

学位研究紹介
--------

## マウス上顎骨における即時埋入と遅延埋入チタンインプラント間の骨・インプラント界面の治癒パターンの相違

### Differences in Healing Patterns of the Bone-Implant Interface between Immediately and Delayed-Placed Titanium Implants in Mouse Maxillae

新潟大学 大学院医歯学総合研究科  
顎顔面再建学講座 硬組織形態学分野

渡辺 泰典

Division of Anatomy and Cell Biology of the Hard Tissue,  
Department of Tissue Regeneration and Reconstruction,  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

Taisuke Watanabe

#### 【緒 言】

歯科臨床における遅延埋入インプラントのプロトコルでは、抜歯窩の完全な骨化にはインプラント埋入前に6か月以上の治癒期間を置くこととされている。即時埋入インプラントにはいくつかの利点があるが、術後合併症が起ること、軟組織退縮の頻度が高いなどの欠点も指摘されており、即時埋入インプラント周囲軟組織の安定性に関する問題は未だに論争的である。イヌを用いた動物実験モデルを用いた即時埋入インプラント後の骨・インプラント界面では、抜歯後に歯槽頂の硬組織量が保存されないという報告がある<sup>1)</sup>。この報告では、舌側の骨壁同様頬側の骨壁が吸収したという結果が示されている。多くの過去の研究は、イヌ、ラット、ブタを用いて即時埋入インプラント後の骨の治癒過程に及ぼす即時荷重、表面性状、骨形成性物質、骨補填材と吸収性膜の効果に焦点を当ててきたが、即時埋入インプラント植立後の骨・インプラント界面の細胞レベルの治癒過程に関する利用できる知見はほとんどない。

オステオポンチン (OPN) は骨の細胞外マトリックスの主要な構成要素であるリン酸化された糖タンパク質である。骨の治癒やオッセオインテグレーション過程で、OPNを含むセメントラインは影響を受けた既存の骨表面やインプラント材料と新生骨との境界に観察される<sup>2)</sup>。しかしながら、インプラント植立後のオッセオインテグレーションを調節する分子メカニズムは明らかに

なっていないので、遺伝子改変動物を利用できるマウスを用いたデンタルインプラントモデルの確立は非常に有用な研究方略である。

そこで、我々は世界で初めてマウス上顎骨にチタンインプラントを植立した動物実験モデルを確立し、即時埋入インプラントと遅延埋入インプラント植立後の骨・インプラント界面の治癒パターンを比較した。本稿では、我々の最新の研究成果を紹介する<sup>3)</sup>。

#### 【材料と方法】

即時埋入群では、改造した歯科用ピンセットを用いて4週齢のICRマウス右側上顎第一臼歯(M1)を抜去した。止血・窩洞形成後にスクリュードライバーを用いてインプラントを窩洞に埋入した。同じ動物の未処理の左側M1は対照群として用い、抜歯窩は抜歯群として用いた。遅延埋入群では、2週齢のICRマウスの上顎第一臼歯を抜去し、4週間治癒を待った。引き続き、歯肉フラップを形成し即時埋入群と同様の方法でインプラントを埋入した。インプラント材料はチタンで、インプラントデザインは円柱状のねじ型を用いた。本研究で用いたインプラント表面は、ヒドロキシアパタイト (HA) を主成分としたセラミック研磨剤でブラスト処理された。

術後4週の標本 (即時埋入群) の脱灰前インプラント除去後に周囲骨の形態学的変化を検索するために、X線マイクロトモグラフィー ( $\mu$ CT) 分析を行った。樹脂包埋標本はインプラント中心面にほぼ一致する場所で露出するように研磨し、X線マイクロアナライザー (EPMA) を用いて元素分析を行った。術後1, 3, 5, 7, 14, 28日の間隔で一群3~5匹の動物をサンプリングした。固定・脱水・インプラント除去・包埋・薄切後、ヘマトキシリン・エオジン (H&E) 染色とアザン染色を施し、更に、酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (TRAP) 染色、OPN 及び Ki67 免疫組織化学、TUNEL アッセイ、各種統計処理を行った。

#### 【結果と考察】

本研究は、世界で初めてマウスを用いた即時埋入インプラントの動物実験モデルを確立した。 $\mu$ CT 解析により、対照群歯周囲骨と比較してインプラント周囲の頬側と舌側の骨壁に病的な骨喪失は無かった。本研究と過去の研究の間の結果の不一致は、いくつかの要因が即時埋入と遅延埋入インプラント間の結果の違いに影響を及ぼ

しており、動物種、動物の年齢、抜歯窩の大きさに対するインプラントのサイズの比率の違いに起因していると考えられた。

即時埋入後の骨・インプラント界面の治癒過程：即時と遅延埋入群共に28日までにオッセオインテグレーションが確立された(図1)。しかしながら、即時埋入群のTRAP陽性細胞の出現を伴う肉芽形成と骨形成の進行は、初期段階(5日)で遅延埋入群よりも早かった。歯周組織の生活力が即時と遅延埋入インプラントの結果の違いに影響を及ぼした要因であると考えられた。

オッセオインテグレーション過程における骨・インプラント界面のOPNの機能的意義：本研究は、マウスモデルにおいて5日後に、骨・インプラント界面のTRAP陽性細胞の出現を確認した。さらに、本研究では、即時及び遅延埋入群でのOPNの免疫反応がそれぞれ5日後と7日後に骨・インプラント界面に現れ、14日以降もインプラント表面から直接骨形成が起こる接触性骨形成部位にOPN沈着が認められた(図2)。この結果は、OPNがインプラント表面の骨形成の開始に重要な役割を果たしていることを示唆している。

骨・インプラント界面のカルシウム：低レベルのカルシウムの領域がインプラント表面に認識できた。TRAP陽性の破骨細胞系細胞がインプラント表面に現れるというエビデンスから判断すると、HAによるこれらの細胞の補充は、インプラント表面のカルシウムの沈着のき

かけとなる因子であるかもしれない。

結論として、本研究はマウス上顎骨へのインプラント埋入動物実験モデルを確立し、初期のステージを除けば即時と遅延インプラント埋入群の間で細胞レベルでの骨・インプラント界面の経時的な治癒過程に有意差がないことが明らかとなった。

### 【参考文献】

- 1) Araujo MG, Wennstrom JL, Lindhe J: Modeling of the buccal and lingual bone walls of fresh extraction sites following implant installation. *Clin Oral Implants Res* 17(6): 606-614, 2006.
- 2) McKee MD, Nanci A: Osteopontin at mineralized tissue interfaces in bone, teeth, and osseointegrated implants: ultrastructural distribution and implications for mineralized tissue formation, turnover, and repair. *Microsc Res Tech* 33(2):141-164, 1996.
- 3) Watanabe T, Nakagawa E, Saito K, Ohshima H: Differences in healing patterns of the bone-implant interface between immediately and delayed-placed titanium implants in mouse maxillae. *Clin Implant Dent Relat Res* 2015 Apr 15. Doi: 10.1111/cid.12280 [Epub ahead of print]

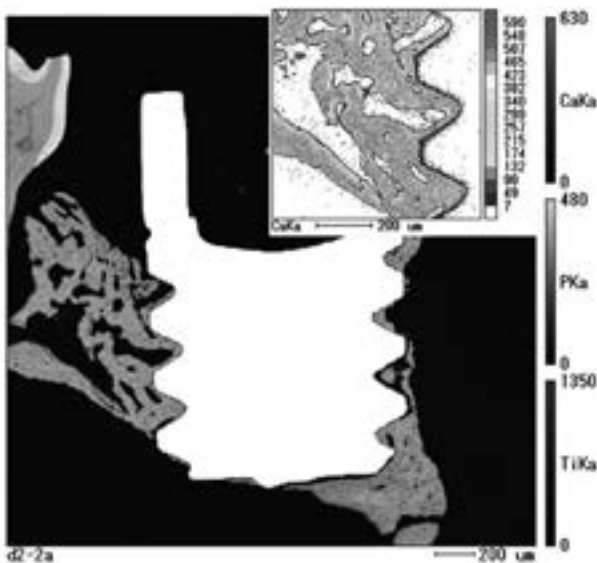


図1. インプラント即時埋入後28日の埋入部のEPMA像(挿入図は骨・インプラント界面のCaマッピング像)

術後28日には、オッセオインテグレーションが確立している。

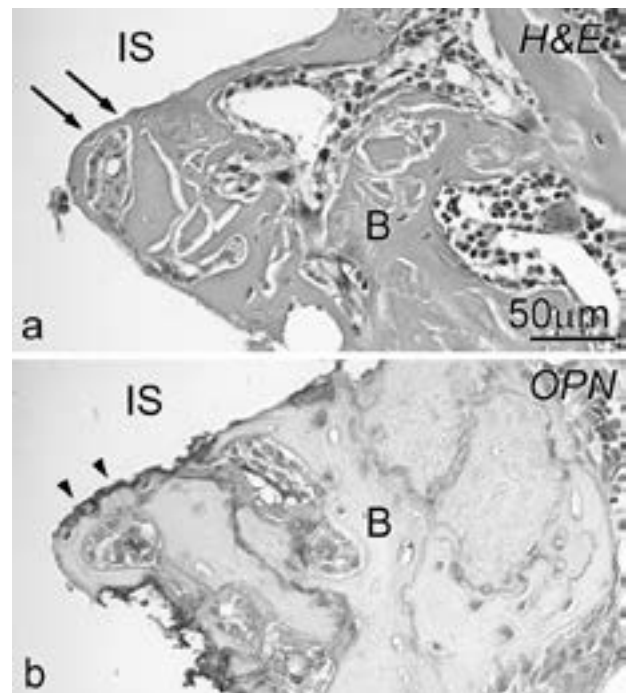


図2. インプラント即時埋入後14日の骨・インプラント界面のH&E染色(a)と同部位のOPN免疫染色像(b) 接触性骨形成部位(矢印)にオステオポンチン陽性反応(矢じり)が認められる (IS:インプラントスペース, B:骨)。