

## 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24年6月11日現在

機関番号：31602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791843

研究課題名（和文）発生学的知見を応用した新たな骨再生医療の開発

研究課題名（英文）Development of new bone regeneration treatment methods using developmental knowledge.

研究代表者

中 貴弘 (NAKA TAKAHIRO)

奥羽大学・歯学部・講師

研究者番号：70433539

研究成果の概要（和文）：我々は、この研究期間において発生学的知見を応用した新たな骨再生療法の確立を目指した結果、炭酸ガスレーザーを用いたインプラント治療の開発、低出力超音波パルスを用いたインプラント埋入後の治癒促進法の確立、ならびに骨細胞特異的因子であるSOSTが象牙芽細胞に発現することを発見し、論文の作成を行った。また、炭酸ガスレーザーに関する教育論文を世に送り出し、結果として4本の学術論文を作成することが出来た。

研究成果の概要（英文）：In this study period, we have investigated about the development of new bone healing methods using mechanical stimuli such as carbon dioxide laser, ultrasound, and ultrasonic wave. We have produced four papers including two new bone healing methodologies using carbon dioxide laser or ultrasound stimulation, immunohistochemical study about the relationship between odontoblasts and SOST/Sclerostin, the osteocyte specific factor, and educational study of carbon dioxide laser.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,500,000	450,000	1,950,000

研究分野：保存系歯学

科研費の分科・細目：歯内療法学

キーワード：骨・再生・発生生物学

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 歯槽骨は歯を支える組織として重要であり、歯周疾患などでの著しい骨量の減少は、歯の支持組織を減ずることになり歯の喪失を早める結果をもたらす。また、喪失後にインプラント治療や義歯による補綴処置を実施する場合、骨量の喪失は治療の難易度を上昇させる結果となる。したがって、このよう

な患者にインプラント埋入を行う際は、骨移植などの骨造成法・骨再生療法が行われる場合が多い。近年、様々な骨再生治療が実施され、特にその中でも自家骨移植や骨補填材を応用した治療が一般的であり、臨床的に良好な結果をおさめている。

(2) 骨再生領域の研究では、骨形成因子 (BMP) や線維芽細胞増殖因子 (FGF) などのシグナ

ル因子を用いた再生療法が最も注目を集めており、実現に最も近い手法であると考えられている。しかしながら、シグナル因子の応用は、予想し得ない副作用の危険性が伴うことも知られている。そのため、応用に際して危険性の少ない方法の開発が期待されるのは言うまでもない。

(3) 整形外科や理学療法の分野では、骨折治療などに早くから機械的刺激(以下メカニカルフォース)を導入することで、早期の治癒が期待できることが知られている。特に骨折治療の分野では、急性期や陳旧性の難治性骨折に対してメカニカルフォースとしての超音波療法を応用し、良好な治癒成績をもたらすことが報告されている。

(4) 近年の歯科医療では、レーザーを用いた診療が行われる機会が多くなってきた。レーザーも一つのメカニカルフォースとして捉えることが出来ると報告されており、レーザーを効果的に用いることにより、骨代謝に影響をもたらす可能性が考えられる。特に炭酸ガスレーザー(以下CO<sub>2</sub>レーザー)は非接触型のハードレーザーとして用途が広いため、歯科領域に新たな流れを導入する価値は大きい。

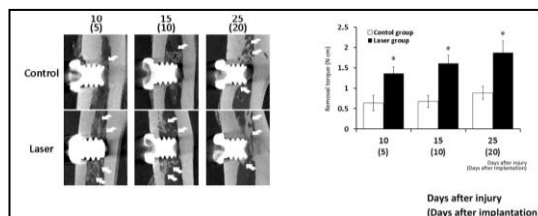
(5) 最近では、骨はメカニカルフォースに反応する組織であると報告されている。特に骨基質の中に埋入されている骨細胞は、メカニカルフォースに反応する特徴を有するとともに、骨代謝を調節する司令塔としての役割を果たしていることが報告されている。したがって、メカニカルフォースを効果的に骨細胞に作用させることにより、骨代謝に影響をもたらすことができ、歯槽骨に対する処置にも影響をもたらすことが出来ると考えられた。

(6) そこで今回、以上のような背景を踏まえ、機械的刺激(レーザーや超音波)を骨細胞に応用することにより、比較的低侵襲な治療法を開発し、歯科保存治療の中に新たな潮流を構築すべく、研究を計画した。

## 2. 研究の目的

歯槽骨再生は、歯科保存学において必要性の高い処置である。そのため、種々の方法で骨量増大・骨再生をもたらす手法の研究・開発が行われている。一方、近年は骨器質の中

に埋入されている骨細胞の働きに注目が集まり、それが機械的刺激の受容器であるのみならず、骨代謝に対して司令塔の役割を果たしている可能性が指摘されている。そこで、今回の研究計画では、機械的刺激(レーザーや超音波)を骨細胞に応用することにより、①どのような反応が生じるかを詳細に検討した上で、②より生体に対して低侵襲な条件で骨組織を再生させる治療体系の構築を目標とした研究を計画した。この研究成果により、歯科保存学分野の治療に新たな流れを構築することを目指すとともに、口腔インプラント治療や歯科補綴治療など、他領域の治療



にも影響をもたらすことが出来るような成果を得ることが目的である。

## 3. 研究の方法

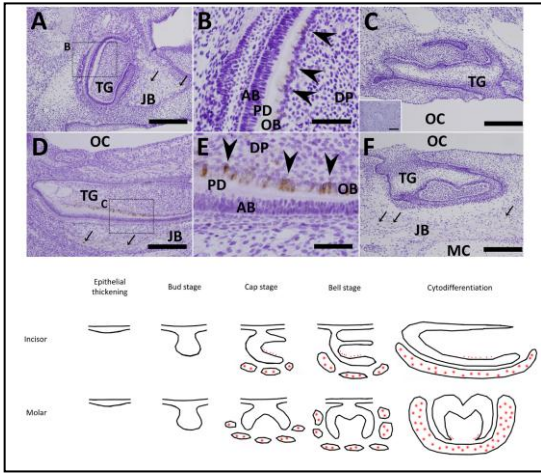
一般歯科臨床あるいは医科領域で応用されているメカニカルフォースの供給機器を使用し、骨に対して最も効果的にメカニカルフォースをもたらすことが出来る照射条件を確立する。続いて、実際の疾患モデル動物を作製し、確立した照射条件を応用しながら、臨床応用に向けた実験を行う。実験動物はラット脛骨を使用し、主として形態学および免疫組織化学的解析を実施する。また、免疫組織学的検索から得られる画像を利用し、統計学的解析も併せて実施する。

## 4. 研究成果

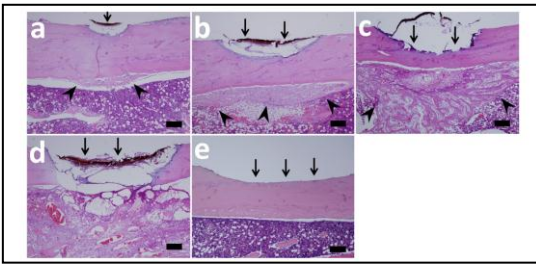
以下に、発表論文を中心とした研究成果をまとめる。

(1) 骨細胞に特異的に発現すると言われている SOST/Sclerostin が、齧歯類の歯胚発生にどのような関与を果たすかについて、免疫組織化学的検索を行った。

その結果、象牙芽細胞においても発現すること、そしてその発現が成長期の特定の時期に、特定の場所の象牙芽細胞にのみ発現することを発見し、世界に先駆けて発表した。



(2) これまでの研究成果として、レーザー照射が骨髄内での新生骨形成をもたらすことを、現象論としては確認していたもの、こ

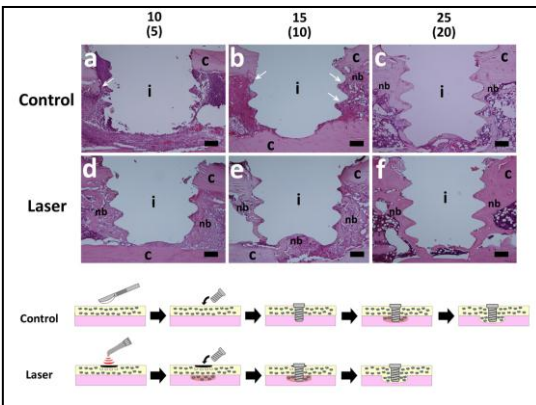


れを臨床現場で活用する方策を模索していた。

そして、この骨形成がインプラント埋入後の骨接合獲得期間短縮に有用なのではないかという点を思いついた。そこで、動物実験モデルを作成し、ラット脛骨に対してレーザー照射を実施した後に、インプラントを埋入し、一定期間経過後に機能的ならびに形態学的な解析を実施した。

その結果、インプラント埋入前にレーザー照射を実施することが、骨接合獲得期間短縮に有用であることを確認した。

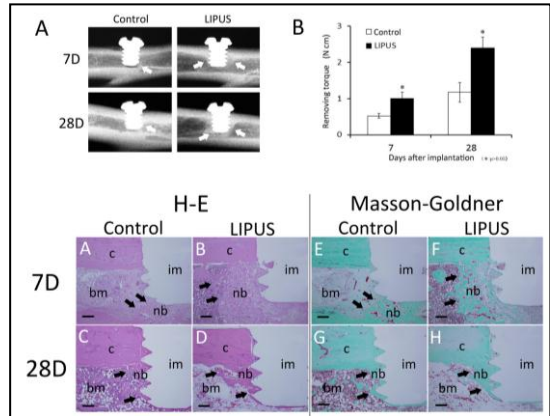
今後の検討課題として、動物実験と生体との間を埋めるべく、さらなる大型の動物モデルでの検討が必要であると思われる。



(3) 生体に対して機械的刺激を与える機材として、レーザーとともに認知されているのが超音波である。この研究では、超音波刺激をインプラント埋入後に付与することが、インプラントの骨接合獲得期間短縮に有効であるか否かを検討した。

その結果、機能的ならびに形態学的な解析において、超音波刺激を付与した群が、対照群と比べて早期に骨接合を獲得した。

また、免疫組織化学的解析を併せて実施し、破骨細胞の増加を伴った骨代謝の促進や、骨細胞成熟の促進、血管新生の促進が超音波照射群で確認され、超音波刺激がインプラントの骨接合獲得に有用である可能性が示された。



(4) 奥羽大学歯学部では、保存修復学基礎実習の一環として、レーザー照射による知覚過敏症の治療を学習させている。近年レーザーを応用した歯科診療が注目を集めているが、適切な教育がなされた上で、レーザーが使用されているとは言えないのが現状である。そのため、学部学生の早いうちから適切な使用法を学習させることは、医育機関として重要なことである。そのため、実習の学習効果について、特にレーザーの安全使用に関する教育効果を、実習前後で比較することにより検討した。

その結果、実習直後の時点においては、安全教育の成果が顕著に見られ、実習終了一年後も、高い知識の定着が確認された。したがって、4年生に対するレーザー実習を実施することの意義は大きいことが示唆された。

以上の研究成果に関して、論文発表するとともに、学会・学術大会において発表を行った。

## 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4件)

- ①歯学部4学年学生に対する炭酸ガスレーザー安全使用への教育効果について. 中貴弘ら. 日レ歯会誌 印刷中
- ②低出力超音波パルスがオッセオインテグレーションに及ぼす影響. 中貴弘, 横瀬敏志. 日口腔インプラント誌 印刷中
- ③ Application of Laser-Induced Bone Therapy by Carbon Dioxide Laser Irradiation in Implant Therapy. T.Naka and S Yokose. Int J Dent. 2012 in press. DOI:10.1155/2012/409496
- ④Spatiotemporal expression of sclerostin in odontoblasts during embryonic mouse tooth morphogenesis. T.Naka and S Yokose. J Endodont. 2011 37:340-345.

[学会発表] (計12件)

- ①レーザー照射後にみられるOsteocyteでの遺伝子発現. 横瀬敏志, 門倉弘志, 中貴弘. 第23回日本レーザー歯学会総会・学術大会, 2011年12月3~4日, 大阪.
- ②炭酸ガスレーザー照射は骨移植後の治癒を促進する. 中貴弘, 横瀬敏志. 第23回日本レーザー歯学会総会・学術大会, 2011年12月3~4日, 大阪.
- ③炭酸ガスレーザー照射は骨移植後の治癒を促進する. 中貴弘, 横瀬敏志. 平成23年度日本歯科保存学会秋季学術大会(第135回), 2011年10月20~21日, 大阪.
- ④表面性状の違いがオッセオインテグレーションに及ぼす影響. 横瀬敏志, 中貴弘. 第41回日本口腔インプラント学会, 2011年9月17日, 名古屋.
- ⑤低出力超音波パルスの応用がオッセオインテグレーションに及ぼす影響. 中貴弘, 横瀬敏志. 第41回日本口腔インプラント学会, 2011年9月17日, 名古屋.
- ⑥ラット脛骨における各レーザー(炭酸ガスレーザー、半導体レーザー、Er-YAGレーザー)骨形成能の比較. 和田康弘, 中貴弘, 横瀬敏志. 日本歯科保存学会春季学術大会(第134回), 2011年6月9~10日, 千葉.
- ⑦炭酸ガスレーザーがラット脛骨チタンインプラントのオッセオインテグレーションに及ぼす影響. 金子友紀, 中貴弘, 横瀬敏志. 第22回日本レーザー歯学会総会・学術大会, 2010年11月13~14日, 名古屋.
- ⑧炭酸ガスレーザー照射はラット脛骨での骨

形成を促進する. 中貴弘, 横瀬敏志. 2010年11月13~14日, 名古屋.

- ⑨マウス胎仔歯胚および顎骨における SOST の発現と局在. 中貴弘, 横瀬敏志. 第133回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2010年10月28~29日, 岐阜.
- ⑩炭酸ガスレーザーがラット脛骨チタンインプラントのオッセオインテグレーションに及ぼす影響. 金子友紀, 中貴弘, 横瀬敏志. 第40回日本口腔インプラント学会・学術大会, 2010年9月17日~19日, 札幌.
- ⑪インプラント治療におけるレーザー誘導骨形成法の確立にむけて. 中貴弘, 横瀬敏志. 第40回日本口腔インプラント学会・学術大会, 2010年9月17日~19日, 札幌.
- ⑫インプラント治療におけるレーザー誘導骨形成法の確立に向けて. 中貴弘, 金子友紀, 横瀬敏志. 第8回日本歯科骨粗鬆症研究会, 東京.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中 貴弘 (Takahiro NAKA)  
奥羽大学・歯学部・講師  
研究者番号：70433539

### (2) 研究分担者 なし

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者 なし

( )

研究者番号：