

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年3月31日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791863

研究課題名（和文） コラーゲン架橋構造の定量化を指標にしたインプラント周囲骨骨質評価

研究課題名（英文） Evaluation of bone quality based on the collagen cross-link formation for dental implant treatment.

研究代表者

伊奈 慶典（INA YOSHINORI）

東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：90508904

研究成果の概要（和文）：本研究は、骨強度を判定する指標として骨内に存在するコラーゲン架橋に着目した。動物モデルとなる10週齢Sprague-Dawley系雄性ラットの大腿骨を摘出、粉碎し、HPLC法によるコラーゲンの分離、同定を行うことで定量化を図った。また、その値と比較するために、マイクロCT撮影から骨密度を算出した。

研究成果の概要（英文）：It has been recognized that bone strength is due primarily to bone density. However, it has been reported that bone quality is important factor for bone strength, especially the collagen cross-link formation in bone affect bone strength.

In this study, I focused attention on the collagen cross-link formation in bone, to evaluate of bone quality for dental implant treatments. We planned to develop HPLC method to measure pyridinoline and pentosidine in bones, and to examine a correlate of the degree of initial fixation of implants.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：初期固定，オッセオインテグレーション，骨質，コラーゲン架橋構造

1. 研究開始当初の背景

歯科用インプラント治療の成否のカギを握る第一歩であるオッセオインテグレーション獲得には、インプラント体の周囲骨による初期固定が重要であり、その初期固定の獲得のための重要な因子の1つにインプラント体周囲骨の骨強度が挙げられている。これまで骨強度は骨密度に依存するものと考えられていたが、最近では骨密度と骨強度との直接的な関連を否定する報告がなされ、骨強

度には骨内のコラーゲン架橋構造の変化が関与していることが報告されている。

しかしながら、歯科において、オッセオインテグレーションに関する研究は多数報告されているが、それらのほとんどは骨代謝、骨強度などの観点からの報告であり、骨質の観点からの研究はほとんど報告されていないのが現状である。

また高齢化社会の到来を迎えている日本において、骨粗鬆患者は約1,000万人・糖尿

病患者は 600 万人とされており、これら全身疾患を有する患者では、オッセオインテグレーション獲得が困難な場合が多数報告されている。さらに、良好な予後が得られるには至っていないため歯科用インプラント治療は適応外となることが多い。

このようにコラーゲン架橋構造に着目し骨質を評価することは、全身疾患とオッセオインテグレーション獲得との因果関係との解明の一助となり、歯科用インプラント治療の適用症を拡大させ、患者の QOL 向上を飛躍的に高めることが可能と考えられた。

骨質に関与するコラーゲンとしてピリジノリン、およびペントシジンが同定され、これらの因子は骨密度とは独立した骨強度のパラメータであるコラーゲン架橋構造の指標となり、骨質を評価することが可能となった。ピリジノリンは、生理的架橋（善玉架橋）と呼ばれ、酵素（リジルオキシダーゼ）の作用を介してコラーゲン分子間に规律的に形成される。一方、ペントシジンは、非生理的架橋（悪玉架橋）であり、非酵素的な反応（糖化・酸化反応）によって形成された advanced glycation end product (AGEs:最終糖化反応物)により、コラーゲン分子間を不規則に形成される。ピリジノリンはコラーゲン線維の適度な弾性獲得（骨強度上昇）に寄与し、ペントシジンは過度に架橋することによって骨を脆弱化することが明らかになっている。骨内ではこれらのコラーゲン架橋構造が混在しており、骨質を評価する上でこれらの架橋構造のバランスが重要であると考えられた。

また、最近では、血中、尿中ペントシジン濃度が骨強度低下と密接な関連性があるという報告もあり、実際の骨内のコラーゲン架橋構造と血中、尿中ペントシジン濃度のかんれんが解析できれば、血液、尿検査により骨質を判定できる可能性がある。

2. 研究の目的

コラーゲン架橋構造を指標とする骨質がインプラント体の初期固定、オッセオインテグレーション強度に影響を与えている、との仮説をたて、本研究では、コラーゲン架橋構造とオッセオインテグレーションとの関連性を解析することを目的とする。

得られた知見は、インプラント体への即時荷重の可否や免荷期間を決定させるエビデンスとなり、骨質判定のプロトコルの確立することができれば、従来の骨密度評価に加え、骨質判定プロトコルを用いて、インプラントの種類、荷重開始のタイミング等、患者個人の骨状態に合わせたオーダーメイド治療が可能となり、その意義は大である。

3. 研究の方法

健常ラットと、糖尿病および骨粗鬆症疾患モデルラットを用いて、その初期固定強度とコラーゲン架橋構造の比較を行う。

実験系の確立を目標に、健常ラットを用いて、初期固定強度の計測と、マイクロ CT による骨密度の算出、高速液体クロマトグラフィーを用いた HPLC 法による、コラーゲン架橋構造（ピリジノリン、ペントシジン）の定量化を図った。

(1) 実験系の確立

① 初期固定強度の計測

10 週齢 Sprague-Dawley 系雄性ラットの大腿骨遠心端より 10mm の位置とし、純チタン製ミニインプラント（シリンダー型 $\phi 1 \times 2\text{mm}$ ）を埋入する。初期固定期間は 2 週とした。

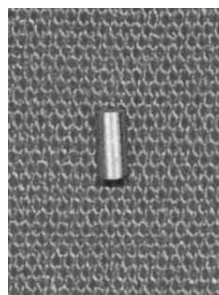


図 1：インプラント試料



図 2：インプラント埋入時

② 骨密度の算出

ミニインプラント埋入時の骨密度をマイクロ CT 撮影から算出する。ミニインプラント埋入前のラットを過剰麻酔によって安楽死させ、大腿骨を摘出する。大腿骨遠心端より 10mm の位置の骨密度を算出。

③ 骨質の評価

安楽死後のラット大腿骨を摘出し、大腿骨遠心端より 10mm の位置を中心線とし 4mm の幅にて切断、採取する。血液等の汚染物を除去したのち、液体窒素を用いて骨を粉末化し、密度勾配分画法を施し、骨単位を新・旧に分画する。分画した粉末に HPLC

法を用いてピリジノリンとペントシジンの分離定量を行い、割合の評価を行う。

④血中ペントシジン濃度の測定

ラット尾静脈より血液を採取し血中ペントシジン濃度の計測を行う。

(2) 実験動物

16週齢 Wister 系雌性ラット、16週齢骨粗鬆症モデル雌性ラット (OVX ラット)、16週齢糖尿病モデル雌性ラット (GK ラット)、各40匹を用いて、予備実験にて確立された評価方法を施行し、疾患間の評価を行う。

本実験ではインプラント埋入後の飼育期間を0, 2, 4, 8週とし、埋入前と埋入初期、中期における骨密度とピリジノリン、およびペントシジンの定量を行い、さらに Push-in Test によるオッセオインテグレーション強度を算出する。これらの指標とオッセオインテグレーション強度の経時的な変化との関連性を分析し、予知性の高いインプラント治療のための骨評価指標の確立を行う。

4. 研究成果

(1) 初期固定強度の測定

打ち抜き試験 (push-in test) を採用した。万能試験機 (EZ-L-500N, Shimadzu Co., Kyoto, Japan) を用いた Push-in test は、インプラント体の長軸方向からクロスヘッド速度 1 mm/min で垂直に荷重を加え、拮抗力が消失した荷重値を初期固定強度として算出した。2週における初期固定強度は $10.26\text{N} \pm 1.89$ であった。

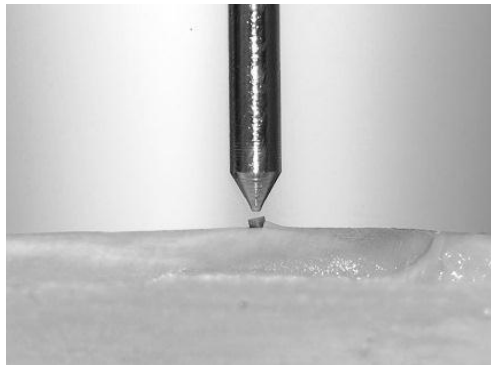


図3 : Push-in test

(2) 骨密度の算出

X線マイクロCT (ScanXmate - E090: コムスキャンテクノ社製) 撮影を行い、それらを画像解析ソフト (TRI/3D - BON; ラトックシステム社製) を用いて解析し、骨密度を算出したところ、 $6.6\text{mg}/\text{cm}^3$ であった。

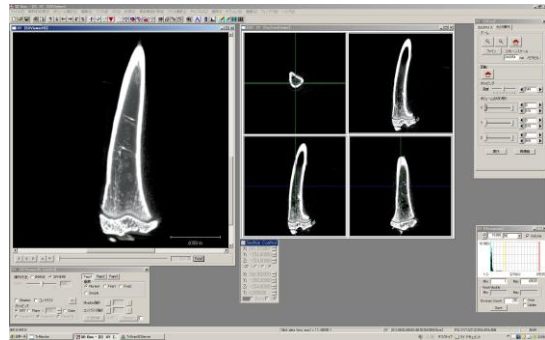


図4 : X線マイクロCTによる骨密度分析

(3) 骨質の評価

高速液体クロマトグラフィーを用いた HPLC 法による、ピリジノリン、ペントシジンの定量化を図った。

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3件)

1. 高橋敬一, 伊奈慶典, 依田信裕, 富士岳志, 佐々木啓一, ブレードティースを付与した全部床義歯装着者の咀嚼能力に関する臨床研究, 査読あり, 日本顎口腔機能学会雑誌, vol. 18(2012) No. 1, p16-25

2. 小山重人, 花淵静, 富士岳志, 伊奈慶典, 依田信裕, 埴総司, 横山政宣, 佐々木啓一, メンテナンスケアが可撤性部分床義歯装着患者の残存歯周組織の状態におよぼす影響, 査読あり, 日本補綴歯科学会誌, vol. 4(2012) No. 1, p59-66

3. 富士岳志, 小山重人, 依田信裕, 伊奈慶典, 佐々木具文, 羽鳥弘毅, 横山政宣, 小川徹, 埴総司, 佐藤奈央子, 重光竜二, 末永華子, 折居雄介, 赤塚亮, 白石成, 竹内裕尚, 佐々木啓一, 後ろ向きコホート調査による可撤性部分床義歯症例の長期経過, 査読あり, みちのく歯学会雑誌, 第41巻1・2号, 2010, PP73-74

[学会発表] (計1件)

1. 富士岳志, 小山重人, 依田信裕, 伊奈慶典, 佐々木具文, 羽鳥弘毅, 横山政宣, 埴総司, 佐藤奈央子, 重光竜二, 末永華子, 折居雄介, 赤塚亮, 白石成, 竹内裕尚, 佐々木啓一, 第63回東北地区歯科医学会, 2010年10月30日, 宮城

[図書] (計1件)

1. K. Sasaki, O. Suzuki, N. Takahashi, Y. Ina 他, Springer, Tokyo, 「Interface Oral Health Science 2011」, 2012, 147-149

○出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊奈 慶典 (INA YOSHINORI)
東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師
研究者番号：90508904

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：