

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：25861837

研究課題名(和文) 抜歯窩の骨の治癒に影響する骨代謝因子の解明 - インプラント植立時期の指標策定へ -

研究課題名(英文) Elucidation of factors which affects bone healing in teeth extraction sockets.

研究代表者

三上 絵美 (MIKAMI, Emi)

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号：20419328

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト抜歯窩の骨改造が安定化する時期の有無、及びその時期を明らかにすることを目的とした。インプラント埋入あるいは歯を移植する予定の男性5名、女性31名を対象とした。抜歯後経過期間は1.6か月から30年であった。歯槽骨生検試料のマイクロCT画像にて3次元骨形態計測を行った。折れ線回帰分析を用いて各計測項目が時間経過と比例して増減する時期と増減しなくなる時期の境界の有無を探索した。多くの項目で抜歯後7から12か月の間に折曲点が存在し、これを境に時間経過に伴う増減が認められなくなった。ヒト抜歯窩では、抜歯後約12か月までの間に新生骨から太い骨梁へと改変され、その後骨梁構造が安定化することが示された。

研究成果の概要(英文)：The purpose was to determine whether the bone remodeling in human tooth extraction sockets attained points of relative stability, and if so, at which post-extraction times such points would be reached. Subjects were 5 males and 31 females receiving implant operations or dental transplantation surgery. Post-extraction times ranged from 1.6 to 360 months. The alveolar bone biopsy samples were analyzed using micro-computed tomography and three-dimensional bone morphometry. Various alveolar bone parameters were plotted against post-extraction times, and a stepwise piecewise linear regression analysis was performed. The period between 7 and 12 months post-extraction was found to contain the greatest number of inflection points. Once these changes reached their respective inflection points, the time-related changes stopped. In the human alveolar bone, dynamic remodeling of the trabecular structure was found to continue to occur until the 7th - 12th month post-extraction.

研究分野：補綴系歯学

キーワード：抜歯窩治癒 歯槽骨生検 マイクロCT 骨リモデリング 骨形態計測 微細骨梁構造 ヒト

## 1. 研究開始当初の背景

歯科インプラント治療において、受容部の歯槽堤の外形だけでなく、歯槽堤内部の骨組織の様相、すなわち微細骨梁構造や骨密度、骨代謝活性の状況も治療の予後に大きな影響を与えると考えられる。過去において、インプラント治療では、受容部の骨密度や骨質がインプラントの成否に関連することが報告されている。

ヒトの抜歯創の治癒過程において、抜歯窩が抜歯直後に血球成分で満たされ、続いて肉芽組織に置換され、その後骨形成へと順に推移していくことはよく知られている。抜歯窩は、5-8週でほぼ新生骨梁で満たされ、12週頃から層板骨が出現し、成熟骨梁への改変が始まるとの報告があり、少なくとも抜歯後12週頃までは抜歯窩の骨梁構造が活発に改変されている時期であることが示唆されている。しかし、過去に抜歯窩の治癒を観察した論文は、成熟層板骨が出現するまでの短期的な観察にとどまっており、成熟骨梁の改変開始後、骨梁構造が安定するまで長期にわたって歯槽堤内部の骨組織を検索した研究は見当たらない。したがって、ヒトの抜歯後の歯槽骨の微細骨梁構造や骨密度、骨代謝活性の状況に関する長期的な変化はいまだ明らかではない。

我々は、抜歯後の歯槽堤内部の骨梁では抜歯後早期には活発な骨改造が生じるが、その後、骨改造現象は緩やかになり、やがて骨梁構造が安定する時期が来るという仮説を立てた。そして骨梁構造の安定する時期が明らかとなれば、歯科インプラント埋入の適切な手術時期を決める際の目安を提示することができると考えた。

## 2. 研究の目的

抜歯後の歯槽堤内部の骨梁構造の変化や骨代謝活性が安定化する時期が存在するかどうか、およびその時期を探索するために、インプラント埋入手術あるいは歯の移植手術時に採集した歯槽骨生検試料を、三次元骨形態計測学および組織学的に検索し、それらのデータが抜歯後の経過時間との関係において折曲点を示すかどうかを折れ線回帰分析を用いて統計学的に検索した。

## 3. 研究の方法

### (1) 対象

下顎臼歯部にインプラント埋入手術、あるいは歯の移植手術が行われる患者のうち、20歳以上で、代謝性骨疾患の既往がない患者を対象とした。結果的に男性5名、女性31名、計36名の歯科インプラントあるいは歯の移植患者が対象となった。歯槽骨採取時の患者の年齢は20~77才であった。

歯槽骨採取部の歯が抜歯されてから歯槽骨を採取するまでの経過期間は1.6か月から360か月であった。

なお、本研究は新潟大学歯学部倫理委員会

の承認(No. 20-R13-08-06)を得て行われた。

### (2) 歯槽骨試料の採取

インプラントが植立される部位あるいは歯が移植される部位の歯肉を切開し、骨膜剥離子にて粘膜骨膜弁を形成した。インプラント植立窩洞あるいは歯の移植床を形成する際に、トレフィンバー(内径2-4mm)を用いて窩洞形成部の歯槽骨試料を高さ3-9mmで採取した。採取された歯槽骨試料は4%ホルムアルデヒドにて浸漬固定した。対象者36名中8名においては、それぞれ異なる抜歯窩から2つの歯槽骨試料を採取した。採取された歯槽骨試料数は合計で44個であり、その内訳は歯科インプラント埋入手術時に採取した歯槽骨試料が33個、歯の移植手術時に採取した歯槽骨試料が11個であった。すべての歯槽骨試料は下顎臼歯部から採取され、第1小臼歯部が4個、第2小臼歯部が6個、第1大臼歯部が23個、第2大臼歯部が11個であった。

### (3) 三次元骨形態計測、骨塩量計測

マイクロCT装置(Elscan®、日鉄エレクトクス社、東京)を用いて歯槽骨試料を撮像した後、三次元構築画像と二次元画像にて歯槽骨試料の微細骨梁構造を観察した。抜歯窩の海綿骨領域を関心領域とし、三次元骨梁構造解析ソフト(TRI/3D-BON®、ラトックシステムエンジニアリング社、東京)にて、抜歯窩の海綿骨微細骨梁構造の骨形態計測(骨量: BV/TV、骨表面積: BS/BV、骨梁幅: Tb.Th、骨梁数: Tb.N、骨梁間隙: Tb.Sp、骨梁中心距離: Tb.Spac、骨パターン因子: TBPf、構造モデル指数: SMI、骨梁結節数: N.Nd/TV、骨梁終末端数: N.Tm/TV)を行った。また、骨塩量計測(BMD)も行った。

### (4) 組織学的検索

一部の試料をVillanueva Bone Stainにて染色し、脱水、脱脂、樹脂浸透、加熱重合を行うことによって作製したMMA樹脂ブロックをマイクロトームを用いて5~6 $\mu$ mの厚さに薄切し、これをスライドガラス上にクリアシールで封入し非脱灰薄切標本を作製した。光学顕微鏡(BX-51、Olympus、東京)にて組織学的検索を行った。また偏光顕微鏡(OPTIPHOT-POL、Nikon、東京)を用いて骨梁の膠原線維の配列を観察した。

### (5) 統計学的分析

各歯槽骨計測項目のデータが時間経過と比例して増減する期間を明らかにするために、折れ線回帰分析を用いた。各歯槽骨計測項目のデータを抜歯後の経過期間にしたがって配列した。従属変数は各歯槽骨計測項目の値とし、独立変数(ステップワイズ回帰分析の候補)は有意な因子として作られた折れ線変数とした。折れ線変数は連続変数から作成した。すなわち、抜歯後の経過期間から、

51 項目の折れ線変数 < 抜歯後の経過期間( か月 ) - i > ( i=1, 2, 3... 22, 23, 24, 36, 48, 60...324, 336, 348 ) を作成した。抜歯後早期の試料が多かったため、抜歯後 2 年以内は i を 1 か月間隔とし、それ以降は i を 1 年( 12 か月 ) 間隔として変数の設定を行った。年齢、性別および作成した 51 個の折れ線変数を用いてステップワイズ増加法により、各歯槽骨パラメータにおける折れ線回帰分析の折曲点の検出を行った。

有意水準は 5% とした。統計分析は StatView J-5.0 software (SAS Institute, Inc., NC, USA) をもちいて行われた。

#### 4. 研究成果

##### ( 1 ) マイクロ CT 所見

抜歯後早期の抜歯窩には、細い網状の骨梁が形成され、抜歯窩周囲の比較的太い既存の骨梁とは異なる構造を呈していることが示された。抜歯から 1 年以上経過した試料では、骨梁は厚く、既存骨梁と酷似した構造を示した( 図 1 )。

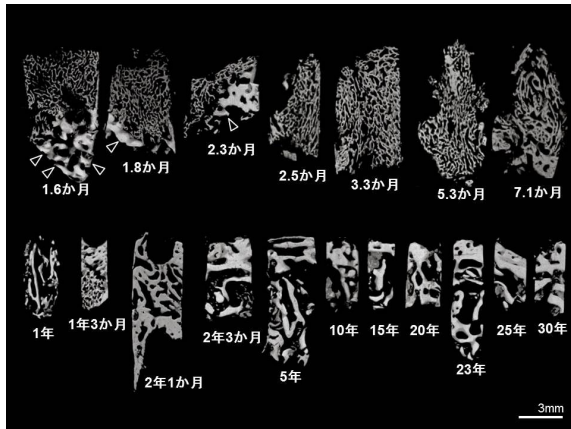


図 1 歯槽骨試料のマイクロ CT 二次元画像  
数字：抜歯後の経過期間。  
矢尻：既存骨と思われる厚い骨梁。

##### ( 2 ) 骨塩量計測

抜歯後早期の抜歯窩内に認められた網状の細い骨梁は、 $300 \sim 900 \text{mg/cm}^3$  と低い骨塩量を呈していた( 図 2 )。一方、その下方に認められる既存骨と思われる太い骨梁の骨塩量は高く、 $1200 \sim 1500 \text{mg/cm}^3$  であった。抜歯後 1 年以上経過した試料の歯槽骨も骨塩量が高く、 $900 \sim 1500 \text{mg/cm}^3$  の骨塩量を呈していた。

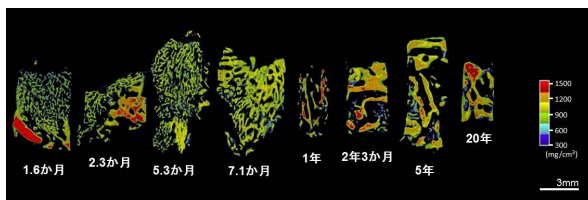


図 2 歯槽骨試料のマイクロ CT 二次元画像の骨塩量カラー表示画像  
数字：抜歯後の経過期間。

##### ( 3 ) 組織学的観察

抜歯後 1.6 か月の歯槽骨非脱灰薄切片において、細い網状の骨梁内部に綾織状に配列した細かい膠原線維を含む、抜歯後新たに形成された新生骨が認められた( 図 3A )。また、一部層板構造の形成も認められた( 図 3A 拡大像 )。一方、抜歯窩周囲の既存骨領域においては、ほとんどが層板構造で形成され( 図 3B )、抜歯窩に作られた歯槽骨の膠原線維の配列とは明らかに異なっていた。

また、抜歯後 7.7 か月の抜歯窩歯槽骨には、層板構造を呈さない細い新生骨梁や、新生骨と層板骨が混在している骨梁が認められた( 図 4A, B )。凹凸のある骨吸収面には破骨細胞が認められ( 図 4A 拡大像 )、類骨面には細胞質の豊富な骨芽細胞が配列し、活発な骨吸収、骨形成を伴う骨改造現象が生じていることが示唆された。

一方、抜歯後 17 か月の抜歯窩歯槽骨の骨梁は、大部分が層板骨から成っており、新生骨梁は一部に残っているだけであった( 図 4C, D )。骨梁表面は平滑で、扁平な休止期骨芽細胞が並び、類骨もほとんど認められず、骨改造現象は不活発な状態であることが示された。

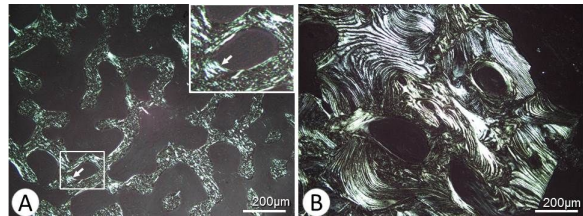


図 3 抜歯後 1.6 か月の歯槽骨非脱灰薄切片の偏光顕微鏡像。(  $\times 10$  )  
A：抜歯窩に作られた細い網状の骨梁。  
( 矢印：層板構造。右上四角：拡大像 )  
B：A と同一試料の既存骨領域。

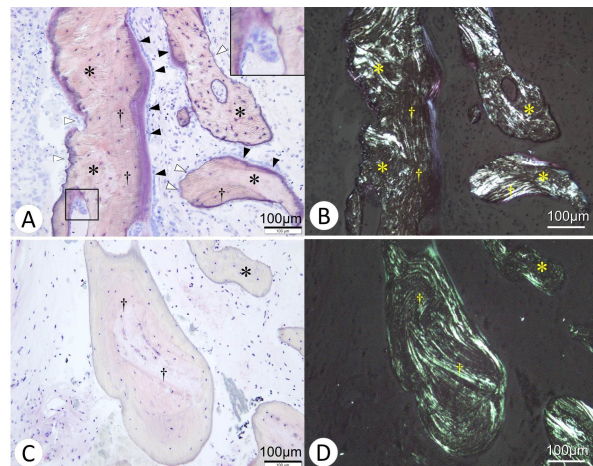


図 4 歯槽骨非脱灰薄切片の組織学的観察 (\*：新生骨梁。+：層板骨。) (  $\times 10$  )  
A：抜歯後 7.7 か月の歯槽骨試料。  
( 黒矢尻：類骨面。白矢尻：骨吸収面。右上拡大像：破骨細胞。 )  
B：A と同部位の偏光顕微鏡像。  
C：抜歯後 17 か月の歯槽骨試料。  
D：C と同部位の偏光顕微鏡像。

(4) 形態計測学的項目と抜歯後の経過期間との関係

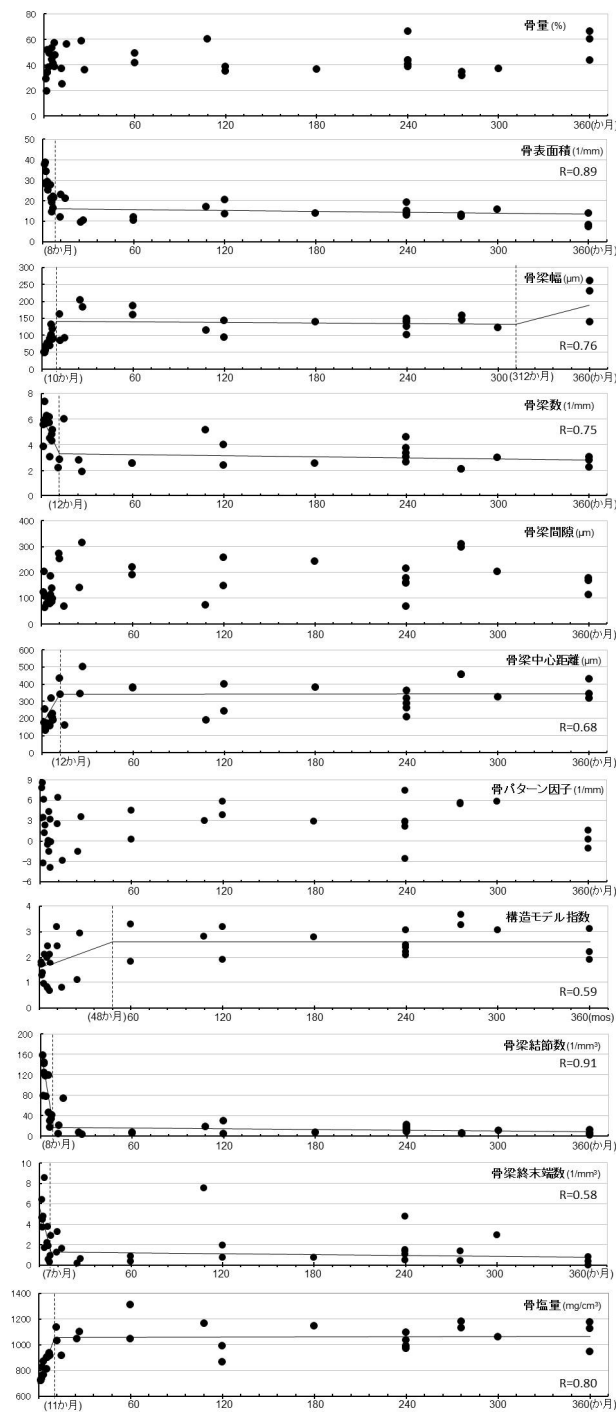


図5 三次元骨形態計測と骨塩量計測結果 (折れ線回帰分析。折曲点が検出された計測項目については折れ線回帰直線を示した。) (n=44。R: 折れ線回帰係数。p<0.05) 横軸: 抜歯後の経過期間 点線: 折曲点が検出された抜歯後の期間

折れ線回帰分析の結果、骨梁終末端数では抜歯後7か月、骨表面積、骨梁結節数では抜歯後8か月、骨梁幅では抜歯後10か月、骨塩量では抜歯後11か月、骨梁数、骨梁間隙

では抜歯後12か月、構造モデル指数では抜歯後48か月に、それぞれ有意な折曲点が検出された。折曲点以前において、骨表面積、骨梁数、骨梁結節数、骨梁終末端数は抜歯後の時間経過とともに減少し、骨梁幅、骨梁間隙、構造モデル指数、骨塩量は増加した(図5)。そして、折曲点以降は傾きがゼロに近似する値となり、すなわち折れ線回帰直線はフラットになり、時間経過に関連した増減は認められなくなった。また、骨量、骨梁中心距離、骨パターン因子については抜歯後経過期間における有意な折曲点は検出されなかった。

(5) 結論

本研究より、ヒトの抜歯窩では、抜歯後7~12か月ごろまではダイナミックに骨梁構造が改変されており、その後骨塩量の高い太い骨梁構造が形成され、その構造が安定して維持されることが示された。本研究の結果を考慮すれば、インプラントの初期固定を確実に得たい場合には、骨塩量が高く太い骨梁が存在する抜歯後7か月以上経過した歯槽堤にインプラントを植立するのが望ましいと考えられる。

ただし、新生骨の形成速度には個体差があることもサルを用いた研究で報告されており、抜歯窩の歯槽骨治癒経過が単純に時間経過だけで予測できるとは限らない。したがって、今後、抜歯窩の治癒過程に影響を与える可能性がある他の因子を含め検証する必要がある。

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)

〔学会発表〕(計 2件)

田中みか子, 三上絵美, 櫻井直樹, 芳澤享子, 荒井良明, 山田一穂, 江尻貞一, 小野高裕: ヒト抜歯後歯槽堤における骨改造現象と骨代謝活性の抜歯後期間による違い - 骨形態計測学的・組織学的解析 - . 第46回日本口腔インプラント学会学術大会, 2016年9月16-18日, 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

三上絵美, 田中みか子, 櫻井直樹, 芳澤享子, 荒井良明, 山田一穂, 江尻貞一, 小野高裕: 抜歯窩歯槽骨の骨梁構造および骨塩量と抜歯後経過期間との関係. 日本補綴歯科学会第124回学術大会, 2015年5月29-31日, 大宮ソニックシティ(埼玉県・さいたま市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三上 絵美 (MIKAMI, Emi)

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号: 20419328