常のグルコース濃度と比較して高値を示し、硬組織の状態は硬いが脆い状態である可能性が高いことを示唆した。これは、高グルコース環境になると細胞周囲のグルコース濃度を下げるために OCN を骨髄間葉系細胞から産生した。これが生体内の場合は、産生された OCN が血流に乗って膵臓のβ細胞に作用し、インスリンの分泌を促進する。これにより、結果として生体内のグルコース濃度が減少し、細胞周囲の高グルコース環境も改善される。

高グルコースが原因で OCN の産生が増加したことで、硬組織の析出量もおのずと増加する。しかしながら、ALP の産生量はグルコース濃度の上昇に応じて減少するため、Ca/P 比の増加に繋がる結果となった。

また *Porphyromonas gingivalis* 菌の接着は無処理チタン上と比較して、酸化ナノ構造析出純チタン上ではコロニー数が減少した。骨髄細胞にとっては酸化ナノ構造は増殖しやすい環境であるが、細菌にとっては接着しにくく、増殖しにくい環境である可能性が示唆された。



以上のことから、糖尿病状態でのインプラントを埋入した場合、様々なインプラント表面処理を行ったインプラントであっても、血糖値のコントロールができていない状態であると、オッセオインテグレーションの低下の危険性が高くなり、さらに埋入後であっても、血糖値コントロールが不十分であると骨吸収されやすい硬組織が周囲に形成され、結果としてインプラント周囲炎などを起こすリスクが上昇する可能性が示唆された。今後、糖尿病患者にインプラント治療を行っていく際、患者の血糖コントロールの重要性を再認識する結果となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Noguchi Masahiro, Yamawaki Isao, Takahashi Saitatsu, Taguchi Yoichiro, Umeda Makoto	4. 巻 60
2. 論文標題 Effects of $\alpha$ -tocopherol on bone marrow mesenchymal cells derived from type II diabetes mellitus rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Oral Science	6. 最初と最後の頁 579 ~ 587
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2334/josnusd.17-0422	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 -

1. 著者名 Kei Shiomi, Isao Yamawaki, Yoichiro Taguchi, Daisuke Kimura, Makoto Umeda	4. 巻 29
2. 論文標題 Osteogenic Effects of Glucose Concentration for Human Bone Marrow Stromal Cells after Stimulation with Porphyromonas gingivalis Lipopolysaccharide	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Hard Tissue Biology	6. 最初と最後の頁 17-24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2485/jhtb.29.17	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6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 武 慶超, 山脇 勲, 田口 洋一郎, 塩見 慧, 嘉藤 弘仁, 中田 貴也, 高橋 貴之, 梅田 誠
2. 発表標題 P.gingivalis LPS存在下でのグルコース濃度がヒト骨髄間葉系細胞の硬組織分化に及ぼす影響
3. 学会等名 第153回2020年度秋季日本歯科保存学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 塩見 慧, 山脇 勲, 田口 洋一郎, 野口 正皓, 中垣 直毅, 山岸 信博, 那須 誉, 本城 佳明, 梅田 誠
2. 発表標題 P.gingivalis LPS存在下における高グルコース環境がヒト骨髄間葉系細胞の硬組織分化に及ぼす影響
3. 学会等名 第61回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野口 正皓, 山脇 勲, 田口 洋一郎, 塩見 慧, 小淵 健二郎, 大塚 健司, 中垣 直毅, 山岸 信博, 梅田 誠
2. 発表標題 II型糖尿病モデルラット由来骨髄間葉系細胞に及ぼす -トコフェロールの影響
3. 学会等名 第61回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Isao Yamawaki, Yoichiro Taguchi, Satoshi Komasa, Makoto Umeda
2. 発表標題 Effects of nano modified titanium surface on osteogenic differentiation of diabetes mellitus mesenchymal stromal cells under high glucose concentration.
3. 学会等名 American Academy of Periodontology 103rd Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武 慶超, 山脇 勲, 田口 洋一郎, 塩見 慧, 嘉藤 弘仁, 中田 貴也, 高橋 貴之, 梅田 誠
2. 発表標題 P.gingivalis LPS存在下でのグルコース濃度がヒト骨髄間葉系細胞の硬組織分化に及ぼす影響
3. 学会等名 第63回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 橋本 直季, 山脇 勲, 田口 洋一郎, 東 仁, 梅田 誠
2. 発表標題 ビタミンE添加状態のPorphyromonas gingivalisがヒト骨髄間葉系細胞の酸化ストレスに及ぼす影響
3. 学会等名 第61回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------