

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861672

研究課題名(和文)インプラント周囲炎の新たな治療プロトコルの開発

研究課題名(英文)Invention of new treatment methods in peri-implantitis

研究代表者

小柳 達郎 (Koyanagi, Tatsuro)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：70632173

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)：本研究はインプラント周囲炎治療を通じて、細菌叢の変化と治療効果の関連を検討し、新たな治療プロトコルを開発することを目的に行った。被験者の治療前後における臨床パラメータの測定及びプラークサンプルの採取を行い、臨床パラメータの推移、細菌叢の相違を解析し、検討を行った。インプラント周囲炎の治療介入を考える上で利用可能な細菌学的診断マーカー候補の検討を行った結果、幾つかの固有細菌種にターゲットが絞られた。

研究成果の概要(英文)：This investigation aimed to the microbial differences between before and after treatment in peri-implantitis were examined. Subgingival plaque sample were taken from deepest pockets of peri-implantitis before and after treatment. The prevalence of bacteria was analysed using a 16S rRNA gene clone library. As a result of evaluated to microbiological diagnostic maker, for therapeutic intervention, several bacteria were identified as candidate pathogens in peri-implantitis.

研究分野：歯周病学

キーワード：インプラント周囲炎

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、歯の喪失による咀嚼機能や審美的回復のために歯科インプラントが頻りに用いられるようになってきた。しかし、これに伴いインプラント治療後のトラブルについての報告も増え続けており、なかでもインプラント周囲炎はその頻度が高く、実際にインプラント埋入患者の 28~77.4%でインプラント周囲炎が認められたと報告している。

(2) インプラントは天然歯と異なり、一度炎症が波及すると天然歯以上の速度で周囲歯槽骨の吸収を引き起こし、インプラントを喪失させることがわかっているが、その原因因子は特定されていない。

(3) インプラント周囲炎は歯周炎と同様の臨床症状を呈することが知られており、インプラント周囲炎細菌叢からは歯周病原細菌が検出されるとの報告も多い。しかし、歯周病原細菌の検出率は歯周炎のそれと比べると低いとする報告や、本来歯周炎との関わりがないとされている腸内細菌や真菌が高い頻度で検出されたとの報告もある。

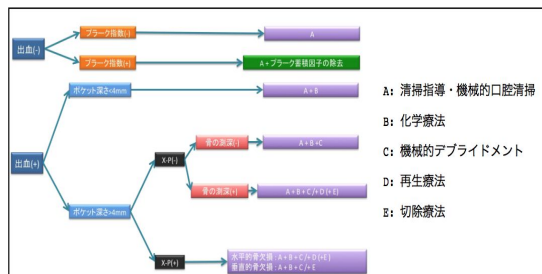
2. 研究の目的

本研究では、インプラント周囲炎治療を通じて、原因となる細菌叢と臨床パラメーターを記録し、細菌叢の変化と治療効果との関連を検討するとともに、インプラント周囲疾患の診断・治療上の指標となる細菌学的因子を解明し、新たな治療プロトコルを開発することである。

- (1) 治療前後における 16S 遺伝子解析によるバイオフィルム構成細菌の同定
- (2) 診断・治療の効果の細菌学的マーカー候補の検討
- (3) 治療効果の検討、及び、新たな治療プロトコルの開発

3. 研究の方法

(1) インプラント周囲炎、歯周炎部位より、ペーパーポイントを用いて歯肉縁下プラークサンプルの採取、歯周組織検査を行う。インプラント周囲炎の治療を下記に示した模式図に沿って行う。段階的に治療が終了し、再評価時に臨床パラメーターの記録とサンプル採取を行う。



インプラント周囲炎治療法の流れ

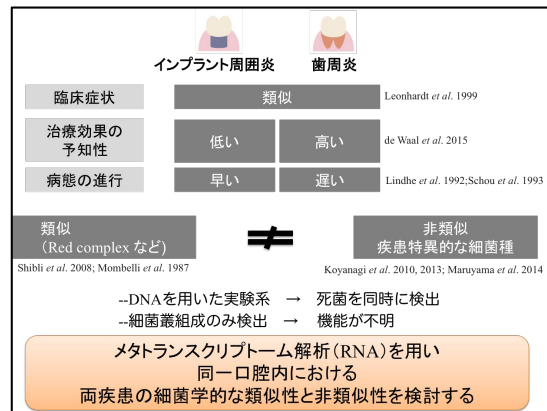
(2) 細菌の解析データに臨床パラメーターのデータを加え、治療前後における臨床的改善度と細菌叢の相違を解析、検討し、インプラント周囲疾患の治療記入を考える上で利用可能な細菌学的診断マーカー候補を検討する。

(3) 各治療前後の細菌サンプルを解析し、マーカー候補となる細菌種の有無や量的変化を計測し、各治療法の効果の判定を行う。

4. 研究成果

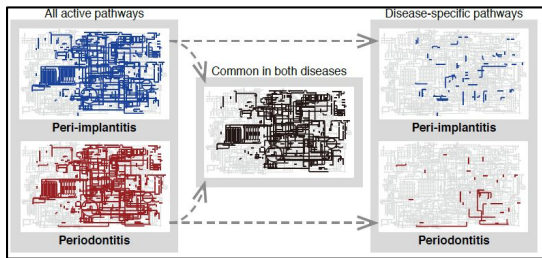
(1) インプラント周囲炎の細菌叢を網羅的に検索するため、未知の菌種を含めて検出同定ができる 16S rRNA gene clone library 法を用いて解析を行った。同一口腔内にインプラント周囲炎、歯周炎罹患部位をもつ被験者よりサンプリングを行い細菌叢の解析を行ったところ、インプラント周囲炎罹患部位では歯周炎罹患部位と比較し、より複雑で多様な細菌組成を示した。

(2) さらにインプラント周囲炎の病原細菌を特定するため、より活動性の高い細菌の検索が可能となるメタトランスクリプトーム法を用いて細菌叢解析を行ったところ、ある特定の細菌種の関与が示唆された。



DNA を用いた実験系では、死菌を同時に検出してしまいう可能性、また、細菌種のみを検出しているため、機能が不明である。そこで、我々は RNA を用い、メタトランスクリプトーム解析を同一口腔内で行い、両疾患の細菌学的な類似性と非類似性を検討することとした。

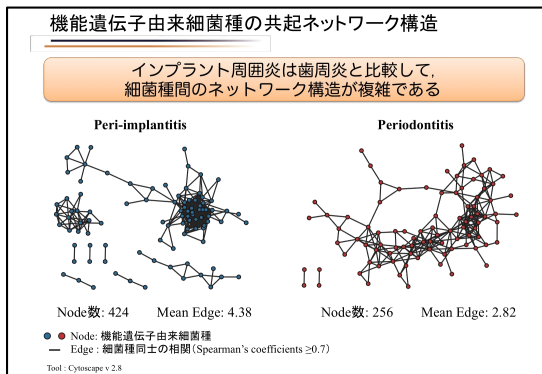
(3) インプラント周囲炎、歯周炎各群の細菌叢を網羅的に解析し、各群における機能解析を行い、歯周炎との機能の相違を調べたところ、関与している細菌種は異なるものの、代謝経路等は類似していた。



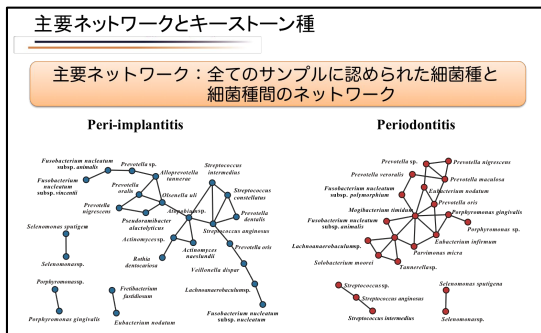
インプラント周囲炎と歯周炎の機能解析の比較

(4) 機能遺伝子由来細菌種に対して、遺伝子のアバンダンスを基に共起ネットワーク構造の解析を行ったところ、1つのNodeに対して、Edgeの数の平均はインプラント周囲炎で4.38、歯周炎では2.82となり、インプラント周囲炎の方がネットワーク構造が複雑である事がわかった。このネットワーク構造の複雑性の違いが両疾患の治療の反応に関与している可能性が示唆された。

(5)インプラント周囲炎への関与が示唆される特定細菌種の解析を行い、細菌学的診断マーカーの候補となる細菌種を探索したところ、全てのサンプルに認められた主要ネットワーク構造を担っているキーストーン種に違いがあり、これらの functional keystone species にインプラント周囲炎、歯周炎各群で差異を認めた。ネットワーク構造が抽出された。



ン種に違いがあり、これらの functional keystone species にインプラント周囲炎、歯周炎各群で差異を認めた。ワーク構造が抽出された。



(6) 両疾患と健常部位とで病原因子組成が明らかに異なり、これらが両疾患の発症と進行に関わると考えられた。また、共起ネットワーク構造や Functional keystone species の違いは、両疾患の病態や治療に対する反応の違いに影響すると考えられた。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

小柳達郎、小林宏明、竹内翔吾、和泉雄一、コーンビーム CT を用いたインプラント周囲炎骨欠損の形態解析、九州インプラント研究会 30 周年記念学術講演会、2016 年 3 月 26 日～27 日、福岡国際会議場(福岡県、福岡市)

Takahiko Shiba, Takayasu Watanabe, Hirokazu Kachi, Fumito Maruyama, Yasuo Takeuchi, Tatsuro Koyanagi, Noriko Maruyama, Kazunori Murase, Yuichi Izumi, Ichiro Nakagawa、Dissimilarities of functional keystone species in co-occurrence network enable discrimination of intractable polymicrobial infectious disease、SMBE Satellite Workshop on Genome Evolution in Pathogen Transmission and Disease、2016 年 2 月 22 日～25 日、志賀レークホテル(長野県、山ノ内町)

Takahiko Shiba, Takayasu Watanabe, Fumito Maruyama, Yasuo Takeuchi, Tatsuro Koyanagi, Noriko Maruyama, Ichiro Nakagawa, Yuichi Izumi、Inconsistency between abundance of 16S rRNA and mRNA in bacterial community of periodontitis and peri-implantitis、Europerio8、2015 年 6 月 3 日～6 日、ロンドン、イギリス

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

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

小柳 達郎 (Koyanagi Tatsuro)
東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員
研究者番号： 70632173

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：