

研究種目: 基盤研究 (C)

研究期間: 2007~2009

課題番号: 19592379

研究課題名 (和文) 重度歯周炎罹患歯の残存歯根膜を根面に増殖させた歯とBMPの移植による
歯周組織再生研究課題名 (英文) Periodontal regeneration after implantation BMP and teeth with cells on the
root planed surface populating from periodontal ligament *in vitro*

研究代表者

齋藤 彰 (SAITO AKIRA)

北海道大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号: 20301913

研究成果の概要 (和文): BMP による歯槽骨の形成量は、移植床の骨の幅に影響を受け、幅が大きいほど形成量が多いことが明らかになった。歯根膜細胞は象牙質を認識して付着を形成するが、その付着様式は多様であり、必ずしも結合組織性付着を形成するとは限らない。さらに BMP の添加によって結合組織性付着の増加は生じない可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文): The width of residual bone was one of the clinical host factors which affected bone regeneration following BMP-implantation. However, it did not affect connective tissue attachment, cementum regeneration and downgrowth of junctional epithelium. PDL cells that recognize and attach to dentin, don't form connective tissue attachment always. BMP also increased by the addition of connective tissue attachment may occur is suggested.

交付決定額

(金額単位: 円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 2007 年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 2008 年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |
| 2009 年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,400,000 | 1,020,000 | 4,420,000 |

研究分野: 医歯薬学

科研費の分科・細目: 歯学・歯周治療系歯学

キーワード: 歯根膜、組織培養、BMP、歯周組織再生

1. 研究開始当初の背景

歯周炎によって失われた歯周組織の再生に、歯根膜細胞が重要な役割を果たすと考えられている。そこで、罹患歯を摘出して *in vitro* において歯根膜由来細胞を歯根全面に増殖させた後、歯の移植を行って結合組織性付着の獲得を狙う新しい治療法の開発に向けて研究をおこなってきた。

これまで、摘出歯を *in vitro* で培養をおこなうと、残存歯根膜由来の増殖細胞は、歯根膜の特徴を維持したままルートプレーニング面を被覆する。また残存歯根膜は、培養後に移植を行っても歯根膜様組織を形成したので、培養の影響を受けにくいことを、基礎的研究を行って明らかにした。

続いて、培養した歯の移植後の治癒形態について、摘出歯の歯冠側 4 mm の歯根膜を除去した罹患歯モデルを用いて、組織培養後に移植を行って検索した結果、移植後初期の治癒形態は、ルートプレーニング面のセメント質形成はわずかであったが、根面と平行に走行する線維のアダプテーションを形成しており、培養歯根膜細胞が上皮の根尖側移動を抑制して、骨性癒着も抑制した。しかし、歯槽骨の形成は移植窩洞内部には認められるものの、歯冠側に再生する事はほとんど認められなかった。移植歯周囲の歯槽骨の再建が、重度歯周炎罹患歯のように歯槽骨吸収が大きい場合には必要と考えられる。

歯槽骨の再建について、我々がかねてより、BMP が水平性骨欠損部においても歯槽骨を歯冠側に形成しうることを、さらに BMP は歯根膜が形成される部位には骨性癒着を生じないことを明らかにした。また BMP

と根面との間にスペーサー膜を利用することによって、セメント質の形成を伴う歯根膜が再生することを報告して、歯周組織再生における BMP の有効性について明らかにしてきた。

これらのことより、考案した治療法を発展させるべく、*in vitro* において歯根膜由来細胞を歯根全面に増殖させた後、BMP とともに歯の移植を行って、重度歯周炎罹患歯の歯周組織再生をねらう新しい治療法を考案した。

2. 研究の目的

- (1) BMP による歯槽骨再建量の検索
- (2) 培養歯根膜細胞の歯根膜形成能の検索
- (3) 象牙質表面に播種した培養歯根膜細胞に与える BMP の影響の検索

3. 研究の方法

(1) ビーグル犬の小白歯周囲に歯槽骨を 4 mm 切除した骨欠損モデルを作成して、3 mm の高さに rhBMP2 を移植した。BMP2 による歯槽骨形成量を高さと同量とで計測した。歯槽骨形成量に対する移植部位および残存骨の幅の影響を検索した。

(2) ラットの歯根膜、口蓋歯肉、大腿骨骨髓から採取した各細胞を培養した。各培養細胞と象牙質を一緒に背部皮下に移植した。象牙質表面の形成組織を病理組織学的に観察した。

(3) ビーグル犬の前歯から歯根膜細胞を採取、培養した。培養細胞を採取した同じ宿主に5 mmの骨および歯根膜、セメント質

を除去した欠損モデルを作成し、培養歯根膜細胞とその外側にBMPを移植した。歯周組織の治癒、再生組織について病理組織学的に観察した。

4. 研究成果

(1) rhBMP2によって歯槽骨は形成され、その量は、残存歯槽骨の幅が大きいほど高く、再生量も多くなる。

(2) 根面の結合組織性付着量とrhBMP2による歯槽骨の形成量は相関しない

(3) 培養歯根膜細胞、歯肉細胞、骨髄細胞ともに象牙質を認識する。培養歯根膜細胞は象牙質を吸収せず、部分的に象牙質のコラーゲン器質と結合する

(4) 培養歯根膜細胞はBMPとともに移植すると、歯槽骨の形成量は増加傾向を示すが、結合組織性付着量に大きな差は見られない傾向にある

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5件)

- ① Saito E, Saito A, Takahashi S, Yamamoto T, Honma Y, Kawanami M, Ectopic bone formation after implantation of thermoreversible gelation polymer as a carrier of bone morphogenetic

protein-2, *Connect Tissue Res*, 査読有, 2009, 349-420

- ② Saito A, Saito E, Handa R, Honma Y, Kawanami M, Influence of residual bone on recombinant human bone morphogenetic protein-2-induced periodontal regeneration in experimental periodontitis in dogs. *Journal of periodontology*. 査読有, 2009, 961-968
- ③ 半田良平、齋藤 彰、齋藤恵美子、本間義幸、川浪雅光、半月状歯肉弁歯冠側移動術後治癒の組織学的評価. 日歯保存誌、査読有、670-680、2008
- ④ 川浪雅光、齋藤 彰、加藤 熙、齋藤恵美子 他3名、歯周組織再生療法の臨床研究の現況、歯科臨床研究、査読有、2008、71-81
- ⑤ 宮治裕史、菅谷 勉、齋藤 彰、齋藤恵美子 (他3名)、BMPを用いた歯周組織再生療法の開発、日本歯科評論、査読無、2008、39-40

[学会発表] (計 8件)

- ① Saito E, Saito A, Takahashi S 他3名, Ectopic bone formation after implantation of thermoreversible gelation polymer as a carrier of bone morphogenetic protein-2, *Yokosuka Science Festa 2009 Program & Proceedings*, 2009
- ② 久保木芳徳、滝田裕子、齋藤 彰、人工マトリックスの幾何学的特性を利用した歯根膜・セメント質・骨組織再建の原理について、第27回日本骨代謝学会、2009
- ③ 高橋大郎、江崎光恵、半田良平、齋藤恵美子、原橋宏幸、齋藤 彰、他3名、歯周組織再生療法後のブラッシング開始時期の検討、第52回日本歯

周病学会秋季学術大会、2009

- ④ 久保木芳徳、浦本洋一、滝田裕子、齋藤 彰、他4名、人工 ECM の幾何学：ハニカム型からランダム・トンネル型幾何構造の TCP の創製と骨・血管誘導、第21年度・第22回代用臓器再生学研究会、2010
- ⑤ Akira Saito, Emiko Saito, Ryohei Handa, Yoshiyuki Honma and Masamitsu Kawanami, Periodontal healing after transplantation of teeth cultured with EMD, AAP 2008
- ⑥ 半田良平、齋藤 彰、齋藤恵美子、原橋宏幸、本間義幸、川浪雅光、半月状歯肉弁歯冠側移動術後治癒の組織学的評価、2008、日歯保存誌(プログラム及び講演抄録集)
- ⑦ 堀川 元、半田良平、原橋宏幸、齋藤恵美子、齋藤 彰、川浪雅光、新規組織接着剤による象牙質と軟組織との接着、2007、日歯保存誌 50(秋季特別号)
- ⑧ 齋藤 彰、齋藤恵美子、原橋宏幸、半田良平(他4名)、in vitro で歯根膜細胞を増殖させた歯の移植後の治癒に与えるエムドゲインの影響、2007、日歯周誌 49(春季特別号)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 彰 (SAITO AKIRA)

北海道大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：20301913

(2) 研究分担者

齋藤 恵美子 (SAITO EMIKO)

北海道大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：80374528

吉村 善隆 (YOSHIMURA YOSHITAKA)

北海道大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：30230816