

機関番号：13101

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592259

研究課題名 (和文) 歯槽骨組織を用いた早期骨粗鬆症診断法の確立
—骨粗鬆症分野への歯科的貢献—研究課題名 (英文) Using alveolar bone tissue to diagnose early-stage osteoporosis:
The establishment of a dentistry-based technique-

研究代表者

田中 みか子 (TANAKA MIKAKO)

新潟大学・医歯学総合病院・講師

研究者番号：20361909

研究成果の概要 (和文)：

歯科インプラント窩洞形成時に成人女性 18 例の下顎臼歯部から歯槽骨を生検試料として採取し、高解像度マイクロCTを用いて歯槽骨の微細骨構造と骨塩量を解析した。その結果、歯槽骨構造が閉経直後に変化していること、全ての歯槽骨パラメータが、いずれかの骨代謝マーカーと有意な相関関係を有していることが明らかとなった。以上より、成人女性歯槽骨の海綿骨構造および骨塩量は、骨代謝マーカーに呼応している可能性が示された。

研究成果の概要 (英文)：

The present study used bone biopsy samples extracted during dental implant preparation, for investigating microstructural changes in alveolar cancellous bone due to menopause, and elucidating relationships between these changes and bone turnover markers.

In the alveolar cancellous bone, bone volume was found to be significantly less in late postmenopausal group than in premenopausal group. In early postmenopausal group, trabecular separation and structure model index (SMI) were significantly higher than in premenopausal group. Each alveolar bone parameter was significantly related to at least one bone turnover marker. The present study therefore revealed changes in alveolar cancellous bone structure even in early postmenopausal women, and also that this structure varies in close relationship to bone turnover markers.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴系歯学

キーワード：歯科補綴学一般、骨粗鬆症

1. 研究開始当初の背景

骨粗鬆症は「骨強度の低下を特徴とし、骨折のリスクが増大しやすくなる骨格疾患」であり、骨強度は骨密度と骨質から決定される。現在、骨粗鬆症の診断は、主に、二重エネルギー X 線吸収測定法 (DXA) による腰椎等の骨密度減少を指標として行われている。近年、より侵襲が少なく短時間で簡単に検査可能な超音波測定法(QUS)も骨粗鬆症をスクリーニングする方法として普及している。

一方、骨質は骨の微細構造、骨代謝回転、微小ダメージの蓄積、石灰化の程度および骨基質の特性により規定されている。骨質を規定する項目の一つである骨代謝回転は、その時点における骨組織内の細胞の活性度を示すものであるが、臨床では血液や尿中の骨代謝産物を指標とする骨代謝マーカーを用いて骨粗鬆症リスクや将来の骨折リスクが間接的に評価されている。骨代謝マーカーは、既に骨量減少が結果として表れている骨密度とは異なり、その時点での骨代謝状態を示しているために、骨量減少が生じる前に、今後の起こりうる骨動態の変化を予測するという意味で検索する価値は高い。

さらに、骨組織の状況をより直接的に知るためには、骨の微細構造を直接見ることが重要である。それは、骨微細構造は、DXA で測定された骨密度よりも早期に変化が現れると考えられるからである。ところが、現在使われている医療用 CT 装置や DXA などの医療用 X 線検査機器は、骨全体の骨塩量測定や皮質骨形態の検索は可能でも、骨微細構造を描出するには解像度が低い。解像度の問題を克服するため高解像度マイクロ CT 装置によって骨微細構造を観察する方法などがあるが、マイクロ CT で撮影するためには生体から摘出した試料を用いる必要がある。従来、

骨代謝疾患患者を対象に、組織診断の目的で腸骨や肋骨の骨生検が行われてきた。しかし、この骨生検は侵襲が大きく、骨粗鬆症のスクリーニングを目的として大勢の健常者を行うことは困難であろう。

近年、歯科領域において骨粗鬆症を診断しようとする動きが活発化している。歯科用パノラマ X 線写真上での下顎骨下縁皮質骨について上縁のエロージョンや菲薄化が注目され、これらと腰椎の骨密度とに関連があるとされている。また、動物実験において、エストロゲン欠乏がサル歯槽骨の骨構造を脆弱化させることが示されている。これらの報告は、ヒト、サルの顎骨や歯槽骨も全身の骨粗鬆症に呼応して変化していることを示している。

2. 研究の目的

前項に記した背景を踏まえ、本研究では、以下に上げる 2 項目を研究目的とした。

- (1) 歯科インプラント窩洞形成時に成人女性の歯槽骨を採取し、それを生検サンプルとして用いる歯槽骨生検法を確立する。
- (2) 閉経に伴う人の歯槽骨の微細構造変化を明らかにし、それらの歯槽骨の微細骨構造変化と全身の骨代謝マーカーとの間に関連性が認められるかどうかを検討する。

3. 研究の方法

(1) 対象

対象は、新潟大学医歯学総合病院の歯科外来にて歯科インプラント治療を受けた患者で、同意を得られ、骨粗鬆症の既往がなく、インプラント埋入部位、すなわち歯槽骨採取部位が下顎臼歯部であり、歯槽骨採取部位が歯を喪失してから 2 年以上経過していること、また採取した歯槽骨試料が海綿骨領域を含んでいた日本人女性 18 名である。

閉経前群；5名（23-48歳、平均37.6±10.4歳）、閉経直後群（閉経後5年以内）；3名（52-58歳、平均54.3±3.2歳）、閉経後群（閉経後6年以上）；10名（60-75歳、平均65.0±4.7歳）の3群に群分けをした（表1）。

ケースNo.	年齢	閉経後経過年数	試料採取部位	歯を喪失後の経過時間	歯を喪失した理由	
閉経前群	1	23	-	小臼歯部	15y	先天欠如
	2	33	-	小臼歯部	25y	先天欠如
	3	37	-	小臼歯部	30y	先天欠如
	4	47	-	小臼歯部	20y	ウ蝕
	5	48	-	大臼歯部	14y	根尖性歯周炎
閉経直後群	6	52	5	小臼歯部	5y	辺縁性歯周炎
	7	53	1	大臼歯部	23y	ウ蝕
	8	58	5	大臼歯部	23y	ウ蝕
閉経後群	9	60	25	大臼歯部	2y3m	根尖性歯周炎
	10	60	19	大臼歯部	20y	根尖性歯周炎
	11	61	8	大臼歯部	20y	ウ蝕
	12	61	26	大臼歯部	30y	不明
	13	65	20	小臼歯部	10y	不明
	14	66	22	大臼歯部	10y	ウ蝕
	15	67	17	大臼歯部	25y	ウ蝕
	16	67	12	大臼歯部	30y	ウ蝕
	17	68	21	大臼歯部	5y	ウ蝕
	18	75	25	小臼歯部	30y	不明

表1 採取試料の概要

(2) 全身的検査

術前に、全身の骨代謝状態の生化学検査として、骨代謝マーカーの血中骨型アルカリフォスファターゼ (BAP)、血中オステオカルシン (OC)、血中I型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTX) と尿中デオキシピリジノリン (DPD) を測定した。踵骨の骨密度を (Speed of sound: SOS) は超音波骨密度測定器 (CM-200®; 古野電機) にて超音波伝搬速度法 (QUS) で測定した。

(3) 医療面接

月経の有無、閉経後の期間や、骨粗鬆症の既往、歯槽骨採取部位の歯を、喪失してからの期間や、喪失理由を聴取した (表1)。また、ステロイドを服用していないこと、全身疾患 (リュウマチ、代謝性骨疾患) の既往がないこと、顎骨への放射線治療や骨造成がないことも確認した。

(4) 歯槽骨生検方法

歯槽骨試料は、インプラント埋入3前に、インプラント埋入部位から、トレフィンバーにて円柱状 (直径2~3mm×長さ3~9mm) に

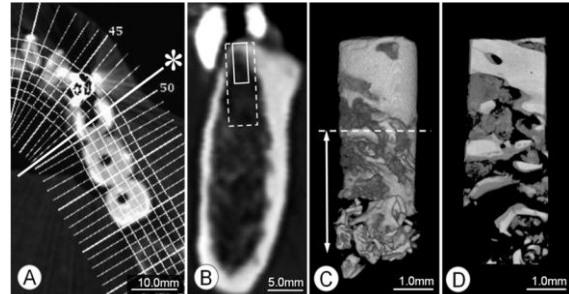


図1 採取された試料

A:医療用CTによるインプラント植立予定部位の水平断面、*印の断面をBに示す
 B:インプラント植立部位の矢状断面 実線が生検試料採取部位、点線は植立するインプラントの外形
 C:採取された試料の3DマイクロCT像であり、点線より下部の海綿骨領域を解析の関心領域とした。
 D:Cの2D画像

採取した (図1)。採取試料を24時間4℃にて4%緩衝ホルマリンに浸漬固定した。

(5) 歯槽骨試料解析

歯槽骨試料は、高解像度マイクロCT装置CT (ELE SCAN; 日鉄エレックス) を用いて撮影し (スライス厚15μm)、微細骨梁構造を観察した。3次元 (3D) 構築画像において、海綿骨領域を関心領域 (ROI) とした (図1C)。

3D骨梁解析ソフト (TRI/3D-BON; ラトック社製) を用いて、歯槽骨海綿骨の骨形態計測 (骨量: BV/TV [%]、骨表面積: BS/BV [1/mm]、骨梁幅: Tb.Th [μm]、骨梁数: Tb.N [1/mm]、骨梁間隙: Tb.Sp [μm]、骨梁中心距離: Tb.Spac [μm]、骨パターンファクター: TBPf [1/mm]、Structure Model Index: SMI) と、歯槽骨海綿骨の骨塩量 (BMD [mg/cm³]) を計測した。

(6) 統計解析法

各計測値は、平均±標準偏差にて表した。統計分析はそれぞれKruskal-Wallis rank testを用い、各群間でのPost-hoc多重比較検定としてScheffe testを用いた。

骨代謝マーカーや踵骨骨密度と、歯槽骨パ

ラメータとの相関関係は Spearman の順位相関係数にて検定した。p 値は 0.05 未満を統計学的に有意な差とした。

(7) 倫理委員会の承認

本研究は新潟大学歯学部倫理委員会の承認を得て行った（承認番号：20-R13-08-06）。

4. 研究成果

(1) 形態学的観察

採取した歯槽骨生検試料は直径 2–3mm、長径 3–9mm の円柱状で（図 2）で、マイクロ CT の 3D 構築画像から、上部の緻密骨領域とそれに連続する海綿骨領域から構成されていることが観察された（図 1C）。

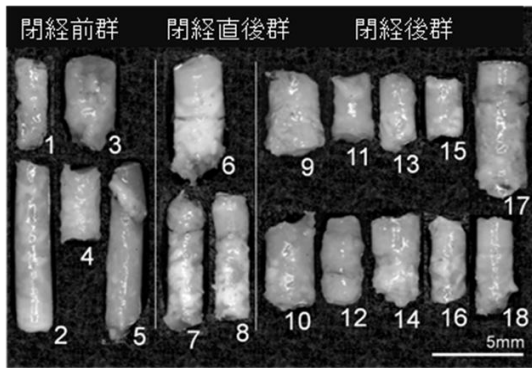


図 2 採取した試料の肉眼所見
番号は表 1 の試料 N 〇 と対応

試料中央部のマイクロ CT スライス画像において、閉経前群では、多くの試料の海綿骨は、骨梁が太く連結性も高く、密であった（図 3）。一方、閉経直後群と閉経後群では、多くの試料で海綿骨の骨梁が菲薄で、骨梁同士の間隔が低下しており粗であった。

(2) 歯槽骨の海綿骨の骨形態計測結果（3 群間の比較）（図 4）

歯槽骨の海綿骨において、骨量（BV/TV [%]）は、閉経後群が閉経前群に比べ、有意に低値を示した。また、骨梁間隔（Tb.Sp [μm]）と Structure Model Index（SMI）は閉経直後群が閉経前群に比べ有意に高値を示した。これは、マイクロ CT 画像の所見と一致していた。

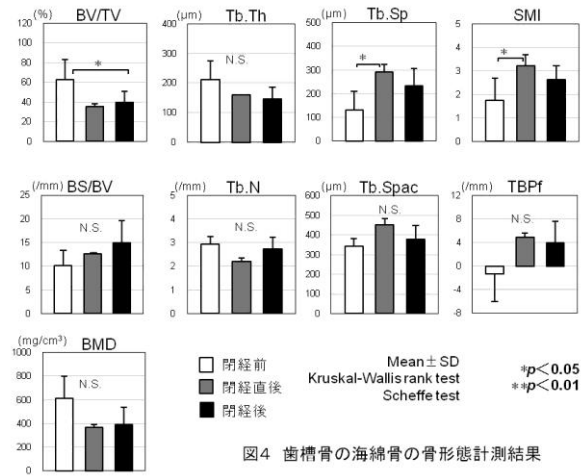


図 4 歯槽骨の海綿骨の骨形態計測結果

(3) 骨代謝マーカーと踵骨骨密度の結果（3 群間の比較）（図 4）

3 群間の比較では、骨代謝マーカーの BAP と OC において、閉経直後群の値が他の 2 群に比べ有意に高値を示していた。踵骨の骨密度において、閉経直後群と閉経後群は閉経前群に比べ、有意に低値を示した。

(4) 歯槽骨パラメータと骨代謝マーカーとの相関関係

歯槽骨パラメータと骨代謝マーカーの相関関係をすべての個体で検索したところ、歯槽骨パラメータのうち、BV/TV、Tb.Sp、TBPf、SMI、BMD はすべての骨代謝マーカーと、BS/BV、Tb.Th は骨代謝マーカーの NTX と、Tb.N、Tb.Spac は骨代謝マーカーのオステオカルシンと、それぞれ有意な相関関係を有していた。特に SMI と BAP、SMI と OC、TBPf と NTX は強い正の相関関係を有していた（ρ（順位相関係数）>0.7）。

(5) 成果のまとめ

- ① 歯槽骨生検法を確立することができた。
- ② 成人女性歯槽骨の海綿骨構造と骨塩量が骨代謝マーカーに呼応していることが示された。
- ③ 卵巣摘出サル顎骨における下顎下縁皮質骨の粗鬆化が、骨代謝回転の上昇に伴うハバース管の拡大によるものであることを組織学的・X 線学的に明らかとし、論文を公表した。

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 2 件)

① Tanaka M, Yamashita E, Anwar B.R, Yamada K, Ohshima H, Nomura S, and Ejiri S: Radiological and histologic studies of the mandibular cortex of ovariectomized monkeys, Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 111(3):372-80, 2011.

② Ejiri S, Tanaka M, Watanabe N, Anwar B.R, Yamashita E, Yamada K, Ikegame M: Estrogen deficiency and its effect on the jaw bones. J Bone Miner Metab, 26(5): 409-415, 2008.

[学会発表] (計 7 件)

① 山下絵美, 田中みか子, 野村修一, 江尻貞一: 歯槽骨を用いた骨粗鬆症診断の可能性を探る —歯槽骨骨構造と骨代謝マーカーとの関連性—. 第21回日本老年歯科医学会総会・学術大会, 新潟, 2010. 6. 25-26, 老年歯学, 25(2): 250-251.

② 山下絵美, 田中みか子, 櫻井直樹, 山田一穂, 荒井良明, 魚島勝美, 野村修一, 江尻貞一: ヒト歯槽骨の骨構造と全身の骨代謝マーカーとの関係. 日本補綴歯科学会第119回学術大会, 東京, 2010. 6. 11-13, 日補綴会誌, 2 (第119回特別号) : 94.

③ 山下絵美, 田中みか子, 松尾 朗, 野村修一, 江尻貞一: 第30回日本骨形態計測学会, 学術奨励賞. ヒト歯槽骨生検試料の骨構造および骨塩量と全身の骨代謝マーカーとの関係. 第30回日本骨形態計測学会, 米子, 2010, 日骨形態誌, 20: S61.

④ 山下絵美, 田中みか子, 松尾 朗, 野村修一, 江尻貞一: 歯槽骨生検試料を用いた全身骨動態スクリーニングの試み. 第29回日本骨形態計測学会, 大阪, 2009, 骨形態誌, 19(1): S71.

⑤ Tanaka M, Yamashita E, Anwar RB, Ohshima H, Nomura S, Ejiri S: Microstructural and histological studies of the mandibular cortex of ovariectomized monkeys. The 38th international Sun Valley workshop on skeletal tissue biology, Sun Valley, Idaho, USA. 2008.

⑥ Anwar RB, Tanaka M, Yamashita E, Watanabe N, Ali MN, Ohshima H, Ejiri S: Relationship between estrogen deficiency-induced oral bone loss and systemic osteoporosis. The 38th international Sun Valley workshop on skeletal tissue biology, Sun Valley, Idaho, USA. 2008.

⑦ Yamashita E, Tanaka M, Sakurai N, Anwar RB, Nomura S, Ohshima H, Ejiri S: Micro-structural observation and histological analysis of human alveolar bone biopsy from an implant recipient site. The 38th international Sun Valley workshop on skeletal tissue biology, Sun Valley, Idaho, USA. 2008.

[その他]

ホームページ等 0 件

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中みか子 (MIKAKO TANAKA)
新潟大学・医歯学総合病院・講師
研究者番号: 20361909

(2) 研究分担者

江尻貞一 (SADAKAZU EJIRI)

朝日大学・歯学部・教授
研究者番号: 40160361

山田一穂 (KAZUHO YAMADA)

新潟大学・医歯学総合病院・医員
研究者番号: 20397152

松尾 朗 (AKIRA MATSUO)

東京医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70229417

(H22：連携研究者)

山本智章 (NORIAKI YAMAMOTO)

新潟医療福祉大学・骨の科学研究所・

転倒 予防センター所長

研究者番号：30445902

(H22-23：連携研究者)

櫻井直樹 (NAOKI SAKURAI)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：50251830

(H22-23：連携研究者)

(3)連携研究者

松尾 朗 (AKIRA MATSUO)

東京医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70229417

(H21-22：分担研究者)

山本智章 (NORIAKI YAMAMOTO)

新潟医療福祉大学・骨の科学研究所・

転倒 予防センター所長

研究者番号：30445902

(H20：分担研究者)

櫻井直樹 (NAOKI SAKURAI)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：50251830

(H20：分担研究者)