

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 20 日現在

機関番号：37114

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011 年度 ～ 2012 年度

課題番号：23792198

研究課題名（和文）

ラット頭蓋骨骨欠損部における生体活性ガラスとエムドゲインの効果の解明

研究課題名（英文）

The combined effect of emdogain®gel and bioactive glass in the healing of cranial bone defect in rats.

研究代表者

松本 典祥 (MATSUMOTO NORIYOSHI)

福岡歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：80597948

研究成果の概要（和文）：エムドゲイン（EMD）の破壊された根尖部歯周組織における影響について検証するため、ラット根尖病変モデルを用いて免疫組織化学的に解析を行った。その結果、術後 28 日目において EMD 群で顕著なセメント質の形成が認められ、EMD は破壊された根尖部において硬組織形成の誘導因子の一つとなる可能性が示唆された。また、ラット頭蓋骨骨欠損モデルを用いて、EMD と生体活性化ガラス（BAG）併用療法の硬組織形成能に及ぼす影響について評価した。その結果、EMD と BAG を併用することによって、術後 28 日目において顕著な新生骨の形成が認められたことより、骨再生に有用であ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 investigate the effects of Emdogain®gel (EMD) on the injured open-apex within the periapical lesions. The rats were sacrificed 28 days after treatment and prepared for immunohistochemical examination. At 28days after the treatment, the mean area of newly formed cementum in the EMD group was significantly larger than in the control group. These results suggest that, EMD may have the benefit efficacy to create a favorable environment promoting wound healing of destroyed periapical tissues.

In addition, the purpose of this study was to investigate the combination effects of EMD and bioactive glass(BAG) in the healing of cranial bone defect in rats. At 28 days after the treatment, the mean area of newly formed bone in the EMD+BAG group was significantly larger than that in the control group. These results suggest that a combination of EMD and BAG enhances the cranial bone healing process in rats, suggesting it could be useful for bone regeneration.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,696,843	570,000	2,266,843
2012年度	1,503,157	390,000	1,893,157
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

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：エムドゲイン、生体活性ガラス、硬組織再生

1. 研究開始当初の背景

(1) 根尖が破壊され、根尖周囲の骨破壊が著しく進展した症例では炎症のコントロールが難しく、一般的に良好な予後を得ることが困難であることが多い。そのため、進展した骨欠損を伴う根管治療難症例に対する新しい治療法の開発が望まれている。近年、再生医療の分野において様々な分化成長因子やサイトカインの応用が注目されている。歯周組織再生療法においては、エナメルマトリックスを含有する Emdogain (EMD) が頻用されており、骨吸収が根尖まで及ぶデヒセンスやクレーター型の骨欠損形態においても良好な結果が報告されている(末田 武ら、日歯周誌 46、2004) しかしながら、その硬組織再生に及ぼす科学的なメカニズムについては多くの不明な点が残されている。

(2) 生体活性化ガラス (BAG) は骨補填材(水沼一昭他、日口腔インプラント誌、1999) や人工歯根のコーティング材(山森徹雄他、補綴誌、1992) としての臨床応用がなされており、歯科領域においても実際にいくつかの製品が市場に出ている。このため、この BAG を骨組織が再生するための足場 (scaffold) として利用し、骨誘導因子である EMD との併用することで、より高い骨形成能が得られるものと推察される。

2. 研究の目的

(1) ラット根尖病変モデルを用いて、EMD の破壊された根尖部歯周組織に及ぼす影響について組織定量的に解析する。

(2) ラット頭蓋骨骨欠損部に BAG および EMD を適用し、その修復・治癒過程を組織定量的に解析する。

3. 研究の方法

実験 I

実験には 5 週齢で体重 150~180 g の Wistar 系雄性ラット 30 匹を用いた。下顎第一臼歯の髓腔を電気エンジンにて開拡し、遠心根管を #25K 型ファイルにて抜髄後、根尖部を穿通させ、開放することによって根尖病変の成立を図った。根尖部の症状の異なる時期における EMD の効果を検索するため、実験 1 では髓腔開放 1 週後に、実験 2 では髓腔開放 4 週後に、それぞれ根管内を生理食塩水にて洗浄した。その後、ラットを 2 群に分け、EMD あるいは EMD の溶解液である Propylene glycol alginate (PGA) を貼薬し、ガラスアイオノマーセメントにて仮封した。術後 4 週目の実験期間後にそれぞれ 5 匹ずつ標本を採

取した。

標本は 10%EDTA 液 (pH7.3) で 4°C にて 28~56 日間脱灰し、OCT compound にて包埋した。組織切片 (厚さ 5 μm) 作製後、Hematoxylin Eosin (HE) 染色を行い、破壊された根尖孔への新生セメント質形成量は根尖直下の歯根膜幅で表した。歯根膜幅は画像診断ソフト FlvFs (フローベル) を用いて測定した。また抗ラット ED1 抗体を一次抗体としてシンプルステイン MAX-PO(MULTI) キットを用いた酵素標識ポリマー法により免疫染色を行い鏡検した。

実験 II

実験には 5 週齢で体重 150~180 g Wistar 系雄性ラット 20 匹を用いた。ラット頭蓋骨中央部にトレパンバーにて直径 5mm、深さ 0.5mm の欠損部を形成した。その後、ラットを 4 群に分け、BAG を充填する群、EMD を充填する群、BAG と EMD を充填する群、無添加の群を作製し、それぞれ充填後、骨膜皮膚を縫合した。

新生骨形成量については、まず 0 日目にマイクロ CT にて骨欠損部位を撮影し、画像診断ソフトにて直径 5mm、深さ 0.5mm の骨欠損が形成されていることを確認した。その後、術後 4 週目にそれぞれ撮影を行い欠損部の深さを計測し、EMD 群、BAG 群、EMD+BAG 群、および何も貼薬していないコントロール群とを比較することで、組織定量的に評価した。

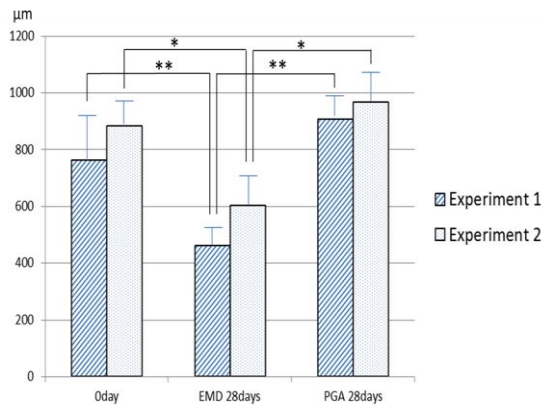
また、処置後 4 週後にそれぞれのラットを屠殺し、標本を採取した。標本は 10%EDTA 液 (pH7.3) で 4°C にて 28~56 日間脱灰し、OCT compound にて包埋した。組織切片 (厚さ 5 μm) 作製後、HE 染色およびトルイジンブルー染色および ALP 染色を用いて組織学的に観察した。

4. 研究成果

実験 I

組織定量的所見

実験 1 および実験 2 とともに、28 日例において PGA 群では 0 日例と比較して有意差は認められなかった。一方、EMD 群では 0 日例と比較して有意に低い値を示した。また、EMD 群は PGA 群と比較して有意に低い値を示した。



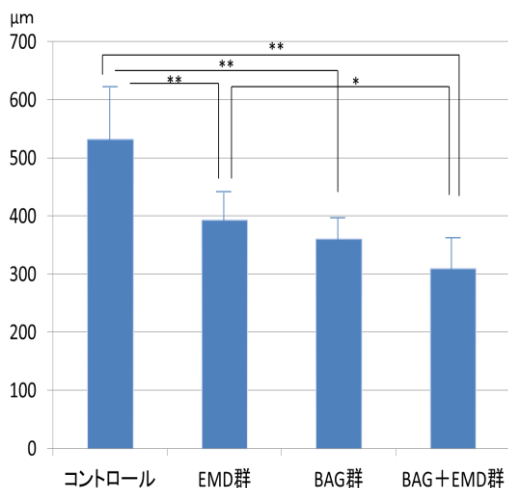
組織学的所見

実験1および実験2ともに、PGA群では根尖部は0日例と同様に破壊されており、膿瘍の形成が認められ、その周囲には多数の好中球およびマクロファージの浸潤が観察された。一方、EMD群では根尖部で厚いセメント質の添加が観察された。また、好中球の浸潤は著しく減少し、根尖付近に局限したマクロファージの浸潤像が観察された。

実験II

組織定量的所見

ラット頭蓋骨欠損部の深さは4週目において、コントロール群と比較して、EMD群、BAG群、EMD+BAG群ともに有意に低い値を示した。また、EMD群と比較してもEMD+BAG群は有意に低い値を示した。しかしながら、BAG群とEMD群、およびBAG群とEMD+BAG群との間に有意差は認められなかった。



組織学的所見

コントロール群では4週目においても新生骨の形成はほとんど認められなかった。一方、EMD群では欠損部周辺にALP陽性を示す骨芽細胞が多数観察され、わずかながら新生骨の形成が認められた。また、BAG群およびEMD+BAG群ではBAG粒子の周辺に、多孔性の幼

若な新生骨の形成が認められ、特にEMD+BAG群で顕著な新生骨の形成が認められた。

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 1件)

松本典祥、水上正彦、春名千英子、諸富孝彦、泉俊雄、阿南壽：破壊されたラット根尖孔でのセメント質形成に及ぼす Emdogain gel の効果の解明．日本歯内療法学会雑誌 34, 22-28, 2013. 査読有

[学会発表] (計 1件)

Noriyoshi Matsumoto, Masahiko Minakami, Toshio Izumi, Takahiko Morotomi, Chieko Haruna, Satoshi Ushio, Yasuko Fukuda, Keisuke Itaya, Hisashi Anan, Histologic evaluation of effects of Emdogain gel on injured rat root apex, 第9回世界歯内療法会議, 2013年05月26日, 東京国際フォーラム .

[図書] (計 0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 典祥 (MATSUMOTO NORIYOSHI)

福岡歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：80597948

(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：