

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24792083

研究課題名(和文)インプラント周囲炎の生物学的病態解明と予防的診断プロトコルの開発

研究課題名(英文) Investigation of biological pathogenesis and development of prevention diagnosis protocol of peri-implantitis.

研究代表者

三野 卓哉 (MINO, Takuya)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：10625718

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的であるインプラント周囲炎の発症、進行に關与する生物学的マーカーの同定と臨床的リスク因子の検討を達成するために、過去の文献、診療録調査をもとに作成した臨床診査プロトコルを用い、初期インプラント周囲炎患者に対する前向き調査を開始した。研究対象者5名の診査時平均年齢は 71.0 ± 4.6 歳で、口腔内の平均インプラント体埋入本数は 4.8 ± 2.4 本、インプラント周囲炎と診断されたインプラント体数は 1.4 ± 0.5 本であった。また、インプラント体ならびに天然歯周囲ポケットからペーパーポイントを用いて浸出液を採取した結果、本手法にて16S rRNA解析に必要な細菌DNA量を採取可能であった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to identify the biological markers that are involved in the onset and progression of peri-implantitis. First, we developed a clinical examination protocol by referring to the previous reports and investigated the prospective study for the initial peri-implantitis patient using the developed protocol. The subject of this study was five and, basic information of subjects was shown below, average age: 71.0 ± 4.6 years, average number of implants per patient: 4.8 ± 2.4 , average number of implant with peri-implantitis: 1.4 ± 0.5 . To identify the biological markers, gingival crevicular fluids around the oral implant and natural tooth were collected by using the paper points. The adequate amount of bacterial DNA could be collected for 16S rRNA sequencing using this protocol.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：口腔インプラント インプラント周囲炎 生物学的リスクファクター 次世代シーケンサー 診断プロトコル

1. 研究開始当初の背景

インプラント周囲炎の発症率は過去の研究から2%から10%程度と推測されており¹⁾、近年のインプラント義歯装着患者の急増をふまえると、インプラント周囲炎に罹患する患者の絶対数も今後、急速に増加する可能性が高い。インプラント体周囲組織は、天然歯と比較して、その構成組織成分や構造の違いから急激に骨破壊へと進展しやすいと言われており²⁾、進行性の骨吸収を伴う重篤なインプラント周囲炎は、インプラント体の動揺を引きおこし、ひいてはインプラント体除去に至ることも多く、患者のQOLを著しく低下させる。したがって、事前に、もしくは重篤化する前にインプラント周囲炎を予知・診断し、進行性骨吸収を予防・停止させることは、臨床的観点に立つとたいへん重要な課題であり、インプラント周囲炎を初期の段階で予測できる診断法の確立が強く望まれている。

2. 研究の目的

(1) 軽度の骨吸収を伴う初期のインプラント周囲炎の患者から、その周囲組織と歯肉溝滲出液をサンプリングし、cDNA マイクロアレイ法や質量分析法により生物学的マーカーを網羅的に探索することで、インプラント周囲炎の病態を生物学的に把握する。

(2) インプラント周囲炎の経時的進行度を臨床的に評価すると同時に、インプラント周囲組織および歯肉溝滲出液のサンプルを得て、cDNA マイクロアレイ法や質量分析法により、生物学的マーカーの変動とインプラント周囲炎の病態変化との相関を検討する。その結果から、インプラント周囲炎の生物学的リスクマーカー候補因子を同定する。

(3) 得られた生物学的リスクマーカー候補因子に臨床データを加えて多変量解析、クラスター解析を行い、インプラント周囲炎進行のリスク因子を生物学的視点と臨床的視点の両面から明らかにする。さらに、インプラント体周囲の進行性骨吸収を予測可能な生物学的診断マーカーを同定し、その診断マーカーに臨床的リスク因子を加えた診断プロトコルを作成する。

3. 研究の方法

(1) 研究の開始に先立ち、岡山大学大学院歯薬学総合研究科倫理委員会の指針に則り、研究計画書を提出し承認を得た(承認番号

#592)。

インプラント周囲炎の発症や進行に関するリスク因子を明らかにするという本研究の目的を達成するためには、インプラント体周囲の骨吸収状態を信頼性高く評価できなくてはならない。そこで、過去のデンタルエックス線を用いてインプラント体周囲の骨レベルを信頼性高く評価可能かを検討した。検者は、骨吸収状態の評価方法について十分にキャリアクションを行った臨床経験18年、6年、3年の3名の歯科医師とし、測定は間隔をあけて二度行った。

(2) インプラント体周囲に3スレッド以上の骨吸収がどの程度発生しているかを明らかにするために、診療録調査およびレントゲン診査を行った。対象は平成18年1月から平成23年10月までに、当科にてプロビジョナルレストレーションを含む上部構造を装着した全患者とした。

(3)

今後の前向き調査に向けて、インプラント周囲炎患者に行う臨床診査プロトコルを過去の文献および診療録調査をもとに作成した。

作成した臨床診査プロトコルを用い、初期インプラント周囲炎患者に対する前向き調査を開始した。本研究の目的であるインプラント周囲炎の発症、進行に関する生物学的マーカーの同定と臨床的リスク因子の検討を達成するためには、インプラント周囲炎に罹患したインプラント体と健全インプラント体のみの比較ではなく、健全歯および歯周病に罹患した歯も含めた比較検討が必要だと考えられた。そこで、本調査の選択基準は口腔内に健全インプラント体、インプラント周囲炎罹患インプラント体、健全歯および歯周病罹患歯を有する者のうち同意が得られた者とした。なお、本研究におけるインプラント周囲炎罹患インプラント体とは、デンタルエックス線検査により明らかな骨吸収を認め、かつ周囲ポケットから排膿を認めるインプラント体とし、歯周病罹患歯とは、歯周ポケット6mm以上を有する天然歯とした。

(4) インプラント周囲炎は感染性の疾患であり、インプラント周囲炎の病態解明には細菌学的なアプローチも必須である。既存の報告の多くは、培養可能な細菌を対象としており、現時点で培養不可能な細菌はまったく加味

されていない。そこで、本申請研究では、インプラント体周囲ポケット、天然歯周囲ポケットからペーパーポイントを用いて採取した浸出液を試料として、次世代シークエンサーを用いた 16S rRNA 解析を行い、網羅的な菌種構造解析を行うこととした。

まず、(3)で得た対象のうち 1 名のインプラント周囲炎罹患インプラント体、健全インプラント体、健全歯および歯周病罹患歯それぞれの周囲ポケットからペーパーポイントで得た浸出液内の細菌の DNA 量がどの程度か、また 16S rRNA 解析を行うための十分な DNA 量が採取可能かを評価した。

4. 研究成果

(1) 過去のデンタルエックス線を用いてインプラント体周囲の骨レベルを信頼性高く評価可能かを検討した結果、再キャリレーションが必要ではあったが、検者内一致度および検者間一致度の級内相関係数は 0.76 ~ 0.93 を示し、十分な信頼性を確認できた。本検討により、デンタルエックス線におけるインプラント体周囲の骨吸収の評価が可能であることが確認できた。

(2) 選択基準を満たした対象は 416 名、1115 本（埋入時平均年齢 59.5 ± 10.8 歳 男/女：140/276）であった。その中から、デンタルエックス線写真がない患者を除外した 277 名、591 本（埋入時平均年齢 59.9 ± 10.6 歳 男/女：92/185）を解析対象とした。解析対象のうち 3 スレッドを超えた骨吸収を示したインプラント体は 71 本（12.0%）であった。また、機能期間別の骨吸収量を比較すると、機能期間 1~2 年では生理的範囲を超えた骨吸収量を示したインプラント体が 10.2%であったのに対し、機能期間 4~5 年では 17.7%であった。本検討により 3 スレッド以上の骨吸収を有する患者リストができた。

(3) 口腔内に健全インプラント体、インプラント周囲炎罹患インプラント体、健全歯および歯周病罹患歯を有する者のうち同意が得られた 5 名の患者を研究実施対象者として得た。そして、インプラント周囲炎罹患インプラント体、健全インプラント体、健全歯および歯周病罹患歯それぞれの周囲ポケットからペーパーポイントを用いて歯肉溝浸出液を採取した。また、インプラント周囲炎によって臨床的に不良肉芽組織の搔把が必要となった際には、除去した組織を採取した。研究実施対象者 5 名の診査時平均年齢は 71.0

± 4.6 歳で性別は男:2名,女:3名であった。口腔内の平均インプラント体埋入本数は 4.8 ± 2.4 本であり、インプラント周囲炎と診断されたインプラント体数は 1.4 ± 0.5 本であった。また、インプラント周囲炎と診断されたインプラント体はすべて臼歯部に埋入されており、インプラント体周囲の最深ポケット値は 5.6 ± 1.4 mm であった。さらに、不明であった 1 名を除くすべての対象者が喫煙をしていなかった。

(4) 周囲ポケットからペーパーポイントで得た浸出液内の細菌の DNA 量はインプラント周囲炎罹患インプラント体： $2.3\text{ng}/\mu\text{l}$ 、健全インプラント体： $5.9\text{ng}/\mu\text{l}$ 、健全歯： $13.5\text{ng}/\mu\text{l}$ 、歯周病罹患歯： $10.3\text{ng}/\mu\text{l}$ であり、インプラント体周囲ポケットの浸出液の方が天然歯周囲ポケットに比べて単位あたりの DNA 量が少なかった。

また、今回用いる 16S rRNA 解析には、40ng の DNA 量が必要とされている。本結果から概ね $20\mu\text{l}$ 以上の浸出液をポケットから採取すれば、解析可能であることが示された。これにより、次世代シークエンサーを用いた 16S rRNA 解析を行う準備が整った。

< 引用文献 >

- 1) Esposito M et al. Eur J Oral Sci. 1998, 106: 721-64.
- 2) Lindhe J et al. Clin Oral Implants Res. 1992, 3: 9-16.

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 1 件)

Mino T, Maekawa K, Ueda A, Higuchi S, Sejima J, Takeuchi T, Hara ES, Kimura-Ono A, Sonoyama W, Kuboki T. In silico comparison of the reproducibility of full-arch implant provisional restorations to final restoration between a 3D Scan/CAD/CAM technique and the conventional method. Journal of Prosthodontic Research. 査読有, 59(2), 2014, pp. 152-158.

〔学会発表〕(計 6 件)

Kurosaki Y, Kimura-Ono A, Koyama E, Nakagawa S, Mino T, Maekawa K, Kuboki T. OHRQoL Promotion was maintained even

6-Year after Implant-supported Prosthodontic Treatment.

2015 IADR/AADR/CADR General Session & Exhibition. 2015.3.14. Boston, USA.

Mino T, Maekawa K, Ueda A, Higuchi S, Sejima J, Takeuchi T, Hara ES, Kimura-Ono A, Sonoyama W, Kuboki T.

A computer-based morphological transfer method to replicate provisional to final implant superstructure. Indonesia & Japan Prosthodontic Society Joint Meeting. 2014.10.31. Bari, Indonesia.

黒崎陽子, 大野 彩, 瀧内博也, 佐伯真未子, 小山絵理, **三野卓哉**, 前川賢治, 窪木拓男. 少数歯欠損患者における補綴治療後5年経過時の口腔関連 Quality of Life の評価. 公益社団法人日本口腔インプラント学会第34回中国・四国支部総会学術大会. 2013.11.24. 鳥取.

高山賢一, 荒川 光, **三野卓哉**, 大野 彩, 鳶岡英起, 窪木拓男, 桐田忠昭. 多変量解析を用いた即時荷重インプラント成功のリスク因子の同定. 第43回公益社団法人日本口腔インプラント学会・学術大会. 2013.9.15. 福岡.

前川賢治, 大野充昭, 小山絵里, 大野 彩, **三野卓哉**, Emilio Hara Satoshi, 園山 亘, 黒崎陽子, 和田崇之, 大原直也, 窪木拓男. 口腔インプラント周囲炎病巣の細菌叢のメタゲノム解析』の相談. NGS 現場の会第3回研究会. 2013.9.4-5. 神戸.

松原有里, 高山賢一, 荒川 光, **三野卓哉**, 桐田忠昭. 多変量解析を用いたオッセオインテグレーション獲得のリスク因子の検討: 即時荷重はリスク因子? 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. 2012.9.23. 大阪.

〔図書〕(計1件)

三野卓哉, 窪木拓男. 株式会社ヒョーロン・パブリッシャーズ. スウェーデンの介護現場におけるインプラントに対する歯科医師の認識と現状. 2014. pp. 148-150.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三野 卓哉 (MINO, Takuya)

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号: 10625718

(2) 研究協力者

窪木 拓男 (KUBOKI, Takuo)

園山 亘 (SONOYAMA, Wataru)

大野 充昭 (ONO, Mitsuaki)

大野 彩 (ONO, Aya)