

学位論文

副甲状腺ホルモンの間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデル
におけるオッセオインテグレーションの獲得に
及ぼす影響

学位申請者 沖 佳史

広島大学大学院医歯薬学総合研究科

医歯薬学専攻

(主任指導教員：津賀一弘教授)

2017 年

副甲状腺ホルモンの間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおける

オッセオインテグレーションの獲得に及ぼす影響

沖 佳史

Effect of intermittent parathyroid hormone administration to achieve

osseointegration in steroid induced osteoporosis model

Yoshifumi Oki

緒言

口腔インプラント（以下、インプラント）は、歯を失った際に口腔機能を回復する有力な手段の一つである。インプラント治療の成功は良好な初期固定およびそれに続くオッセオインテグレーションの獲得に大きく依存する¹⁾。オッセオインテグレーションとはインプラント体と骨組織が軟組織を介さず直接接触している状態であり²⁾、その獲得に必要な生体側の要因として、埋入部位の骨量および骨質が挙げられる³⁾。生体内でのインプラントの安定性は、埋入時のインプラント体と骨との機械的嵌合力により得られる力学的安定性から成る初期固定、およびその後のインプラント体と骨界面で起こる骨新生と骨リモデリングによる骨支持により得られる生物学的安定性の二次固定から成立する^{4,5)}。この点か

らも埋入部位の骨量および骨質は生体側の要因として挙げられる^{6,7)}。

骨粗鬆症は、骨強度の低下を特徴とし、骨折のリスクが増大しやすくなる骨格疾患であり⁸⁾、骨密度および骨質の低下を招くことから、インプラント体埋入部位の骨質にも影響を及ぼす。骨粗鬆症の患者では、骨梁構造の減少のため骨質が低下した部位に埋入されたインプラント体はオッセオインテグレーションの獲得が困難であること⁹⁾、インプラント体埋入部位の骨密度の低下により良好な初期固定の獲得が困難であること¹⁰⁾などが報告されている。骨粗鬆症の中でもステロイド性骨粗鬆症は、様々な疾患の治療に用いられるステロイド薬の副作用として最も頻度が高く^{11, 12)}、その年齢層も小児から高齢者に至るまで幅広い^{13, 14)}。その特徴として、急速な骨粗鬆化を認め、椎体や大腿骨近位部などの脆弱性骨折率が高くなる^{15, 16)}。ステロイド性骨粗鬆症においては、骨細胞および骨芽細胞の増殖抑制およびアポトーシスが亢進されるため骨形成が低下すること^{17, 18)}、破骨細胞分化誘導因子である RANKL が増加すること¹⁹⁾、骨形成に重要な Wnt シグナル伝達経路が抑制されるため骨形成が低下すること^{20, 21)}、骨髄間葉細胞から脂肪細胞への分化が促進されること²²⁾、また骨芽細胞への分化を促進する転写因子の Runx2 が抑制されること²²⁾などが報告されている。Oue ら²³⁾は本研究の先行研究として、卵巣摘出およびステロイド投与により作製したステロイド性骨粗鬆症ラビットの大腿骨遠位端にインプラント体を埋入し、初期固定および骨強度を測定したところ、ステロイド性骨粗鬆症モデルは健全な動物と比較しインプラント体埋入時の初期固定を示す埋入トルク値、共鳴振動周波数分析により算出するインプラント安定度指数 (ISQ 値) および 3 点曲

げ試験による脛骨の骨強度とも有意に低い値を示した。一方、近年、副甲状腺ホルモン（PTH）の間歇投与が、ステロイドによる Runx2 の抑制を阻害することで骨形成を促進し^{21, 24)}、Wnt- β -カテニン経路を活性化し、骨細胞および骨芽細胞のアポトーシスを抑制することで骨形成を促進する²⁵⁻²⁷⁾ことからステロイド性骨粗鬆症の病態に拮抗することが明らかとなっている。さらに、PTH の間歇投与は皮質骨および海綿骨の骨幅を増加することも既に報告されている²⁸⁻³²⁾。現在、骨粗鬆症を有する患者のインプラント治療はあまり行われていないものの、社会の超高齢化が進み、将来的にその需要が高まることも充分予測される。その場合、上述したこれまでの知見から、骨粗鬆症患者のインプラント治療においてはPTHの間歇投与が良好な初期固定およびオッセオインテグレーションの獲得に有用になる可能性があるものと考えた。

そこで本研究の目的は、PTH の間歇投与による骨質改善が、ステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラントの初期固定およびオッセオインテグレーションに及ぼす影響を明らかにすることとした。

材料および方法

本研究は広島大学自然科学研究支援開発センター生命科学研究支援分野ライフサイエンス教育研究支援部動物実験施設内規および利用細則に従った（倫理委員会承認番号: A-11-5-5）。

実験1 PTHの間歇投与による骨質改善がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラントの初期固定に及ぼす影響についての検討

【材料】

実験動物は雌性ニュージーランドホワイトラビット 10 羽（17 週齢，体重 3.0-3.5 kg）を用い，ステロイドホルモン製剤として酢酸メチルプレドニゾロン（MPA，デボ・メドロール®，Pfizer, NY），PTH 製剤としてテリパラチド（フォルテオ®，Eli Lilly, Indiana），埋入するインプラント体としてチタン製インプラント 10 本（直径 3.75 mm，長さ 7.0 mm，Brånemark System® MKIII TiUnite，ノーベルバイオケアジャパン，東京）を使用した。

【方法】

実験プロトコルを図 1 に示す。実験動物の両側卵巣摘出を行い，その 2 週間より MPA を 1 日に体重 1 kg 当たり，0.5 mg 筋肉内注射にて 4 週間投与し，ステロイド性骨粗鬆症モデルを作製した。その後，実験動物を 2 群に分け，1 群には，ステロイド性骨粗鬆症モデルの作製後 1 週から PTH を 1 日に 40 µg 皮下注射にて 4 週間間歇投与して PTH 群（n=5）とし，他の 1 群には生理的食塩水を同条件で投与し Control 群（n=5）とした。その後，体重 1 kg 当たり 0.2 mg の塩酸メデトミジン（ドミトール®，日本全薬工業，福島）の筋肉内注射および体重 1 kg 当たり 10 mg のペントバルビタールナトリウム（ソムノペンチル®，共立製薬，東京）の静脈内注射による全身麻酔とエピネフリン含有 2 %リドカイン（キシロカイン®，デンツプライ三金，東京）による局所麻酔下にて，実験動物の片側大腿

骨遠位端に直径 3.0 mm, 深さ 7.0 mm の骨窩を形成し, インプラント体を埋入 (図 2), 初期固定の評価として, インプラント体埋入時の埋入トルク値および埋入後のインプラント体の ISQ 値を測定した。埋入トルク値の測定は外科用インプラントシステム (iChiropro®, Bien-air, Bienne) を用いて, インプラント体埋入時の最大トルク値を測定した (図 3)。ISQ 値の測定は, 共鳴振動周波数分析装置 (Osstell®, Integration Diagnostics, Göteborg) を用いて, インプラント体と振動変換器が軟組織の介在なしに固定された状態で, 長軸方向および短軸方向から各 3 回ずつ, 合計 6 回測定し, その平均値を各時期の測定値とした³³⁻³⁸⁾ (図 4)。その後, インプラント体を除去し, 実験動物にペントバルビタールナトリウム (ソムノペンチル®, 共立製薬, 東京) および血液凝固阻止薬 (ヘパリン Na 注®, 持田製薬, 東京) を静脈内注射, 開胸, 心膜を剥離した後, 大動脈を介して左心室から生理的食塩水を体重相当量注入して灌流し, 骨組織ブロックを採取した。採取した組織ブロックは 10 %中性緩衝ホルマリンに 1 週間浸漬し, 固定処理を行った。固定処理後の組織ブロックを急速脱灰溶液 (KC-X®, 塩野義製薬, 大阪) にて 3 日間脱灰し, エタノールにて脱水, キシレンにて透徹し, パラフィンにて包埋した。得られたパラフィンプロックはマイクロームを用いて薄切し, 5 μ m 厚の脱灰薄切標本とした。各標本にヘマトキシリン・エオジン (H-E) 染色を施し, 光学顕微鏡 (BZ-9000, Keyence, 大阪) にて組織学的に観察した。また, インプラント体埋入窩隣接部の測定領域 (縦: 3.0 mm, 横: 1.5 mm) 中の総組織面積に対する骨組織面積の割合である骨面積率を Image J (National Institutes of Health, Bethesda) を用いて測定した (図 5)。

得られたデータの統計学的分析には統計ソフトとして Bell Curve（社会情報サービス，東京）を使用し，Mann-Whitney's *U* 検定を行った。有意水準は 0.05 以下とした。

実験 2 PTH の間歇投与による骨質改善がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるオッセオインテグレーションに及ぼす影響についての検討

【材料】

実験動物は雌性ニュージーランドホワイトラビット 15 羽（17 週齢，体重 3.0-3.5 kg）を用い，ステロイドホルモン製剤として MPA, PTH 製剤としてテリパラチド，インプラント体としてチタン製インプラント 30 本（直径 3.8 mm，長さ 6.5 mm, SETiO Plus®, GC, 東京）を使用した。

【方法】

実験プロトコルを図 6 に示す。実験 1 と同様の手法を用いてステロイド性骨粗鬆症モデルを作製した。その後，実験動物を 3 群に分け，そのうち 1 群にはステロイド性骨粗鬆症モデルの作製後 1 週から，PTH を 1 日に 40 µg 皮下注射にて 4 週間間歇投与した後，両側大腿骨遠位端にインプラント体を埋入し，さらにその後も 4 週間，PTH を同条件で投与し，PTHa 群とした（n=5）。次の 1 群にはステロイド性骨粗鬆症モデルの作製後 1 週から，PTH を 4 週間間歇投与し，インプラント体埋入後は生理的食塩水を同条件で投与し，PTHb 群とした（n=5）。残りの 1 群はインプラント体埋入前後で生理的食塩水を同条件で投与し Control 群とした（n=5）。3 群ともインプラント体埋入時に初期固定の評価として実験 1

と同様に埋入トルク値および ISQ 値の測定を行った。さらにインプラント体埋入後 2 週にオッセオインテグレーションの評価として ISQ 値の測定、インプラント体埋入後 4 週にオッセオインテグレーションの評価として ISQ 値を測定した後、片側のインプラント体についてはデジタルトルクゲージ (BTGE100CN®, 東日製作所, 東京) を使用して、インプラント体に逆回転の負荷を加え、除去時の最大値を除去トルク値として測定した³⁹⁾ (図 7)。以上の外科処置はいずれも、体重 1 kg 当たり 0.2 mg の塩酸メデトミジン (ドミツール®, 日本全薬工業, 福島) の筋肉内注射および体重 1 kg 当たり 10 mg のペントバルビタールナトリウム (ソムノペンチル®, 共立製薬, 東京) の静脈内注射による全身麻酔とエピネフリン含有 2 %リドカイン (キシロカイン®, デンツプライ三金, 東京) による局所麻酔を併用して行った。また、ステロイド性骨粗鬆症モデルの作製後 5 週のインプラント体埋入時およびインプラント体埋入後 2 週の ISQ 値測定時には、術後の感染予防のため、1.0 ml のエンフロキサシン製剤 (バイトリル®, バイエル薬品, 東京) を筋肉内注射した。インプラント体埋入後 4 週の ISQ 値および除去トルク値の測定後、実験動物にペントバルビタールナトリウム (ソムノペンチル®, 共立製薬, 東京) および血液凝固阻止薬 (ヘパリン Na 注®, 持田製薬, 東京) を静脈内注射、開胸、心膜を剥離した後、大動脈を介して左心室から生理的食塩水を体重相当量注入して灌流し、脛骨およびインプラント体を含む大腿骨組織ブロックを採取した。

脛骨標本については、高分解能 X 線 μ CT (SkyScan1176®, 東陽テクニカ, 東京) を用いてスキャンし、再構成ソフトとして CTVOX software (Bruker, 神奈

川)を用いて 9 μm のボクセルサイズで再構成した。その後、脛骨骨端成長板より遠位に 1.8 mm からさらに遠位に 0.9 mm の測定領域⁴⁰⁾における皮質骨骨密度および海綿骨 CT 値を CT-An Software (Bruker, 神奈川)を用いて測定した(図 8)。その後、直ちに急速脱灰溶液(KC-X[®], 塩野義製薬, 大阪)にて 3 日間脱灰し、エタノールにて脱水, キシレンにて透徹し, パラフィンにて包埋した。得られたパラフィンプロックはミクロトームを用いて薄切し, 5 μm 厚の脱灰薄切標本とした。各標本にヘマトキシリン・エオジン(H-E)染色を施し, 光学顕微鏡にて組織学的に観察した。さらに, 脛骨中央部の脱灰薄切標本にて脛骨骨端成長板より遠位に 1.8 mm からさらに遠位に 0.9 mm の測定領域中における骨面積率を測定した(図 9)。

インプラント体を含む大腿骨骨ブロックについては, ただちに 10 %中性緩衝ホルマリン溶液にて固定し, エタノールにて脱水, アセトンにて透徹し, 光重合型ポリエステルレジン(Technovit 7200VLC, Heraeus Kulzer, Wehrheim)にてレジン包埋した。得られたレジンプロックは硬組織薄切機(BS5000, EXAKT Apparatebau, Norderstedt)を用いて薄切し, 200 μm 厚の切片を得た。これらの切片は超精密硬組織研磨機(MG5000, EXAKT Apparatebau, Chemnitz)を用いて 70 μm 厚に研磨し, 非脱灰研磨標本とした。各標本にトルイジンブルー染色を施し, 光学顕微鏡にて組織学的に観察した。その後, Image J (National Institutes of Health, Bethesda)を用いて, インプラント体のカラー部から 4 スレッドのスレッド全長に対する骨接触部の長さ(%)としての骨インプラント接触率(BIC)を算出した(図 10)。

得られたデータの統計学的分析には統計ソフトとして Bell Curve（社会情報サービス，東京）を使用し，一元配置分散分析および多重比較 Tukey 法を用い，有意水準は 0.05 以下とした。

結果

実験 1 PTH の間歇投与による骨質改善がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラントの初期固定に及ぼす影響

すべての実験動物は，観察期間を通じて全身的に良好な健康状態が維持されていた。また，埋入手術部位においても皮膚の裂開や周囲組織の炎症性所見は見られなかった。

埋入トルク値への影響

埋入トルク値は，PTH 群が 29.8 ± 6.2 Ncm，Control 群が 10.0 ± 2.1 Ncm となり，PTH 群は Control 群と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$ ，図 11)。

ISQ 値への影響

ISQ 値は，PTH 群が 74.7 ± 11.7 ，Control 群が 55.9 ± 13.5 となり，PTH 群は Control 群と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$ ，図 12)。

組織学的観察および組織形態計測学的評価

組織学的観察においては，Control 群では脆弱な薄い骨梁が観察されたのに対して，PTH 群は Control 群と比較し太い骨梁が観察された（図 13）。また，骨面

積率は、PTH 群が $48.3 \pm 3.6 \%$ 、Control 群が $36.1 \pm 9.5 \%$ となり、PTH 群は Control 群と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$, 図 14)。

実験 2 PTH の間歇投与による骨質改善がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるオッセオインテグレーションに及ぼす影響

すべての実験動物は、観察期間を通じて全身的に良好な健康状態が維持されていた。また、埋入手術部位においても皮膚の裂開や周囲組織の炎症性所見は見られなかった。

埋入トルク値への影響

埋入トルク値は、PTHa 群が 26.9 ± 5.1 Ncm、PTHb 群が 27.8 ± 5.4 Ncm、Control 群が 9.8 ± 4.3 Ncm となり、PTHa 群および PTHb 群は Control 群と比較し有意に高い値となった ($p < 0.01$, 図 15)。

ISQ 値への影響

インプラント体埋入時の ISQ 値は、PTHa 群が 75.7 ± 7.1 、PTHb 群が 73.9 ± 4.0 、Control 群が 50.8 ± 15.7 となり、PTHa 群および PTHb 群は Control 群と比較し有意に高い値となった ($p < 0.01$, 図 16)。

インプラント体埋入後 2 週の ISQ 値は PTHa 群が 81.4 ± 4.0 、PTHb 群が 74.4 ± 2.5 、Control 群が 68.3 ± 4.0 となり、PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となり (PTHa 群 vs PTHb 群: $p < 0.05$, PTHa 群 vs Control 群: $p < 0.01$)、PTHb 群は Control 群と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$, 図 17)。

インプラント体埋入後4週のISQ値はPTHa群が 79.6 ± 3.6 , PTHb群が 69.4 ± 8.3 , Control群が 68.1 ± 5.2 となり, PTHa群はPTHb群およびControl群と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$, 図18)。

除去トルク値への影響

除去トルク値は, PTHa群が 77.0 ± 29.2 Ncm, PTHb群が 36.6 ± 8.5 Ncm, Control群が 34.4 ± 20.2 Ncm となり, PTHa群はPTHb群およびControl群と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$, 図19)。

μCTによる評価

脛骨標本のμCTによる骨構造の観察においては, PTHa群はPTHb群およびControl群と比較し皮質骨幅が厚く, また骨梁が多く観察された (図20)。

皮質骨骨密度ではPTHa群が 47.8 ± 2.6 %, PTHb群が 42.2 ± 0.5 %, Control群が 42.2 ± 2.6 %となり, PTHa群はPTHb群およびControl群と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$, 図21)。

海綿骨CT値ではPTHa群が 1720.6 ± 37.5 HU, PTHb群が 1534.5 ± 68.1 HU, Control群が 1439.3 ± 142.5 HU となり, PTHa群はPTHb群およびControl群と比較し有意に高い値となった (PTHa群 vs PTHb群: $p < 0.05$, PTHa群 vs Control群: $p < 0.01$, 図22)。

組織学的観察および組織形態計測学的評価

脛骨の脱灰薄切標本における観察では, PTHa群はPTHb群およびControl群と比較し多くの骨梁が観察された (図23)。その骨面積率はPTHa群が 29.0 ± 12.4 %, PTHb群が 8.1 ± 2.5 %, Control群が 14.0 ± 7.1 %となり, PTHa群は

PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となった (PTHa 群 vs PTHb 群: $p < 0.01$, PTHa 群 vs Control 群: $p < 0.05$, 図 24)。

インプラント体を含む大腿骨の非脱灰研磨標本の組織学的観察においては, PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較しインプラント体スレッド表面への骨接触が多く観察された (図 25)。

BIC は PTHa 群が $62.8 \pm 11.4 \%$, PTHb 群が $35.9 \pm 8.9 \%$, Control 群が $30.0 \pm 10.0 \%$ となり, PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となった (PTHa 群 vs PTHb 群: $p < 0.05$, PTHa 群 vs Control 群: $p < 0.01$, 図 26)。

考察

<実験方法について>

I 実験動物の設定について

本研究では, 実験 1, 2 ともにニュージーランドホワイトラビットを用いた。ラビットは, 系の統一, 同一の年齢, 数の確保, 個体差が少ないなどの利点がある。骨粗鬆症モデルの作製として一般的方法は, 卵巣摘出を行い, エストロゲン欠乏による骨質低下の作製であり, ラットやマウスに適応されている。しかしながら, これらの小動物には実際に臨床応用されている大きさのインプラント体の埋入は困難である。一方, ラビットはラットやマウスなどの小動物では不可能な, 臨床応用されているインプラント体の埋入が可能であり, インプラント体

埋入後の骨支持の検討にもよく用いられている^{23, 41-43)}。また、ラビットはステロイド性骨粗鬆症モデルへのインプラント体埋入後の骨組織反応の検討に用いられており^{23, 42)}、これらの研究と比較することも可能と考え選択した。

II ステロイド性骨粗鬆症モデルの設定について

ラビットは骨代謝が活発なため、ラットやマウスにおける骨粗鬆症モデルの作製方法である卵巣摘出のみでは骨粗鬆症モデルの作製は困難である^{44, 45)}。そこで、実験 1, 2 とともに Castañeda ら⁴⁵⁾の報告に従い、実験動物の両側卵巣摘出を行い、その 2 週後より 1 日に体重 1 kg 当たり 0.5 mg の MPA を 4 週間筋肉内注射にて投与し、ステロイド性骨粗鬆症モデルを作製した。

III PTH の投与条件について

テリパラチドはステロイド性骨粗鬆症のような重篤な骨粗鬆症に対する治療法として適応され、骨粗鬆症治療薬の中で最も強い新規椎体骨折抑制効果を有している⁴⁶⁾。PTH の投与条件は 1 日に 40 µg, 週に 5 日, 4 週間皮下注射にて間歇投与した⁴²⁾。PTH の投与量および投与方法についての報告は多く^{42, 47-53)}、これらの中では、1 日に体重 1 kg 当たり 15-60 µg, 週に 5 日が一般的である。その投与量および投与方法のなかで、ステロイド性骨粗鬆症ラビットでの研究において用いられている Almagro ら⁴²⁾の投与量および投与方法を本研究では選択した。Almagro ら⁴²⁾はステロイド性骨粗鬆症ラビットにインプラント体を埋入し、埋入後から PTH の間歇投与を開始し、その後のインプラント体の骨支持を検討した。それに対して、本研究では、PTH の間歇投与による骨質改善後にインプラント体を埋入し、埋入時およびその後の骨支持を検討している。

IV 実験部位について

実験 1, 2 ともにインプラント体埋入部位として長管骨である大腿骨遠位端に骨窩を形成して検討した。これは、骨窩の形態の規格化が比較的容易な点や、周囲が筋組織で覆われており、埋入後のインプラント体に影響を及ぼす外的因子を極力排除することができるため^{54, 55)}、インプラント体埋入後の骨治癒を観察する環境および部位としては適切であると考えた。今回用いた大腿骨遠位端は、顎骨と同様に、皮質骨、海綿骨および骨髄から構成されている。下顎体の発生は膜性骨化であり、その骨治癒も膜性骨化とされている⁵⁶⁾。これに対して、大腿骨での骨折治癒においては膜性骨化と内軟骨性骨化の両方が見られる。内軟骨性骨化の発現は微小動揺や酸素分圧の低下が関係しており、微小動揺がなく酸素分圧が高い骨欠損部における治癒過程は膜性骨化を起こすとされている^{57, 58)}。しかしながら、本研究では各観察期間で典型的な軟骨細胞は観察されなかった。インプラント体周囲は骨髄組織で囲まれていることから考えると、酸素供給が豊富で酸素分圧が高いため、大腿骨の骨欠損の治癒過程は顎骨と同じ膜性骨化である可能性が高い。また、PTH の間歇投与による骨質改善効果については既に多くの報告がされており²⁸⁻³²⁾、本研究では、動物を用いたその検討として、一般的に用いられる脛骨を用いて観察を行った^{24, 40, 42)}。

V オッセオインテグレーションの評価期間について

実験 2 ではインプラント体埋入後の観察期間を 4 週に設定した。通常、ラビットにおけるインプラント体埋入後は 4 週の治癒期間を設けることで埋入部位の骨治癒が得られるとされている⁴³⁾ため、本研究においてもインプラント体埋入

後の観察期間を 4 週に設定したものである。以下、結果の考察で詳述するが、実験 2 の PTHa 群および PTHb 群のインプラント体埋入後 4 週の ISQ 値、除去トルク値および BIC は、過去の研究においてオッセオインテグレーションを獲得した時の値に相当していることから、本研究での観察期間の設定は妥当であったと考えられる。

VI インプラント体の安定性の評価について

本研究では、初期固定の評価に埋入トルク値および ISQ 値を用い、オッセオインテグレーションの評価に ISQ 値、除去トルク値および BIC を用いた。

埋入トルク値はインプラント体埋入時の初期固定の評価に広く用いられており⁵⁹⁾、インプラント体埋入時の骨-インプラント体界面における剪断荷重を測定したものであり、埋入部位の皮質骨の強度と相関があると報告されている⁶⁰⁾。

共鳴振動周波数分析はプローブから磁気パルスを発信し、インプラント体に装着された振動変換器との共鳴振動周波数である ISQ 値を測定し、ISQ 値はインプラント体の安定性を示す客観的データである³³⁻³⁸⁾。ISQ 値はインプラント体周囲の骨量およびインプラント体界面の骨の剛性に依存することが知られており^{60, 61)}、インプラント体の安定性を経時的かつ非侵襲的に測定可能である^{33, 34)}。予後良好のインプラント体の ISQ 値は 57-82 であると報告されている³³⁾。他の評価方法としては歯牙動揺測定器を用いて測定するペリオテスト値などがあるが、本研究では上部構造を装着していないため行っていない。

除去トルク値は、骨-インプラント体界面の性状を評価するために用いられており、骨とインプラント体の接触率が増加すると、除去トルク値が増加する相

関関係にあると報告されている⁶²⁻⁶⁴⁾。

また、BIC はオッセオインテグレーションを獲得したインプラント体表面と骨との接触率を表し、組織形態計測によるオッセオインテグレーションの評価として多く用いられている^{43, 65-68)}。

<研究結果について>

実験 1 PTH の間歇投与による骨質改善がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラントの初期固定に及ぼす影響について

実験 1 の PTH 群における埋入トルク値 (29.8 ± 6.2 Ncm) および ISQ 値 (74.7 ± 11.7) は、先行研究である Oue ら²³⁾の報告における健全な動物のインプラント体埋入時の埋入トルク値 (33.1 ± 6.1 Ncm) および ISQ 値 (73.4 ± 3.1) と同等の値を示した。その一方、Control 群の埋入トルク値 (10.0 ± 2.1 Ncm) および ISQ 値 (55.9 ± 13.5) はこの値に及ばなかった。これらのことから、実験 1 では計画通り骨質の低下したステロイド性骨粗鬆症モデルを作製した上で、その骨質低下部位において、PTH の間歇投与による骨質改善効果によりインプラント体埋入時の良好な初期固定が獲得されたと考えられる。

ステロイド性骨粗鬆症では皮質骨強度の低下や骨梁形成の減少が骨組織にみられる^{23, 69)}。特に、皮質骨強度の低下が引き起こされている状態では、埋入トルク値は低下する。また骨梁の減少は、埋入されたインプラント体表面の骨組織が減少することから、ISQ 値は低下する。一方 PTH の間歇投与によって、皮質骨幅^{28, 31)} および皮質骨外径が増加し^{30, 31)}、海綿骨量が増加することが報告されている^{29, 31)}。PTH 群で初期固定が改善された理由としては、卵巣摘出および

MPA 投与により生じた骨質低下に対して, PTH の間歇投与によって骨強度および骨梁の増加によるインプラント体埋入部の骨質改善が起ったためと考えられる。この骨強度の増加によりインプラント体埋入時のインプラント体と周囲骨との機械的な嵌合力が大きくなった結果, PTH 群の埋入トルク値は Control 群と比較し有意に高い値となった。また, 骨梁の増加により, インプラント体に接する周囲骨の骨量が増加したため PTH 群の ISQ 値も Control 群と比較し有意に高い値となったと考えられる。実際, 組織学的観察においても, PTH 群のインプラント体埋入窩周囲の組織は Control 群と比較し太い骨梁が観察された。また, 埋入窩上部の骨面積率は, PTH 群が Control 群と比較して有意に高い値となった。これらの組織所見および組織形態計測の結果は, PTH 群の骨梁および海綿骨量の増加を直接的に示すものであり, PTH 群の埋入トルク値および ISQ 値が Control 群と比較し高い値となる原因となったと考えられる。なお, この骨面積率の測定領域については, インプラント体埋入窩の隣接部の縦: 3.0 mm, 横: 1.5 mm に設定した。これは, インプラント体の安定性は埋入部上部から下方に約 3 mm の骨に影響を受け⁶⁰⁾, また, インプラント体を埋入する際は, インプラント体を支持する周囲骨がおおよそ 1.5 mm 必要であるとされることを考慮したものである。

実験 2 PTH の間歇投与による骨質改善がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるオッセオインテグレーションに及ぼす影響について

埋入トルク値およびインプラント体埋入時の ISQ 値は, PTHa 群および PTHb

群は Control 群と比較し有意に高い値となった。これは実験 1 の結果と一致する。

インプラント体埋入後 2 週の ISQ 値は, PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となった。これは, インプラント体埋入以降も, PTH の間歇投与を行うことで, 骨-インプラント体界面における骨形成が促進されたためインプラント体の安定性が向上したと考えられる。また, PTHb 群は Control 群と比較し有意に高い値となった。これは, PTHb 群において PTH の間歇投与は中断しているため, 骨形成促進作用は起きていないが, インプラント体埋入時の良好な初期固定が獲得されていたため, Control 群と比較し良好な安定を示したと考えられる。

インプラント体埋入後 4 週の ISQ 値は, PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となった。これは埋入後 2 週と同様, インプラント体埋入後の PTH の間歇投与による骨形成促進作用のためと考えられる。一方, PTHb 群は Control 群と比較し有意差を認めなかった。これは, インプラント体埋入後に PTH の間歇投与を中止したために, 骨形成促進作用が失われ, さらに, 本研究で用いたステロイド性骨粗鬆症モデルにおいては, 作製後 12 週間は骨粗鬆症の状態が継続するため⁴⁵⁾, インプラント体周囲に接する骨組織面積が埋入後 4 週では PTHb 群と Control 群で同じ程度となったことに起因すると考えられる。また, インプラント体埋入後 2 週の PTHa 群および Control 群の ISQ 値はインプラント体埋入後 4 週の ISQ 値と同等の値を示したのに対して, PTHb 群では ISQ 値の減少がみられた。ラビットへのインプラント体埋入後 2 週および 4 週

の ISQ 値、骨面積率および BIC で評価した Soares ら⁴³⁾の報告において、インプラント体埋入後 2 週および 4 週の ISQ 値および骨面積率の変化はなかった。Soares らは、インプラント体埋入後 2 週で骨-インプラント体界面での新生骨の形成が観察され、骨吸収はあまり観察されなかったのに対して、インプラント体埋入後 4 週では骨形成および骨吸収が同様に観察され骨リモデリングが確認されたことを報告している⁴³⁾。このことから、インプラント体埋入時から埋入後 4 週までの骨リモデリングの状態が同じであった PTHa 群および Control 群は、インプラント体埋入後 2 週および 4 週の ISQ 値において同等の値を示したと考えられる。一方、PTHb 群では、インプラント体埋入後に PTH の間歇投与を止めることで骨リモデリングの状態が変化し、その結果 4 週での ISQ 値が減少したと考えられる。

除去トルク値は、PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となった。除去トルク値は主にインプラント体を支持する骨の強度に影響される。PTHa 群のインプラント体を支持する骨の骨強度は PTHb 群および Control 群に比較し高かったものと考えられる。また、骨とインプラント体の接触率が増加すると、除去トルク値が増加する相関関係にあると報告されている⁶²⁻⁶⁴⁾。本研究の結果においても、非脱灰研磨標本による組織学的観察では PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較しスレッドへの骨接触が多く観察された。また、BIC は、PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となり、除去トルク値と BIC の結果は相関を示しており、さらに ISQ 値と除去トルク値および BIC の相関も示された。

μ CT による脛骨の評価では、PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し皮質骨幅が厚く、また骨梁が多くみられた。皮質骨密度は、PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となり、海綿骨 CT 値も、PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となった。これらの結果は、PTHa 群の皮質骨強度が高いことを示すもので、ISQ 値および除去トルク値の結果へ影響したと考えられる。脛骨の脱灰薄切標本による組織学的観察では、PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し多くの骨梁が観察された。また、組織形態計測学的評価の骨面積率は、PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となった。この結果は、PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し骨梁が多いことを示しており、PTH の間歇投与をインプラント体埋入後も継続したことが ISQ 値および BIC の結果へ影響したと考えられる。これらの μ CT による評価、組織学的観察および組織形態計測学的評価の結果は、骨質低下部位に対する PTH の間歇投与による骨質改善効果を報告した過去の研究と一致した⁷⁰⁾。

以上のことから、ステロイド性骨粗鬆症モデルにおいても、インプラント体埋入後も PTH の間歇投与を継続することで良好なインプラント体の安定性が得られたと考えられる。

<将来の臨床応用に対する展望について>

口腔インプラント治療指針⁷¹⁾では骨粗鬆症は、手術時の全身的な危険度とは無関係であるが、インプラント治療の成功を妨げる全身的风险ファクターとして問題となる疾患であるとされている。PTH が適応となるような重篤な骨

粗鬆症の患者は既に BP 製剤での治療を受けている場合が多く、BP 製剤による治療中はインプラント治療を行うことが難しい⁷²⁾。また、PTH の投与期間は生涯において 2 年間までとされている。本研究結果より、インプラント治療を希望する患者において、重度の骨粗鬆症であると診断された場合、医科と連携し PTH の間歇投与などの治療が必要となる。その際、PTH の間歇投与による治療中の骨質が改善された状態で、インプラント治療を行うことで良好な予後が望めると考える。

また、重篤な骨粗鬆症では PTH による治療で全身の骨質が改善された後は、骨吸収を抑制する BP 製剤に切り替わる⁷³⁾。今後は荷重が付与されるなどの機能負荷された状態や BP 製剤が投与されている骨代謝環境下でのオッセオインテグレーションの維持、骨のリモデリングの様相を検討することが将来の臨床応用に向けての課題となると考える。

総括

PTH の間歇投与による骨質改善が、ステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラントの初期固定およびオッセオインテグレーションに及ぼす影響を明らかにするために、インプラント体周囲の骨形成および骨支持を力学的、組織学的および組織形態計測学的見地から検討した。

1. ステロイド性骨粗鬆症モデルに対する PTH の間歇投与による骨質改善効果により、インプラント体埋入時の良好な初期固定が獲得された。
2. インプラント体埋入後も PTH の間歇投与を継続することで骨形成が促進さ

れ、オッセオインテグレーションが増強された。

以上の結果より、PTH の間歇投与による骨質改善はステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラントの初期固定およびオッセオインテグレーションの獲得に有用であることが明らかになり、骨粗鬆症患者に対するインプラント治療における有益な知見を得ることができた。

謝辞

稿を終えるにあたり、終始御懇篤なる御指導ならびに御校閲を賜りました本学大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門（先端歯科補綴学）津賀一弘教授に深甚なる謝意を表します。また、御教示、御校閲を賜りました本学統合健康科学部門（公衆口腔保健学）杉山勝教授、本学大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門（歯科矯正学）谷本幸太郎教授ならびに本学大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門（口腔外科学）武知正晃准教授に感謝の意を表します。また、本研究を行うにあたり、御助言、御協力を頂きました本学大学院医歯薬保健学研究院基礎生命科学部門（硬組織代謝生物学）吉子裕二教授ならびに本学病院口腔維持修復歯科口腔インプラント診療科久保隆靖診療准教授に深謝いたします。さらに研究遂行上および本論文作成上の御助言と御鞭撻を賜りました本学大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門（先端歯科補綴学）土井一矢助教に厚く御礼申し上げます。さらに多くのご支援を頂きました、本学大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門（先端歯科補綴学）の教室員の方々、特に研究遂行に御助力頂きました森田晃司助教、大上博史助教、牧原勇介助教、梶原志

穂博士，加藤寛博士，小畠玲子先生に感謝いたします。最後に常に私を支えてくれた家族そして友人に感謝いたします。

- 1) Johansson B, Bäck T, Hirsch JM. Cutting torque measurements in conjunction with implant placement in grafted and nongrafted maxillas as an objective evaluation of bone density: a possible method for identifying early implant failures? Clin Implant Dent Relat Res 2004; 6: 9-15.
- 2) Brånemark PI, Zarb G, Albrektsson T. Tissue-integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry. Quintessence 1985; 54: 611-612.
- 3) Albrektsson T, Brånemark PI, Hansson HA, Lindström J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. Acta Orthop Scand 1981; 52: 155-170.
- 4) Raghavendra S, Wood MC, Taylor TD. Early wound healing around endosseous implants: a review of the literature. Int J Oral Maxillofac Implants 2005; 20: 425-431.
- 5) Villar C, Huynh-BA G, Millis M, Cochran D. Wound healing around dental implants. Endodontic Topics 2012; 25: 44-62.
- 6) Quirynen M, Naert I, Van Steenberghe D. Fixture design and overload influence marginal bone loss and fixture success in the

- Brånemark system. Clin Oral Implants Res 1992; 3: 104-111.
- 7) Hermann JS, Buser D, Schenk RK, Cochran DL. Crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged and submerged implants in the canine mandible. J Periodontol 2000; 71: 1412-1424.
 - 8) Kanis JA. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: synopsis of a WHO report. WHO study group. Osteoporos Int 1994; 4: 368-381.
 - 9) Rocca M, Fini M, Giavaresi G, Aldini NN, Giardino R. Osteointegration of hydroxyapatite-coated and uncoated titanium screws in long-term ovariectomized sheep. Biomaterials 2002; 23: 1017-1023.
 - 10) Merheb J, Temmerman A, Rasmusson L, Kübler A, Thor A. Influence of skeletal and local bone density on dental implant stability in patients with osteoporosis. Clin Implant Dent Relat Res 2016; 18: 253-260.
 - 11) Angeli A, Guglielmi G, Dovio A, Capelli G, de Feo D, Giannini S, Giorgino R, Moro L, Giustina A. High prevalence of asymptomatic vertebral fractures in post-menopausal women receiving chronic glucocorticoid therapy: a cross-sectional outpatient study. Bone

2006; 39: 253-259.

- 12) Canalis E, Mazziotti G, Giustina A, Bilezikian JP. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy. *Osteoporos Int* 2007; 18: 1319-1328.
- 13) Van Staa TP, Leufkens HG, Cooper C. The epidemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2002; 13: 777-787.
- 14) Weinstein RS. Clinical practice. Glucocorticoid-induced bone disease. *N Engl J Med* 2011; 365: 62-70.
- 15) LoCascio V, Bonucci E, Imbimbo B, Ballanti P, Adami S, Milani S, Tartarotti D, DellaRocca C. Bone loss in response to long-term glucocorticoid therapy. *Bone Miner* 1990; 8: 39-51.
- 16) Van Staa TP, Laan RF, Barton IP, Cohen S, Reid DM, Cooper C. Bone density threshold and other predictors of vertebral fracture in patients receiving oral glucocorticoid therapy. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3224-3229.
- 17) Dempster DW. Bone histomorphometry in glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1989; 4: 137-141.
- 18) Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and

- osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects on bone. *J Clin Invest* 1998; 102: 274-282.
- 19) Hofbauer LC, Gori F, Riggs BL, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Khosla S. Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinology* 1999; 140: 4382-4389.
- 20) Ohnaka K, Tanabe M, Kawate H, Nawata H, Takayanagi R. Glucocorticoid suppresses the canonical Wnt signal in cultured human osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 329: 177-181.
- 21) Hayashi K, Yamaguchi T, Yano S, Kanazawa I, Yamauchi M, Yamamoto M, Sugimoto T. BMP/Wnt antagonists are upregulated by dexamethasone in osteoblasts and reversed by alendronate and PTH: potential therapeutic targets for glucocorticoid-induced osteoporosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 379: 261-266.
- 22) Hofbauer LC, Rauner M. Minireview: live and let die: molecular effects of glucocorticoids on bone cells. *Mol Endocrinol* 2009; 23: 1525-1531.

- 23) Oue H, Doi K, Oki Y, Makihara Y, Kubo T, Perrotti V, Piattelli A, Akagawa Y, Tsuga K. Influence of implant surface topography on primary stability in a standardized osteoporosis rabbit model study. *J Funct Biomater* 2015; 6: 143-152.
- 24) Bellido T, Ali AA, Plotkin LI, Fu Q, Gubrij I, Roberson PK, Weinstein RS, O'Brien CA, Manolagas SC, Jilka RL. Proteasomal degradation of Runx2 shortens parathyroid hormone-induced anti-apoptotic signaling in osteoblasts. A putative explanation for why intermittent administration is needed for bone anabolism. *J Biol Chem* 2003; 278: 50259-50272.
- 25) Canalis E, Giustina A, Bilezikian JP. Mechanisms of anabolic therapies for osteoporosis. *N Engl J Med* 2007; 357: 905-916.
- 26) Weinstein RS, Jilka RL, Almeida M, Roberson PK, Manolagas SC. Intermittent parathyroid hormone administration counteracts the adverse effects of glucocorticoids on osteoblast and osteocyte viability, bone formation, and strength in mice. *Endocrinology* 2010; 151: 2641-2649.
- 27) Kraenzlin ME, Meier C. Parathyroid hormone analogues in the treatment of osteoporosis. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7: 647-656.
- 28) Hodsman AB, Kiesel M, Adachi JD, Fraher LJ, Watson PH.

- Histomorphometric evidence for increased bone turnover without change in cortical thickness or porosity after 2 years of cyclical hPTH (1-34) therapy in women with severe osteoporosis. *Bone* 2000; 27: 311-318.
- 29) Dempster DW, Cosman F, Kurland ES, Zhou H, Nieves J, Woelfert L, Shane E, Plavetić K, Müller R, Bilezikian J, Lindsay R. Effects of daily treatment with parathyroid hormone on bone microarchitecture and turnover in patients with osteoporosis: a paired biopsy study. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1846-1853.
- 30) Zanchetta JR, Bogado CE, Ferretti JL, Wang O, Wilson MG, Sato M, Gaich GA, Dalsky GP, Myers SL. Effects of teriparatide [recombinant human parathyroid hormone (1-34)] on cortical bone in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 539-543.
- 31) Jiang Y, Zhao JJ, Mitlak BH, Wang O, Genant HK, Eriksen EF. Recombinant human parathyroid hormone (1-34) [teriparatide] improves both cortical and cancellous bone structure. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 1932-1941.
- 32) Marx RE. Bone and bone graft healing. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2007; 19: 455-466.

- 33) Meredith N, Alleyne D, Cawley P. Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis. *Clin Oral Impl Res* 1996; 7: 261-267.
- 34) Friberg B, Sennerby L, Linden B, Gröndahl K, Lekholm U. Stability measurements of one-stage Brånemark implants during healing in mandibles. A clinical resonance frequency analysis study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1999; 28: 266-272.
- 35) De Santis E, Botticelli D, Pantani F, Pereira FP, Beolchini M, Lang NP. Bone regeneration at implants placed into extraction sockets of maxillary incisors in dogs. *Clin Oral Impl Res* 2011; 22: 430-437.
- 36) Isoda K, Ayukawa Y, Tsukiyama Y, Sogo M, Matsushita Y, Koyano K. Relationship between the bone density estimated by cone-beam computed tomography and the primary stability of dental implants. *Clin Oral Impl Res* 2011; 23: 832-836.
- 37) Doi K, Oue H, Morita K, Kajihara S, Kubo T, Koretake K, Perrotti V, Iezzi G, Piattelli A, Akagawa Y. Development of implant/interconnected porous hydroxyapatite complex as new concept graft material. *PLoS One* 2012; 7: e49051.
- 38) Doi K, Kajihara S, Morita K, Makihara Y, Okada S, Akagawa Y. The influence of fixation in formalin on the measurement of

- stability of implants using resonance frequency analysis and Periotest. Br J Oral Maxillofac Surg 2014; 52: 29-33.
- 39) 熱田俊一. 犬下顎骨に埋入した Fixture の除去所要力量について. 歯科学報 2003; 103: 860-869.
- 40) Li YF, Li XD, Bao CY, Chen QM, Zhang H, Hu J. Promotion of peri-implant bone healing by systemically administered parathyroid hormone (1-34) and zoledronic acid adsorbed onto the implant surface. Osteoporos Int 2013; 24: 1063-1071.
- 41) Piattelli M, Scarano A, Paolantonio M, Iezzi G, Petrone G, Piattelli A. Bone response to machined and resorbable blast material titanium implants: an experimental study in rabbits. J Oral Implantol 2002; 28: 2-8.
- 42) Almagro MI, Roman-Blas JA, Bellido M, Castañeda S, Cortez R, Herrero-Beaumont G. PTH [1-34] enhances bone response around titanium implants in a rabbit model of osteoporosis. Clin Oral Implants Res 2013; 24: 1027-1034.
- 43) Soares PB, Moura CC, Claudino M, Carvalho VF, Rocha FS, Zanetta-Barbosa D. Influence of implant surfaces on osseointegration: a histomorphometric and implant stability study in rabbits. Braz Dent J 2015; 26: 451-457.

- 44) Castañeda S, Largo R, Calvo E, Rodríguez-Salvanés F, Marcos ME, Díaz-Curiel M, Herrero-Beaumont G. Bone mineral measurements of subchondral and trabecular bone in healthy and osteoporotic rabbits. *Skeletal Radiol* 2006; 35: 34-41.
- 45) Castañeda S, Calvo E, Largo R, González-González R, de la Piedra C, Díaz-Curiel M, Herrero-Beaumont G. Characterization of a new experimental model of osteoporosis in rabbits. *J Bone Miner Metab* 2008; 26: 53-59.
- 46) Nakamura T, Sugimoto T, Nakano T, Kishimoto H, Ito M, Fukunaga M, Hagino H, Sone T, Yoshikawa H, Nishizawa Y, Fujita T, Shiraki M. Randomized teriparatide [human parathyroid hormone (PTH) 1-34] once-weekly efficacy research (tower) trial for examining the reduction in new vertebral fractures in subjects with primary osteoporosis and high fracture risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 3097-3106.
- 47) Corsini MS, Faraco FN, Castro AA, Onuma T, Sendyk WR, Shibli JA. Effect of systemic intermittent administration of human parathyroid hormone (rhPTH [1-34]) on the resistance to reverse torque in rabbit tibiae. *J Oral Implantol* 2008; 34: 298-302.
- 48) Bellido M, Lugo L, Castañeda S, Roman-Blas JA, Rufián-Henares

- JA, Navarro-Alarcón M, Largo R, Herrero-Beaumont G. PTH increases jaw mineral density in a rabbit model of osteoporosis. *J Dent Res* 2010; 89: 360-365.
- 49) Daugaard H, Elmengaard B, Andreassen TT, Baas J, Bechtold JE, Soballe K. The combined effect of parathyroid hormone and bone graft on implant fixation. *J Bone Joint Surg Br* 2011; 93: 131-139.
- 50) Daugaard H, Elmengaard B, Andreassen TT, Lamberg A, Bechtold JE, Soballe K. Systemic intermittent parathyroid hormone treatment improves osseointegration of press-fit inserted implants in cancellous bone. *Acta Orthop* 2012; 83: 411-419.
- 51) Fahlgren A, Yang X, Ciani C, Ryan JA, Kelly N, Ko FC, Van Der Meulen MC, Bostrom MP. The effects of PTH, loading and surgical insult on cancellous bone at the bone-implant interface in the rabbit. *Bone* 2013; 52: 718-724.
- 52) Tsunori K. Effects of parathyroid hormone dosage and schedule on bone regeneration. *J Oral Sci* 2015; 57: 131-136.
- 53) Tao ZS, Zhou WS, Tu KK, Huang ZL, Zhou Q, Sun T, Lv YX, Cui W, Yang L. The effects of combined human parathyroid hormone (1-34) and simvastatin treatment on osseous integration of

- hydroxyapatite-coated titanium implants in the femur of ovariectomized rats. *Injury* 2015; 46: 2164-2169.
- 54) Anderson HC. Molecular biology of matrix vesicles. *Clin Orthop* 1995; 314: 266-280.
 - 55) Hayashi K, Kubo T, Doi K, Tabata Y, Akagawa Y. Development of new drug delivery system for implant bone augmentation using a basic fibroblast growth factor- gelatin hydrogel complex. *Dent Mater J* 2007; 26: 170-177.
 - 56) 岡 高茂. 組織再生のための足場材料. *BIO Clinica* 2000; 15: 1128-1131.
 - 57) Hurley LA, Stinchfield FE, Bassett AL, Lyon WH. The role of soft tissues in osteogenesis. An experimental study of canine spine fusions. *J Bone Joint Surg Am* 1959; 41: 1243-1254.
 - 58) Shaw JL, Bassett AL. An improved method for evaluating osteogenesis in vitro. *Anat Rec* 1964; 149: 57-66.
 - 59) O'Sullivan D, Sennerby L, Meredith N. Measurements comparing the initial stability of five designs of dental implants: a human cadaver study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2000; 2: 85-92.
 - 60) Turkeyilmaz I, Sennerby L, Yilmaz B, Bilecenoglu B, Ozbek EN. Influence of defect depth on resonance frequency analysis and

- insertion torque values for implants placed in fresh extraction sockets: a human cadaver study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2009; 11: 52-58.
- 61) Al-Nawas B, Wagner W, Grötz KA. Insertion torque and resonance frequency analysis of dental implant system in an animal model with loaded implants. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2006; 21: 726-732.
 - 62) Carlsson L, Röstlund T, Alberktsson B, Alberktsson T. Removal torques for published and rough titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1988; 3: 21-24.
 - 63) Wennerberg A, Alberktsson T, Alberktsson B, Krol JJ. A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. *Clin Oral Implants Res* 1996; 6: 24-30.
 - 64) Kwon YS, Namgoong H, Kim JH, Cho IH, Kim MD, Eom TG, Koo KT. Effect of microthreads on removal torque and bone-to-implant contact: an experimental study in miniature pigs. *J Periodontal Implant Sci* 2013; 43: 41-46.
 - 65) Hui E, Chow J, Li D, Liu J, Wat P, Law H. Immediate provisional for single tooth implant replacement with Brånemark system: preliminary report. *Clin Impl Dent Relat Res* 2001; 3: 79-86.

- 66) Tawse-Smith A, Perio C, Payne AG, Kumara R, Thomson WM. One-stage operative procedure using two different implant systems: a prospective study on implant overdentures in the edentulous mandible. *Clin Impl Dent Relat Res* 2001; 3: 185-193.
- 67) Huang HM, Chiu CL, Yeh CY, Lee SY. Factors influencing the resonance frequency of dental implants. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61: 1184-1188.
- 68) Abrahamsson I, Linder E, Lang NP. Implant stability in relation to osseointegration: an experimental study in the labrador dog. *Clin Oral Impl Res* 2009; 20: 313-318.
- 69) Liu X, Lei W, Wu Z, Cui Y, Han B, Fu S, Jiang C. Effects of glucocorticoid on BMD, micro-architecture and biomechanics of cancellous and cortical bone mass in OVX rabbits. *Med Eng Phys* 2012; 34: 2-8.
- 70) Arita S, Ikeda S, Sakai A, Okimoto N, Akahoshi S, Nagashima M, Nishida A, Ito M, Nakamura T. Human parathyroid hormone (1-34) increases mass and structure of the cortical shell, with resultant increase in lumbar bone strength, in ovariectomized rats. *J Bone Miner Metab* 2004; 22: 530-540.
- 71) 渡邊文彦, 松浦正朗, 春日井昇平, 矢島安朝, 江藤隆徳,

加藤仁夫, 永原國央, 松下恭之, 廣瀬由紀人, 前田芳信, 廣安一彦. 口腔インプラント治療指針2016. 公益社団法人日本口腔インプラント学会 2016: 82-83.

- 72) Yoneda T, Hagino H, Sugimoto T, Ohta H, Takahashi S, Soen S, Taguchi A, Toyosawa S, Nagata T, Urade M. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: position paper from the allied task force committee of japanese society for bone and mineral research, japan osteoporosis society, japanese society of periodontology, japanese society for oral and maxillofacial radiology, and japanese society of oral and maxillofacial surgeons. J Bone Miner Metab 2010; 28: 365-383.
- 73) Sugimoto T, Shiraki M, Nakano T, Kishimoto H, Ito M, Fukunaga M, Hagino H, Sone T, Kuroda T, Nakamura T. Vertebral fracture risk after once-weekly teriparatide injections: follow-up study of teriparatide once-weekly efficacy research (tower) trial. Curr Med Res Opin 2013; 29: 195-203.

付図説明

図 1 実験 1 のプロトコル

実験動物の両側卵巣摘出を行い、その 2 週間より MPA を 4 週間投与しステロイド性骨粗鬆症モデルを作製した。ステロイド性骨粗鬆症モデルの作製後 1 週から、実験動物 5 羽に PTH を 4 週間、1 日に 40 μ g 皮下注射にて間歇投与し PTH 群とし、あとの実験動物 5 羽へは生理的食塩水を同条件で投与し Control 群とした。その後、実験動物の片側大腿骨遠位端にインプラント体を埋入し、初期固定の評価、組織学的観察および組織形態計測学的評価を行った。

図 2 片側大腿骨遠位端へのインプラント体埋入の様子

図 3 埋入トルク値の測定に用いた装置

外科用インプラントシステム (iChiropro®, Bien-air, Bienne) を用いて埋入トルク値を測定した。埋入時、矢印部に最大トルク値が表示される。

図 4 共鳴振動周波数分析

A; 共鳴振動周波数分析装置 (Osstell®, Integration Diagnostics, Göteborg)

B; ISQ 値測定のための振動変換器をインプラント体に短軸方向から接触させようとしている様子。

図 5 骨面積率の測定領域

インプラント体埋入窩皮質骨および海綿骨隣接部の測定領域 (図中黒色枠内、縦: 3.0 mm, 横: 1.5 mm) 中の骨面積率を測定した。

図 6 実験 2 のプロトコル

実験 1 と同様にステロイド性骨粗鬆症モデルを作製し、その後、以下の 3 群に分けた。ステロイド性骨粗鬆症モデルの作製後 1 週から、PTH を投与し、ステロイド性骨粗鬆症モデルの作製後 5 週での両側大腿骨遠位端へのインプラント体埋入後も PTH を投与したものを PTHa 群、インプラント体埋入後に生理的食塩水を投与したものを PTHb 群とした。残りの実験動物へはインプラント体埋入前後で生理的食塩水を投与し Control 群とした。インプラント体埋入時(11 週)に初期固定の評価、インプラント体埋入後 2 週(13 週)および 4 週(15 週)でオッセオインテグレーションの評価、インプラント体埋入後 4 週(15 週)で μ CT による評価、組織学的観察および組織形態計測学的評価を行った。

図 7 除去トルク値の測定

15 週時の ISQ 値測定後、デジタルトルクゲージ(BTGE100CN®, 東日製作所, 東京)を用いて片側のインプラント体の除去トルク値を測定した。

図 8 脛骨の μ CT による評価の測定領域(単純撮影像を用いた模式図)

脛骨骨端成長板より遠位に 1.8 mm からさらに遠位に 0.9 mm の測定領域における皮質骨骨密度および海綿骨 CT 値を測定した。

図 9 脛骨の骨面積率の測定領域(黒線枠内)

脛骨骨端成長板より遠位に 1.8 mm からさらに遠位に 0.9 mm の測定領域(黒線枠内)における骨面積率(脛骨)を測定した。

図 10 BIC の測定領域(黄色枠内)

インプラント体のカラー部から 4 スレッドの測定領域(黄色枠内)における BIC を測定した。

図 11 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラント
体埋入トルク値に及ぼす影響

PTH 群が 29.8 ± 6.2 Ncm, Control 群が 10.0 ± 2.1 Ncm となり, PTH 群は
Control 群と比較し有意に高い値となった。

図 12 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラント
体埋入時の ISQ 値に及ぼす影響

PTH 群が 74.7 ± 11.7 , Control 群が 55.9 ± 13.5 となり, PTH 群は Control 群
と比較し有意に高い値となった。

図 13 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラント
体埋入部位の周囲骨梁に及ぼす影響

A, B: PTH 群, C, D: Control 群。PTH 群は Control 群と比較し太い骨梁が観
察された。

図 14 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラント
体埋入部位周囲の骨面積率に及ぼす影響

PTH 群が 48.3 ± 3.6 %, Control 群が 36.1 ± 9.5 %となり, PTH 群は Control
群と比較し有意に高い値となった。

図 15 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラント
体埋入トルク値に及ぼす影響

PTHa 群が 26.9 ± 5.1 Ncm, PTHb 群が 27.8 ± 5.4 Ncm, Control 群が 9.8 ± 4.3
Ncm となり, PTHa 群および PTHb 群は Control 群と比較し有意に高い値とな
った。

図 16 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラント
体埋入時の ISQ 値に及ぼす影響

PTHa 群が 75.7 ± 7.1 , PTHb 群が 73.9 ± 4.0 , Control 群が 50.8 ± 15.7 となり,
PTHa 群および PTHb 群は Control 群と比較し有意に高い値となった。

図 17 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラント
体埋入 2 週後の ISQ 値に及ぼす影響

PTHa 群が 81.4 ± 4.0 , PTHb 群が 74.4 ± 2.5 , Control 群が 68.3 ± 4.0 となり,
PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となり, PTHb 群は
Control 群と比較し有意に高い値となった。

図 18 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラント
体埋入 4 週後の ISQ 値に及ぼす影響

ISQ 値は PTHa 群が 79.6 ± 3.6 , PTHb 群が 69.4 ± 8.3 , Control 群が 68.1 ± 5.2
となり, PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となった。

図 19 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラント
体埋入 4 週後の除去トルク値に及ぼす影響

PTHa 群が 77.0 ± 29.2 Ncm, PTHb 群が 36.6 ± 8.5 Ncm, Control 群が $34.4 \pm$
 20.2 Ncm となり, PTHa 群および PTHb 群は Control 群と比較し有意に高い値
となった。

図 20 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおける脛骨の骨構造
(μ CT 像) に及ぼす影響

A: PTHa 群, B: PTHb 群, C: Control 群。PTHa 群は PTHb 群および Control

群と比較し皮質骨幅が厚く、骨梁が多くみられる。

図 21 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおける脛骨の皮質骨密度に及ぼす影響

PTHa 群が $47.8 \pm 2.6 \%$, PTHb 群が $42.2 \pm 0.5 \%$, Control 群が $42.2 \pm 2.6 \%$ となり, PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となった。

図 22 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおける脛骨の海綿骨 CT 値に及ぼす影響

PTHa 群が 1720.6 ± 37.5 HU, PTHb 群が 1534.5 ± 68.1 HU, Control 群が 1439.3 ± 142.5 HU となり, PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となった。

図 23 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラント体埋入 4 週後の骨組織に及ぼす影響

A: PTHa 群, B: PTHb 群, C: Control 群。PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し多くの骨梁が観察された。

図 24 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおける脛骨の骨面積率に及ぼす影響

PTHa 群が $29.0 \pm 12.4 \%$, PTHb 群が $8.1 \pm 2.5 \%$, Control 群が $14.0 \pm 7.1 \%$ となり, PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となった。

図 25 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラント体埋入 4 週後の骨-インプラント体界面の骨組織に及ぼす影響

A: PTHa 群, B: PTHb 群, C: Control 群。PTHa 群は PTHb 群および Control

群と比較しインプラント体スレッド表面への骨接触が多く観察された。

図 26 PTH の間歇投与がステロイド性骨粗鬆症モデルにおけるインプラント
体埋入 4 週後の BIC に及ぼす影響

PTHa 群が $62.8 \pm 11.4 \%$, PTHb 群が $35.9 \pm 8.9 \%$, Control 群が $30.0 \pm 10.0 \%$
となり, PTHa 群は PTHb 群および Control 群と比較し有意に高い値となった。

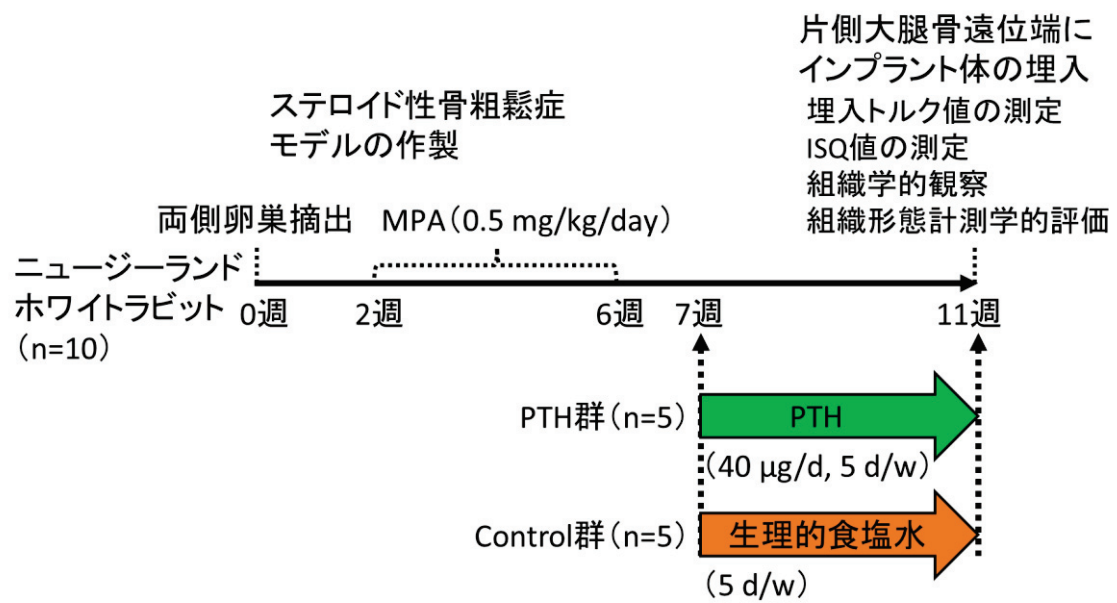
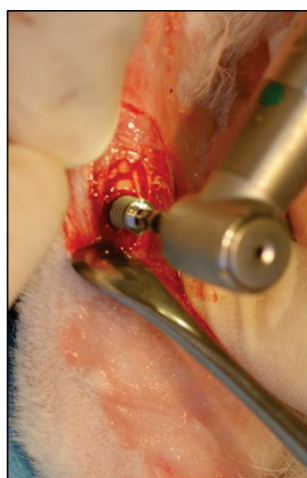


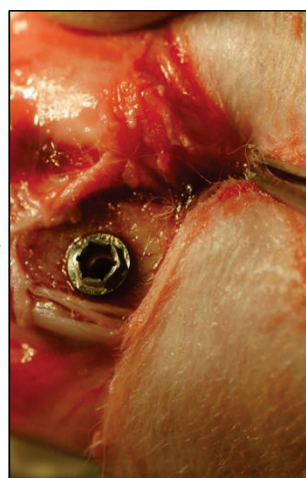
図 1



直径3.0mm, 深さ7.0mmの
骨窩を形成



トルク値を測定しながら
インプラント体を埋入



埋入したインプラント体

図 2

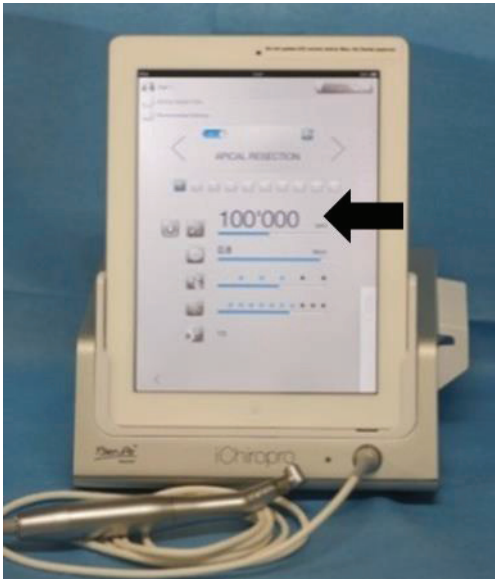


図 3



A



B

図 4



図 5

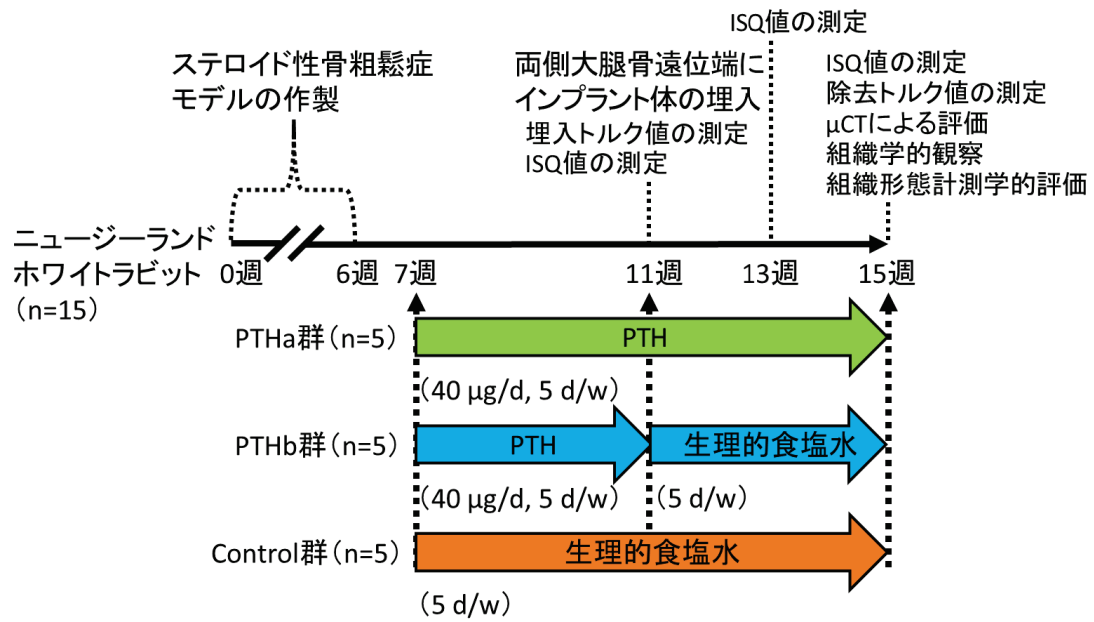


図 6



图 7

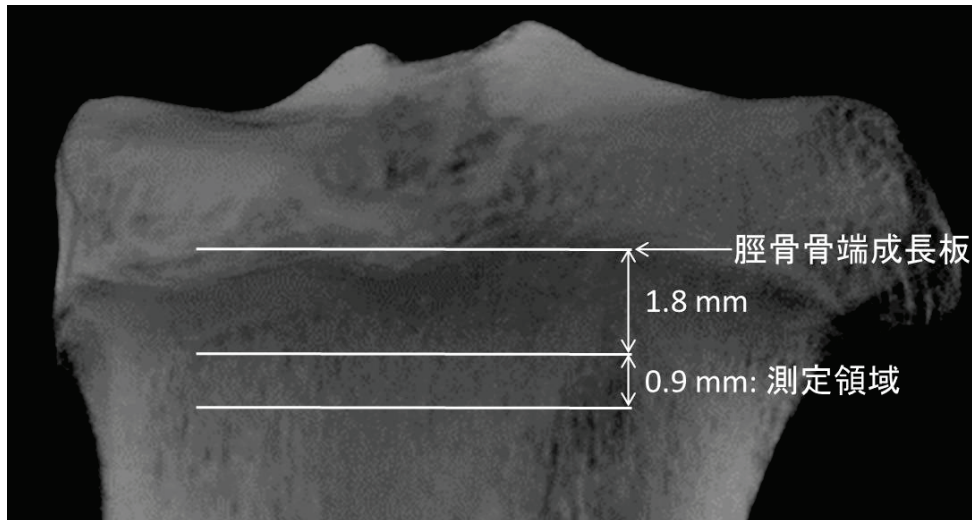


図 8

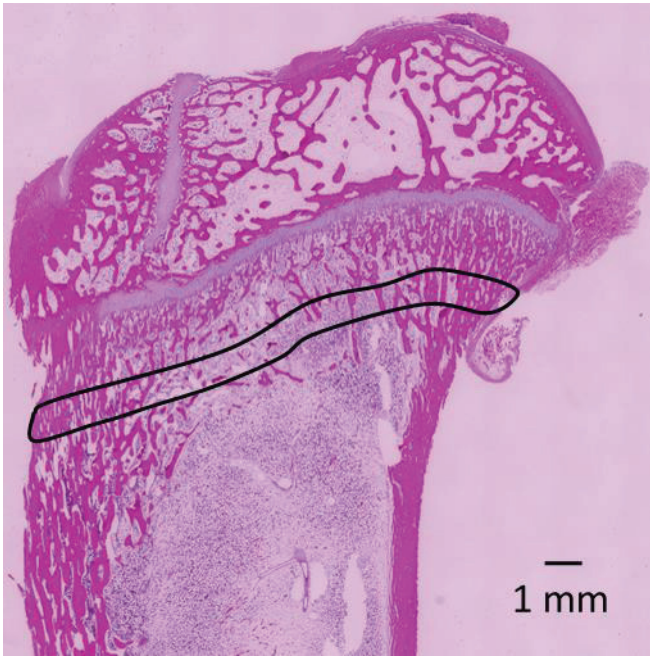


図 9

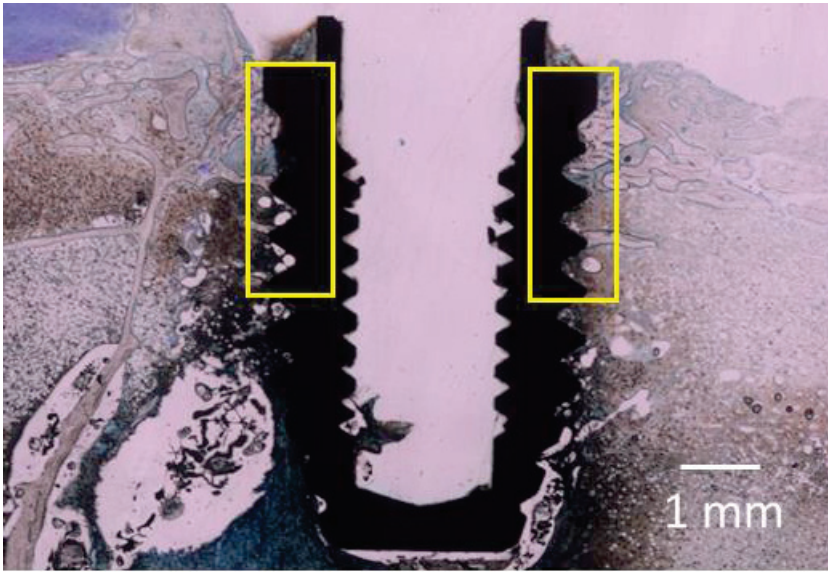


図 10

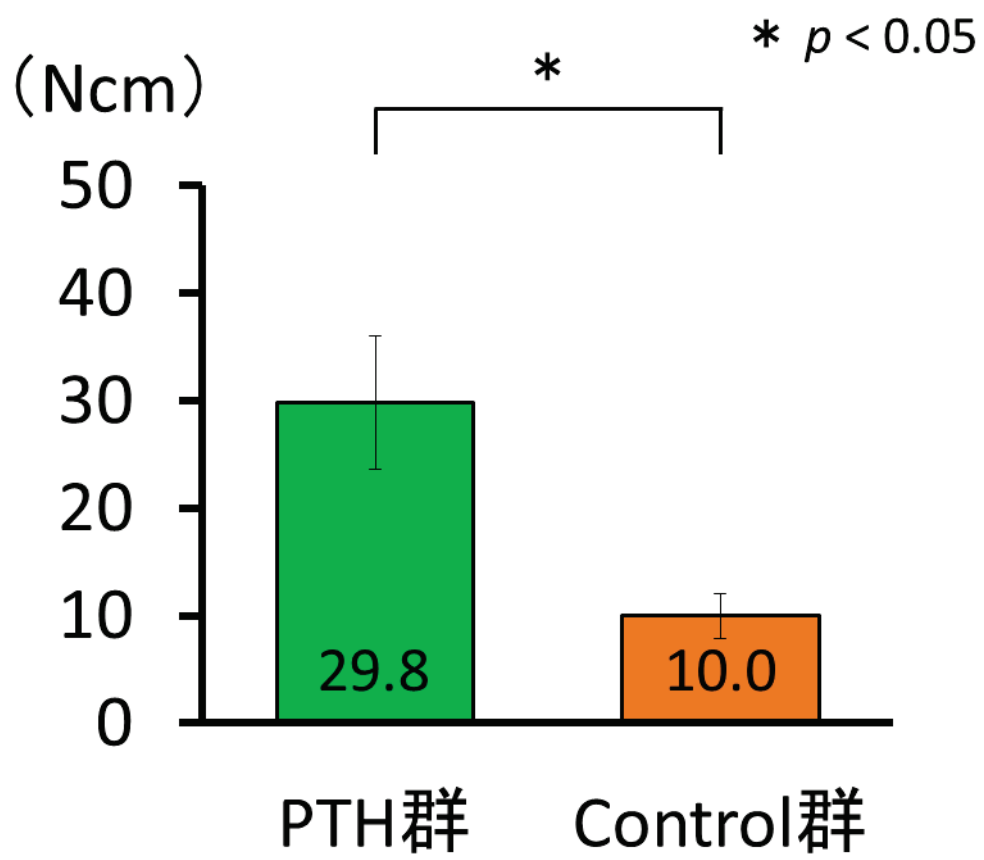


図 11

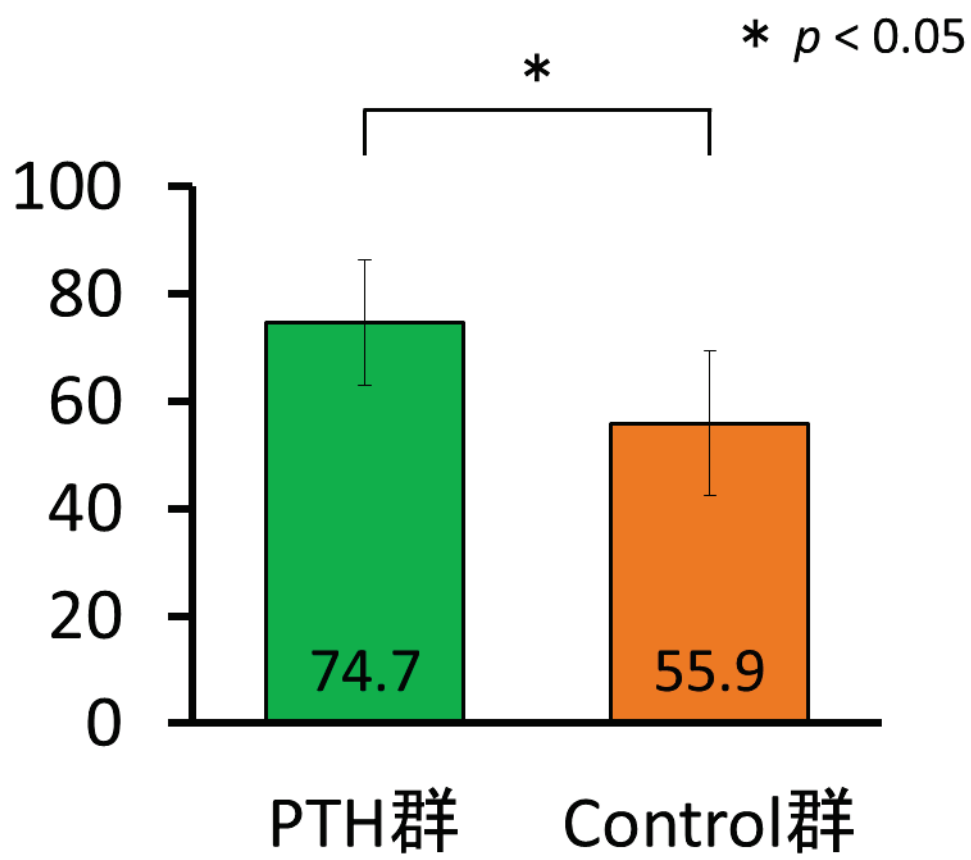
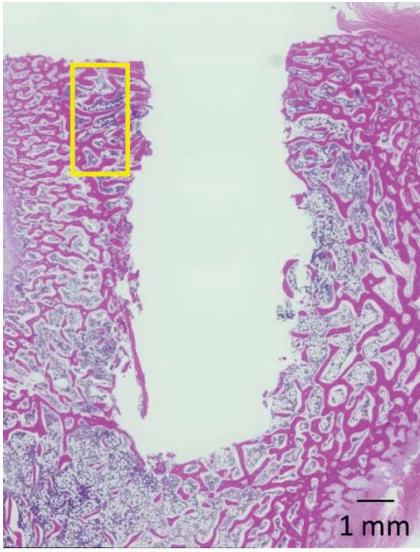
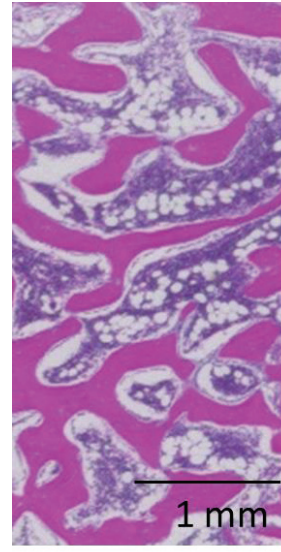


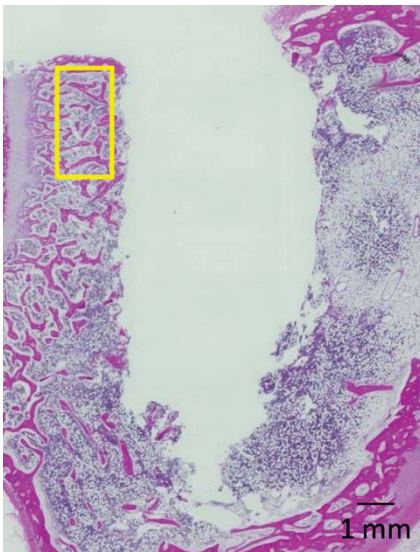
図 12



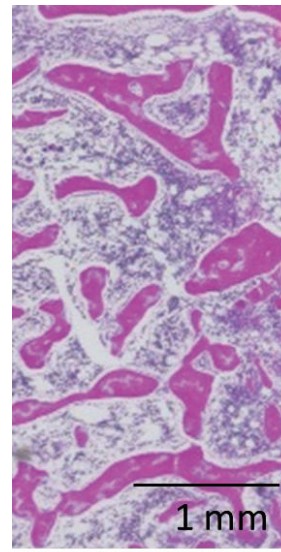
A



B



C



D

図 13

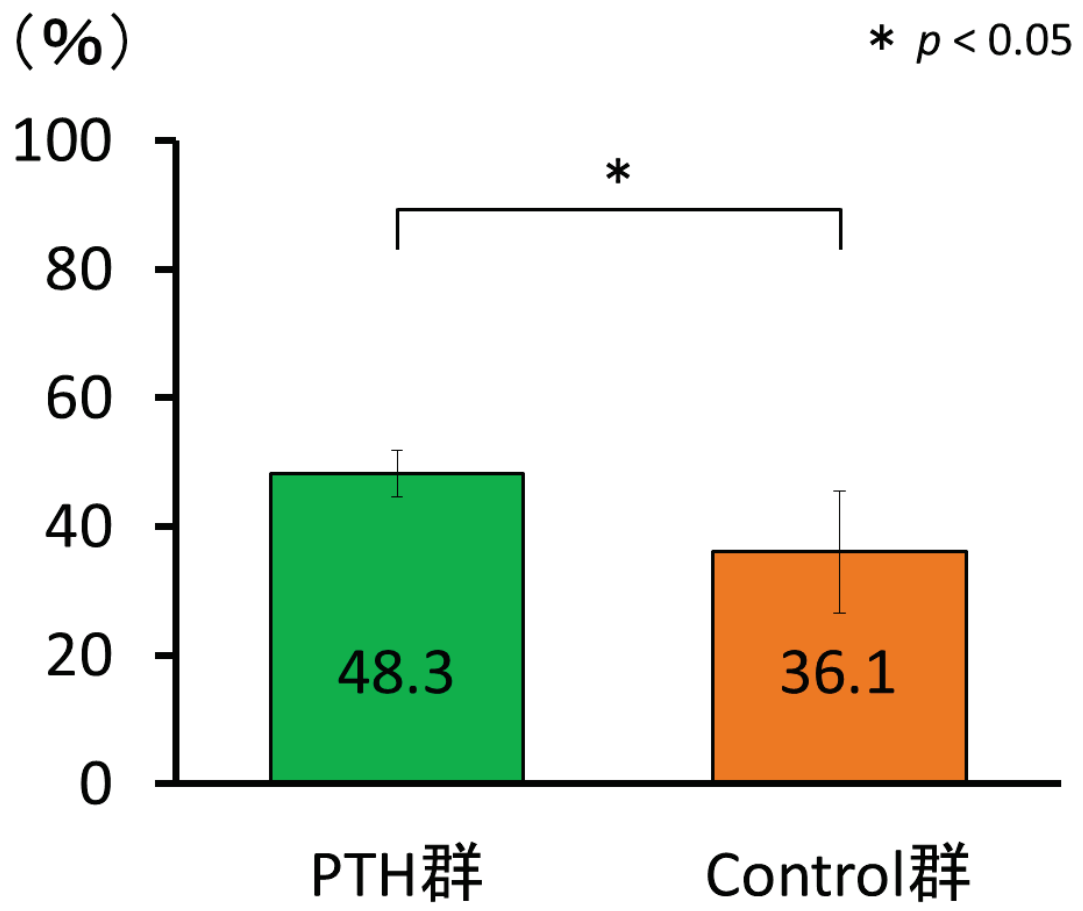


図 14

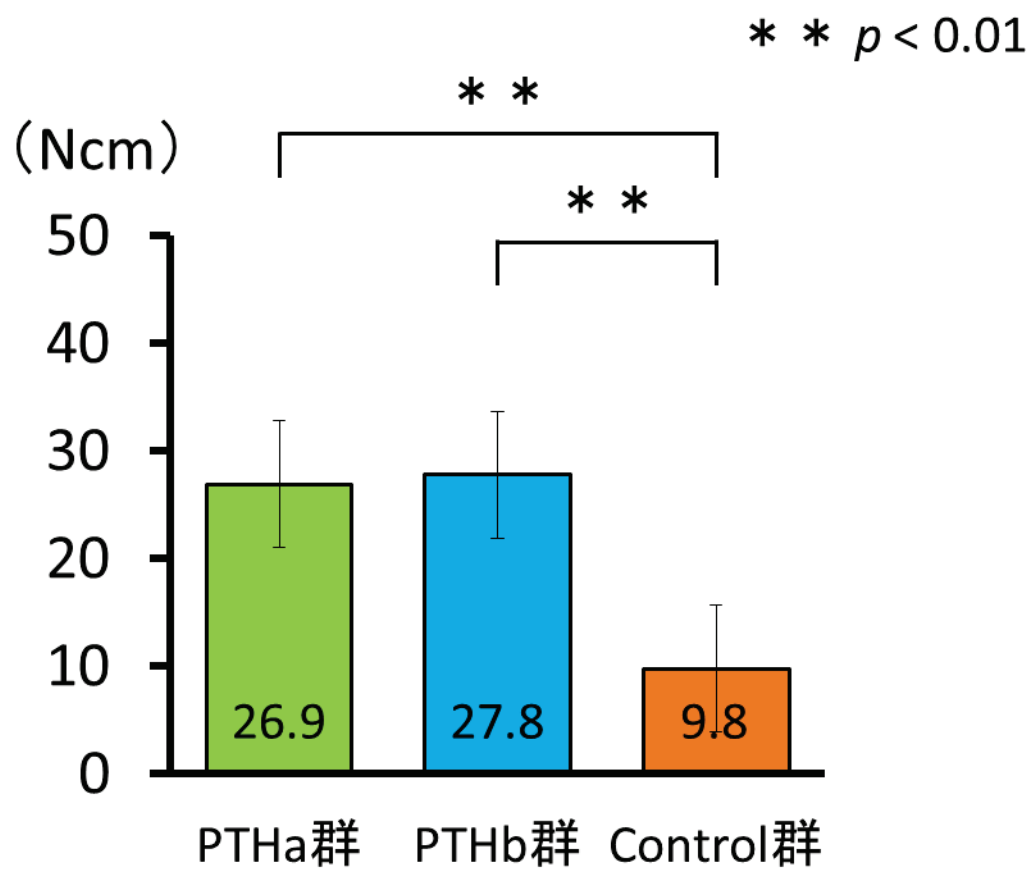


図 15

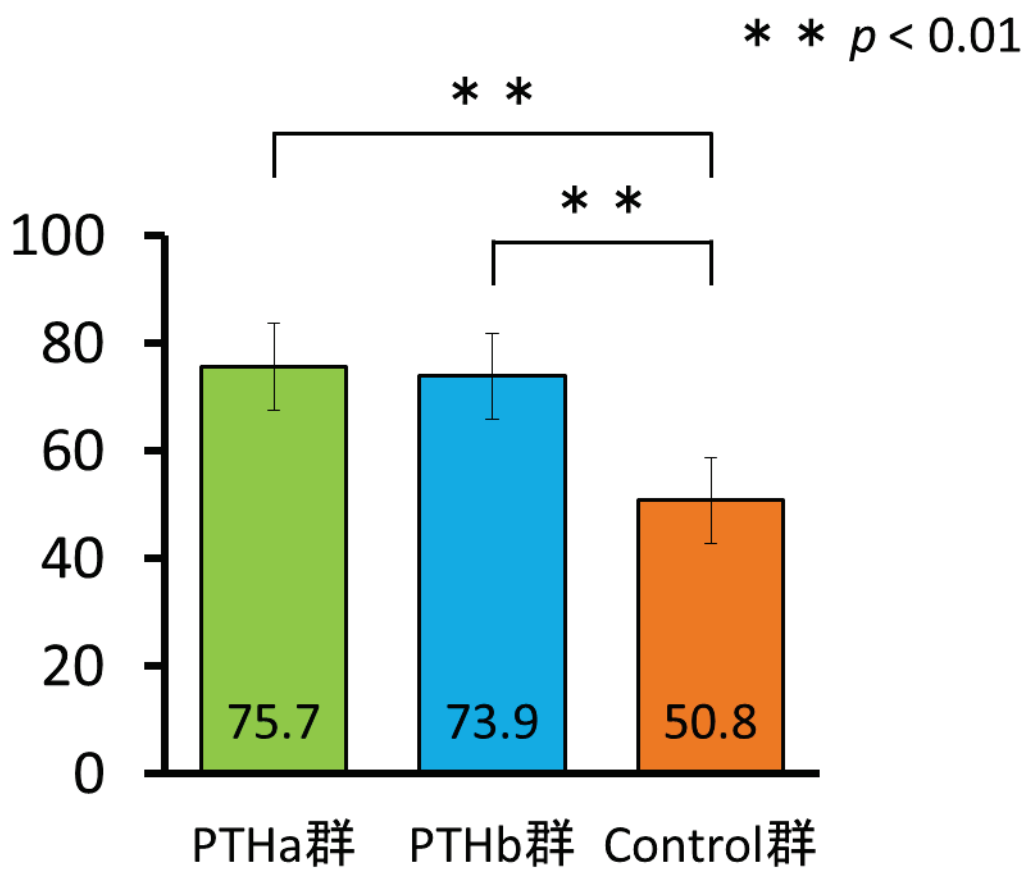


図 16

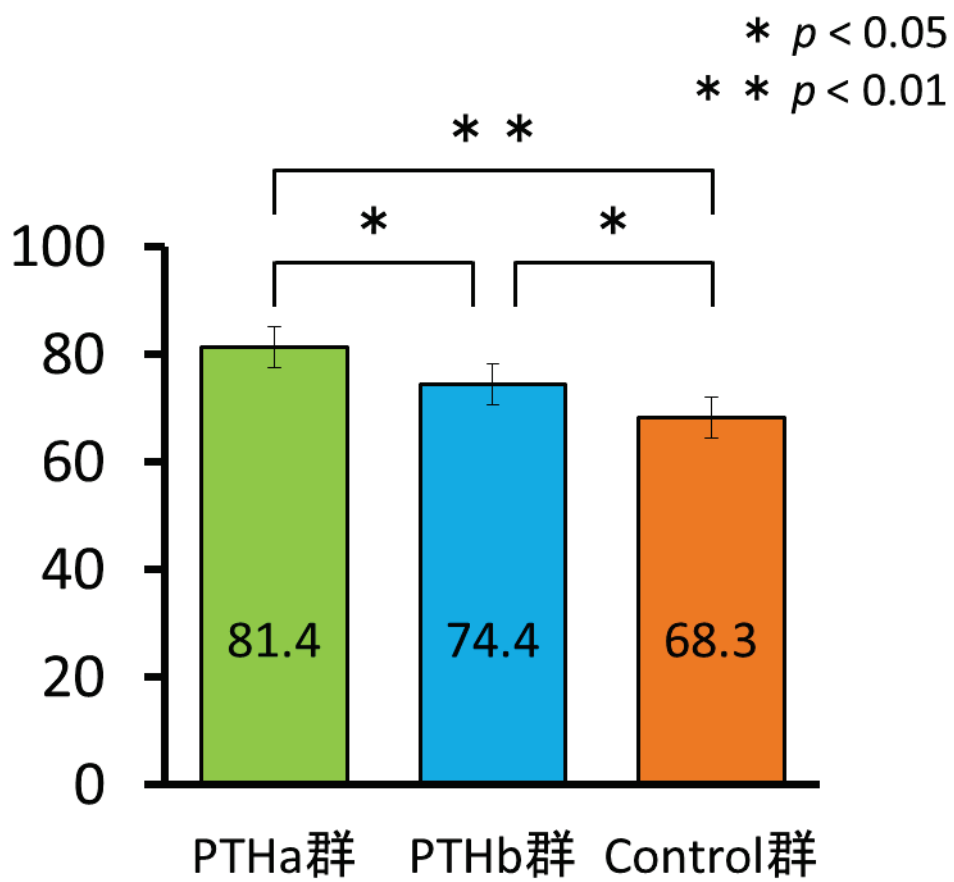


図 17

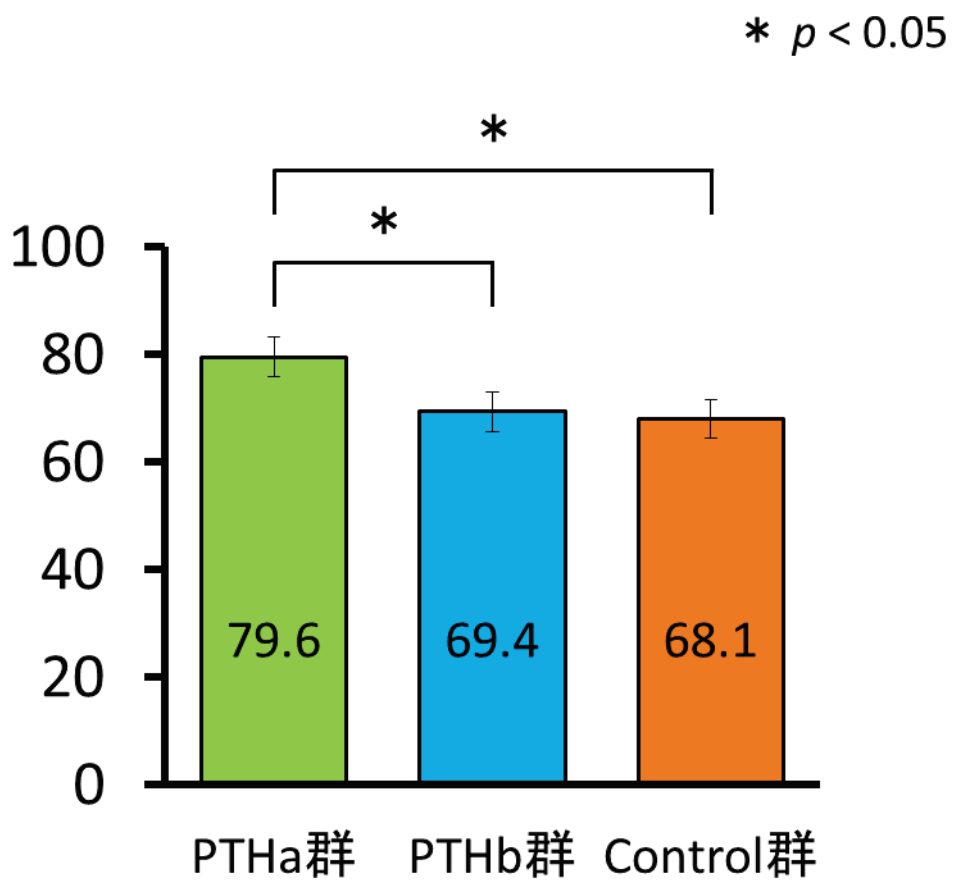


図 18

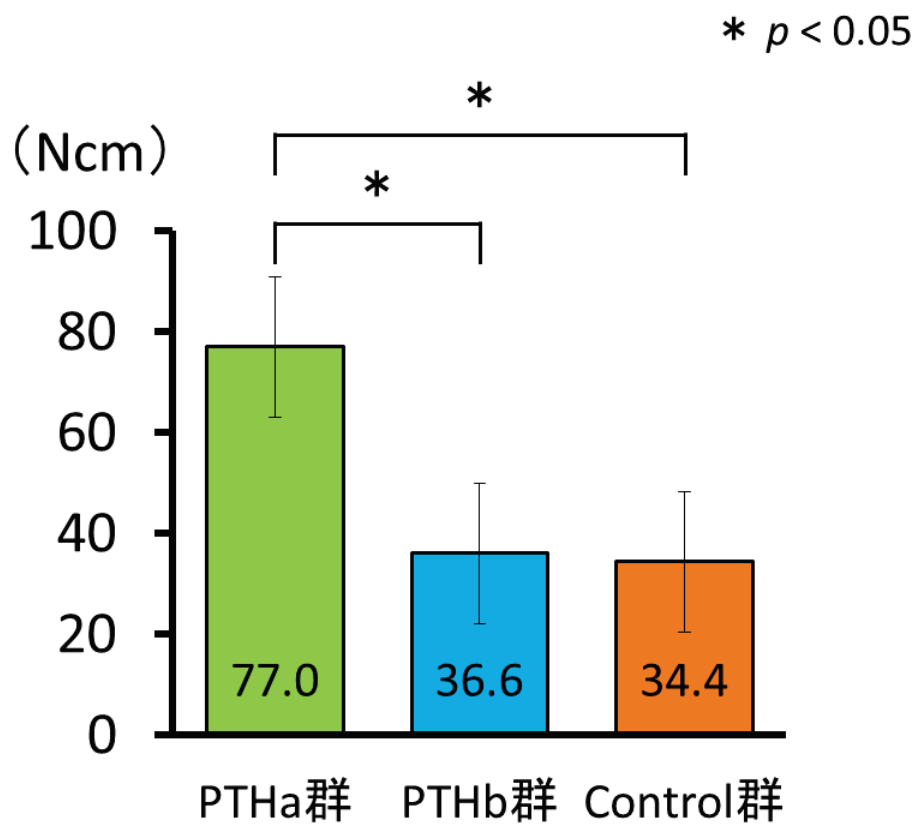
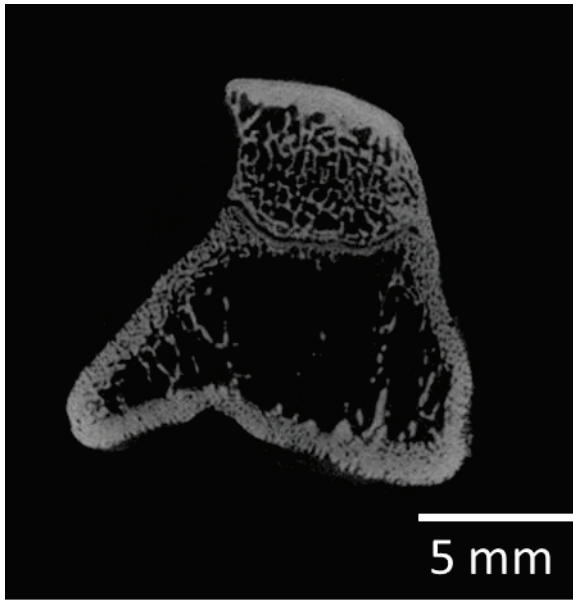
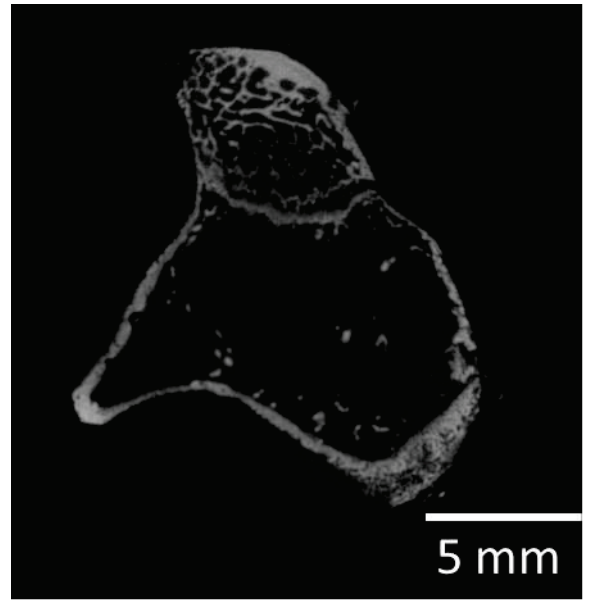


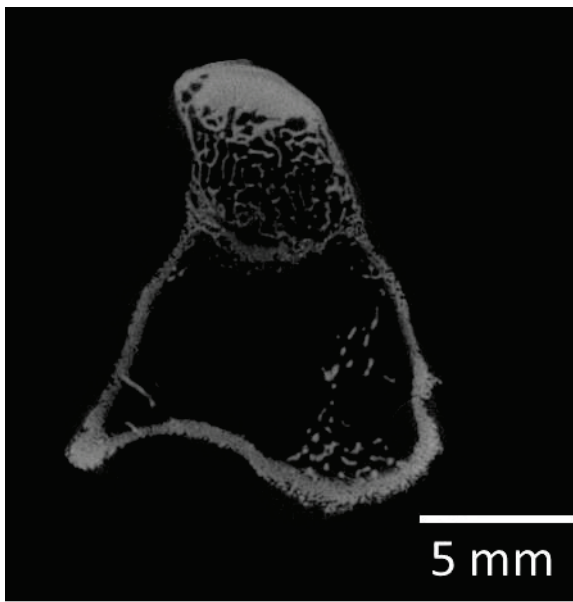
図 19



A



B



C

図 20

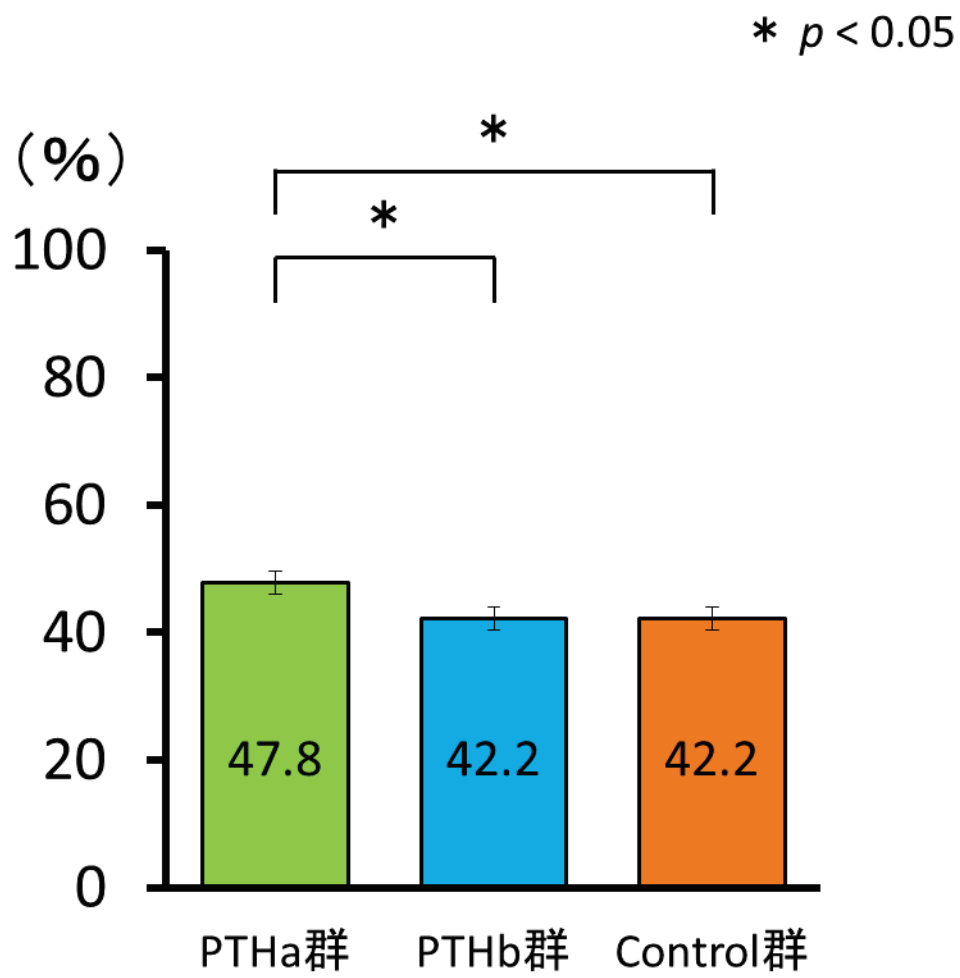


図 21

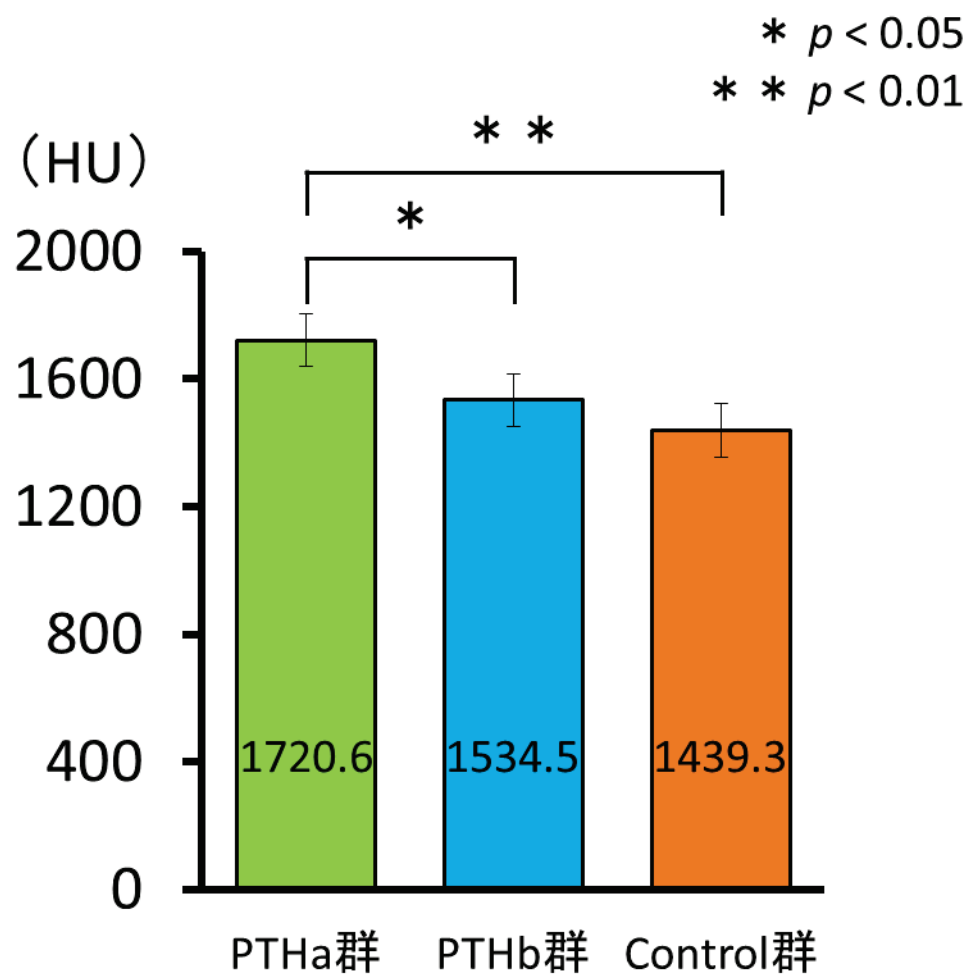
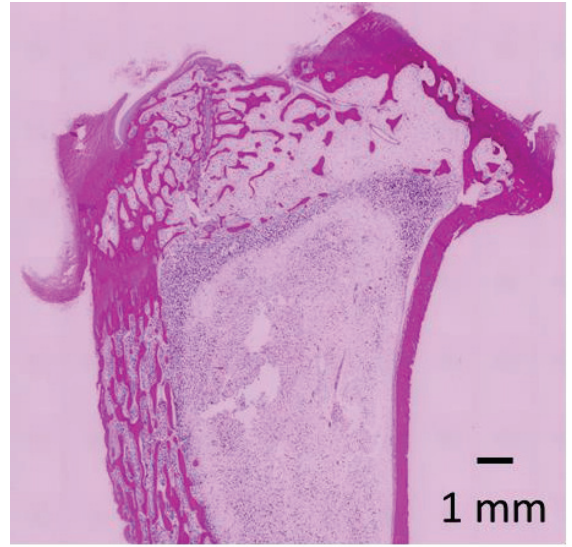


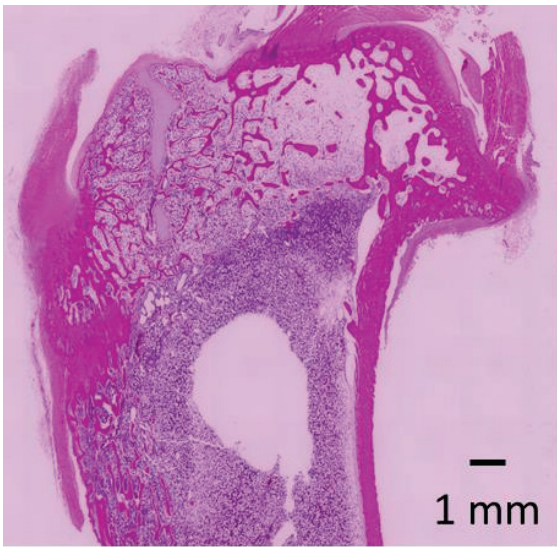
図 22



A



B



C

図 23

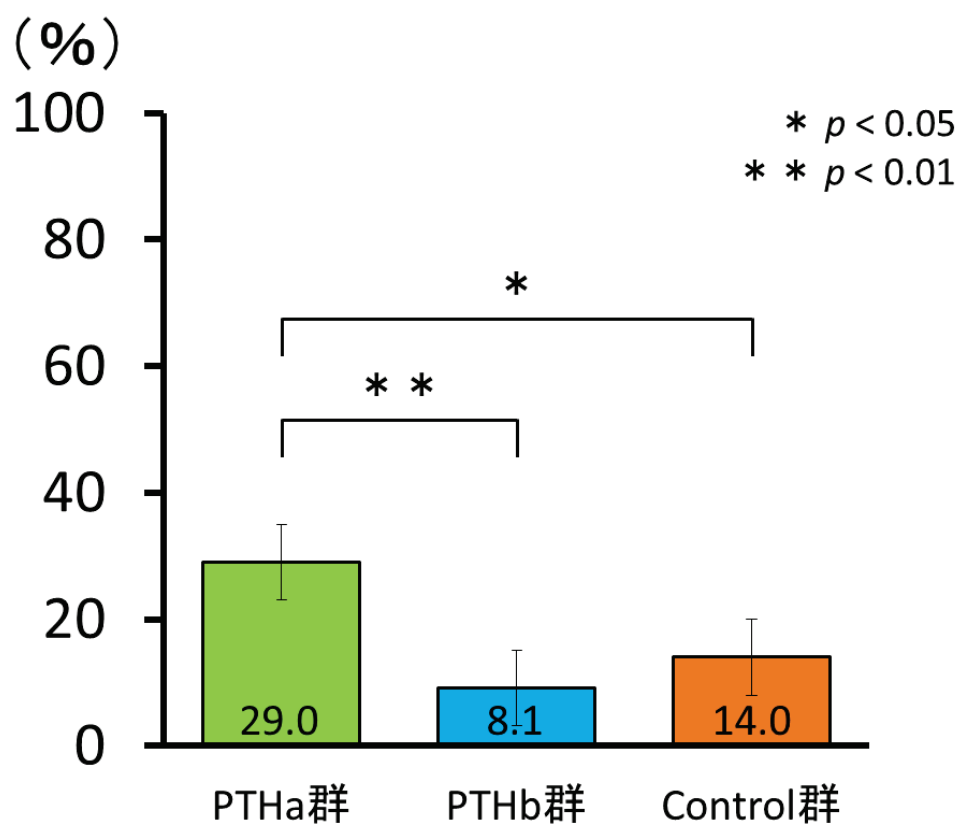


図 24

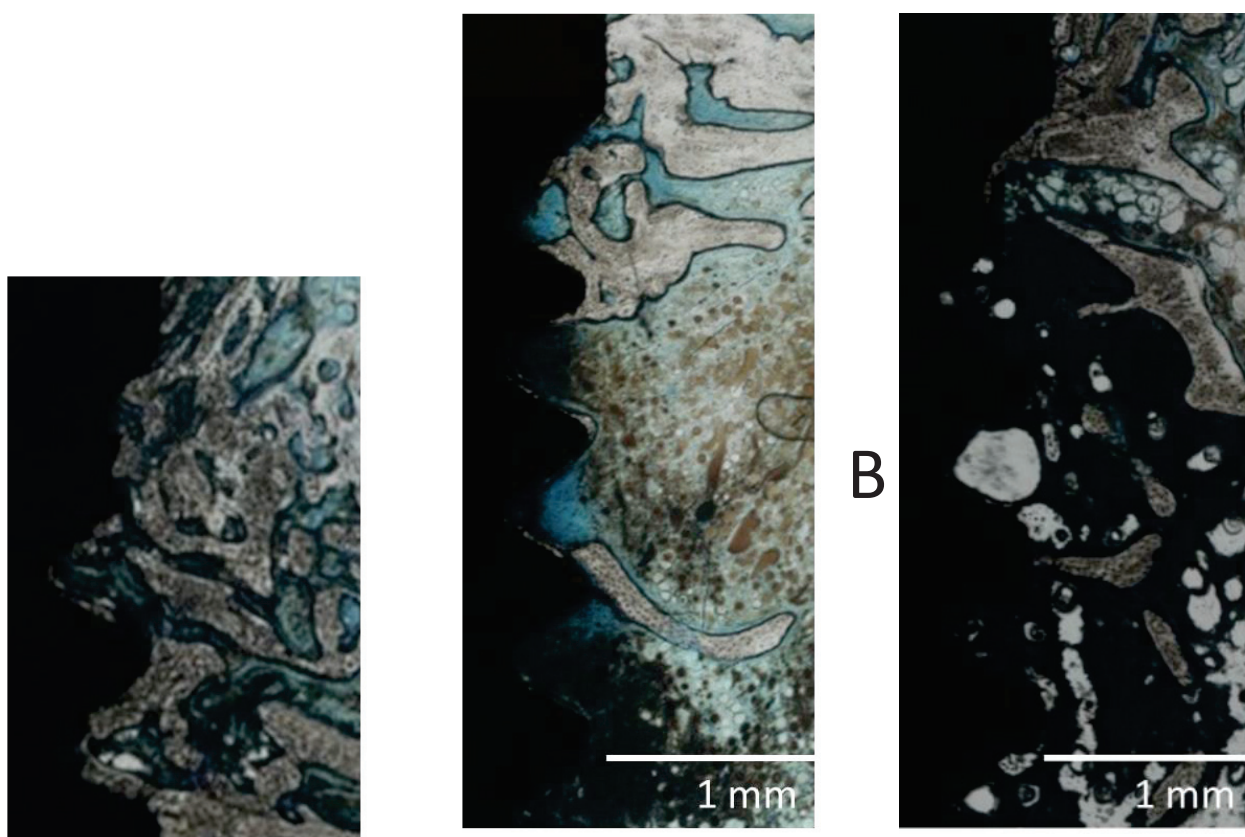


図 25

A

B

C

図 25

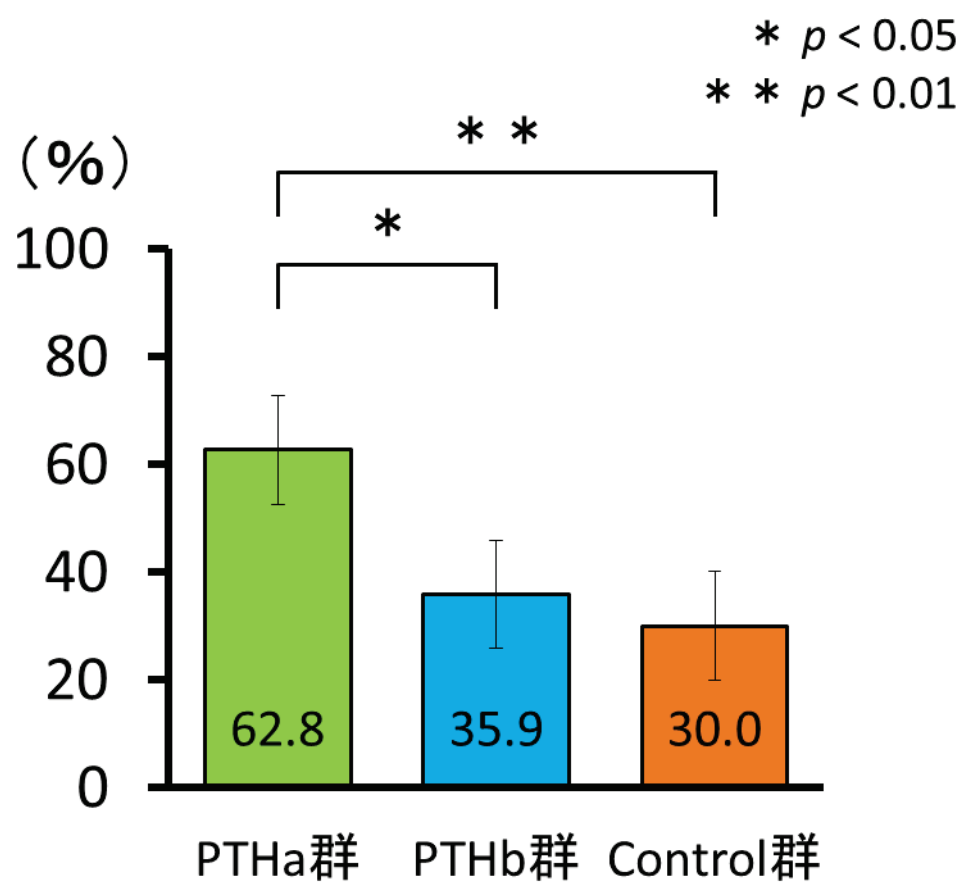


図 26