

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 2 日現在

機関番号：33902

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22592305

研究課題名(和文) 矯正学的固定源のための生体内吸収性メッシュ状オンプラントシステムの開発と臨床応用

研究課題名(英文) Development and the clinical application of the bioabsorbed mesh onplant system for orthodontic anchorage

研究代表者

宮澤 健 (MIYAZAWA KEN)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：60301636

研究成果の概要(和文)：矯正治療を効率よく行うために、短期間で強固な固定が得られ、治療後に体内で吸収されて撤去の必要がないオンプラントの開発を目的とした。オンプラントと歯から抽出した DDM を組み合わせ、さらに新しい骨を作るために有効と考えられる RMA の骨への影響について検討を行った。その結果、DDM と RMA はオンプラントを植立する際に新生骨とオンプラントの結合を強固にし、新しい骨を作るために有効であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to development new bioabsorbed mesh onplant system for orthodontic anchorage. Demineralized dentin matrix (DDM), an organic material derived from the dentine of bovine teeth, was grafted in rat skull defects to determine its bone regeneration ability and the possibility of its use as a bone substitute for bioabsorbed mesh onplant system. In conclusion, DDM may be a useful bone substitute that serves as a scaffold for bone regeneration by inducing a high level of new bone formation soon after surgery. The purpose of the second study was to identify the effect of Reveromucin A (RMA) on inhibiting bone resorption in OPG^{-/-} mice. These data was suggested that RMA normalizes bone metabolism and loss of alveolar bone during continuous tooth movement in OPG^{-/-} mice.

This study concluded that RMA has possibility of the bioabsorbed mesh onplant system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：歯科矯正学

科研費の分科・細目：歯学、矯正・小児系歯学

キーワード：矯正歯科治療、複合材料・物性、脱灰歯基質、インプラント、オンプラント、ポリ乳酸、骨形成因子

1. 研究開始当初の背景

歯科矯正治療を短期間に効率よく遂行するためには固定源の確保がきわめて重要と考えられる。われわれは1995年よりスケルタルアンカレッジの矯正治療への応用について研究しており、骨表面に設置する骨膜下オンプラントが矯正治療の固定源として有用であることを報告した。しかし、矯正治療の後には除去手術が必要であり、外科的侵襲をいかに軽減させるかが課題であった。

2. 研究の目的

(1) 骨形成吸収性超高分子ポリ乳酸をオンプラント材として応用し、さらにBMP(骨形成因子)をオンプラント体表面に複合化することにより、骨表面の自由な部位に短期間で強固な骨性結合が得られ、加えて矯正治療後は生体内で吸収されて撤去手術の必要がない歯科矯正治療専用の新しいオンプラントの開発を本研究の目的とした。具体的にはオンプラント体を植立後、早期にかつ旺盛に骨修復を促進することを目的として、以下の2つの研究を行った。

①粉砕牛骨から抽出したBMPと生体吸収性高分子マテリアルとの各種複合化を検討するため、BMPを含有するDDMの骨修復能を検討することを目的とした。

② 骨吸収抑制剤であるリベロマイシンA(RMA)に着目し、骨吸収抑制剤を加えた場合の骨形成、骨吸収に与える影響を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) オンプラントと骨との早期からの結合を行うことを目的として、今回はその1つとして歯から抽出する脱灰歯牙基質(DDM)をBMPの複合マテリアルとして選択した。まず、DDM

自体の生体親和性、骨修復能を調査する目的としてUristsらの方法に準じてウシ下顎前歯から脱灰歯牙基質(DDM)を作製し、頭蓋骨に直径4.3ミリの円形骨欠損を作製し、DDMを填塞して、その修復能を検討した。ラットはDDM填塞群と無添加群の2群に分けた。検討には μ CT撮影、骨量計測、組織学的検索にて行った。

(2) 骨吸収抑制剤としてRMAの可能性について検討した。検討項目としては、RMAが骨代謝にどの程度影響するかについて検討を行った。具体的には、骨粗鬆症状態を想定し、OPG^{-/-}モデルマウスの上顎の第一大臼歯の移動量と骨吸収状態を指標として実験を行った。実験方法として、Ni-Tiクローズドコイルスプリングを14日間用いて歯の移動を行った。その際、RMAを1日2回腹腔内投与した群と生理食塩水を投与した群の2群を用いて行った。評価方法はマイクロCT、HE染色、軟X線写真、血清アルカリフォスファターゼ活性を用い、骨形成能力と骨修復機転を評価した。(Fig. 1)

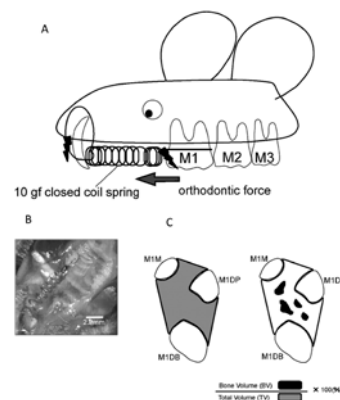


Fig. 1A クローズドコイル装着位置と実験的歯の移動方向
Fig. 1B クローズドコイルが装着された第一大臼歯
Fig. 1C 骨量計測部位

4. 研究成果

(1) DDM 填塞群は無添加群と比較して欠損

部周囲からだけでなく、欠損内部からも骨が形成されて修復し、優れた骨修復能を有していた。(Fig. 2)

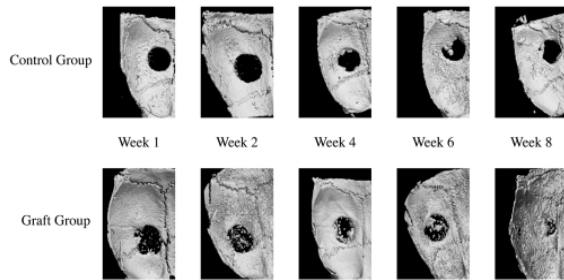


Figure 2. 骨欠損部のμCT画像

また、4週後における蛍光顕微鏡像での石灰化像では、DDM 填塞群は無添加群と比較してDDM 顆粒間を架橋するように活発な骨形成が認められ、新生骨は梁状を呈していた。(Fig. 3)

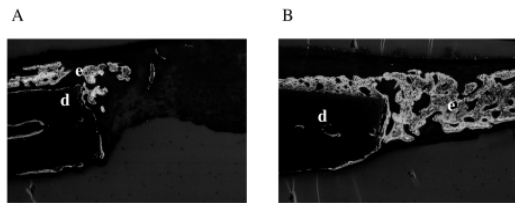


Figure 3 4週後の蛍光顕微鏡検査画像 (A 無添加群 B DDM 填塞群)

2群の石灰化速度の経時的変化については、両群の石灰化速度の経時的変化はほぼ同様の経過を示した。DDM 填塞群は、填塞後1週から2週の間と2週から4週の間では有意な差を持って増加していたが、4週から6週の間では有意に減少していた。また、各期間における両群間の石灰化速度には有意差は認められなかった。(Fig. 4)

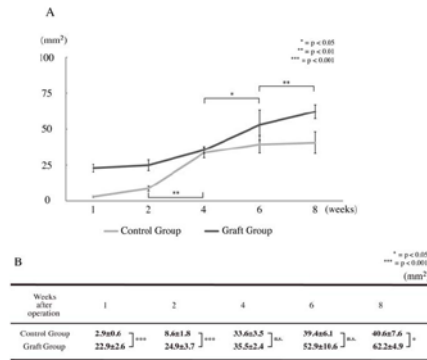


Figure. 4A 各期間における石灰化率の変化
Figure. 4B 無添加群と填塞群での石灰化率の経時的な変化

骨欠損部BSの経時的な変化については、無添加群の骨欠損部BSは、2・4週の間には有意な差が認められたが、4週以降は増加量に有意な差は認められなかった。一方、DDM填塞群の骨欠損BSは、1・2・4週の間には有意な差は認められなかったが、4週以降では有意に増加していた。両群の間では、1・2・8週でDDM填塞群が有意に大きかった。(Fig. 5)

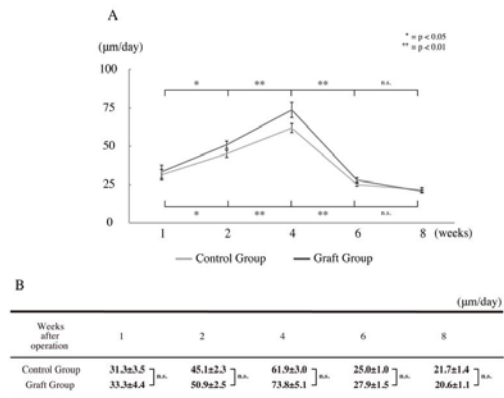


Figure. 5A 各期間における骨欠損部BSの変化
Figure. 5B 無添加群と填塞群の骨欠損部BSにおける各期間ごとの変化

無添加群の骨欠損BVは、2・4週の間には有意な差が認められたが、4週以降は増加量に有意な差は認められなかった。一方、DDM填塞群の骨欠損BVは、1・2週の間には有意な差は認められなかったが、2週以降では有意に増加していた。両群の間では、すべての週でDDM填塞群が有意に大きい値を示した。(Fig. 6)。

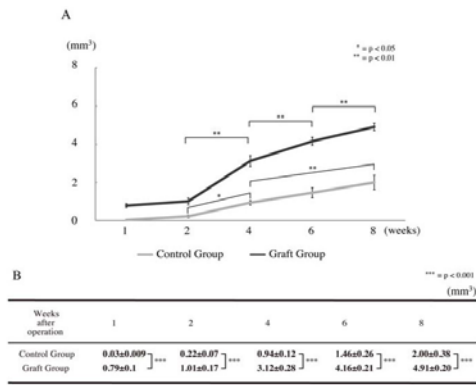


Figure. 6A 各期間ごとの骨欠損部BVの比較

Figure. 6B 無添加群と填塞群の骨欠損部BVの経時的な変化の比較

組織学的検索においては、無添加群においては、2週より骨欠損部辺縁部に少量の骨形成を認めるが、欠損部全体が線維性組織で満たされており、8週を経過しても、骨組織の形成は欠損部辺縁に局限されていた。(Fig. 7)

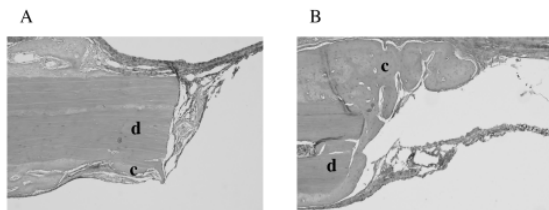


Figure. 7A 無添加群の1週間後の組織学的画像。欠損部周囲の頭蓋骨辺縁(d)に少量の骨組織(c)を認めた。

Figure. 7B 無添加群の8週後の組織学的画像。骨組織(c)の形成は欠損部周囲の頭蓋骨辺縁(d)に局限されていた。

一方、DDM 填塞群では、移植された DDM は緻密構造を呈し、多数の象牙細管が観察された。移植後 2 週では、DDM 顆粒間に繊維性組織が多く認められたが、骨欠損部辺縁のみならず DDM 表面にも骨組織の形成が認められた。また、移植後 8 週では、繊維性組織はほとんど認められず、骨欠損部辺縁と DDM を取り囲むように骨組織が形成されていた。(Fig. 8)

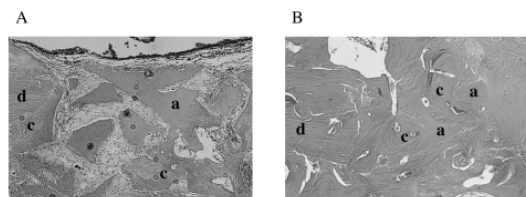


Figure. 8A DDM 填塞群の2週後の組織学的画像。DDM (a) は細管を有する緻密構造を呈し、骨欠損部周囲の頭蓋骨辺縁(d)と DDM(a)表面に骨組織(c)の形成が認められた。

Figure. 8B DDM 填塞群の8週での組織学的画像。欠損部周囲の頭蓋骨辺縁(d)とDDM(a)を取り囲むように骨組織(c)の形成が認められた。

以上のことより、DDMが骨再生の足場となり、早期より豊富な新生骨量を得ることができ、骨補填材としてきわめて有効である可能性が唆された。この結果は2012年度のJournal of Hard Tissue Biology誌に掲載された。

(2) 歯の実験的移動3日後、7日後ではOPG-/-マウス群とワイルドタイプマウス(WT)群では、第一大臼歯と第二大臼歯間距離に有意差は認められなかった。14日後ではWTマウスRMA-群と比較してOPG-/-マウス・RMA-群における移動距離が有意な差をもって増加している所見が認められた。また、歯の実験的移動7日後においてOPG-/-マウスとWTマウスのどちらの群においても、RMA投与群・非投与群の間に有意差は認められなかった。一方、実験的移動14日後において、OPG-/-マウス・RMA+群はOPG-/-マウス・RMA-群に比較し有意に移動距離が減少し、WTマウスRMA-群に近似した値を示した。また、WTマウスにおいては、RMA+群はRMA-群と比較し、有意な差は認められなかったが、移動距離が減少していた。(Fig. 9A, 9B)

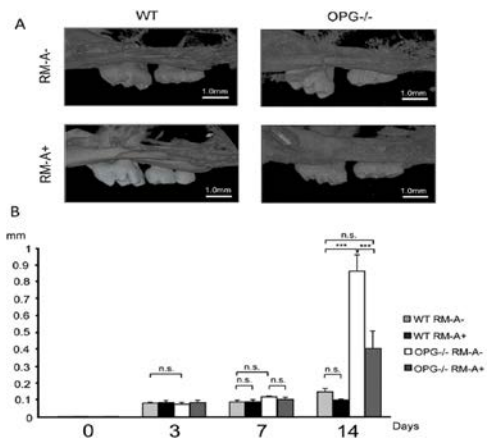


Fig. 9A 歯の実験的移動14日後におけるマイクロCT画像
Fig. 9B M1-M2間距離(mm)

WTマウスRMA-群はM1根間中隔とM1、M2間歯槽骨の骨梁減少は認められなかった。一方、OPG-/-マウスRMA-群はM1根分岐部および、遠心口蓋根歯槽骨の著しい吸収が認められ、M1、M2間歯槽骨にも著しい吸収が認められた。また、OPG-/-マウスRMA-群の骨吸収に比べ、OPG-/-マウスRMA+群のM1根分岐部、遠心口蓋根歯槽骨および、M1、M2間歯槽骨の骨吸収が抑制されていた(Fig. 10)。

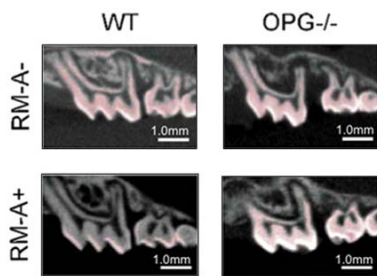


Fig. 10歯の実験的移動14日後における根間中隔歯槽骨の比較

組織学的には、WTマウスRMA-群の14日後において歯根膜腔の牽引側での拡大や、圧迫側での狭小が認められ、若干ではあるが歯槽骨吸収が認められたが、骨梁に大きな変化は認められなかった。OPG-/-マウスRMA-群では14日後においてWTマウスRMA-群と同様に歯根膜腔の牽引側での拡大や、圧迫側での狭小が認められ、unloaded側と比較し、著しい歯槽骨吸収が認められ骨梁は疎になっていた。一方、RMA投与が及ぼす効果として、OPG-/-マウスRMA-群で認められた根間中隔の骨吸収がOPG-/-マウスRMA+群では抑制され、根間中隔の骨梁の変化が抑えられ、歯槽骨の骨量が維持され、WTマウスRMA-群と有意な差は認められなかった(Fig. 11A, 11B)。

破骨細胞については、WTマウスRMA-群、OPG-/-マウスRMA-群ともに14日後に破骨細胞が多数認められたが、OPG-/-マウスRMA-群は

WTマウスRMA-群と比較し、有意な差をもって破骨細胞数が多かった。一方、OPG-/-マウスにおいて、著しく多い破骨細胞数を示していたRMA-群と比較し、RMA+群は有意な差をもって破骨細胞が減少しWTマウスRMA-群と近似した数まで抑えられていた(Fig. 11C, 11D)。

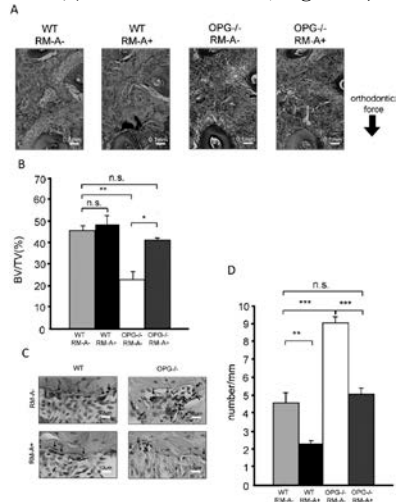


Fig. 11A 歯の実験的移動14日後における歯周組織のH.E.染色画像

Fig. 11B 骨梁(BV/TV)

Fig. 11C 歯の実験的移動14日後における歯周組織のTRAP染色組織所見

Fig. 11D 破骨細胞数

血中TRAP・血清ALPについては、OPG-/-マウスRMA-群は、WTマウスRMA-群に比較して亢進していた。一方、RMA投与によって、OPG-/-マウスRMA+群では、OPG-/-マウスRMA-群と比較して減少していた(Fig. 12)。

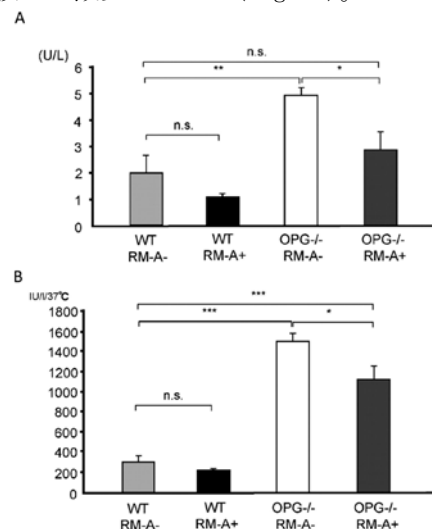


Fig. 12A TRAP値

Fig. 12B ALP値

以上のことより、RMA は OPG -/-マウスにおいて歯の移動の間、正常な骨代謝の状態を維持させ、歯槽骨の減少を防いでいることから、生体内吸収性メッシュ状インプラントの骨形成促進剤としてきわめて有効であることが示唆された。

この結果は、2012年度の Journal of Dental Research 誌に掲載された。

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 2 件)

- ① Togari K, Miyazawa K, Yagihashi K, Tabuchi M, Maeda H, Kawai T, Goto S: Bone Regeneration by De-mineralized Dentin Matrix in Skull Defect of Rats. J. Hard Tissue Biology, 査読有、21(1):25-34, 2012.
- ② Tanaka M, Miyazawa K, Tabuchi M, Yabumoto T, Kadota M, Yoshizako M, Yamane C, Kawatani M, Osada H, Maeda H, Goto S: Effect of Reveromycin A on Experimental Tooth Movement in OPG-/- Mice. Journal of Dental Research, 査読有、91(8): 771-776, 2012.

[学会発表] (計 3 件)

- ① Miyazawa K: Established of periodontitis mouse model inserted contact point by ligature wire. American Association of Orthodontists 10TH ANNUAL SESSION, 2012. 5. 5-7, (Hawaii) .
- ② Miyazawa K : Repair of osteochondral defects using DDM mixed with bisphosphonate. Japan-China Dental Conference 2012 2012. 4. 26-28. (Chengdu, China).
- ③ 宮澤健 : 固定源として矯正用インプラントアンカー(仮称)を応用した、過蓋咬合を伴う上顎前突症例の成人矯正治療 第70回日本矯正歯科学会大会 2011, 9/17-20 (名古屋)

6. 研究組織

(1)研究代表者

宮澤 健 (MIYAZAWA KEN)
愛知学院大学・歯学部・教授
研究者番号：60301636

(2)研究分担者

田淵 雅子 (TABUCHI MASAKO)
愛知学院大学・歯学部・講師
研究者番号：30418925

(3)連携研究者

後藤 滋巳 (GOTO SHIGEMI)
愛知学院大学・歯学部・教授
研究者番号：60142577