

令和 4 年 5 月 28 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10185

研究課題名(和文) 糖尿病患者の骨インプラント結合向上へ向けた抗糖尿病薬とBMP9を用いた新たな試み

研究課題名(英文) An exploratory study on the efficacy of recombinant human bone morphogenetic protein-9 for accelerating bone to implant contact in streptozotocin-induced diabetic rats

研究代表者

橋口 千琴 (HASHIGUCHI, CHIKOTO)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：10596860

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病(DM)は、骨芽細胞の機能障害を初めとする骨代謝に影響を与え歯科用インプラントの骨インプラント結合(BIC)を阻害することが知られている。そこでDMを有する(既往のある)患者におけるインプラント治療において骨形成能およびBICの改善が求められている。そこで今回、高い骨誘導能を有する recombinant human bone morphogenetic protein-9 (rhBMP-9)をインプラント体表面にトレシルクロリド法を用いて吸着させ、糖尿病を誘発した実験動物においてその効果を検証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病は、インスリンの分泌障害、インスリン抵抗性の亢進による慢性高血糖を主徴とし、本邦でも近年患者数が急増している。糖尿病による高血糖は、微小血管・好中球の機能障害等を引き起こし、軟組織の創傷治癒を遅延させ、感染のリスクを引き起こす点からインプラント治療の相対禁忌症の一つに挙げられている。また糖尿病は骨代謝にも少なからず影響を与えるが、糖尿病患者における歯科インプラントの骨インプラント結合に与える影響、さらに効果的な臨床的アプローチについては不明である。高齢化社会が進む今日において、QOLの高い健康やかな生活のためにも骨の健康の維持が社会的に重要視されてきており、本研究の社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Diabetes mellitus (DM) has a deleterious effect on dental implant integration into alveolar bone, thought to arise from impaired osteoblast function and consequent reduced bone turnover. Thus, the development of a novel approach to improve implant integration in patients with DM is strongly required. In this study, we investigated the impact of the coating of recombinant human bone morphogenetic protein-9 (rhBMP-9) using the tresyl chloride method on dental implant osseointegration in streptozotocin-induced diabetic rats.

研究分野：歯周病学部分野

キーワード：インプラント 糖尿病 骨形成 骨誘導蛋白 骨インプラント結合

1. 研究開始当初の背景

糖尿病は、インスリンの分泌障害、インスリン抵抗性の亢進による慢性高血糖を主徴とし、本邦においても近年患者数が急増している。また DM による高血糖は、微小血管・好中球の機能障害等を引き起こし、軟組織の創傷治癒を遅延させ、感染のリスクを引き起こすだけでなく骨代謝にも少なからず影響を与える。さらに歯の喪失の主要因である歯周炎は糖尿病の 6 番目の合併症であることも知られており、その後のインプラントによる咬合回復においてもこのような背景を無視することはできない。そこでその克服、つまり糖尿病の既往のある患者に対して予知性の高いインプラント治療の確立が求められている。これまでインプラント周囲の骨造成や初期固定の増強を期待して様々な骨移植材が用いられているが顎堤のボリューム維持のために非吸収性材料が用いられることが少なくない。しかしながら、露出による感染のリスク等を考慮すると吸収性材料あるいはさらに簡便で効果的なアプローチが有効であると考えられた。そこで、高い骨誘導能を有する骨誘導タンパク (Bone morphogenetic proteins: BMPs) の中でも広く用いられている BMP-2 に比べ低濃度で同等以上の骨誘導能を有する BMP-9 に着目した。

2. 研究の目的

そこで本研究ではインプラント周囲の骨形成を促進すべくチタン表面への BMP-9 を吸着固定化し、糖尿病状態における BMP-9 の徐放による骨形成効果を評価することを目的とした。

3. 研究の方法

In vitro での予備実験後に、in vivo において対象群・糖尿病群のラットに recombinant human BMP-9 (rhBMP-9) をトレシル化によって固定を行った実験的インプラントのオッセオインテグレーションの評価を行った。

(1) チタン表面のトレシル化・rhBMP-9 固定化

Hayakawa らの方法に準じて、チタン表面にトレシルクロリドを滴下し、37℃、48 時間の条件で反応させチタン表面のトレシル化を行ったのちに、BMP-9 (1 µg/ml) 溶液を表面に滴下し、37℃、24 時間の条件で反応させることで rhBMP-9 固定化を行った。

XPS (走査型 X 線光電子分析装置) による表面分析を行い、表面にトレシルクロリド、BMP-9 が固定化されているかを確認を行った。

(2) In vivo における骨インプラント結合の評価

・実験動物

実験動物には、対照群 (H 群) として Wistar ラット、糖尿病群 (DM 群) としてストレプトゾトシン (以下 STZ) を投与した STZ 誘導糖尿病モデルラット (Wistar ラット由来 型糖尿病モデル) を用いた。STZ 誘導糖尿病モデルラットの作製方法としては、Wistar 系ラットに STZ 65mg/kg を腹腔内投与し、1 週間後に血糖測定器で尾静脈から採血した血液にて血糖測定を行い、随時血糖値が 300~350mg/dl 以上の個体を糖尿病モデル動物として使用した。

本実験は鹿児島大学動物実験倫理委員会の承認 (第 D21014) のうえ行った。

・実験用インプラント

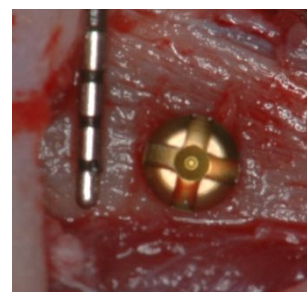
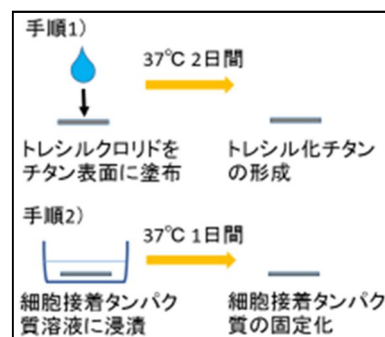
1.2mm × 3.0mm の純チタンスクリューを用いる。Hayakawa らの方法に準じてトレシル化を行ったのちに BMP-9 の固定化を行ったものを実験用インプラントとして用いた。

・インプラント埋入

全身麻酔下で左右脛骨の近位端部を切開、骨面を露出させ、0.9 mm × 4.6 mm の専用ドリルにてインプラント孔を形成し、2) で作製した 1.2 mm × 3.0 mm の実験用インプラント体 [rhBMP-9(+)] および対照インプラント体 [rhBMP-9(-)] を埋入した。処置群として 1) H/rhBMP-9(+), 2) H/rhBMP-9(-), (3) DM/rhBMP-9(+), および (4) DM/rhBMP-9(-) を評価した。

・放射線学的評価

インプラント埋入から 4 週間後に実験動物を安楽死させ両側脛骨を摘出しマイクロ CT にて放射線学的定性評価を行った。



・生体力学的評価(除去トルク値の測定)

インプラント埋入から4週間後に実験動物(半数)を安楽死させ両側脛骨を摘出し、トルクゲージにより、両側脛骨に埋入したインプラントの除去トルク値を計測。

・組織形態計測学的評価

インプラント埋入から4週間後に実験動物を安楽死させ両側脛骨を摘出、非脱灰薄切研磨標本を作製しトルイジンブルー染色後、光学顕微鏡にて新生骨の定量測定を行う。以下の組織形態計測分析を実施した。

A) BIC(%): (骨とインプラントの接触長さの合計/計測点であるスレッド間の表面距離の合計) × 100

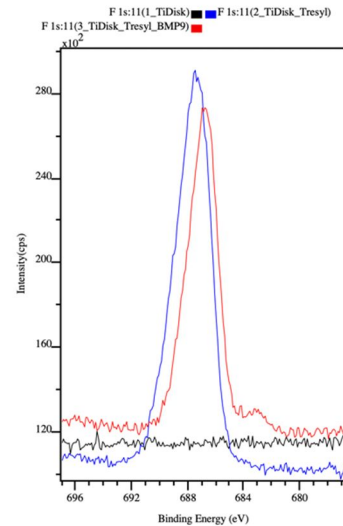
B) BV(%): (新生骨の面積/スクリュー間の面積) × 100

4. 研究成果

In vitro において簡便で確実に固定化できる利点を有するトレシルクロリド法を用いて実験用インプラントにBMP-9の固定化を試みた結果、無処置のインプラントでは検出されなかったF1sのピークがトレシル化を行った試料では認められ、さらにラマン分光分析でもBMPに特異的なジスルフィド結合のスペクトルが認められBMP-9のインプラント体への吸着固定化(右図赤線)が確認された。

In vivo 評価においてマイクロCTの所見を以下に示す。

H/rhBMP-9(+)は4群間で最も骨様組織の形成がインプラント周囲に著名に認められた。H/rhBMP-9(-)はH/rhBMP-9(+)に比べると骨形成が乏しかった。DM群(DM/rhBMP-9(+), DM/rhBMP-9(-))ではH群より骨形成量が少なく、特にDM/rhBMP-9(-)では皮質骨の連続性が一部断絶していた。一方、DM/rhBMP-9(+)ではインプラント体周囲に骨様組織の沈着が進み骨形成が誘導されている所見が得られた。

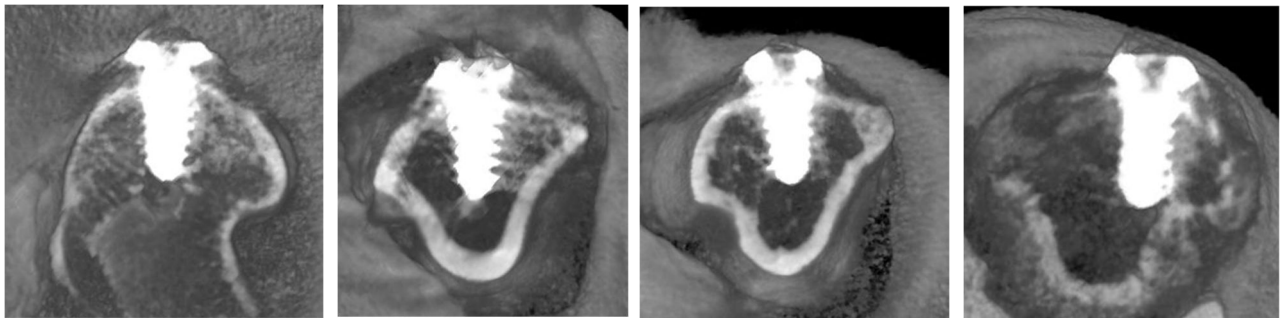


H/rhBMP-9(+)

H/rhBMP-9(-)

DM/rhBMP-9(+)

DM/rhBMP-9(-)



なお、生体力学的評価(除去トルク値の測定)と組織学的評価については動物サンプル数を増やして行っており最終的な解析中であるが、骨誘導タンパク(rhBMP-9)をトレシル化によりインプラント体あるいは生体材料に吸着させられる可能性、さらに生体内で骨誘導能が期待できることが示唆された。

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
研究分担者	白方 良典 (Shirakata Yoshinori) (60359982)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・准教授 (17701)	
研究分担者	中村 利明 (Nakamura Toshiaki) (60381183)	鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・講師 (17701)	
研究分担者	川本 真一郎 (Kawamoto Shinichiro) (70295260)	鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員 (17701)	
研究分担者	野口 和行 (Noguchi Kazuyuki) (90218298)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・教授 (17701)	

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