

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：32650

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19007

研究課題名（和文）糖尿病状態における足場材料・成長因子を用いた安全で効率的な骨再生の確立

研究課題名（英文）Establishment of safe and efficient bone regeneration with scaffold materials and growth factors in diabetic condition

研究代表者

備前島 崇浩 (Blzenjima, Takahiro)

東京歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：40755021

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：2型糖尿病ラットの歯周組織欠損に、塩基性線維芽細胞増殖因子（FGF-2）と脱タンパク質骨ミネラル（DBBM）を併用した歯周組織再生療法を行い、歯周組織再生に及ぼす影響について比較検討を行った。外科的に作成したラット歯周組織欠損に対し、無作為にFGF-2単独、FGF-2とDBBM併用による歯周組織再生療法を行った。糖尿病群においてFGF-2とDBBMを併用することでより多くの新生骨が形成され、上皮の深行増殖も抑制した。これらのことより、FGF-2/DBBMの併用療法は、糖尿病状態における歯周組織再生に有効であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では糖尿病状態の実験動物に対して、歯周組織再生療法を行い治癒に関する影響を比較・検討した。歯槽骨吸収を模した状態を、実験動物の歯周組織に作成し再生療法を行った。再生療法に関しては、成長因子であるFGF-2と足場となるDBBMを併用した歯周組織再生療法を行った。今回の結果では、糖尿病状態の実験動物においても、成長因子と足場材料を組み合わせた歯周組織再生療法を行うことで、歯槽骨再生に改善が認められた。本研究で得られた知見を基とし、さらに効率的な歯周組織再生療法や骨造成法が確立されれば、糖尿病をはじめ、全身状態に問題がある患者への歯周治療やインプラント治療の飛躍的な発展につながると思われる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to investigate the effects of the combined use of fibroblast growth factor (FGF)-2 with deproteinized bovine bone mineral (DBBM) on the healing of experimental periodontal defects in type 2 diabetes rats. Periodontal defects were surgically created at maxillary first molars. Then, defects were assigned to two subgroups: treatment with FGF-2 alone and FGF-2 with DBBM, following a split mouth design. In diabetes groups, FGF-2 with DBBM treatment increased new bone formation and suppressed epithelial down-growth. Within the limitation of the present study, it was concluded that FGF-2 with DBBM treatment effectively promoted healing surgical periodontal defect in type 2 diabetic rats.

研究分野：医歯薬学

キーワード：歯周組織再生療法 糖尿病 FGF-2 DBBM

1. 研究開始当初の背景

糖尿病は、感染防御機構の低下や創傷治癒不全によって、歯周組織の治癒に問題があることが指摘されている。これまでの研究で申請者らは、streptozotocin (STZ) 誘発糖尿病ラットの第一臼歯近心の歯周組織欠損部に FGF-2 を応用し、歯周組織再生に及ぼす影響を健常群と比較した (Bizenjima et al, J Clin Periodontol, 2015)。その結果、糖尿病ラットに FGF-2 を応用することで健常群には及ばないものの、FGF-2 非投与群と比較し、有意な新生骨形成を認めた (図 1, 図 2)。このように申請者らは FGF-2 が糖尿病状態においても歯周組織再生を促進することを初めて見出した。しかし FGF-2 単独の応用では再生は限定的であり、今後はより効率的に歯周組織欠損部に成長因子を作用させることのできる歯周組織再生療法が必要であると考えられる。脱タンパクウシ骨ミネラル(DBBM)は歯科再生領域において世界中で使用されている代表的な天然骨補填材であり、先行研究ではエナメルマトリックステリバティブ(EMD)との併用は EMD 単独と比較して術後 6 ヶ月において PD や CAL が有意に改善したと報告された (Lekovic V et al. J Periodontol 2000)。in vivo 研究において、DBBM 応用はマウス結合組織内の新生血管を有意に多く認め (Barbeck et al. 2014)、Osterix の遺伝子発現はマウス歯周組織欠損内において Unfilled 群と比較し、有意に高い値を示した (Kangwannarongkul et al. 2018) と報告されている。また、歯周組織欠損への DBBM の応用により、上皮細胞が根表面へ到着する前に PDL 細胞が根表面を覆うことが示唆されている (Yamamoto et al. 2017)。このように DBBM は歯周組織再生の足場材料として有効な材料と考えられる。そこで、DBBM を FGF-2 の担体として応用することで、糖尿病をはじめ全身状態に問題のある患者にも、より効果的な歯周組織の再生が望めるのではないかという仮説を立てた。またこれまでに用いてきた STZ ラットは膵 β 細胞を選択的に破壊した 1 型糖尿病モデルのラットであることが報告されている。しかし国内の糖尿病患者の多くは 2 型糖尿病を患っている場合がほとんどである。そこで今後はより臨床に即した 2 型糖尿病モデルを用いた研究を行うことが重要であると考えられる。

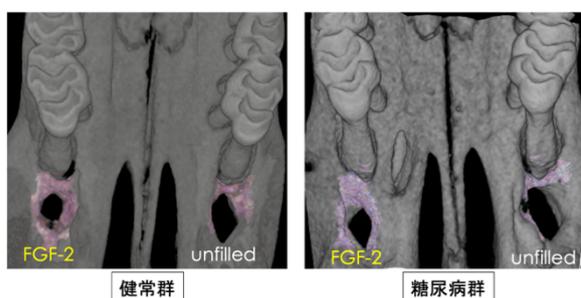


図 1 術後 4 週のマイクロ CT 画像

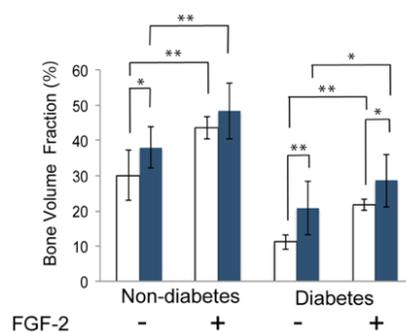


図 2 新生骨形成量の比較

2. 研究の目的

超高齢社会の進行による残存歯の増加により歯周病患者が増加している。高齢者は全身疾患の既往があるケースも多く、近年では糖尿病など全身状態に問題のある歯周炎患者への効果的な再生治療のあり方が課題となっている。細胞増殖因子は、わが国における新規歯周組織再生療法

としての臨床応用が期待されているが、糖尿病患者に使用した場合の効果については未だ不明な点が多い。本研究の目的は糖尿病状態の歯周組織欠損部に増殖因子と天然骨ミネラルを併用した歯周組織再生療法を行なった場合の治癒動態について明らかにすることである

3. 研究の方法

実験動物には2型糖尿病モデルラットの GK (Goto-Kakizaki)ラット, Wistar ラットを使用する。上顎臼歯部に局所麻酔を行い、歯肉弁を剥離後、第一臼部近心部に歯周組織欠損(2×2×1.7)を作成し、根面をルートプレーニングする。実験側には FGF-2 を併用した DBBM を応用する。対照側は FGF-2 または生理食塩水のみ (Unfilled 群)を応用し、4 週で安楽死させマイクロ CT 撮影後、検体を採取し、歯周組織再生効果について形態学的、組織学的に評価・検討する。

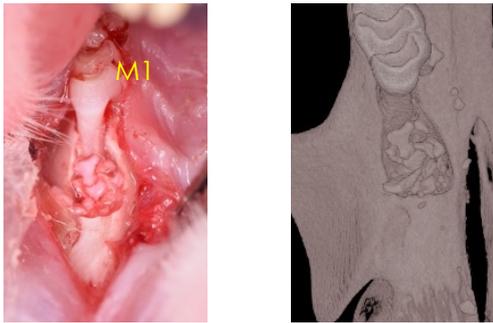


図3 DBBM 填入後の術中写真, マイクロ CT 画像

4. 研究成果

全ての手術部位において術後感染による膿瘍形成、歯肉壊死等は認められなかった。組織学的観察では GK ラット/Unfilled 群で上皮の深行増殖を認めた。FGF-2 を応用することで健常群, GK ラット群ともに上皮の深行増殖が抑制された。DBBM の有無による影響は顕著ではなかったが、FGF-2+DBBM 群においても深行増殖の抑制傾向を認めた。新生骨形成に関しては、FGF-2 応用で両群とも Unfilled と比較し、より多くの新生骨様構造物を認めた。GK ラット群と比較すると健常群でより顕著な新生骨様構造物の形成を認めた。FGF-2+DBBM を併用した群では、DBBM 顆粒は線維性結合組織に取り囲まれていた。健常群では、DBBM 顆粒が新生骨様構造物に取り囲まれているサンプルも少数だが確認された。DBBM の明らかな骨の置換は認められなかった。

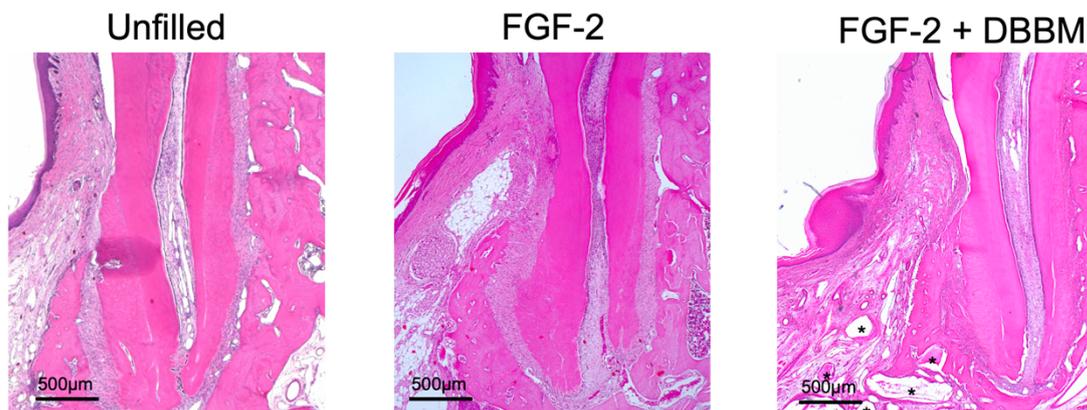


図4 健常群の欠損部全体像

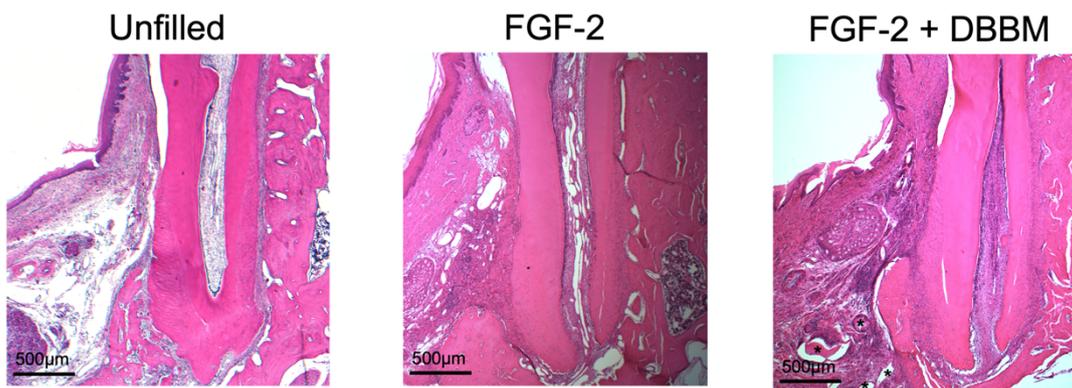


図5 糖尿病群の欠損部全体像

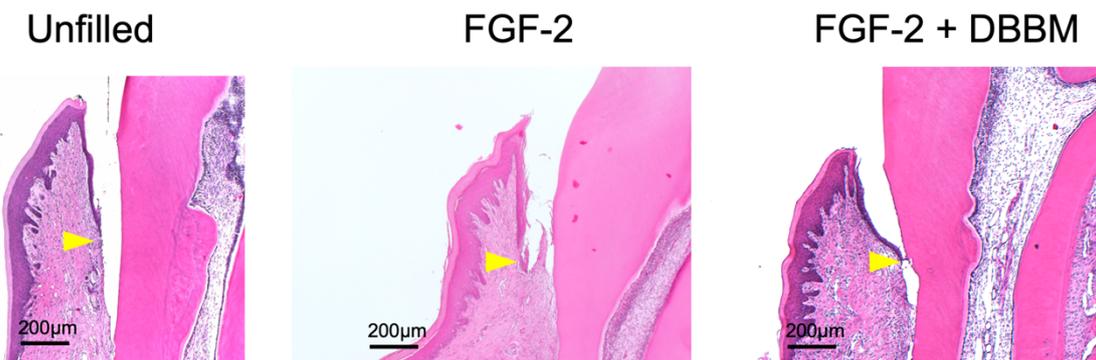


図6 健常群上皮拡大

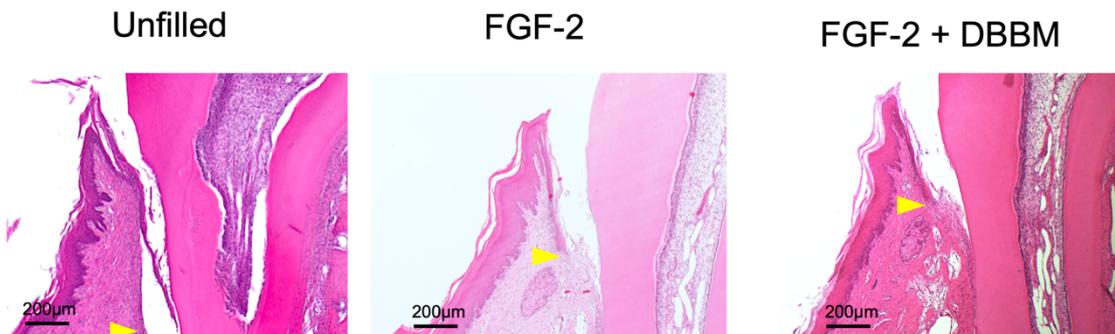


図7 糖尿病群上皮拡大

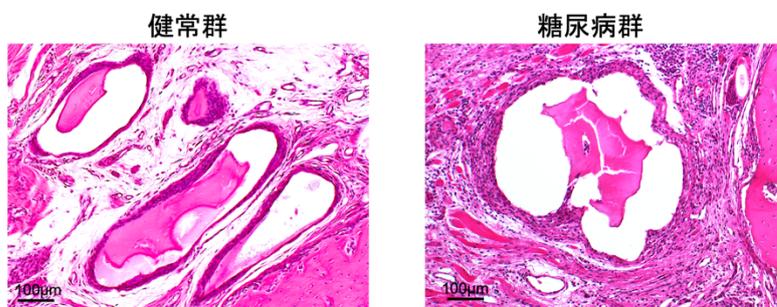


図8 残留 DBBM 顆粒

μCTによる新生骨の観察ではGKラット群と比較して健常群で新生骨の形成量が増加した。さらにFGF-2+DBBMを応用することでGKラット群でも新生骨形成量が増加した。しかし両群で著明な新生セメント質の形成は認められなかった。

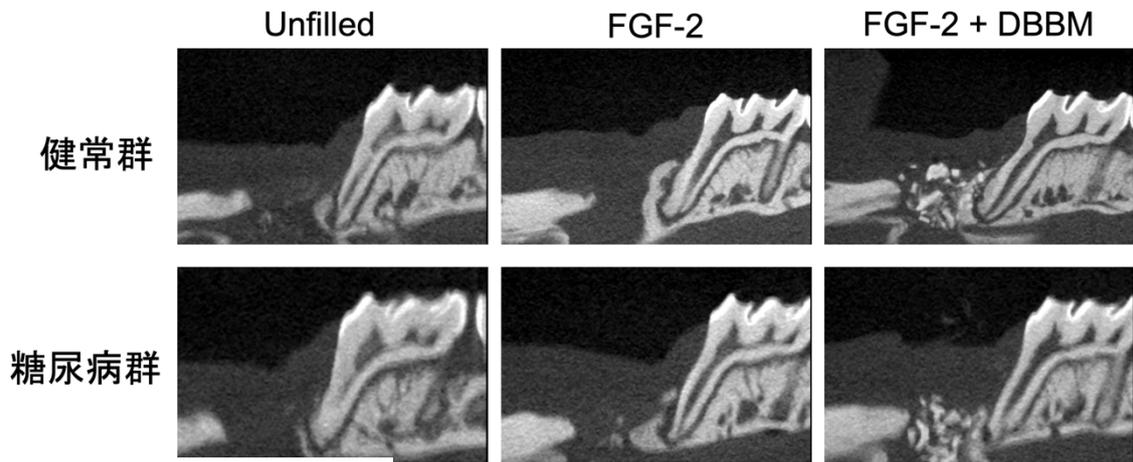


図9 μ CT 画像

本研究結果より，効果は限定的ではあるが，糖尿病状態の歯周組織に対して FGF-2 + DBBM 併用による新規歯周組織再生療法の有効性が見出された。今回の結果は糖尿病患者だけでなく，健常者に対しても FGF-2 と骨補填材併用の有効性を示した。成長因子と足場材料の併用による歯周組織再生療法の新知見は生物学的観点からはもちろんのこと，臨床的観点からも非常に意義深いものであると考えられる。

<引用文献>

- ① Bizenjima, T., Seshima, F., Ishizuka, Y., Takeuchi, T., Kinumatsu, T. & Saito, A. (2015) Fibroblast growth factor-2 promotes healing of surgically created periodontal defects in rats with early, streptozotocin-induced diabetes via increasing cell proliferation and regulating angiogenesis. *Journal of Clinical Periodontology* 42, 62–71.
- ② Lekovic, V., Camargo, P. M., Weinlaender, M., Kenney, E. B. & Vasilic, N. (2000) Combination use of bovine porous bone mineral, enamel matrix proteins, and a bioabsorbable membrane in intrabony periodontal defects in humans. *Journal of Periodontology* 72, 583–589.
- ③ Barbeck, M., Udeabor, S.E., Lorenz, J., Kubesch, A., Choukroun, J., Sader, R.A., Kirkpatrick, C.J., Ghanaati, S. Induction of multinucleated giant cells in response to small sized bovine bone substitute (Bio-Oss™) results in an enhanced early implantation bed vascularization. *Ann. Maxillofac. Surg.* 2014, 4, 150–157.
- ④ Kangwannarongkul, T., Subbalekha, K., Vivatbutsiri, P., Suwanwela, J. Gene expression and microcomputed tomography analysis of grafted bone using deproteinized bovine bone and freeze-dried human bone. *Int. J. Oral Maxillofac Implant.* 2018, 33, 541–548.
- ⑤ Yamamoto, S., Masuda, H., Shibukawa, Y., Yamada, S. Combination of bovine-derived xenografts and enamel matrix derivative in the treatment of intrabony periodontal defects in dogs. *Int. J. Periodontics Restor. Dent.* 2007, 27, 471–479.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------