

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22390368

研究課題名(和文)ナノレベル骨微細構造解析によるインプラント荷重条件の解明

研究課題名(英文)Clarification of implant loading condition on the basis of nanometer level structural analyses

研究代表者

澤瀬 隆 (Sawase, Takashi)

長崎大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：80253681

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,200,000円、(間接経費) 4,560,000円

研究成果の概要(和文)：骨組織は動的荷重に应答しリモデリングを行い、その骨量と骨質は適応変化を示す。本研究は動的荷重下のインプラントにおいて、骨組織ハイドロキシアパタイト結晶の配向性に着目し、インプラント周囲骨の微細構造を意識したナノレベルの質的解析を行うことで、インプラント荷重条件の一端を明らかにすることである。その結果、荷重の時期、一定範囲の荷重量と荷重頻度はインプラント周囲の骨形成を有意に促進し、さらに荷重方向に沿ったハイドロキシアパタイト、コラーゲン線維の走行ならびに骨細胞の細管伸展と相関することが示された。

研究成果の概要(英文)：Bone is remodeled in response to dynamic loading, resulting in the adaptation of bone quantity and bone quality. The aims of this study were to clarify the effects of mechanical loading on osseointegration and bone quality and quantity around dental implants. Osseointegration, bone quantity, BMD, and bone quality, as defined by osteocyte numbers and the preferential alignment of biological apatite (BAP) c-axis/collagen fibers, were assessed using histomorphometric analyses, microcomputed tomography, polarized light microscopy and microbeam X-ray diffractometer. The time of initiation, the volume and the repetition of loading have vigorously enhanced osseointegration and bone quantity. BMD was also increased. Moreover, bone quality around dental implant was markedly improved with increased osteocyte numbers and preferential alignment of BAP c-axis/collagen fibers.

研究分野：歯学

科研費の分科・細目：補綴理工系歯学

キーワード：オッセオインテグレーション 骨質 配向性 コラーゲン 生体アパタイト 骨密度

1. 研究開始当初の背景

荷重下のインプラント周囲骨の動態において、適正な反復荷重はその機能に適合した骨形成をもたらすという Wolff の法則が認知されており、早期荷重を理論的に肯定する一つの根拠とされている。ではどの時点で荷重を加えるのが望ましいのか？残念ながら、骨形成がどの程度進んでからという具体的な指針はなく、従来からの組織学的なアプローチによる、骨形態計測学的な評価や、骨の強度の指標とされる骨密度だけでは十分とは言えない。そこで形成される骨の力学機能を解析し得る新しい骨質の評価法が希求されている。

2. 研究の目的

本研究では、骨組織ハイドロキシアパタイト結晶の配向性に着目し、インプラント周囲骨の微細構造を意識したナノレベルの質的解析を行うことで、適正な量あるいは時期の荷重は、それに順応する再配向をもたらす、また過度の荷重に対しては、配向性の乱れが生じ、結果として骨吸収を引き起こすという仮説を立て、バイオメカニカルな視点から材料工学的な手法でインプラント周囲骨と力学機能の相関を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

インプラントへの咀嚼荷重付与には、イヌおよびサル等の顎骨にインプラントを埋入し解析する研究を多く認めるが、実験動物の顎運動はヒトと異なり、また食餌の違いからどれくらいの荷重が負荷されているのかの定量性に劣り、さらに観察期間（荷重期間）は短期的なもので、臨床における経年的な影響への示唆は乏しい。そこで本実験ではコントロールした繰り返し荷重を与えるモデルとして、家兎脛骨の使用を計画した。本研究に使用可能な荷重試験器既製品は見当たらないため、自作にて作製する。荷重条件は、荷重開始時期、荷重量、荷重頻度を変化させ、様々な荷重条件における骨反応を比較検討した。試験後実験動物から得られた試料は、インプラント周囲骨組織と共に μ CT 撮影を行った後、通法によって固定脱灰後レジン包埋を施し、インプラント中央から $100\mu\text{m}$ 厚の標本を 2 枚薄切した。うち 1 枚は研磨標本として $20\mu\text{m}$ まで研磨を行い、骨形態計測ならびにコラーゲン配向性、骨細胞カウント用の標本とした。残り 1 枚は脱樹脂後 X 線回折に供し、生体アパタイト結晶の配向性評価に用いられた。

4. 研究成果

(1) 荷重試験器の作製

家兎脛骨に埋入されたインプラントへ、規程荷重を付与するための荷重試験器を作製した。本試験器は 10N ~ 100N までの荷重負荷が可能であり、また 1Hz ~ 3Hz に荷重頻度の変更ができる使用となっている。荷重試験器は試験インプラントの近傍に埋入されるスクリューによって試験中のズレがないように固定されるものである。また負荷された荷

重はロードセルにより正確にモニターされる。摘出した家兎脛骨において、正しく作動し、また設定される所定の荷重が正確に負荷されることを確認し、また荷重時の骨のひずみを計測後実験に供した。

(2) 荷重試験後のインプラント周囲骨組織の解析

骨の量的な形態計測学的解析を、研磨標本による組織学的解析、 μ CT による 3 次元解析により行った。荷重群において組織学的解析から有意な骨接触率、骨面積率の向上を認められた。またインプラントから数 mm 離れたところでも荷重群の皮質骨の厚みは有意に厚かったことから、荷重の影響はインプラント周囲に留まらず、広範囲に及ぶことが示された。 μ CT による 3 次元解析からも同様に荷重インプラント周囲骨量の有意な増加が示され、また骨密度も有意に向上していることが示された。以上から荷重負荷によりオッセオインテグレーションの向上と周囲骨組織の成熟が示唆された。

骨の質的解析は、X 線回折による生体アパタイトの配向性、組織標本の偏光顕微鏡観察によるコラーゲン線維の配向性、骨細胞数により評価された。荷重群において、生体アパタイトおよびコラーゲン線維は荷重方向に強く関連した配向を示した。特にインプラントのネック部においてそれは著明であった。これまでの報告を鑑みると、骨組織は荷重を支持するべく、構造力学的な異方性を示すと思われ、ネック部では有限要素法解析においても応力集中が惹起される部位であるため、それに抵抗するように強い配向を示したものと思われる。また荷重群では単位面積あたりの骨細胞数が著しく増加していた。特に配向の強い部位では骨細胞数の増加が著明であり、骨組織のメカノレセプターとしての骨細胞の関与と、骨芽細胞、破骨細胞という骨形成関連細胞との相互作用が推測される。

以上の所見より、生体アパタイトの配向性、コラーゲン線維の配向性、骨細胞数は骨質の評価方法として極めて有用であり、荷重量、荷重頻度、荷重時期等の荷重条件により骨微細構造は大きく変化することが示された。本研究結果は、臨床的に、上部構造による荷重開始時期、咬合力負担能に大きな示唆を与えることが示唆され、今後はより臨床に近似した顎骨モデルや、荷重の方向に着目した研究が必要である。

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 6 件)

Nakajima K, Shibata Y, Hishikawa Y, Suematsu T, Mori M, Fukuhara S, Koji T, Sawase T, Ikeda T., Coexpression of *ang1* and *tie2* in odontoblasts of mouse

developing and mature teeth-a new insight into dentinogenesis., *Acta Histochem Cytochem.*, 査読有, 2014 Feb 27;47(1):19-25.

Watamoto T, Egusa H, Sawase T, Yatani H., Clinical evaluation of chlorine dioxide for disinfection of dental instruments. *Int J Prosthodont.*, 査読有, 2013 Nov-Dec;26(6):541-4.

Hirakawa Y, Jimbo R, Shibata Y, Watanabe I, Wennerberg A, Sawase T., Accelerated bone formation on photo-induced hydrophilic titanium implants: an experimental study in the dog mandible., *Clin Oral Implants Res.*, 査読有, 2013 Aug;24:139-44.

Taira Y, Egoshi T, Kamada K, Sawase T., Surface modification with alumina blasting and H2SO4-HCl etching for bonding two resin-composite veneers to titanium., *Eur J Oral Sci.*, 査読有, 2014 Feb;122(1):84-8.

Tajima N, Ohba S, Sawase T, Asahina I., Evaluation of sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using platelet-rich fibrin as sole grafting material., *Int J Oral Maxillofac Implants.*, 査読有, 2013 Jan-Feb;28(1):77-83.

Hayashi M, Jimbo R, Lindh L, Sotres J, Sawase T, Mustafa K, Andersson M, Wennerberg A., Invitro characterization and osteoblast responses to nanostructured photocatalytic TiO2 coated surfaces., *Acta Biomater.*, 査読有, 2012 Jul;8(6):2411-6.

〔学会発表〕(計 14件)

中島和慶, 柴田恭明, 尾立哲郎, 澤瀬隆: 生体材料としてのカスタムアバットメントの清浄化に関する研究, 第41回日本口腔インプラント学会学術大会, 名古屋, 9月, 2011. {日本口腔インプラント学会誌, 24 特別号, p175, 2011}

小野大輔, 安武宗徳, 鎌田幸治, 重原 聡, 澤瀬隆: インプラントデザインが初期固定に与える影響, 第41回日本口腔インプラント学会学術大会, 名古屋, 9月, 2011. {日本口腔インプラント学会誌, 24 特別号, p183, 2011}

宮原健治, 綿本隆生, 小野大輔, 築城宏太郎, 澤瀬隆: インプラントマイクログループ付与による骨形成促進効果, 第42回公益社団法人日本口腔インプラント学会学術大会, 大阪, 9月 2012.

Ono D, Yasutake M, Ishimoto T, Nakano T, Sawase T: An in vivo new assessment of load distribution around dental implant; A pilot study in dog mandible. *Astra Tech World Congress.*

05/09-12/2012. Goteborg, Sweden, 2012 Sawase T: Optimal prosthetic planning based on biological principles, *Astratech World Congress*, 05/09-12/2012. Göteborg, Sweden, 2012

綿本隆生, 宮原健治, 澤瀬隆: チタン合金へのマイクログループ付与は骨組織の形成を促進する. *日本口腔インプラント学会誌* 第26巻特別号, p177, 2013.

黒嶋伸一郎, 安武宗徳, 宮原健治, 中野貴由, 澤瀬隆: 規則的荷重負荷で達成されるオッセオインテグレーションと骨微細構造の適応変化. *日本補綴歯科学会誌* 5・122 回特別号, p243, 2013.

安武宗徳, 黒嶋伸一郎, 宮原健治, 小野大輔, 澤瀬隆: インプラントデザインの相違がインプラント周囲の骨形成に与える影響. *公益社団法人日本補綴歯科学会九州支部学術大会プログラム・抄録集*, p25, 2013.

黒嶋伸一郎, 安武宗徳, 宮原健治, 中野貴由, 澤瀬隆: インプラントの繰り返し荷重がもたらすオッセオインテグレーションの亢進と周囲骨組織の骨質向上. *日本口腔インプラント学会誌* 第26巻特別号, p177, 2013.

黒嶋伸一郎, 安武宗徳, 宮原健治, 中野貴由, 澤瀬隆: 繰り返し荷重によるインプラント周囲骨組織の骨質向上. 第21回顎顔面バイオメカニクス学会学術大会プログラム・抄録集, 2013.

宮原健治, 安武宗徳, 築城宏太郎, 小野大輔, 澤瀬隆: 繰り返し荷重負荷によるインプラント周囲骨形成促進効果. *公益社団法人日本口腔インプラント学会第30回九州支部学術大会プログラム・抄録集*, p.72, 2013.

Sawase T, Nakano T: An in vivo new assessment of load distribution around dental implant. *Biennial Joint Congress of CPS-JPS-KAP*, Jeju, Korea, 2013

Kuroshima S, Yasutake M, Ishimoto T, Nakano T, Sawase T. Repetitive loading enhances bone quality and quality around implant in rabbits. *European Accademy of Osseointegration, 22nd Annual Scientific Meeting*. Dublin, Ireland. 2013 {EAO FINAL PROGRAMME, p30, 2013}.

〔図書〕(計 1件)

澤瀬隆: 歯科用インプラントの開発の現在と未来, 中野貴由ら編“未来型人工関節を目指して”, 日本医学館, p52-59, 2013

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等：なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

澤瀬 隆 (SAWASE Takashi)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：83714803

(2)研究分担者

柴田恭明 (SHIBATA Yasuaki)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：80253673

(3)連携研究者

中野貴由 (NAKANO Takayoshi)
大阪大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号：30243182