

平成23年 5月 12日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592225

研究課題名(和文) 増殖因子と超音波療法を応用した象牙質・歯槽骨再生療法の開発

研究課題名(英文) Regeneration of dentin and alveolar bone using growth factors and ultrasound

研究代表者

山路 公造 (YAMAJI KOUZOU)

岡山大学・岡山大学病院・講師

研究者番号：30374531

研究成果の概要(和文)：

本研究は、硬組織誘導能を有する増殖因子と骨治癒を促す効果のある低出力パルス超音波を用いて、象牙質および骨の再生に用いた場合の効果を検討した。その結果、増殖因子を直接覆髄に用いることで象牙質形成が促進された。また、骨膜下に移植することで骨形成が促進された。さらに、超音波を併用した場合、骨の成熟度が高まり、骨形成が促進される効果が認められた。以上より増殖因子と超音波を組み合わせることで、硬組織形成が促進される可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：

The purpose of this study was to evaluate the effect of dentin and bone regeneration using growth factor and ultrasound. As a result, the dentin formation was promoted by using the growth factor in the case of direct pulp capping. Newly formed bone was observed at subperiosteal sites using growth factor. Furthermore, the maturation of newly formed bone was enhanced by using ultrasound. These results suggest that growth factor and ultrasound have the ability to enhance hard tissue formation.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2008年度 | 1,400,000 | 420,000 | 1,820,000 |
| 2009年度 | 1,200,000 | 360,000 | 1,560,000 |
| 2010年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 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・保存治療系歯学

キーワード：増殖因子、超音波療法、象牙質形成、骨形成

1. 研究開始当初の背景

これまでに、当研究グループでは骨形成に対する加齢の影響を検討する目的で、増殖因子である Bone Morphogenetic Protein (BMP) をラット口蓋部骨膜下に移植した場合、加齢に伴い骨形成量は減少するが、中高齢ラットにおいても BMP により骨形成量が有意に増加することを報告した。

また、BMP は骨マトリックスだけではなく、象牙質マトリックスにも存在することが知られている。

象牙質再生療法を開発する目的で、ビーグル犬の臼歯を露髄後、直接覆髄材として生体吸収性創傷被覆材であるアルギン酸ゲルを露髄面に被覆したところ、窩洞内部（歯冠側）に新しく象牙質形成が認められたことが報告されている。これは、歯髄腔と交通した歯冠側空隙のスキヤホールドに歯髄細胞が誘導され、それが象牙芽細胞様細胞に分化し、新しく象牙質形成したためと考えられる。そこで、増殖因子を用いた場合の効果を検討するために、ラットの第一臼歯を露髄後、直接覆髄材として BMP を配合したアルギン酸ゲルを露髄面に覆髄した。その結果、アルギン酸ゲル単独で用いるよりも象牙質形成が促進され、象牙質欠損部に新しい象牙質で修復されたことを報告した。このことから、生体吸収性材料を足場として誘導された歯髄細胞に、硬組織誘導能を有する増殖因子を作用させると、歯髄細胞から象牙芽細胞へ分化が促進され、その結果、歯冠側に象牙質形成が促進されたと考えられる。

一方、整形外科領域では、臨床的に低出力パルス超音波を用いることで骨形成を促し治癒を促進させることが知られている。これ

は超音波骨折治療法として、骨融合期間を短縮し遅延癒合の発生率を低下させる効果が臨床で認められている（平成 18 年 11 月厚生労働省より先進医療適用認可）。同様に口腔領域においても、低出力パルス超音波を用いることで、歯槽骨の形成を促す効果が期待されると同時に、硬組織である象牙質形成にも効果がある可能性が考えられる。また、硬組織誘導能を持つ増殖因子と併用することで、硬組織形成がさらに促進される可能性が考えられる。しかし、増殖因子移植と低出力パルス超音波と組み合わせた場合の歯槽骨、象牙質の形成（再生）に関する研究は、まだ報告されていない状況であった。

2. 研究の目的

本研究は、硬組織誘導能を有する増殖因子と骨形成を促進し治癒を促すことが知られている低出力パルス超音波(超音波療法)に着目し、両者を象牙質および歯槽骨再生に用いた場合の効果を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究は、硬組織誘導能を有する増殖因子と整形外科領域で臨床応用されている低出力パルス超音波(超音波療法)に着目し、両者を象牙質および歯槽骨再生に用いる。

象牙質再生では臼歯の露髄面に増殖因子を移植し、歯槽骨再生では骨に増殖因子を移植する。治癒期間中に低出力パルス超音波を応用し、その効果を評価する。

[移植方法]

(1) 象牙質再生の検討

全身麻酔下にて実験動物の臼歯を人工的にラウンドバーにて窩洞形成、露髄後、オキ

シドール洗浄、止血を行う。これにより歯髓腔と交通した歯冠側空隙が形成される。その後、露髄面に直接覆髄を施し、コンポジットレジン充填を行う。

(2) 歯槽骨再生の検討

全身麻酔下にて実験動物の上顎臼歯口蓋側に歯肉溝切開を加え口蓋粘膜を全層剥離する。その後、移植材を既存骨面上に移植し、弁を復位し縫合する。

移植後の治癒期間中に低出力パルス超音波を応用する。

[評価方法]

観察期間終了後、病理組織学的観察および免疫組織学的解析を行い、象牙質および歯槽骨再生について評価する。

象牙質・歯槽骨再生における増殖因子と低出力パルス超音波(超音波療法)の効果について総合的に評価を行う。

4. 研究成果

露髄面に BMP 配合アルギン酸ゲルを直接覆髄材として用いた結果、BMP 非配合の場合と比べて、修復象牙質が露髄面から歯冠側方向に形成された。象牙質欠損部には象牙質再生が認められた。

一方、口蓋部骨膜下に BMP 配合アルギン酸ゲルを移植した場合、3週間後には新生骨形成が認められ、BMP 非配合の場合と比べて有意に多かった。

さらに骨膜下に BMP を移植し低出力パルス超音波を用いたところ、BMP 移植のみの場合と比べて新生骨の成熟度が高まり骨形成を促す効果が認められた。

以上の結果、増殖因子は象牙質および骨形成の再生に有効である可能性が考えられた。さらに、超音波療法を組み合わせることで、硬組織形成が促進される可能性が示唆された。

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 Yamaji K, Nishimura M, Nishitani Y, Izawa S, Hoshika T, Shiode S, Yoshiyama M: Effects of ultrasound on bone formation induced by BMP-2, *Journal of Oral Tissue Engineering*, 査読有 8(1), 47-51, 2010

② 伊澤俊次, 山路公造, 星加知宏, 中田貴, 神農泰生, 西谷佳浩, 吉山昌宏: ヒト骨髄間葉系幹細胞を用いた象牙芽細胞分化と象牙質再生. *再生歯誌*, 査読有 7(1), 47-55, 2009

③ 神農泰生, 岸本麻実, 穴吹優佳, 山路公造, 西谷佳浩, 田中 亨, 佐野英彦, 吉山昌宏: コラーゲン固定化エチレンビニルアルコール共重合体 (EVA+C) 添加試作石灰化誘導促進性接着材の接着強さと生体親和性. *再生歯誌*, 査読有 7(1), 56-63, 2009

④ Yamaji K, Horikawa G, Nishitani Y, Izawa S, Yoshiyama M : Dentin regeneration by direct pulp capping using rhBMP-2. *Journal of Oral Tissue Engineering*, 査読有 5(3), 145-149, 2008

⑤ Yamaji K, Takahashi K, Nishitani Y, Izawa S, Horikawa G, Nishimura M, Hoshika T, Yoshiyama M : Effects of BMP-2 injected into the palatal sites on bone formation. *Journal of Oral Tissue Engineering*, 査読有 6(1), 62-66, 2008

[学会発表] (計6件)

① Yamaji K, Nishimura M, Nishitani Y, Izawa S, Hoshika T, Yoshiyama M : Effects of ultrasound on bone formation induced by BMP-2

88th International Association for Dental Research, 2010/7/15, Barcelona, Spain, Poster

②塩出信太郎, 山路公造, 西谷佳浩, 堀川元, 伊澤俊次, 吉山昌宏

BMP による骨形成に対する CO₂ レーザーの影響

日本再生歯科医学会誌, 7(1) : 89, 2009. 第7回日本再生歯科医学会, 2009/9/11-12, 北九州, ポスター

③伊澤俊次, 山路公造, 星加知宏, 中田 貴, 神農泰生, 西谷佳浩, 吉山昌宏

ヒト骨髄間葉系幹細胞を用いた象牙質再生に関する研究—リアルタイム RT-PCR 法による遺伝子発現解析—

第7回日本再生歯科医学会学術大会・総会, 2009/9/11-12, 北九州, ポスター

④西村麻衣子, 山路公造, 堀川 元, 西谷佳浩, 吉山昌宏

超音波治療と BMP-2 を用いた骨再生療法
第6回日本再生歯科医学会学術大会・総会, プログラム・抄録集 (abst P12) 2008/9/13, 東京, ポスター

⑤Yamaji K, Nishitani Y, Izawa S, Yoshiyama M:
Effects of BMP-2 on bone formation at palatal subperiosteal sites

86th International Association for Dental Research (abst 2567), 2008/7/4, Toronto, Canada, Poster

⑥Izawa S, Yamaji K, Shinno Y, Nishitani Y,

Yoshiyama M: Dentin-regeneration by the differentiated bone marrow mesenchymal stem cells

86th International Association for Dental Research (abst 3367), 2008/7/5, Toronto, Canada, Poster

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山路 公造 (YAMAJI KOUZOU)
岡山大学・岡山大学病院・講師
研究者番号 : 30374531

(2) 研究分担者

吉山 昌宏 (YOSHIYAMA MASAHIRO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号 : 10201071

(3) 研究分担者

西谷 佳浩 (NISHITANI YOSHIHIRO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号 : 60325123

(H21→H22 : 連携研究者)

(4) 研究分担者

小田島 朝臣 (ODAJIMA TOMOIMI)
北海道大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号 : 80344521

(H22 : 連携研究者)

(5) 研究分担者

川浪 雅光 (KAWANAMI MASAMITSU)
北海道大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号 : 10133761

(H21→H22 : 連携研究者)