

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：34408

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18621

研究課題名（和文）糖尿病患者の生体内環境再現下における新規インプラント治療の創生

研究課題名（英文）Creation of new implant treatment under the reproduction of the in vivo environment of diabetic patients

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） 2,000,000円

研究成果の概要（和文）：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。また、糖尿病は生活習慣病の一つで、発症・進行において歯周病と双方向性が認められ、オッセオインテグレーションおよびインプラントの成功率を低下させるとの報告も散見されるが、確たるエビデンスを有する有効な方法は見当たらない。そこで本研究では、さらに糖尿病患者の生態環境を再現するため、インスリン添加状態における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ている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

元来、糖尿病患者はインプラント手術を避けてきた節があるが、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。インプラント表面構造制御の方法も安全かつ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のリスクの高い糖尿病患者に対して、血糖値とインスリン濃度をコントロールし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られる。

研究成果の概要（英文）：As the number of cases with implant prosthesis increases, the number of reports of peri-implantitis is increasing. In addition, diabetes is one of the lifestyle-related diseases, and there are some reports that the onset and progression of diabetes are bidirectional with periodontal disease, and that it reduces the success rate of osseointegration and implants. Therefore, in this study, in order to further reproduce the ecological environment of diabetic patients, we aim to elucidate the system that acquires antibacterial properties against peri-implantitis-related bacteria and early osseointegration in the insulin-supplemented state.

研究分野：歯周病学

キーワード：インプラント

### 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%であった。特に生活習慣病のトップに挙げら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されれば、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。申請者は、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。そこで本研究では、さらに糖尿病患者の生体環境を再現するため、インスリン添加状態における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ている。

### 2. 研究の目的

本研究の学術的な特色は、元来、糖尿病患者は、インプラント手術を避けてきた節があるが、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安全かつ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のリスクの高い糖尿病患者に対して、血糖値とインスリン濃度をコントロールし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。

表面処理を行ったチタン上では、高グルコース濃度で硬組織形成は増加したが、硬組織の質は低下したと示唆された。すなわち、糖尿病による高血糖状態はナノレベル表面構造制御チタン表面において、インプラントフィクスチャーの初期固定やインプラント周囲炎予防に重要な役割を果たす骨髄細胞の硬組織形成に影響を及ぼすことが示唆された。

このようなナノレベルでの表面構造制御により糖尿病患者に対しても早期の硬組織形成を促し、早期オッセオインテグレーション獲得と抗菌性を兼ね備えた新規インプラント材料を創製し、糖尿病患者におけるインプラント周囲炎に対して、インプラント体表面処理を行い、バイオフィーム形成阻害能及び抗菌性と早期オッセオインテグレーション獲得を付与する先制医療概念での開発を目的とする。

### 3. 研究の方法

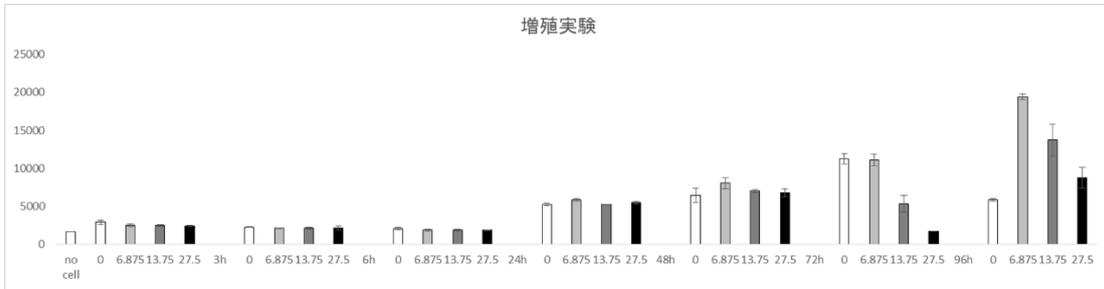
至適インスリン濃度を策定するために0, 6.875, 27.5, 110  $\mu$ U/mLに調整した増殖培地を用いて、糖尿病モデルラット大腿骨由来の骨髄間葉系細胞の増殖試験を行った。

JIS規格2級の純チタンプレートを自動研磨機(PLATO FSA-8, SANKEI, Tokyo, Japan)を用いて#1200と#2400まで研磨し、アセトン、アルコール、超純水にて洗浄を行った。純チタンプレートを10M水酸化ナトリウム水溶液に室温で24時間浸漬し、加熱処理を行うことによって、表面に酸化ナノ構造(TNS構造)を析出した。酸化ナノ構造析出純チタンプレート上にグルコース濃度(5.5, 8, 12, 24mM)とインスリン濃度6.875U/mLを添加し調整した培養液にて糖尿病モデルラット大腿骨由来の骨髄間葉系細胞の分化を行った。細胞増殖試験、ALP活性、OCN産生量、Ca析出量を測定した。

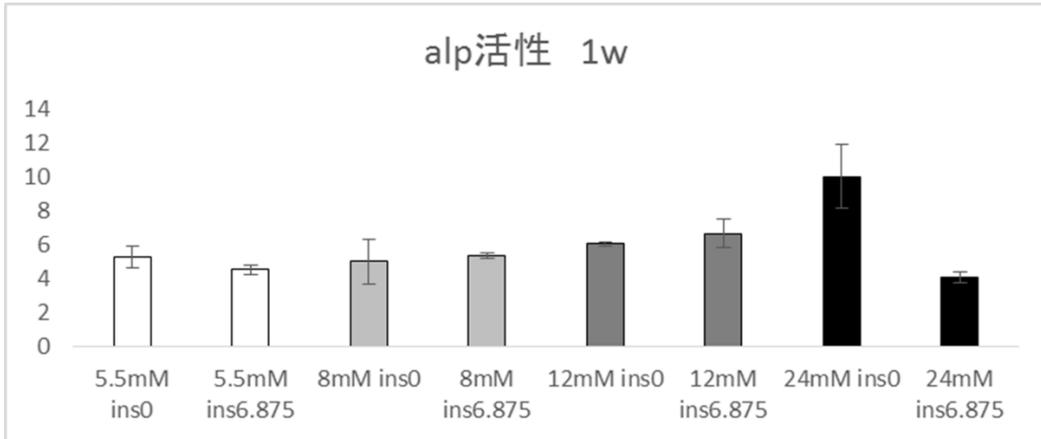
慢性歯周炎・インプラント周囲炎の関連細菌である *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* 各菌存在下にて骨髄間葉細胞を培養し、硬組織誘導能、抗菌性、炎症性サイトカインの抑制を評価した。酸化ナノ構造析出純チタンプレート上での各細菌接着試験・バイオフィーム形成試験を行った。

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。

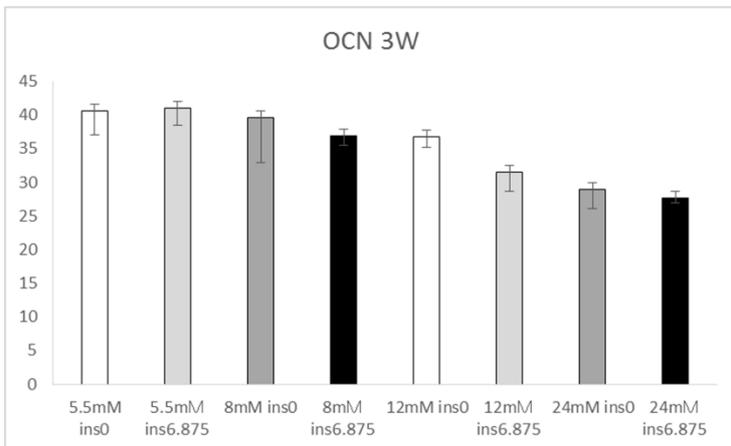
### 4. 研究成果



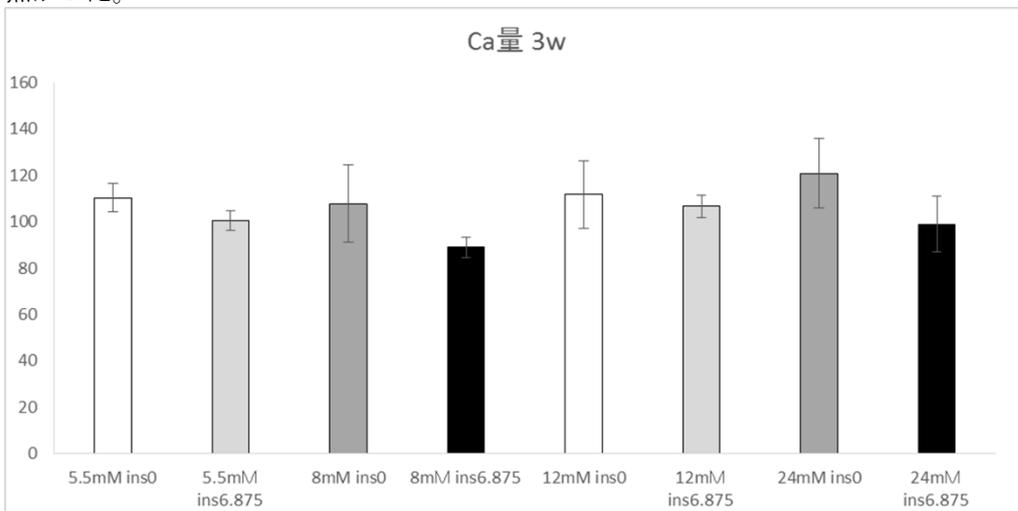
インスリン濃度 0, 6.875, 27.5, 110  $\mu$ U/mL で増殖試験を行った結果, 6.875U/mL で有意に細胞が増殖したことから, インスリンの至適濃度を 6.875U/mL として, 分化実験を行うこととした。



ALP 活性はグルコース濃度 5.5mM~12mM ではインスリン添加により変化は無かったが, 24mM では有意に低下した。



OCN 産生量はグルコース濃度 12mM のみインスリン添加により低下し, その他の濃度では変化は無かった。



Ca 析出量はグルコース濃度 12mM 以外でインスリン添加により減少する傾向を示した。

細菌の存在下における分化実験を現在行っているが、細菌の LPS ではなく生菌を使用しているためデータが安定せず、手技を再検討し実験を繰り返している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 梅田 誠, 田口 洋一郎, 嘉藤 弘仁, 山内 伸浩, 山脇 勲, 今井 一貴	4. 巻 64
2. 論文標題 歯周病やインプラント周囲炎の治療戦略におけるLight Emitting Diodeの可能性	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本歯科保存学雑誌	6. 最初と最後の頁 308-313
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 武 慶超, 山脇 勲, 田口 洋一郎, 嘉藤 弘仁, 尾松 系樹, 森 祥太郎, 梅田 誠
2. 発表標題 酸化膜形成純チタン金属表面上におけるII型糖尿病モデルラット骨髄由来間葉系細胞の硬組織分化制御に及ぼすグルコース濃度の影響
3. 学会等名 第64回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武 慶超, 山脇 勲, 津守 紀昌, 東 仁, 緒方 智壽子, 田口 洋一郎, 梅田 誠
2. 発表標題 グルコースが骨髄間葉系細胞の幹性と硬組織形成に及ぼす影響
3. 学会等名 第64回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2021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 貫之, 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学術大会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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