

令和 5 年 5 月 19 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18574

研究課題名（和文）BDNFを用いた新規インプラント周囲炎治療法開発の基礎研究

研究課題名（英文）Basic research on the novel treatment for peri-implantitis using BDNF

研究代表者

佐々木 慎也（SASAKI, Shinya）

広島大学・病院（歯）・助教

研究者番号：60848000

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）：抜歯した部位に歯を補う治療法の一つであるインプラント治療においては、治療後にインプラントに細菌が感染し、インプラントを支えている骨が溶けるインプラント周囲炎が問題になっている。溶けた骨を再生させる治療は、現状ではほとんど実現されていない。そこで本研究では、脳由来神経栄養因子（BDNF）を従来の治療法に組み合わせて使用する実験を行った。その結果、骨の再生がBDNFによって促進されるということが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インプラント周囲炎に罹患すると、周囲粘膜の腫脹・疼痛や排膿などの症状が出現し、咀嚼障害や審美障害を生じる。また、天然歯の場合よりインプラント周囲炎では炎症が広範囲に広がりやすいといわれ、全身への悪影響が懸念される。インプラント治療の普及に伴い、インプラント周囲炎の患者数も増加傾向にあり、有効な治療法の開発が望まれる。本研究でBDNFがインプラント周囲の骨再生に有用である可能性が示されたことは、多くの患者の口腔および全身の健康増進に資する新規治療法の開発につながる。

研究成果の概要（英文）：Dental implant, which is one of the treatments for tooth loss, often has a problem of peri-implantitis. It is caused by bacterial infection around the implants and symptoms are inflammation of the peri-implant tissue and bone resorption. Treatment for bone regeneration has hardly been realized at present. Therefore, in this study, we conducted an experiment using brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in combination with conventional treatment. As a result, it is suggested that BDNF promotes bone regeneration around implants.

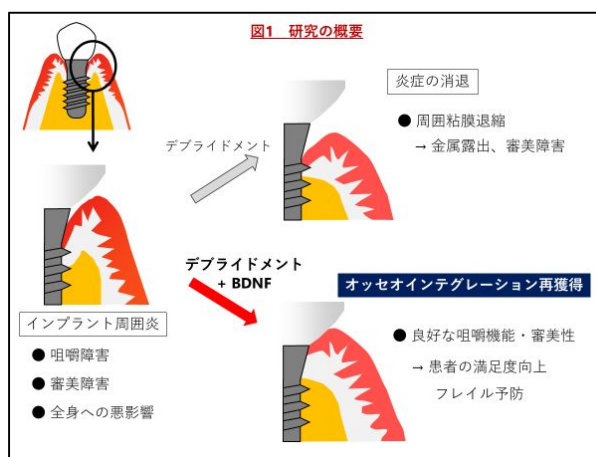
研究分野：歯科学（歯周病学）

キーワード：脳由来神経栄養因子（BDNF） インプラント周囲炎 再生治療

1. 研究開始当初の背景

う蝕や歯周炎、歯根破折などで歯を失った際の欠損補綴の選択肢の一つにインプラント治療があり、近年急速に普及している。一方でそれに伴い、インプラント周囲炎の患者数も増加し問題となっている。インプラント周囲炎はインプラント周囲組織に細菌感染が生じて骨が破壊される慢性炎症である。天然歯とは周囲組織のコラーゲン線維の走行が異なるために、インプラントと周囲軟組織の結合は天然歯よりも弱く、インプラント周囲炎では細菌感染や炎症の広範囲への波及が生じやすいとされる。インプラント周囲炎に罹患すると、インプラントの動揺や粘膜退縮などの症状が出現し、咀嚼障害や審美障害を生じる。また、インプラント周囲炎も歯周炎と同様の慢性炎症であるため、全身に悪影響を与える可能性があると考えられる。以上のことから、インプラント周囲炎の治療成績を向上させることは非常に重要な課題であるといえる。インプラント周囲炎の治療は、原因菌を除去することで炎症を消退させ、インプラント体と顎骨の結合(オッセオインテグレーション)を回復させることが目的となる。しかしながら、現状ではオッセオインテグレーションを再生させる確実性の高い治療法はない。インプラント周囲炎の一般的治療法として、インプラント周囲の外科的デブリドメントが挙げられる。この治療によって炎症を消退させることは可能だが、失った骨を再生させるのは困難とされる。歯周組織再生用材料であるエナメルマトリックスデリバティブや異種骨である脱タンパクウシ骨ミネラルを用いて治療成績を向上させる研究もなされているが、これらは動物に由来するもので安全性が担保されているとはいえず、骨欠損の形態によって適応範囲が大きく制限される。以上のように、インプラント周囲炎に対して有効であるといえる再生治療法は未だなく、新規治療法の開発が望まれている。

本研究でインプラント周囲の骨再生への有用性を検討した脳由来神経栄養因子(BDNF)は、天然歯の歯周組織再生において有利にはたらくことが分かっているが、インプラント周囲炎における骨再生(オッセオインテグレーションの再獲得)に応用した例はない。BDNFはサイトカインの一種であり、歯周組織構成細胞の機能を調節し、破壊された歯周組織を再生することが *in vivo*、*in vitro* の両面で示されている。その最大の特徴は、組織再生を阻害する因子である歯肉上皮細胞のアポトーシスを誘導することである。また、BDNFは人工合成されるため、動物由来材料に比べ安全性が担保できる。これらの特徴を有することから、BDNFがインプラント周囲骨の再生に有用であると考えた。



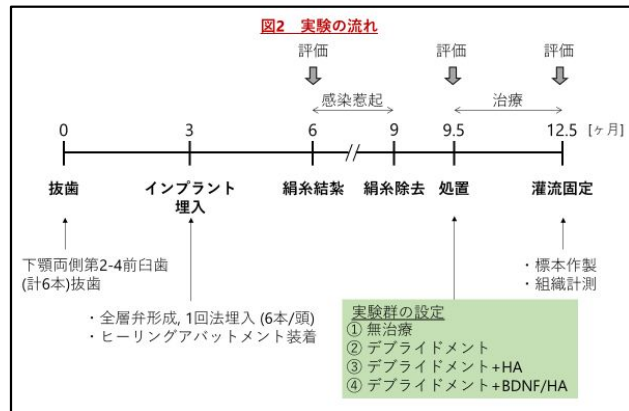
2. 研究の目的

本研究ではインプラント周囲炎に罹患した部位にデブリドメントを施し、高分子ヒアルロン酸ゲルを担体として BDNF を塗布することで、デブリドメントのみでは通常困難とされるオッセオインテグレーションの再獲得(インプラント周囲骨の再生)が可能であるか検証することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ビーグル犬インプラント周囲炎モデルの作製

ビーグル犬（12～20月齢、メス）の下顎両側第2～4前臼歯を抜歯し、抜歯窩治療後（2ヶ月後）に片側3本ずつインプラント（GC IMPLANT Re 3 SETi0®Plus）を埋入した。埋入は1回法で行い、ヒーリングアパットメントを装着して3ヶ月間放置しオッセオインテグレーションの成立を待った。その間、3日に一度のブラッシングとインプラント周囲の洗浄を行い、衛生状態を保持した。埋入から3ヶ月後にエックス線規格撮影、プローピング（ポケット深さとアタッチメントレベル、プローピング時の出血を記録）およびインプラント安定指数（ISQ値）測定を行い、オッセオインテグレーションの成立を確認した。その後ヒーリングアパットメント周囲に3-0絹糸を五重に結紮することでインプラント周囲炎を惹起した。絹糸は3ヶ月間保持し、絹糸を除去して2週間後にインプラント周囲炎の状態を評価した。評価は絹糸結紮前と同様の内容で行い、その直後に10%ホルマリンで灌流固定し、インプラントとその周囲組織を含めた組織標本作製した。組織標本は近遠心方向に薄切した研磨標本で、HE染色により骨形態や粘膜の炎症状態などを観察した。また、同様に作製したインプラント周囲炎モデルのうち1本を意図的に抜去し、走査型電子顕微鏡でインプラント体表面の状態を観察した。



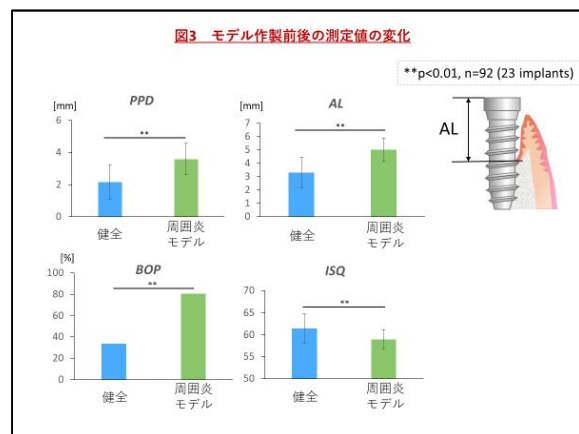
埋入から3ヶ月後にエックス線規格撮影、プローピング（ポケット深さとアタッチメントレベル、プローピング時の出血を記録）およびインプラント安定指数（ISQ値）測定を行い、オッセオインテグレーションの成立を確認した。その後ヒーリングアパットメント周囲に3-0絹糸を五重に結紮することでインプラント周囲炎を惹起した。絹糸は3ヶ月間保持し、絹糸を除去して2週間後にインプラント周囲炎の状態を評価した。評価は絹糸結紮前と同様の内容で行い、その直後に10%ホルマリンで灌流固定し、インプラントとその周囲組織を含めた組織標本作製した。組織標本は近遠心方向に薄切した研磨標本で、HE染色により骨形態や粘膜の炎症状態などを観察した。また、同様に作製したインプラント周囲炎モデルのうち1本を意図的に抜去し、走査型電子顕微鏡でインプラント体表面の状態を観察した。

(2) BDNFのインプラント周囲組織再生効果の検討

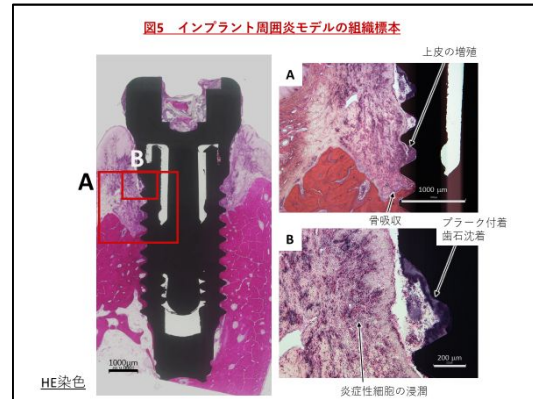
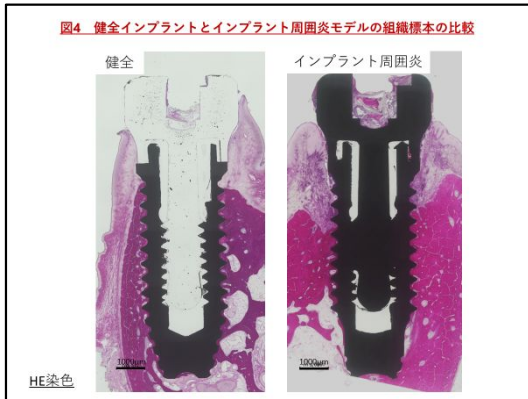
(1)の方法で作製した実験的インプラント周囲炎モデルを無治療群、デブライドメントのみ行う群（デブライドメント群）、デブライドメント後に高分子ヒアルロン酸(HA)ゲルを塗布する群（HA群）、デブライドメント後にBDNF/HA複合体ゲルを塗布する群（BDNF群）の4つに分け、それぞれの処置を行った。デブライドメントはPEEK製チップを装着した超音波スケーラーを用いて非外科的に行った。それぞれの群は処置後3ヶ月間、3日に一度のブラッシングとインプラント周囲の洗浄により衛生状態を保持した。3ヶ月経過した時点で(1)と同様に評価および灌流固定、組織標本の作製を行った。

4. 研究成果

作製した実験的インプラント周囲炎モデルは、絹糸を結紮しなかった健全なインプラントと比べ、ポケット深さ(PPD)が平均1.4mm増加、アタッチメントレベル(AL)が平均1.7mm増加、プローピング時出血(BOP)が33%から80%に増加、インプラント安定指数(ISQ)が平均2.6減少した(図3)。PPDやAL、BOPの増加は炎症の増悪や骨吸収を意味し、この結果はインプラント周囲に炎症と骨吸収が生じたことを示している。組織標本の



観察では、健全なインプラントと比較して粘膜の炎症と骨吸収、上皮の増殖によるポケット形成が認められた(図4, 5)。



このモデルに処置を行った4群について、無治療群ではPPD、AL、BOPはさらに増加し、エックス線的に骨再生は見られなかった。組織標本でも高度の炎症と骨吸収が見られ、インプラント周囲炎が無治療で治癒することはなかった。デブライドメント群とHA群では、PPD、ALがわずかに減少したものの統計学的に優位な差はなかった。BOPは無治療群と比較して減少しており、炎症が抑制されたと考えられる。エックス線的に骨再生は見られず、組織標本では炎症は残存し、骨吸収を認めた。一方、BDNF群の結果からは、インプラント周囲炎に対してBDNFをデブライドメントと組み合わせて使用することで、炎症の抑制と骨再生を促進することが示唆された(結果の詳細は、特許出願手続き中であるため一時的に公表を差し控えている)。

本研究で作製したインプラント周囲炎モデルは、ヒトのインプラント周囲炎に認められる所見と合致しており、ヒトのインプラント周囲炎を適切に模倣していると考えられる。絹糸を五重に結紮するという作製方法はこれまでに知られておらず、簡便にインプラント周囲炎の実験モデルを作製できるため、今後の様々なインプラント関連の研究に広く応用できる。また、BDNFによってインプラント周囲の骨再生が促進されたという結果は、インプラント周囲炎治療の成績向上につながる。すなわち、従来のデブライドメントによる炎症抑制がメインの治療法に比べ、機能的にも審美的にも患者の満足度を向上させることができる。さらに、咀嚼機能が良好に保たれることで栄養状態の低下を防ぐことができ、フレイルの予防、全身の健康増進にもつながるため、本研究は大変意義深いといえる。

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 0件）

1. 著者名 Sasaki Shinya, Takeda Katsuhiko, Ouhara Kazuhisa, Shirawachi Satomi, Kajiya Mikihiro, Matsuda Shinji, Kono Shoko, Shiba Hideki, Kurihara Hidemi, Mizuno Noriyoshi	4. 巻 48
2. 論文標題 Involvement of Rac1 in macrophage activation by brain-derived neurotrophic factor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Biology Reports	6. 最初と最後の頁 5249 ~ 5257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11033-021-06531-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwata Tomoyuki, Kaneda Ikeda Eri, Takahashi Keita, Takeda Katsuhiko, Nagahara Takayoshi, Kajiya Mikihiro, Sasaki Shinya, Ishida Shu, Yoshioka Minami, Matsuda Shinji, Ouhara Kazuhisa, Fujita Tsuyoshi, Kurihara Hidemi, Mizuno Noriyoshi	4. 巻 58
2. 論文標題 Regulation of osteogenesis in bone marrow derived mesenchymal stem cells via histone deacetylase 1 and 2 co cultured with human gingival fibroblasts and periodontal ligament cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Periodontal Research	6. 最初と最後の頁 83 ~ 96
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jre.13070	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	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 堀越励、加治屋幹人、本池総太、小川智也、曾根久勝、吉井寛毅、森本慎、吉野舞、佐々木慎也、岡信愛、松田真司、岩田倫幸、應原一久、水野智仁
2. 発表標題 軟骨分化誘導を施した間葉系幹細胞集塊Clumps of MSCs/ECM complexesによる骨再生効果の検討
3. 学会等名 第59回広島県歯科医学会
4. 発表年 2020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
研究協力者	武田 克浩 (TAKEDA Katsuhiko)		
研究協力者	河野 祥子 (KONO Shoko)		

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