

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24792130

研究課題名(和文) PETによるインプラント周囲骨代謝活性の核医学的評価と骨密度、最適荷重条件の関連

研究課題名(英文) Relationship between Peri-implant Bone Metabolism and immediate Loading using [18F] NaF-PET Image Analyses

研究代表者

山本 未央 (Yamamoto, Miou)

東北大学・歯学研究科(研究院)・大学院非常勤講師

研究者番号：10624827

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：CTおよびPETデータを合わせて解析することにより、解剖学的に正確な位置情報を把握しながら、インプラント周囲骨の骨代謝動態、骨密度と骨梁構造の変化との関連についての考察が可能となった。さらに、組織・組織形態学的評価を行い、代謝活性と骨新生との関連、新生骨の分布と骨密度との関連を評価した。従来の実験で用いた骨シンチと比較し、PETの導入によって三次元解析が可能となっただけでなく、骨代謝活性がより高精度に抽出された。また、継時的な代謝活性動態については、両者のトレーサーの違いにより、骨シンチでは即時荷重で高い代謝活性を保った状態が続き、PETでは即時荷重により中期から晩期の骨代謝活性は減衰した。

研究成果の概要(英文)：CT and [18F]NaF-PET allowed for a precise estimate of bone metabolism, bone density and trabecular bone structure around the dental implants. Histological data clearly showed osteogenic reaction around the implants, which related bone metabolism and bone density. Using [18F]NaF-PET, bone metabolism around the implant could be estimated precisely and three-dimensionally. The result suggests the loading effects in early stage on peri-implant bone formation. Comparing with our previous data using Tc99m-MDP bone-scintigraphy, the results of this study showed different manners of bone-metabolism. Those differences might be due to a difference of uptake mechanisms between 2 tracers, namely 18F- and MDP.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：補綴系歯学

キーワード：インプラント 骨代謝 PET

1. 研究開始当初の背景

生体内で歯科インプラントが機能する際にはさまざまな力学的負荷がインプラント周囲の骨に加わっている。力学的刺激により骨組織の改造が惹起されることは19世紀以降Wolffの法則として周知の事実であり、インプラント治療においても、負荷が全くない場合あるいは過大な場合に生じる骨吸収は、長期的な成否に多大な影響を及ぼしているものと考えられる。さらに最近のトレンドとして、埋入直後に歯冠上部構造を装着して咬合させる即時・早期荷重プロトコルが注目を浴びている。

一方、高齢社会を迎えた現在、骨粗鬆症を初めとする代謝疾患等を抱えた患者へのインプラント治療のニーズも高まっている。一般にインプラント埋入前にCT撮像を行って骨量の評価や埋入方向の検討が行われているが、骨粗鬆症の診断等で用いられる骨密度測定との相互判定はあまり行われていない。踵骨を用いた超音波骨密度測定方法など簡便安価な評価法も確立されており、骨コンディションに応じた荷重負荷の指針化が図れば、適応の幅が広がるものと思われる。

従来から、骨改造の結果をX線画像やCT画像あるいは組織学的手法により形態学的に観察する研究は数多く行われているが、骨代謝の量的、経時的な動態を把握することはできず、さらに組織学的評価では同一個体を縦断的に追跡評価することはできない。一方、骨代謝部位に結合する放射性同位元素をトレーサーとして用いる核医学的な分子イメージング手法は、同一個体における骨代謝動態をリアルタイムで経時的に評価しうる唯一の手法である。

申請者の共同研究者である東北大学大学院工学研究科量子エネルギー工学石井グループは、2007年世界で初めて1mm以下の高空間分解能を有する実用型動物用半導体ポジトロンエミッション断層撮像装置(以下Fine PET)の開発に成功し、これによりマウス・ラットなどの小動物の詳細な解析を行うことが可能となった。

申請者は、ラット脛骨に2本のチタンインプラントを埋入し、インプラント間にスプリングを用いて牽引荷重を付与し、その際の骨代謝動態を ^{18}F をトレーサーとしてFine PETにより撮像し、明瞭な画像を得ることに成功している。 ^{18}F は骨代謝動態のうち、リモデリングの過程で産生されるハイドロキシアパタイトの水酸基を置換してフルオロアパタイトを形成するため、局所血流量とリモデリング活性に依存して骨組織に取り込まれ、リモデリングが亢進している部位へ優先的に集積し、骨代謝の画像におけるコントラストを生む。

2. 研究の目的

骨メカノバイオロジーの観点から歯科インプラント臨床の科学的基盤を確立するこ

とを目的として、インプラント機能時に加わる力学的負荷によって生じるインプラント周囲骨の骨代謝動態を、

(1) Fine PETによるインプラント周囲骨の骨代謝動態の定量的解析

(2) マイクロCTによるインプラント周囲骨骨密度測定および骨梁構造の形態解析

(3) 組織標本によるインプラント周囲骨の組織形態学的解析

により多角的に評価する。これらから、インプラント荷重制御の指針を得ることが可能となり、さらには骨粗鬆症などのインプラント治療には不利とされる患者への応用にも貢献しうる治療プロトコル策定に資するものであると考えられる。

3. 研究の方法

被験動物：Wistar 雄性ラット 20 週齢

方法：イソフルラン吸入麻酔下にて、ラットの両側脛骨に、1.5mmのCPチタン製インプラントを各々1本ずつ、脛骨の長軸に対して垂直かつインプラント体の先端が海綿骨内にとどまる深さに埋入した(図1)。縫合は、創部の組織増殖によりインプラントの頭部が埋没しないよう、インプラント体を囲むように垂直マットレス縫合を行った。すでに先の実験でオッセオインテグレーションの獲得に必要なことが判明している4週間の期間をヒーリングステージとして設定し、その後、イソフルラン吸入麻酔下で、咀嚼力を想定した間歇的な荷重の入力を1回/日、10分間/回行う。入力方向は垂直とし、入力する力の大きさは1N, 10N, 50Nとした(図2)。

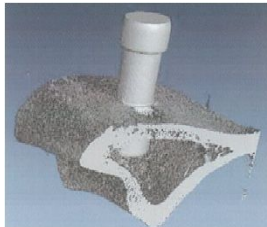


図1. インプラント埋入のイメージ

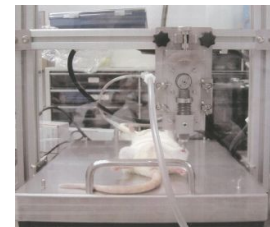


図2. インプラント上部に間歇的刺
激を付与

(1) Fine PETによるインプラント周囲骨の骨代謝動態の定量的解析

骨代謝活性の経時的変化を把握するため、 ^{18}F ^{74}MBq を尾静脈より投与し、投与1時間後にFine PETを用いてイソフルラン吸入麻酔下にて撮像を行った(図3)。

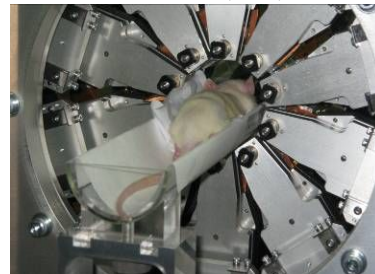


図3. ラットのPET撮像の様子

^{18}F は、骨組織に迅速に集積し特に骨代謝

の盛んな部位への集積が著明である。撮像時間は30分間とし、撮像は荷重負荷開始から1, 2, 3, 4, 5, 6週後に行った。撮像後、coincidence, reconstruction を行い、画像解析ソフト PMOD (PMOD Technologies Ltd.) にて解析を行った。

得られた像における ^{18}F の集積値から、インプラント周囲骨の代謝活性の経時的変化を定量的に評価した。今回使用する PET 装置は検出器に CdTe 半導体を用いており、ガンマ線に対する吸収効率が非常に高く、ガンマ線エネルギーを直接電気信号に変換することで高い検出効率を実現でき(世界初 FWHM 0.8mm, スライス幅 0.8mm の高空間分解能)、これにより、φ1.5mm のインプラント周囲骨において、荷重方向に対してどの部位で代謝回転がより亢進するのか(インプラント体側面, 基底面)といった細かいレベルでの分析が可能になり、より詳細な関心領域 (ROI) を設定することができるものである。

(2) マイクロ CT によるインプラント周囲骨骨密度測定および骨梁構造の形態解析

Fine PET 撮像日と同日に、小動物用 CT (Clairvivo CT) (島津製作所) にて CT 撮像を行う。CT 画像では、インプラント周囲骨の骨密度測定、骨梁構造の観察、体積測定などを行った。

CT 画像は組織の位置、形、大きさなどを映し出す「形態画像」であり、機能の描写は不得手であるのに対して、PET 画像は RI の集積により、ターゲットとする組織の代謝機能を反映する「生化学的画像」であるため、形態的描写は CT に劣る。本研究においても、PET 画像にはインプラントが映らないため、インプラント周囲骨に ^{18}F が集積しているという根拠に欠ける。それら両者の欠点を補うために PET/CT 融合 (Fusion) 像を作成し、インプラントの位置を正確に同定した上で、インプラント体側面や基底面といったより細かい領域に着目した分析を行いインプラントへの荷重負荷によって生じる骨内応力と骨代謝活性の関連について検討した。

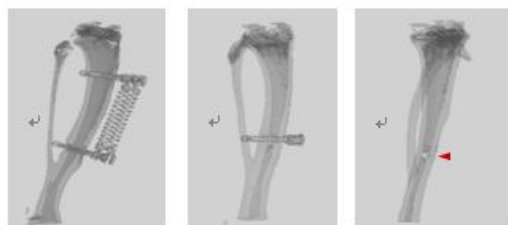


Fig. 1-a: IL Fig. 1-b: NL Fig. 1-c: BD

(3) 組織標本によるインプラント周囲骨の組織形態学的解析

インプラント体を含めた非脱灰薄切片を作成した。従来の包埋用常温重合レジンを用いた方法では、硬化加熱によって試料内の蛋白質変性を生じる恐れがあり、免疫染色な

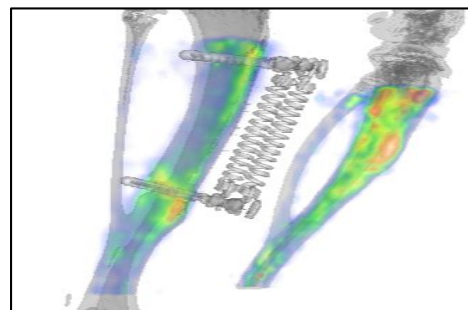
どで正確な情報が得られなくなる。そこで、蛋白質変性を起こさない温度で重合する包埋用レジンによる包埋が必要となり、本実験系では、低温重合レジン (Heraeus KULZER 社製: Technovit 8100) を用いて組織切片を作成し、既成の骨細胞、新生骨細胞等のバイオリジカルな反応の観察が可能となった。

染色は Villanueva Goldner 染色を用い、また画像解析ソフト (Axiovision 4.0, Zeiss) にて骨の形態組織パラメータ (骨-インプラント接触率, 骨密度等) を算出した。

統計処理には、統計解析ソフト MLwiN version 2.26 (Centre for Multilevel Modelling, University of Bristol) を用い、multilevel multiple linear models 法を用いて経時的な対応のあるデータ解析を行った。

4. 研究成果

(1) Fine PET によるインプラント周囲骨の骨代謝動態の定量的解析

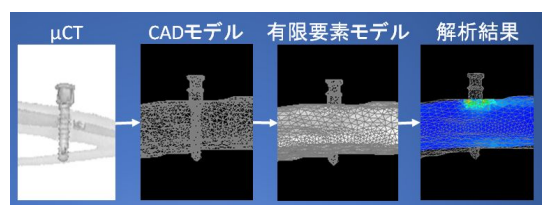


PET および CT 画像の融合イメージの例



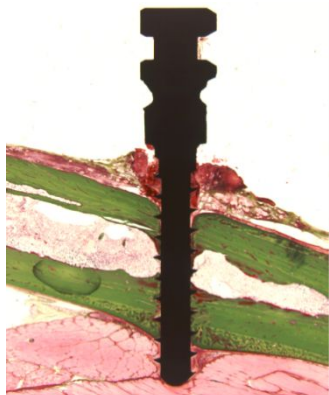
インプラント周囲骨代謝活性の経時的な変化

(2) マイクロ CT によるインプラント周囲骨骨密度測定および骨梁構造の形態解析



μCT データを用い、3次元モデルを作成インプラント周囲骨の形態学的な解析および FEM モデルにて骨内応力動態の観察を行った。

(3) 組織標本によるインプラント周囲骨の組織形態学的解析



ピラヌエバゴールドナー染色を用いたインプラントおよび周囲骨の組織サンプルの1例を示す。インプラント周囲に新生骨の形成が認められる。

CTR 群を除く 3 テスト群ともに負荷開始後 7 日目まで SUV が上昇し, 28 日目までは有意に CTR よりも高い活性を示した。その後は徐々に下降し平衡に達した。3 テスト群の中では IL 群が NL 群や BD 群よりも有意に早く CTR 群の代謝活性と同じレベルに回帰した。これらの結果は従来の研究で用いた Tc99m-MDP 骨シンチグラフィで見られたものとは異なる結果である。

組織像においては有意な違いは観察されなかった。

NaF-PET を導入したことにより, 3 次元解析が可能となっただけでなく, 飛躍的に敏感に捕捉された骨代謝活性の高精細な描出が観察された。PET で得られた骨代謝活性の動態と、骨シンチグラフィで観察された動態との違いはトレーサーの骨付着機序の違いに起因すると考えられる。この PET と骨シンチグラフィでの動態の比較により、即時荷重は新生骨の形成を妨げるものではなく、かつ新生骨の石灰化を促進する可能性が示唆された。この示唆は即時荷重プロトコル策定の一助となるものと思われる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Yamamoto M, Ogawa T, Yokoyama M, Koyama S, Sasaki K, Influence of immediate and early loading on bone metabolic activity around dental implants in rat tibiae., Clin Oral Implant Res., 2014
DOI:10.1111/clr.12218. 査読有

〔学会発表〕(計 2 件)

Yutaka Matsuo, Miou Yamamoto, Toru Ogawa, Masayoshi Yokoyama, Keiichi Sasaki, [¹⁸F]NaF-PET Image Analyses Peri-implant Bone Metabolism Elicited by Loading, 7th East Asian Consortium on Biomedical

Engineering, 2013.11.18-20,
Taipei, Taiwan

Matsuo Y, Yamamoto M, Ogawa T, Yokoyama M, Sasaki K, Evaluation of Peri-Implant Bone Metabolism with High-resolution NaF-PET during Mechanical Loading, The 60th Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2012 年 12 月 14 日 ~ 2012 年 12 月 15 日, Niigata, Japan.

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

山本 未央 (MIOU, YAMAMOTO)

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 : 10624827