

学 位 論 文 題 名

Peri-implant tissue after Osseointegration
in Diabetes in Rat Maxilla

(ラット上顎におけるオッセオインテグレーション確立後の
インプラント周囲組織に対する糖尿病の影響)

学位論文内容の要旨

【緒言】

歯科インプラント治療は、歯牙欠損に対する治療法の一つとして広く普及しつつある。インプラントの長期的な成功のためにはオッセオインテグレーションを維持する必要がある、Albrektsson らは、オッセオインテグレーションの成立条件としてインプラントの材料・デザイン・表面性状、骨の状態、外科的テクニック、インプラント埋入条件の 6 つの項目が重要であると報告している。骨質および骨量は、インプラント治療における重要な条件の一つであり、全身状態の影響を受けやすい。糖尿病は、骨の状態に影響を与える全身疾患の一つであり、インプラント治療の危険因子の一つであることが報告されている。コントロールされた糖尿病患者に対するインプラント治療は、インプラント植立 5 年経過で残存率が健常者よりも低いとの報告があり、また長期糖尿病患者に対するインプラント治療の成功率の低下が報告されている。糖尿病誘発後インプラント体を埋入した基礎研究は数多くおこなわれており、インプラント体に対する骨接触率の低下が報告されているが、インプラント治療を受けた患者が糖尿病になった状態を想定し、オッセオインテグレーション確立後に高血糖状態を誘発した基礎研究はなされていない。当教室の小畑は、ストレプトゾトシン誘発糖尿病がラット大腿骨においてオッセオインテグレーション獲後のチタンインプラント体周囲の骨組織に及ぼす影響について研究をし、4 週間の高血糖期間では、獲得されたオッセオインテグレーションに変化を与えないことを報告した。本研究においては、オッセオインテグレーション後の口腔粘膜、結合組織および歯槽骨などのインプラント周囲組織の動態にストレプトゾトシン誘発糖尿病が与える影響を明らかにすることである。

【材料と方法】

生後4週齢の雄性 Wistar 系ラット 24 匹を用い、ネンブタールによる麻酔を行い、上顎左側第 1 臼歯を抜歯後、即時に抜歯窩へチタンスクリュー（直径 1.7mm 長さ 3mm）を最上部のネジ山の先端まで埋入した。インプラント体埋入後 4 週および 8 週でサンプリングしたものを、それぞれ 4 週群、8 週群とした。糖尿病群は同様にインプラント体埋入後 4 週でストレプトゾトシン (50mg/kg) を腹腔内投与し、投与 2 日、7 日後に尾静脈より採血し血糖値が 300mg/dl 以上であることを確認後、埋入後 8 週でサンプリングした。インプラント体を含む上顎を摘出し、ホルマリンにて固定後、Villanueva Bone 染色を施し、アルコール上昇系にて脱水を行い、樹脂包埋をした。包埋したブロックをダイヤモンドディスクにて 500 μm にスライスし 70 μm まで研磨して非脱灰標本の作製を行った。また、一部の試料については EDTA にて脱灰し、十分に脱灰が確認された後に注意深くインプラント体を除去し、通法にてパラフィン包埋を行い H.E 染色および TRAP 染色を施し、病理組織学的検索を行なった。また、骨接触率、骨の高さ、骨占有率及び TRAP 陽性細胞数について組織計量学的検索を行った。チタンスクリューは 3 つのネジ山を有しており、ネジ頭から先端部に向かってネジ山 1、ネジ山 2、ネジ山 3 とした。骨接触率については、ネジ山 3 の頂点から歯槽骨頂までのインプラント体の表面の長さに対する骨髓腔や結合組織を除いた骨の接触している長さの割合を求めた。骨の高さについては、ネジ山 3 の頂点からネジ山 1 の頂点までのインプラント体長軸の長さに対するネジ山 3 の頂点から歯槽骨頂までの長さの割合を求めた。骨占有率については、ネジ山 3 の頂点からネジ山 2 の頂点を結んだインプラント体最下部のネジ陥凹部の面積のうち骨髓腔や結合組織を除いた骨の割合を求めた。TRAP 陽性細胞については、粘膜直下の歯槽骨表面より 50 μm 範囲の歯槽骨頂部における TRAP 陽性細胞数とインプラント体表面より 50 μm 範囲のインプラント体全周の新生骨における TRAP 陽性細胞数を求めた。

【結果】

歯槽骨縁は 4 週群でネジ山 1 の頂点近くに認められたが、8 週群では 4 週群よりも低下し、糖尿病群ではさらに低下が認められた。3 群共にインプラント体と骨との界面に結合組織は一部分で認められたが、大部分はインプラント体と骨が直接接しており、いわゆるオッセオインテグレーションを呈していた。骨髓腔は 4 週群で不定形の比較的大きなものが認められ、8 週群では 4 週群よりも小さい骨髓腔が認められた。糖尿病群においても小さい骨髓腔が認められた。ネジ頭の直下と粘膜上皮との間に 3 群共に食物残渣が認められた。インプラント体周囲粘膜下結合組織では 4 週群および 8 週群で紡錘形の線維芽細胞を含む結合組織の線維がインプラント体に対して平行に規則正しい走行を示し、炎症性細胞浸潤はほとんど認められなかった。一方糖尿病群では、4 週群および 8 週群と比較して強い炎症反応が認められ、粘膜下結合組織の線維の走行の

乱れや結合組織内にリンパ球を主体とした炎症性細胞浸潤が認められた。また角化上皮の深部への伸展、毛細血管の拡張を認めた。TRAP 染色では4週群、8週群に比べ糖尿病群では粘膜直下の歯槽骨頂部に赤色に染まる TRAP 陽性細胞および骨吸収により生じたハウシッポ窩が多く認められた。骨接触率、骨占有率では有意差は認められなかったが、骨の高さにおいて4週群と糖尿病群の間に有意差が認められた ($p < 0.05$)。TRAP 陽性細胞数はインプラント全周では4週群、8週群、糖尿病群では有意差は認められなかったが、インプラント周囲の粘膜直下における歯槽骨頂部の TRAP 陽性細胞数において4週群と糖尿病群の間に有意差が認められた ($p < 0.05$)。

【考察】

歯槽骨の高さにおいて4週群と糖尿病群において有意差が認められた。糖尿病群では4週群および8週群と比較してインプラント体周囲の粘膜固有層に強い炎症反応が認められた。糖尿病は微小血管障害や口腔粘膜の炎症を引き起こすとの報告がなされており、さらにインプラントの周囲のブラッシング等の洗浄テクニックを本研究で実施しなかったため食物残渣やプラークの影響も考えられる。TRAP 陽性細胞数においてインプラント全周では3群共に有意差は認められないが、インプラント周囲の粘膜直下における歯槽骨頂部において4週群と糖尿病群において有意差が認められた。これらの結果からインプラント体周囲の粘膜固有層の炎症は破骨細胞を活性化し、粘膜直下の歯槽骨縁の骨吸収を惹起し、糖尿病群において骨レベルの減少が生じたと考えられる。

これまでにストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにインプラントを埋入し、骨芽細胞が高血糖状態の影響を受け、インプラント体と骨との接触率は非糖尿病グループより少ないとの報告があるが、本研究では小畑の報告と同様に骨接触率はオッセオインテグレーション後の高血糖の影響を受けなかった。これらのことより4週間の高血糖状態は、粘膜の炎症の影響を受けないインプラント深部の歯槽骨においてオッセオインテグレーションに影響を与えないことが示された。しかし、より長期の高血糖状態は破骨細胞を活性化するとの報告もあり、今後は長期の高血糖期間の実験が必要と思われる。

【結論】

オッセオインテグレーション獲得後の4週間の高血糖状態はラット顎骨におけるインプラント-骨接触率に影響を及ぼさないが、インプラント体周囲粘膜下結合組織に他に比べ強い炎症反応を惹起し、インプラント体周囲の骨頂部に骨吸収が起こり骨レベルの低下を生じることが明らかとなった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 横 山 敦 郎

副 査 教 授 進 藤 正 信

副 査 教 授 大 畑 昇

学 位 論 文 題 名

Peri-implant tissue after Osseointegration in Diabetes in Rat Maxilla

(ラット上顎におけるオッセオインテグレーション確立後の
インプラント周囲組織に対する糖尿病の影響)

審査は、まず論文提出者に対して提出論文の内容の要旨を説明させ、論文の内容について審査委員の口頭試問を行った。以下に提出論文の要旨と審査の内容を述べる。

論文提出者は、オッセオインテグレーション後の口腔粘膜、結合組織および歯槽骨などのインプラント周囲組織に糖尿病が与える影響を明らかにするため、ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットを用いて検討した。

【材料と方法】生後4週齢の雄性Wistar系ラットを用い、上顎左側第1臼歯を抜歯後、即時に抜歯窩へインプラント（チタンスクリュー 直径1.7mm 長さ3mm）を埋入した。インプラント埋入後4週、8週で屠殺したものを、4週群、8週群とした。糖尿病群（DM群）は同様にインプラント埋入後4週でストレプトゾトシンを腹腔内投与し、投与7日後に血糖値が300mg/dl以上であることを確認後、埋入後8週で屠殺した。インプラントを含む上顎を摘出し、固定後、半数の試料は、樹脂包埋し、非脱灰研磨標本を作製した。また、残り半数の試料は、脱灰後、注意深くインプラントを除去し、パラフィンに包埋し、薄切後、H.E染色、酒石酸耐性酸フォスファターゼ（TRAP）染色を施した。これらの標本について、病理組織学的および組織計量学的検索を行った。

【結果と考察】3群ともに、大部分でインプラント体と骨が直接接しており、いわゆるオッセオインテグレーションの状態を呈していた。糖尿病群では、4週群および8週群と比較して、上皮脚の深部への伸長、粘膜下結合組織のやや強い炎症性細胞浸潤および毛細血管の拡張が観察された。インプラント体に接する粘膜下歯槽骨頂部のTRAP染色陽性細胞数は、DM群で多く、4週群との間に有意差が認められた（ $p<0.05$ ）。また、骨レベルはDM群では低く、4週群との間に有意差が認められた（ $p<0.05$ ）。これらの結果から、インプラント体周囲の粘膜固有層の炎症が、破骨細胞を活性化し、歯槽骨縁の骨吸収を惹起したと推察され

た。一方、インプラント体と骨との接触率は3群の間に有意差は認められず、粘膜の炎症が及ばない深部の歯槽骨には、高血糖状態は影響しないことが示唆された。

【結論】オッセオインテグレーション獲得後の4週間の高血糖状態は、ラット上顎骨におけるインプラント-骨接触率には影響を及ぼさないが、インプラント体周囲粘膜下結合組織に炎症反応を惹起し、骨レベルの低下を生じることが明らかとなった。

以上の要旨説明に引き続き質疑応答を行った。

主な質問事項は以下のとおりである。

1. 臨床におけるインプラント治療は、糖尿病のリスクのある患者に対してはあまり行われない。本研究におけるモデル設定と臨床でのインプラント治療の関連性について。

インプラント埋入時には健康であっても、埋入後に何らかの原因で肺炎などの臓器の機能が低下する疾患によりインシュリン分泌が低下し、それに伴い糖尿病を発症することがある。本研究では、臨床におけるこのような状況をも含め、インプラント治療後に糖尿病に罹患した場合を想定しておこなった。

2. 臨床では楔状の欠損が生じるが本研究ではインプラント周囲で水平性の骨吸収が認められたことについて。

本研究では、インプラントのネジ頭の形態から、食物残渣が広範囲に溜まり易く、ネジ頭直下の粘膜に広い範囲に炎症を惹起し、このため皿状を呈する水平的な骨吸収が生じたと考えられる。

3. インプラント体に対して咬合力を加えた場合について。

咬合力を与えることにより、臨床に近い状態となり、粘膜や結合組織の炎症と相まり、オッセオインテグレーションにも影響を及ぼすものと考えられる。今後の研究の課題として取り組んでいきたい。

4. 糖尿病群のインプラント周囲における角化層の肥厚について。

通常はインプラントの接合上皮は角化しないため、食渣やプラークなどによる炎症が角化に何らかの影響を与えたものと考えられる。

5. 実験前の仮説との相違について

実験前の仮説では、糖尿病を誘発することによりインプラント体周囲に強い炎症反応が惹起され、インプラントが脱離するのではないかと考えたが、実際にはそこまで強い炎症反応は認められなかった。

6. 糖尿病と対照群における毛細血管の障害による免疫応答の違いについて。

糖尿病では、毛細血管基底膜の肥厚による管腔の狭窄や、内皮細胞の変性により血管が収縮し、血流量の低下による免疫応答の低下をきたす。また、白血球機能の異常等も起こすため、免疫機能は糖尿病では低下する。

本研究は、オッセオインテグレーション獲得後の4週間の高血糖状態は、深部のインプラント体周囲の骨接触状態には影響を与えないことを明らかとした。これは、インプラント治療後に糖尿病を発症した患者の予後について示唆するものである。さらに今後の展望に関してもしっかりと研究立案をもっており、将来性の点においても高く評価されるものであった。よって、学位申請者は博士（歯学）の学位授与にふさわしいものと認めた。