

機関番号：17301
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2009～2010
 課題番号：21792019
 研究課題名（和文）ヒーリングシートと咀嚼・咬合等の開閉口運動を利用した骨延長法の開発
 研究課題名（英文） Development of Distraction Osteogenesis with Healing sheet and using of Open closing mouth-movement
 研究代表者
 米澤 久信 (YONEZAWA HISANOBU)
 長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
 研究者番号：80423680

研究成果の概要（和文）：顎骨の延長部位へ持続したmechanical stressを加えることで延長部位の新生骨が良好に形成される点を考慮し、開閉口運動や咀嚼運動の力学的エネルギーを延長力へ応用することを想定して持続的延長作用を有する骨延長器の開発に着手した。また、延長骨の評価についてはマイクロCTを用いて評価を行った。さらに、ヒーリングシートに関する実験動物を用いた検討については、骨組織が介在しない軟組織のみに対する創傷治癒効果について免疫染色法を用いて検討した。

研究成果の概要（英文）：I assumed that this study was applied mechanical stress of open closing movement and the chewing motion to a prolongation power in consideration of the point where the neonatal bone of the prolongation site was formed well by adding mechanical stress which lasted to the site of the jaw, and started the development of the bone prolongation container with persistent effects. I also evaluated the deferred long bone using micro CT. Furthermore, I examined the vulnerary effect on only soft tissue which a bone did not exist among using immunohistochemical staining about the examination using the laboratory animal about a healing sheet.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 21 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
平成 22 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：顎骨延長、創傷治癒、口腔外科学

1. 研究開始当初の背景

顎顔面口腔外科領域において骨延長法（仮骨延長法）は顎変形症患者に対する顎骨劣成長の改善ならびに咬合改善、腫瘍切除後の患者に対する顎骨ならびに軟組織再建、歯槽骨吸収が著しいインプラント埋入予定の患者

に対する歯槽骨増大術など現在汎用されている組織再生手法である。しかしながら、欠点として①治療期間・固定期間が長期にわたり、長期間に至って延長器具の装着を余儀なくされるために感染のリスクが高くなり、患

者に苦痛を強いることになる点、また、②全ての延長器具が徒手的に 1 日毎に 1-3 回程度に分けて延長しなければならず、煩雑且つ骨延長部位に持続的 刺激 (mechanical stress) が加わり辛く、良好な骨形成が困難な点が開発当初の背景にあった。

2. 研究の目的

よって、これらの点を改善するため、以下の要件を満たす骨延長法が実用されれば、現在よりも格段に汎用され患者の QOL も向上することが考えられる。

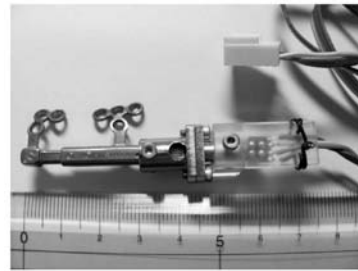
- ① 骨ならびに軟組織に関わる成長因子 (growth factor) を組み合わせることで、速やかに骨延長部位を骨化させ、延長器具の早期除去が可能となる。
- ② 延長部位へ連続的 mechanical stress で延長部位の新生骨質が良好に形成されること。
- ③ 口腔領域に特有な咬合、咀嚼、会話等の妨げにならず、むしろそれらの機能を利用したい。また、創傷治癒に関してヒーリングシートの開発を行い、咀嚼機能等の開閉口運動で機能する延長器具を利用し、良好な骨形成を示すことにある。以上が本研究の目的である。

3. 研究の方法

平成 21 年度において、マイクロアクチュエーターとステッピングモータを導入したチタン製の小型骨延長器を作製し、単位時間当たりの延長量を数千から数万分の 1mm で連続した顎骨延長様式を可能とし、1 日当たりの咀嚼回数を想定・具現化した。また、プログラミングソフトをインストールしたコンピュータ制御の下で USB にて接続し、延長スピードを調節可能とした。

(左図は、コンピュータ制御下で USB にて接続可能な小型持続的骨延長器である。全長約 7cm である。接続したコンピュータには 1

日当たりの咀嚼回数、スピードを想定したプログラムがインストールされている。)



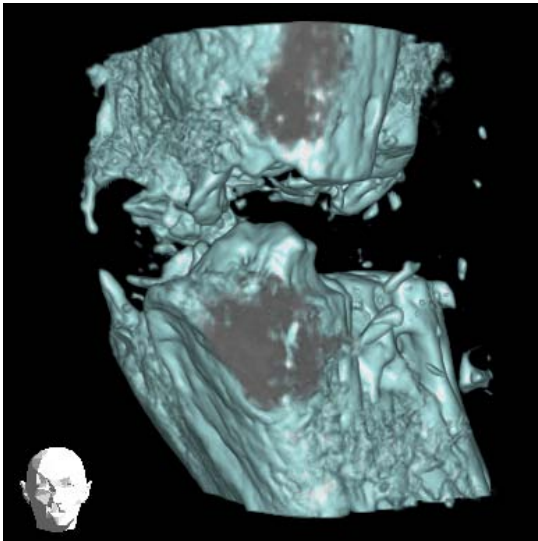
これを、体重約 3-3.5kg の雄性ウサギ (日本白色種) を実験動物としたウサギの下顎骨へ装着し、手動で 1 日当たり 1 回だけ 1mm 下顎骨を延長した群を対照群とした実験を行った。さらに、対照群における延長部分の新生骨に関する評価に関して、マイクロ CT (以下 μ CT) を用いた画像評価を施行した。また、平成 22 年度においてはヒーリングシートに関し実験動物を用いた検討を行った。具体的には、体重約 3-3.5kg の雄性日本白色家兎を用い全身麻酔下で舌縁部に大きさ約 10×10×2mm の切除を施行した。その後切除後の創部に対しフィブリンとトロンビンの混合溶液とポリグリコール酸シートを使用した群と一次縫縮を施行した群に分け、術後 1 週、2 週、4 週において H-E 染色、抗 Cytokeratin AE1/AE3 (以下 AE1/AE3)、抗 FGF-2 抗体 (以下 FGF-2) ならびに抗 VEGF 抗体 (以下 VEGF) の免疫組織化学染色による形態学的観察ならびに肉眼的観察を行った。

4. 研究成果

平成 21 年度の結果では、延長後 2 週における下顎骨では μ CT による 3D 画像を分析した結果、元来の顎骨から骨延長によって形成された新生骨には不規則な石灰化像が認められ、連続した部分の新生骨と不連続な部分が混在していた。これは、断続的な mechanical stress では新生骨形成が元来の顎骨周囲に一様には形成されないことが示唆された。しかしながら、ウサギ下顎骨骨延

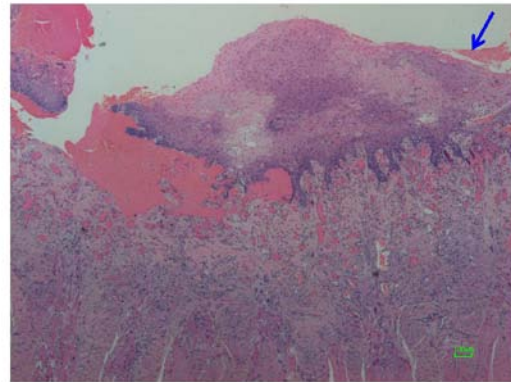
長部分のマイクロ CT における分析や 3D 画像に関する報告はなく、下顎骨延長部位における新生骨形成の過程において、十分意義がある結果として示唆された。しかしながら、問題点として、延長器との接続部分が脆弱であり、実験動物の動きにより接続部分が断線される場合がある。よって、当該部分について十分な補強が必要であることが挙げられた。

(下図はマイクロ CT にて分析した固定期間 2 週におけるウサギ下顎骨の骨延長部分の 3D 画像を示す。骨延長によって形成された新生骨には不規則な石灰化像が認められ、連続した部分の新生骨と不連続な部分が混在していた。正面が歯の咬合面部。左側が頬側であり、右側が舌側である。)

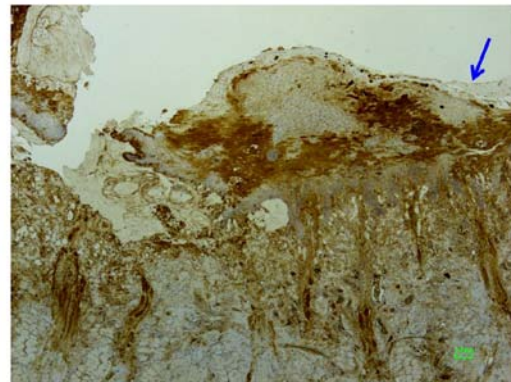


さらに、平成 22 年度では創部に対するヒーリングシートの役割として以下の結果が得られた。結果は、フィブリンとトロンビンの混合溶液とポリグリコール酸シートを使用した群と一次縫縮を施行した群で比較分析を施行した。フィブリンとトロンビンの混合溶液とポリグリコール酸シートを使用した群においては術後 1 週では、上皮層全体で cytokeratine AE1/AE3 に強陽性を示した。また、上皮層と結合組織層で FGF-2 に強陽性を示し、さらには VEGF の発現により血管新

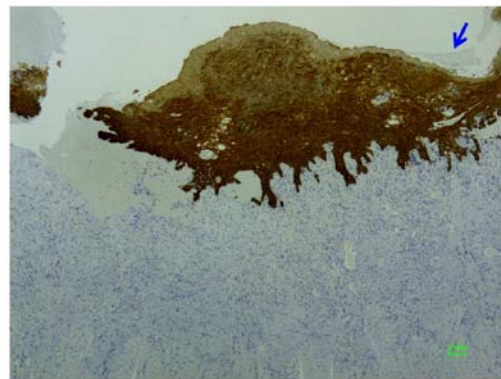
生が認められた。



(術後 1 週における H-E 染色像、矢印はポリグリコール酸シートが剥離し血餅に置換された部分を示す)



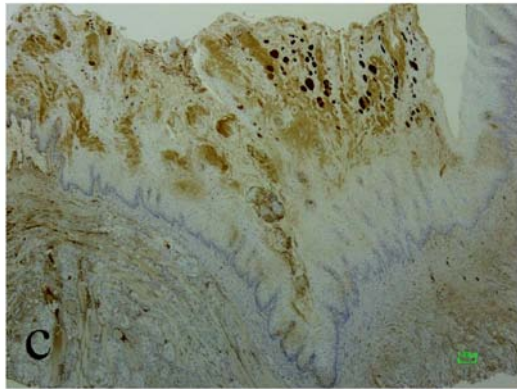
(術後 1 週における FGF-2 による免疫染色像、矢印はポリグリコール酸シートが剥離し血餅に置換された部分を示す。創面ならびに結合組織層において強発現が認められる。)



(術後 1 週における AE1/AE3 による免疫染色像、矢印はポリグリコール酸シートが剥離し血餅に置換された部分を示す。上皮層において強発現が認

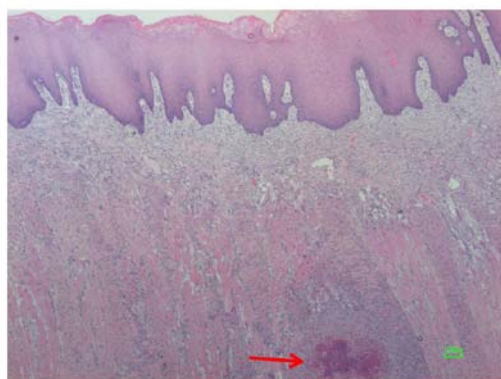
められ、基底膜層は依然として不整な形態を示している。)

また、術後 2 週では、基底膜層の形成がさらに進み AE1/AE3 に陽性を示したが、上皮層とその直下の結合組織層では FGF-2 の発現がやや減少した。



(術後 2 週における FGF-2 による免疫染色像、創面ならびに結合組織層において術後 1 週より弱いものの依然として発現が認められる。)

次に、術後 4 週では創面の組織修復が更に進み、上皮基底層において AE1/AE3 に陽性を示した。さらに FGF-2、VEGF で陰性を示したことで正常に上皮化されたことが示唆された。一方、一次縫縮を施行した群では、術後 1 週で同様に上皮層に AE1/AE3 に強陽性を示し、結合組織層で FGF-2 と VEGF に陽性を示した。



(対照群として一次縫縮を施行した群の術後 1 週の H-E 像。矢印は縫合糸の部分)

また、術後 2 週では AE1/AE3 では上皮層に発現を認め、FGF-2 における陽性発現が減少し、術

後 4 週で FGF-2 に陰性を示し癒痕形成を認めた。これらの結果より、フィブリンとトロンビンの混合溶液とポリグリコール酸シートを創傷治癒材として有用であり、少なくとも軟組織の治癒効果があることが示された。今後は、骨延長時における骨膜治癒の促進を含めた効果をさらに検討する必要がある。

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 1 件)

Hisanobu YONEZAWA, Shin-ichi YAMADA, Souichi YANAMOTO, Izumi YOSHITOMI, Goro KAWASAKI, Masahiro UMEDA

Wound healing of polyglycolic acid sheets with fibrin glue (MCFP method) on the vulnerary process of wounds after partial resection of the rabbit margo linguae: a preliminary study.

British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery, 査読有り, in Press, 2011.

[学会発表] (計 1 件)

米澤 久信 他 舌部分切除後の創面に対する PGA シートおよびフィブリン糊の使用経験
第 14 回九州地区口腔癌研究会 2010 年 09 月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

米澤 久信 (YONEZAWA HISANOBU)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：80423680

(2) 研究協力者

船山 貴智
株式会社モルフォテクノロジー

扇谷保彦
長崎大学・工学部・准教授