

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 渡辺 泰典
学位 博士(歯学)
学位記番号 新大院博(歯)第330号
学位授与の日付 平成27年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 Differences in Healing Patterns of the Bone-Implant Interface between Immediately and Delayed-Placed Titanium Implants in Mouse Maxillae
(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)

論文審査委員 主査 大島 勇人 教授
副査 朔 敬 教授
副査 魚島 勝美 教授

博士論文の要旨

【緒言】臨床歯科医学において、遅延埋入インプラントのプロトコールでは、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が示唆されている。即時埋入インプラントはいくつかの利点があるが、術後合併症が即時埋入で通常見られること、そして、早期埋入が即時埋入と比較して軟組織退縮の頻度が少ないことなどの欠点もあり、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に関して、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かった。すなわち、舌側の骨壁同様頰側の骨壁が吸収した。多くの研究者は、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、骨・インプラント界面の詳細な治癒過程に関する利用できる知見は少ない。

オステオポンチン(OPN)は骨と歯の石灰化細胞外マトリックスの主要な構成要素である高度にリン酸化されたシアロタンパク質である。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既存の骨の影響を受けた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。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。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戦略である。

本研究は、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することを目的とした。

【材料と方法】即時埋入群では、4週齢のICRマウス右側上顎第一臼歯は、改造された歯科用ピンセットを用いて除去された。インプラントは、抜歯窩からの出血を制御した後スクリュードライバーを用いて窩内に埋入された。同じ動物の未処理の左側M1は対照群として使われ、抜歯窩は抜歯群として使われた。遅延埋入群では、2週齢のICRマウスの上顎第一臼歯は、即時埋入群と同じ方法で除去され、4週間治癒を待った。引き続き、即時埋入群と同様の方法で処理して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であった。本研究で用いたインプラント表面性状は、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(μ CT)分析を行い、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され、そしてEPMAを用いて元素分析が行われた。材料は、手術後1、3、5、7、14、28日の間隔で一群3~5匹の動物から集められた。脱灰した後、ヘマトキシリンエオジン染色とアザン染色が施され、更にKi67免疫組織化学解析、TUNELアッセイ解析し各種統計処理を行った。

【結果と考察】本研究は、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。 μ CT解析によって示されたように、反対側対照歯周囲骨と比較してインプラント周囲の頰側と舌側の骨壁に病的な骨喪失はなかった。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。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間の結果の違いに影響を及ぼした要因であろう。

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の機能的な重要性: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証した。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た。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、リン、チタンレベル:低レベルのリンとチタンがインプラント表面と周囲骨との間隙に一致している一方で、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、インプラントからのチタンの溶出とインプラント表面のカルシウムの沈着のきっかけとなる因子であるかもしれない。

【結論】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き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はなかった。

審査結果の要旨

歯科インプラント埋入プロトコールは、抜歯からインプラント埋入までの時期の違いにより、タイプ1~4に分けられている(タイプ1:即時埋入、タイプ2:4~8週後埋入、タイプ3:12~16週後埋入、タイプ4:6ヶ月以上経過しての埋入)。即時埋入インプラントは、抜歯後の治癒期間を待つ必要が無く、外科的な侵襲も少なく、歯の喪失期間の短縮や治療費の削減、歯槽骨の高さや幅の維持などの利点があるが、一方で術後の合併症などの欠点も指摘されており、インプラント周囲組織の安定性については論争的であり、イヌを用いた研究では、抜歯後の頬舌側歯槽頂の吸収を惹起すると報告もある。

歯科インプラント植立後の細胞レベルでのオッセオインテグレーション形成過程では、インプラント体表面から直接骨が形成される接触性骨形成 contact osteogenesis と既存の骨から骨形成が進行する遠隔性骨形成 distance osteogenesis の二種類の様式があり、インプラント体表面のハイドロキシアパタイト(HA)の存在が接触性骨形成の引き金になることが明らかになっている。これまでの細胞レベルの歯科インプラント研究はラットやウサギを用いた実験系に依存していたが、多様な遺伝子改変動物が採用できるマウスを用いた実験系を確立できれば、特定の分子に焦点を当て機能的解析をすることが可能になる。一方、骨のリモデリング過程において、破骨細胞と骨芽細胞の分化・機能発現にオステオポンチン(OPN)が重要な役割を果たすと考えられている。OPNは接着性骨基質タンパク質であり、その局在・発現パターンから骨形成過程において重要な役割を担うと考えられてきたが、Opn遺伝子欠損マウスで骨格系に明らかな異常が見られないことから、骨代謝におけるOPNの役割は未解決の問題である。

本研究は、マウス顎骨への即時埋入および遅延埋入インプラント実験系を世界で初めて確立することに成功し、即時埋入群と遅延埋入群を比較してオッセオインテグレーション形成過程を明らかにした。両群共に術後28日でオッセオインテグレーションが確立されたが、両群間で骨・インプラント界面のオッセオインテグレーション率、歯頸部領域の骨吸収、石灰化率に有意な違いがないことを証明した。一方で、即時埋入群において、近心のインプラント周囲骨に骨髄腔塊を認めたのは興味深い。OPN免疫組織化学、酒石酸鋳抵抗性骨吸収性フォスファターゼ(TRAP)組織化学、細胞増殖活性の所見からも骨・インプラント界面の治癒が即時埋入群で促進することも明らかになっている。

この所見は、抜歯後の歯槽窩歯根膜の存在が即時埋入インプラントの治癒に積極的に働いていることを示した初めての報告である。また、本研究では、オッセオインテグレーション獲得過程でのOPNの役割についても興味深い所見を提供している。骨・インプラント界面のOPNの沈着は、HAプラスティングインプラント表面へのOPNの沈着を示す所見であり、接触性骨形成にOPNが重要な役割を果たしていることを示唆している。また、同部位にはTRAP陽性破骨細胞系細胞も出現しており、当該細胞がOPN沈着に関わっていることも明らかになっている。今後は、Opn遺伝子欠損マウスを用いた研究により、オッセオインテグレーション獲得過程におけるOPNの機能的役割が解明されることが期待される。

以上、本研究結果は、即時埋入インプラント植立後の骨・インプラント界面の治癒過程を細胞レベルで明らかにしており、オッセオインテグレーション獲得過程における分子レベルの解明の糸口となる重要な知見を提示しており、歯科インプラント研究への貢献度が極めて高いので、学位論文としての価値を認める。