

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：34432

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10122

研究課題名(和文)臨床応用実現のための低侵襲歯槽骨再生療法の確立

研究課題名(英文)Construction of low invasive therapy for alveolar bone regeneration in clinical use

研究代表者

大浦 清(Ohura, Kiyoshi)

太成学院大学・看護学部・教授

研究者番号：20131378

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：現在外科的治療のみである歯槽骨再生治療に新たな治療システムとして安全、簡便な低侵襲性歯槽骨再生治療法を開発することを目的として、具体的に以下の目標を立てて研究を遂行した。1)一度失われた歯槽骨は自己再生されないことから、強力な骨誘導能を有するBone Morphogenetic Protein:BMPを安全かつ効率的に歯周組織に作用させ、歯槽骨再生を促す。2)開発したBMP遺伝子発現システム(非ウイルス性BMP発現ベクターとin vivo electroporationとの併用)を歯周組織で適用し、歯槽骨再生治療法として確立させる。3)安全性を確立するため、局所ならびに全身への影響を解析する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周病が単なる加齢現象でなく、歯周病菌による炎症という病態が明らかになったものの、その治療法は十分ではない。それ故、本研究によって、外科的処置を伴わない歯槽骨再生治療が開発されることは歯科医療における革新と発展へ大きく寄与する可能性がある。また、本研究による低侵襲性骨再生法は歯槽骨といった口腔領域に関わらず、整形外科領域での骨再建法や骨折治療への応用が可能である。

研究成果の概要(英文)：The research was conducted with the aim of developing a safe and minimally invasive alveolar bone regeneration therapy as a new treatment system for alveolar bone regeneration, which currently relies solely on surgical treatment. Specifically, the following goals were set to promote alveolar bone regeneration by safely and efficiently applying Bone Morphogenetic Protein (BMP) a cytokine known for its strong potential to induce bone to the periodontal tissues. This is because once alveolar bone is lost, it cannot regenerate naturally. We tried to establish an alveolar bone regeneration therapy by applying the BMP gene expression system combining a non-viral BMP expression vector with in vivo electroporation to the periodontal tissues. Second, we tried to analyze the local and systemic effects by BMP gene transfer to the periodontal tissues in order to establish safety.

研究分野：薬理学

キーワード：歯槽骨 再生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在のところ、歯周病に対する治療は積極的な歯槽骨再生は行われず、歯槽骨吸収の進行を抑制するという、いわゆる対症療法(歯石除去、ブラッシングによる歯周病菌の除去)に留まることが多い。一方、積極的な歯槽骨再生治療は上皮再生抑制を目的とした GTR(Guide Tissue Regeneration)といった歯周外科治療といった保険適用治療あるいは自家骨移植あるいは自己細胞移植など大掛かりな外科的処置を伴う保険適応外治療に限られている。これらの外科的治療法は歯槽骨欠損の状態によって症例が限られており、高齢者に対する外科的処置はリスクが多く、適しているとはいえない。よって、外科的侵襲を伴わない、新規歯槽骨再生治療法の開発が求められている。

2. 研究の目的

外科的治療のみである歯槽骨再生治療に新たな治療システムとして安全、簡便な低侵襲性歯槽骨再生治療法を開発すること。具体的目的として、1)一度失われた歯槽骨は自己再生されないことから、強力な骨誘導能を有するサイトカイン Bone Morphogenetic Protein:以下 BMP)を安全かつ効率的に歯周組織に作用させ、歯槽骨再生を促す。2)われわれが開発した BMP 遺伝子発現システムを歯周組織で適用し、歯槽骨再生治療法として確立させる。3)安全性を確立するため、局所ならびに全身への影響を解析し、早期臨床応用の実現化を目指す。

3. 研究の方法

1) ラット、マウスを用いた歯槽骨再生モデル構築: 骨形成因子(Bone Morphogenetic Protein: BMP)遺伝子を発現するベクターのうち、非ウイルス性ベクターを用いて BMP 遺伝子発現ベクターをラットまたはマウスの臼歯部歯周組織へ注入、プラスミドベクターの細胞内への導入効率を高めるために電気刺激を 30 秒加える。その後、経時的に遺伝子導入 3 週間までの臼歯部歯周組織の採取を行った。その際、骨形態計測学的解析を実施するため、カルセインとテトラサイクリン塩酸塩によるラベリングを実施した。

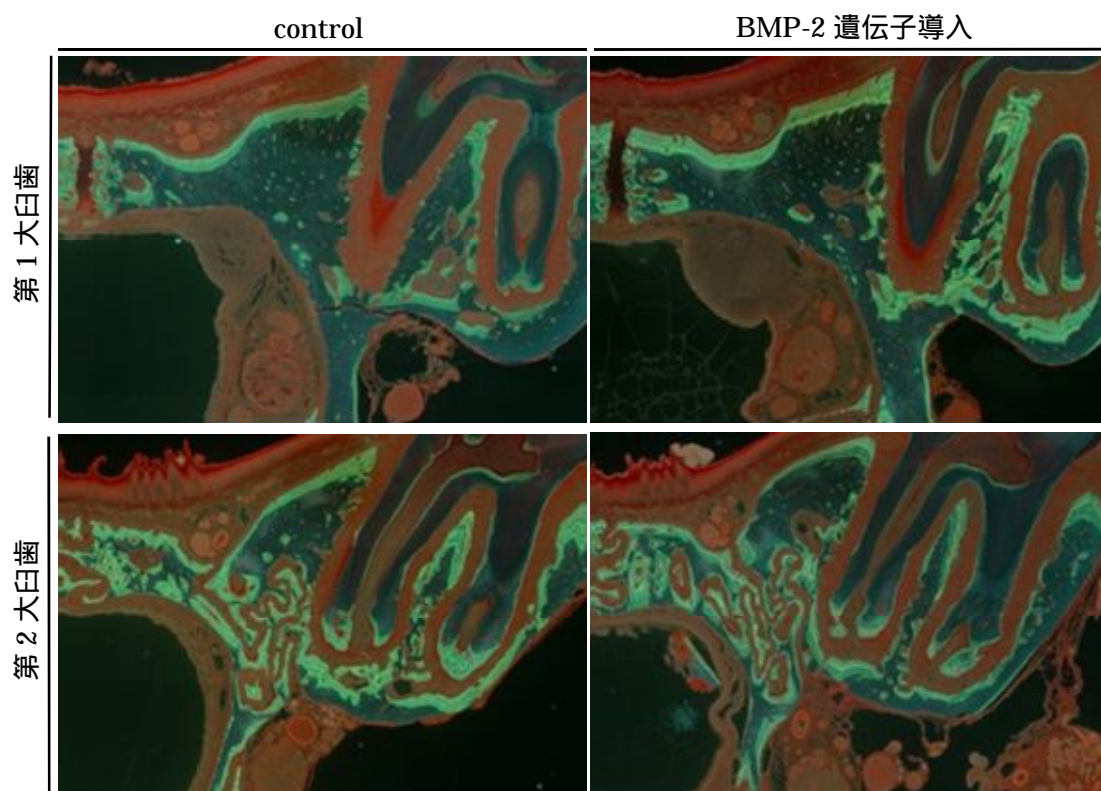


図1 遺伝子導入 21 日間の歯槽骨へのラベリング結果

2) 遺伝子導入後の歯槽骨再生の評価: 臼歯部歯周組織への BMP 遺伝子導入後の歯周組織の経時的変化を捉え、歯槽骨の再生を評価するため、組織学的ならびに骨形態計測学的試料の作製を行った。組織学的解析では、HE 染色による変化を解析し、骨形態計測学的解析で歯槽骨の骨石灰化速度 (Mineral Apposition Rate: MAR) を測定し、統計学的処理を行い、歯槽骨再生を評価した。

3) 歯周組織への遺伝子導入による局所ならびに全身への影響についての検討: 外来性ヒト BMP 遺伝子を歯周組織へ導入することによって局所における影響について組織学的に検討した。また、全身に対する影響については、心機能への影響について解析することを計画した。

4. 研究成果

1) BMP 遺伝子導入後の歯槽骨について: BMP 遺伝子を歯周組織へ導入後 3 週間において、MAR を測定した結果 (図 1)、遺伝子導入 3 日から 6 日後に遺伝子導入前の MAR と比較し、有意に MAR が高まった。一方、遺伝子導入 7 日以降は有意な差が認められなかった (図 2)。また、コントロール群では、遺伝子導入前の MAR と比較し、遺伝子導入 21 日間の MAR においては有意な差は認められなかった (図 2)。

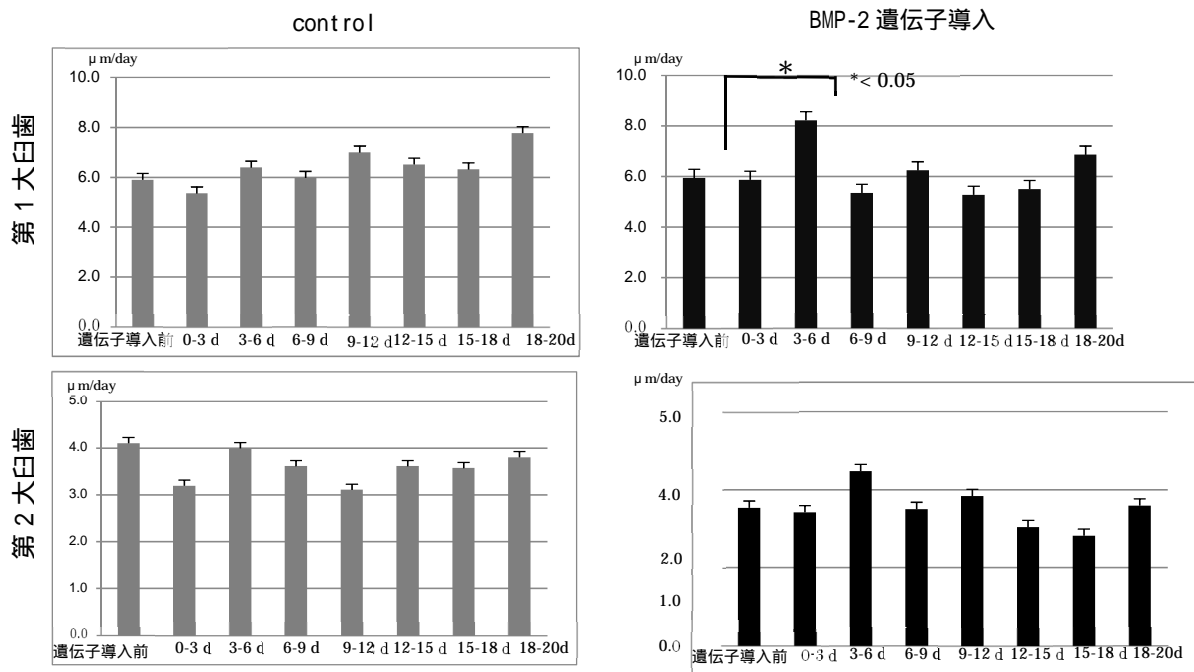


図 2 遺伝子導入 21 日間の歯槽骨における MAR 変化

2) BMP 遺伝子導入による局所への影響について: 歯周組織への BMP 遺伝子導入後の歯周組織の変化を組織学的に解析したところ、遺伝子導入 7 日後の組織像ではコントロール群と比較し、炎症像や癌化組織像が認められず、組織学的な変化は認められなかった (図 3)。また、MAR については遺伝子導入部位である第一大臼歯以外には遺伝子導入前の MAR と比較し、有意な差が認められなかった (図 2) ことから、遺伝子導入部位以外の歯周組織においては外来性 BMP 遺伝子導入

の影響は認められなかった。

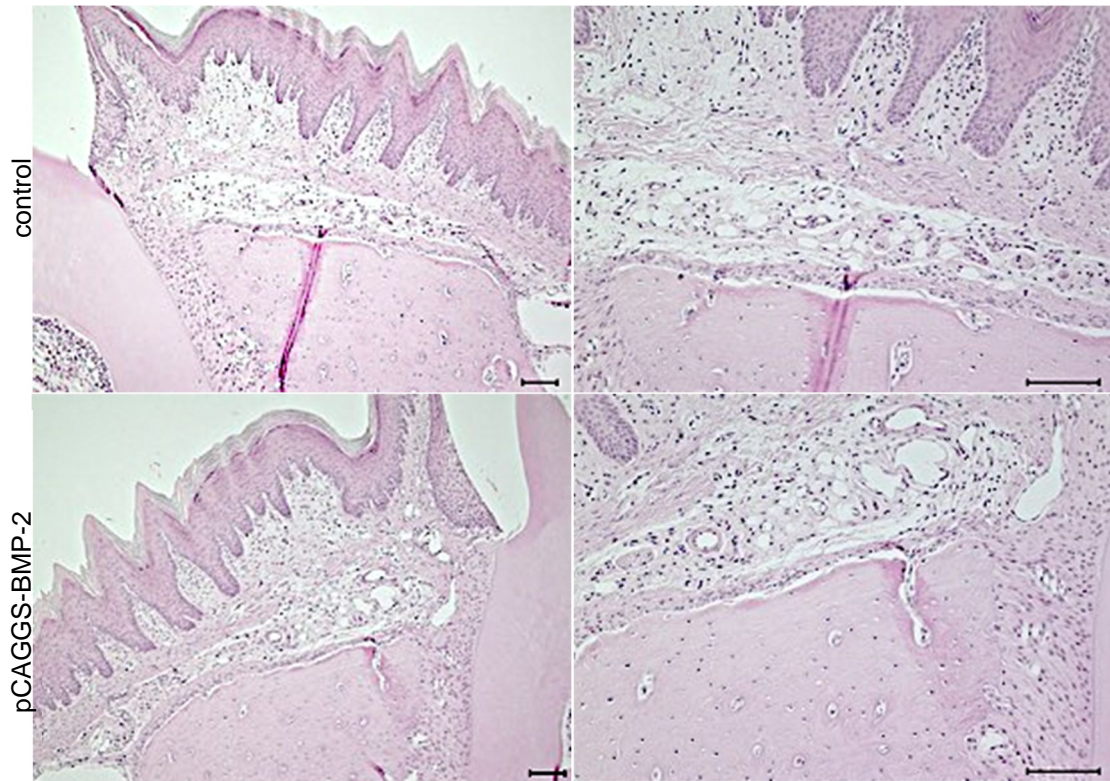


図3 遺伝子導入7日後の歯周組織 HE 染色像

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kawai Mariko Yamamoto, Ozasa Ryosuke, Ishimoto Takuya, Nakano Takayoshi, Yamamoto Hiromitsu, Kashiwagi Marina, Yamanaka Shigeki, Nakao Kazumasa, Maruyama Hiroki, Bessho Kazuhisa, Ohura Kiyoshi	4. 巻 15
2. 論文標題 Periodontal Tissue as a Biomaterial for Hard-Tissue Regeneration following bmp-2 Gene Transfer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 993 ~ 993
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ma15030993	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kawai M, Herrmann D, Fuchs A, Cheng S, Ferrer-Vaquero A, Gotz R, Driller K, Neubuser A, Ohura K.	4. 巻 52(3)
2. 論文標題 Fgfr1 Conditional-Knockout in Neural Crest Cells Induces Heterotopic Chondrogenesis and Osteogenesis in Mouse Frontal Bones	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Med Mol Morphology	6. 最初と最後の頁 156-163
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-018-0213-z.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 山本 まりこ , 大浦 清
2. 発表標題 歯槽骨再生遺伝子治療モデルにおける骨形態計測学的解析の有効性について
3. 学会等名 第29回硬組織再生生物学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 kawai M, Ohura K.
2. 発表標題 Long term observation of alveolar bone regeneration by non-viral BMP gene transfer,
3. 学会等名 25th Japan Society of Gene and Cell Therapy (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	山本 まりこ(河井まりこ) (Yamamoto Mariko) (40379839)	関西女子短期大学・その他部局等・教授 (44419)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	ウィスコンシン州立大学		