

学 位 論 文 題 名

Effect of hyperglycemia induced by streptozotocin after occlusal loading on bone tissue around implants

(咬合負荷後に streptozotocin により誘発された
高血糖状態がインプラント周囲の骨組織に与える影響)

学位論文内容の要旨

緒言

近年、デンタルインプラントは欠損に対する補綴処置として広く用いられ、良好な予後が報告されている。デンタルインプラントが長期間にわたって良好に機能するためには、オッセオインテグレーションの獲得が必要不可欠である。骨の状態はオッセオインテグレーション成立に関する重要な因子の一つであり、患者の全身状態が大きく関与することが知られている。骨の状態に影響する全身疾患として骨粗鬆症や糖尿病などがあげられ、特に糖尿病は中高年期に急増し易感染性や創傷の治癒遅延のため、インプラント治療においては大きなリスクファクターとなりうるばかりでなく、インプラント周囲の骨形成や骨改造に影響を与えると考えられる。動物実験においては、高血糖状態を誘発した動物のインプラント周囲での骨形成、インプラントと骨の接触率は、健常な動物に比較し劣ることが報告されている。一方、オッセオインテグレーション獲得後に誘発した高血糖状態はインプラントと骨の接触率に影響を与えないとの報告もなされている。しかし、機能下におけるインプラント周囲組織に高血糖が与える影響については未だ明らかにされていない。本研究では、インプラントが機能している状態で糖尿病に罹患したケースを想定し、オッセオインテグレーション成立後、咬合を負荷した後に誘発した高血糖状態がインプラント周囲組織に与える影響を解明することを目的とした。

材料および方法

実験材料として直径 1.7mm 長さ 3.0mm の TiO₂皮膜を有するチタンスクリュー (インプラント体) を、実験動物として生後 4 週齢、体重約 100g の雄性 Wistar 系ラット 30 匹を用いた。全身麻酔下にてラットの上顎左側第一臼歯を抜歯し、即時にインプラント体を埋入した。埋入 4 週後、インプラント体に動揺がないことを確認し、接着性レジンにて、咬合接触を付与した。咬合負荷を 4 週与えたものを I 群、12 週与えたものを II 群とし、咬合負荷 4 週後にストレプトゾトシン (STZ) を腹腔内に投与し、300mg/dl 以上の血糖値が 8 週間維持されたものを III 群とした。血糖値の測定は、インプラント埋入時、咬合付与時 (埋入 4 週後)、STZ 投与時、STZ 投与 2 日後、1 週後、2 週後、およびサンプリング時に行った。

実験期間中はラット口腔内の清掃は行わなかった。また、本実験は北海道大学動物実験委員会の承認のもとに行われた。

実験終了後、インプラント体を含む上顎骨を摘出し、EDTAにて脱灰、インプラント体を含む上顎骨を切断し、インプラント体を除去しパラフィン包埋を行った後に、5 μ mに薄切しヘマトキシリン・エオジン染色およびTRAP染色し鏡顕した。組織計量学的検索は①骨・インプラント接触率、②骨占有率、③骨の高さ、および④TRAP陽性細胞数を計測した。統計はKruskal-Wallis H-testにて群間比較を行い、Mann-Whitney U-test with Bonferroni correctionを用いて個々の群について処理した。

結果

ラットの体重は、I群とII群では経時的に増加したが、高血糖を誘発したIII群ではSTZ投与後の体重に変化は認められなかった。実験終了時におけるIII群の体重は、II群に比較し、有意に低かった。血糖値はI群とII群では変化が見られなかったが、III群ではSTZ投与により、血糖値の上昇がみられ、サンプリング時には、III群はII群に比較し、有意に血糖値が高かった。

組織学的には、いずれの群においても、多くの部分でインプラント体と骨が接触していた。骨と軟組織の界面においては、3群とも、インプラント体周囲の粘膜固有層に軽微な炎症反応が認められたが、高血糖を誘発したIII群では、I群およびII群に比較し、強い炎症性細胞浸潤が観察された。粘膜下の歯槽骨辺縁にTRAP陽性を示す破骨細胞が認められ、III群に多く観察された。インプラント体先端部では、一部のインプラント体と骨組織の界面に血管を含む線維性組織がみられたが、IおよびIII群に比較し、II群ではわずかであった。またいずれの群においても、オッセオインテグレーションの破壊を示す破骨細胞による骨吸収像がインプラントと骨組織との界面には観察されなかった。インプラント周囲の骨組織は、経時的に改造が進み、I群に比較しII群の骨髓腔は狭小化していた。高血糖状態であるIII群の骨髓腔は、II群よりやや大きい傾向を示した。

組織計量学的検索において、骨・インプラント接触率はII群がI群、III群に比較し有意に高い値を示したが、II群とIII群の間には有意差は認められなかった。骨占有率は、II群が最も大きく、ついでIII群、I群の順であり、3群間に有意差が認められた。骨の高さはI群が最も高く、ついでII群、III群であり、各群間に有意差が認められた。TRAP陽性細胞数は、III群が有意に高く、I群、II群との間に有意差が認められた。

考察

II群においては、I群に比較し、インプラントと骨組織界面の軟組織が少なく、I群とII群間の骨・インプラント接触率に有意差が認められ、またインプラント周囲の骨髓腔が狭小化し、スレッド間の骨占有率に関しても有意差が認められたことから、咬合負荷によりインプラントと骨組織の界面での骨形成およびインプラントのスレッド間の骨改造が進むことが推察された。高血糖状態を誘発することにより、インプラントと骨組織の界面での骨形成、スレッド間での骨改造は、高血糖を誘発していない健常ラットに比較し劣るが、オッセオインテグレーションの破壊等の重篤な問題は生じないことが示された。インプラント周囲粘膜下の骨の高さは、高血糖を誘発したIII群において最も低い値を示したが、粘

膜固有層の炎症や破骨細胞に起因するものと推察された。

結論

咬合負荷後の8週間の高血糖状態は、インプラント周囲の骨形成、骨改造および辺縁の骨の高さに影響を与えるが、オッセオインテグレーションの破壊などの重篤な問題は生じない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 網 塚 憲 生

副 査 准教授 飯 塚 正

学 位 論 文 題 名

Effect of hyperglycemia induced by streptozotocin after occlusal loading on bone tissue around implants

(咬合負荷後に streptozotocin により誘発された
高血糖状態がインプラント周囲の骨組織に与える影響)

審査は、主査、副査が一堂に会し、論文提出者が提出論文の内容の要旨を説明し、随時論文の内容について審査委員が口頭試問をする形式で行われた。以下に提出論文の要旨と審査の内容を述べる。

論文の要旨

本研究は、臨床的にインプラントが機能している状態で糖尿病に罹患したケースを想定し、咬合を負荷した後に、streptozotocin (STZ) で誘発した高血糖状態がインプラント周囲組織に与える影響を明らかにすることを目的としている。

生後 4 週齢の雄性 Wistar 系ラット 30 匹を用い、上顎左側第一臼歯を抜歯し、即時にチタンスクリュー(直径 1.7mm 長さ 3mm 以下インプラント体)を埋入した。埋入 4 週後、接着性レジンにて対合歯との咬合接触を付与した。4 週間咬合負荷したものをⅠ群とし、12 週間咬合負荷したものをⅡ群とした。咬合負荷 4 週後に STZ を腹腔内に投与し、300mg/dl 以上の血糖値が 8 週間維持されたものをⅢ群とした。組織学的検索を行うとともに、インプラント体と骨の接触率、インプラント体スレッド間の骨占有率、骨の高さおよび TRAP 陽性細胞数を組織計量学的に検討した。

3 群とも、インプラント周囲の粘膜固有層に軽度の炎症反応がみられたが、Ⅲ群においてより強く認められた。いずれの群においてもインプラント体は、多くの部分で骨と接触していたが、一部に骨髓や線維性組織が観察され、Ⅰ群とⅢ群で多く認められた。骨接触率については、Ⅱ群は他の 2 群に比較し有意に高く、Ⅰ群とⅢ群間に有意差は認められなかった。骨占有率は 3 群の間に有意

差が認められ、Ⅱ群が最も多く、以下Ⅲ群、Ⅰ群の順であった。骨の高さにおいても、3群間に有意差が認められ、Ⅰ群が最も大きくⅡ群、Ⅲ群の順であった。TRAP 陽性細胞数では、Ⅲ群が最も多く、他の2群との間に有意差を認めた。

高血糖状態は咬合負荷時のインプラント周囲での骨形成を抑制し、骨改造に影響を与えるとともに、粘膜固有層の炎症により上部の骨吸収を惹起することが明らかとなった。以上から、咬合負荷後に STZ により誘発された高血糖状態は、インプラント周囲組織に影響は与えるが、オッセオインテグレーションの喪失等の大きな問題は生じないことが示された。

審査の内容

1. 骨占有率の組織計量時において、近遠心1か所ずつを測定した理由について
各ラットのインプラント埋入深度の微妙な違いによりスレッド間に同じ数の測定箇所ができない場合があるため。

2. 骨の高さと骨接触率の測定結果の差が一致していないことについて

骨の高さは、スレッド間距離に対する骨の高さの比であるが、骨接触率は、骨内におけるインプラント周囲長から骨髄や線維性組織の長さを引いた値であるため。

3. streptozotocin 投与により糖尿病を発症する理由について

streptozotocin 投与により、膵臓のβ細胞のみが特異的に機能不全に陥るため。

4. TRAP 陽性細胞の主な出現部位とその理由について

TRAP 陽性細胞はⅢ群の骨軟組織界面に多く観察されたが、その理由として高血糖状態により粘膜組織において炎症が惹起されたことが推察される。

5. 高血糖状態が骨形成を抑制する理由について

本研究の結果からは考察することは困難であるが、文献的には、骨形成の抑制は骨芽細胞の機能低下によるもの考えられている。インスリンは骨芽細胞の分化や増殖を促進するが streptozotocin 投与によりインスリンが産生不能になるため、骨芽細胞の活性が低下し、骨形成が抑制されるとの報告がある。

本研究から、インプラント咬合負荷後の高血糖状態は、インプラント周囲組織に影響は与えるが、オッセオインテグレーションの破壊等の重篤な問題を起こさないことが示された。これらは、糖尿病等の有病者が増加しつつある現在、インプラント臨床に重要な示唆を与えるとともに、今後さらに研究を進めることにより高血糖状態における骨代謝の解明の一助になると考えられ、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）の学位授与に値するものと判定した。