

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 20 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592949

研究課題名(和文) ナノバブルを用いたIGF-I長期発現プラスミドによる新たな顎骨再生治療法の開発

研究課題名(英文) Development of alveolar bone regenerative therapy using nano/microbubbles with IGF-I plasmid gene.

研究代表者

飯久保 正弘 (Ikubo, Masahiro)

東北大学・歯学研究科(研究院)・講師

研究者番号：80302157

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、IGF-I投与が抜歯後の歯槽骨形態に与える影響について明らかとすることを目的に行った。ラット下顎右側第一臼歯の抜歯を行った。その後、IGF-I製剤を持続投与した。抜歯1週後、2週後、3週後、6週後にマイクロCTを撮影した。その結果、IGF-I投与群は対照群と比較して、有意に新生骨面積が大きく、頬側および舌側の歯槽骨頂の高さが高かった。以上の結果から、IGF-Iの全身投与は、抜歯窩の新生骨の形成促進のみならず、頬舌側歯槽骨の吸収を抑制する働きを有することが示された。よって、抜歯窩の歯槽骨形態の維持に対しては、IGF-I投与は有用と思われた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate the longitudinal morphological changes in extraction sockets following sustained IGF-I treatment. Fourteen rats were subjected to right mandibular first molar extraction. Experimental rats received a continuous subcutaneous infusion of IGF-I. Micro-computed tomography scanning was performed immediately after tooth extraction, and at 1, 2, 3 and 6 weeks after extraction. New bone formation was markedly higher in the IGF-I treated group as compared with the control group. The loss in alveolar ridge height in the IGF-I group was significantly lower than that in the control group at each time point after extraction on the buccal side, and at 2, 3 and 6 weeks on the lingual side. In conclusions, IGF-I treatment increases the volume of newly formed bone and reduces the loss in alveolar ridge height following tooth extraction.

研究分野：口腔診断学

キーワード：再生歯学 IGF-I

## 1. 研究開始当初の背景

補綴物を長期にわたって安定、維持、機能させるためには、歯槽骨の状態を良好に保つことが極めて重要である。口腔には顎骨の破壊や吸収を伴う疾患が多く存在し、自家骨や人工骨を用いた再建治療が行われているが、必ずしも満足な結果は得られていない。そこで我々は IGF-I を用いた新たな骨再生治療法の開発を目指すこととした。

## 2. 研究の目的

これまで我々は、IGF-I 投与は顎骨の骨密度の上昇および骨芽細胞の増殖を誘発することについて報告している。これらの結果から、IGF-I 投与は抜歯後の歯槽骨吸収を抑制し、良好な歯槽骨維持に役立つのではないかと考え、IGF-I 投与が抜歯後の歯槽骨形態に与える影響について明らかとすることを目的に本研究を行った。

## 3. 研究の方法

4 週齢雄ウィスター系ラット (83.7 ± 8.4 g) 38 匹に対し、イソフルラン吸入およびペントバルビタールナトリウム (4mg/100g) の背部皮下注射による全身麻酔下にて、ラット下顎右側第一臼歯の抜歯を行い、抜歯モデルを作製した。その後、浸透圧ミニポンプを用いて、ヒト IGF-I 製剤を背部皮下組織より 320 µg/day の割合で、3 週間持続投与した (IGF-I 投与群: n=19)。一方、対照群には、IGF-I 投与群と同様の方法、期間にて生理食塩水を持続投与した (対照群: n=19)。各群 7 匹ずつに対して、抜歯 3 週後の時点で、イソフルラン吸入およびペントバルビタールナトリウム (4mg/100g) の背部皮下注射による全身麻酔下にミニポンプを摘出し、その後さらに 3 週間飼育した。

抜歯 1 週後、2 週後、3 週後、6 週後にマイクロ CT を、咬合平面を床と平行にし、うつ伏せの状態で撮影した。撮影されたデ

ータに対して、画像構築ソフトを用いて、咬合平面および正中矢状面に垂直な MPR 画像を作製した。それらの画像を用いて、下顎右側第一臼歯遠心根相当部の下顎管より上方の新生骨の面積を計測した。また、頬側および舌側歯槽骨の高さの変化を調べるための基準として、下顎右側第一臼歯遠心根相当部の両側下顎管を結んだ線を引き、頬側および舌側の歯槽骨頂からの垂線の長さを測定した。

また、ペントバルビタールナトリウム (4mg/100g) の背部皮下注射による全身麻酔下にて、抜歯 1 週後 (各群 6 匹) および 3 週後 (各群 6 匹) に摘出した下顎骨に対し下顎右側第一臼歯遠心根相当部の 5 µm 冠状切断連続組織切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施した。

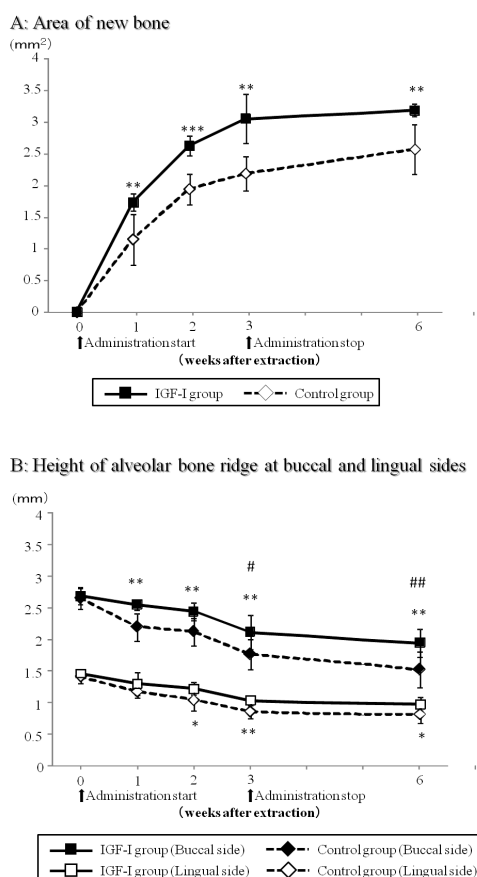
## 4. 研究成果

- (1) IGF-I 投与群および対照群ともに抜歯 3 週後までは有意な新生骨面積の増加がみられた。その後、抜歯 3 週後から 6 週後にかけては両群ともに増加量は少なくなり、抜歯 3 週後と 6 週後の間には有意差はみられなかった (図 1A)。
- (2) IGF-I 投与群は対照群と比較して、抜歯 1 週後以降は、有意に新生骨面積は大きく、その有意差は投与中止後も引き続いて認められた (図 1A)。
- (3) 頬側および舌側歯槽骨頂の高さは両群ともに有意な減少がみられ、その減少量は両群ともに抜歯 2 週後から 3 週後までが大きく、抜歯 3 週後から 6 週後にかけては両群ともに減少量は少なくなり、抜歯 3 週目と 6 週目の間には有意差はみられなかった (図 1B)。
- (4) IGF-I 投与群は対照群と比較して、頬側歯槽骨頂の高さは抜歯 1 週後より有意に高かった。一方、舌側歯槽骨頂の高さは、抜歯 1 週後では、IGF-I 投与群と対照群の間に有意差はみられなかったが、抜歯 2 週後以

降では IGF-I 投与群の方が有意に高かった (図 1B)

(5)組織学的変化については、抜歯 1 週後の海面骨部骨基質は、IGF-I 投与群が対照群に比較して密に形成されていた。抜歯 3 週間後では、IGF-I 投与群、対照群ともに抜歯 1 週後に比較して骨基質が密となり、両群の骨基質に明らかな違いはみられなかった。

図 1



以上の結果から、IGF-I の全身投与は、抜歯窩の新生骨の形成促進のみならず、頬舌側歯槽骨の吸収を抑制する働きを有することが示された。よって、抜歯窩の歯槽骨形態の維持に対しては、IGF-I 投与は有用と思われる。

#### 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 3 件)

Insulin-like growth factor I inhibits alveolar bone loss following tooth extraction in rats. Kumasaka A, Iikubo M, Nishioka T, Kojima J, Shoji N, Sakamoto M, Sasano T. Clin Implant Dent Relat Res. 査読有 (in press) doi: 10.1111/cid.12227.

Delivery of Molecules to the Lymph Node via Lymphatic Vessels Using Ultrasound and Nano/Microbubbles. Kato S, Shirai Y, Kanzaki H, Sakamoto M, Mori S, Kodama T. Ultrasound Med Biol 41. 査読有 1411 - 21, 2015.

doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2014.12.014.

Photothermal therapy of tumors in lymph nodes using gold nanorods and near-infrared laser light. Okuno T, Kato S, Hatakeyama Y, Okajima J, Maruyama S, Sakamoto M, Mori S, Kodama T. J Control Release 172. 査読有 879-884, 2013.

doi: 10.1016/j.jconrel.2013.10.014.

[学会発表](計 17 件)

金ナノロッドと近赤外レーザー光を用いたリンパ節転移治療法の開発. 松木大輔, 大内友貴, 阪本真弥, 森士朗, 小玉哲也. 日本機械学会第 27 回バイオエンジニアリング講演会, (2015 年 1 月 9 ~ 10 日新潟)

リンパ節切除にともなう肺転移を阻害する薬剤送達法の開発. 大内友貴, 邵楽南, 松木大輔, 阪本真弥, 森士朗, 小玉哲也. 日本機械学会第 27 回バイオエンジニアリング講演会 (2015 年 1 月 9 ~ 10 日新潟)

マイクロ CT を用いた転移リンパ節内の血管構造解析. 八巻哲平, 柳沢ゆかり, 阪本真弥, 森士朗, 小玉哲也. 日本機械学会

第 27 回バイオエンジニアリング講演会,  
(2015 年 1 月 9 ~ 10 日新潟)

筋機能MRIおよび  $^{31}\text{P}$  - MRSを用いた咀嚼筋疲労の分子イメージング. 北原亨, 飯久保正弘, 湯浅賢治, 高橋一郎. 第 73 回日本矯正歯科学会大会 (2014 年 10 月 20 ~ 22 日千葉)

リンパ節転移治療におけるドキソルビシン封入温度感受性リポソームと光熱療法の併用. 松木大輔, 大内友貴, 阪本真弥, 森士朗, 小玉哲也. 第 73 回日本癌学会学術総会 (2014 年 9 月 25 ~ 27 日横浜)

マイクロ CT を用いた転移リンパ節内血管構造解析に関する研究. 柳沢ゆかり, 八巻哲平, 志賀清人, 阪本真弥, 森士朗, 小玉哲也. 第 73 回日本癌学会学術総会 (2014 年 9 月 25 ~ 27 日横浜)

転移リンパ節に対する超音波と微小気泡を利用したリンパ行性薬剤送達法の開発. 白井優子, 佐藤琢磨, 阪本真弥, 森士朗, 小玉哲也. 第 73 回日本癌学会学術総会 (2014 年 9 月 25 ~ 27 日横浜)

センチネルリンパ節切除後の二次リンパ節転移を予防する薬剤送達法の開発. 大内友貴, 松木大輔, 阪本真弥, 森士朗, 小玉哲也. 第 73 回日本癌学会学術総会 (2014 年 9 月 25 ~ 27 日横浜)

IGF-I は抜歯後の歯槽骨吸収を抑制する. 熊坂晃, 飯久保正弘, 小嶋郁穂, 庄司憲明, 阪本真弥, 笹野高嗣. 第 27 回日本口腔診断学会 (2014 年 9 月 19 ~ 20 日福岡)

リンパ節郭清後の二次リンパ節転移への薬剤送達法の開発. 大内友貴, 邵楽南,

加藤茂樹, 白井優子, 佐藤琢磨, 阪本真弥, 森川秀広, 森士朗, 小玉哲也. 第 26 回日本機械学会バイオエンジニアリング講演会 (2014 年 1 月 11 ~ 12 日 仙台)

リンパ節癌細胞移植マウスに対する超音波およびナノマイクロバブルをもちいたドラッグデリバリーに関する研究. 佐藤琢磨, 阪本真弥, 森士朗, 荒井陽一, 小玉哲也. 第 72 回日本癌学会学術総会 (2013 年 10 月 3 ~ 5 日横浜)

リンパ行性薬剤送達法におけるリンパ管内の薬剤動態の観察. 畠山友梨子, 加藤茂樹, 阪本真弥, 森士朗, 小玉哲也. 日本機械学会 2013 年度年次大会 (2013 年 9 月 9 ~ 11 日岡山)

咬筋における筋疲労と浮腫性変化の関連に関する研究. 佐々城真, 飯久保正弘, 下里舞, 笹野高嗣. 第 23 回日本口腔内科学会・第 26 回日本口腔診断学会 合同学術大会 (2013 年 9 月 13 ~ 14 日東京)

ERP 効果による近赤外線蛍光粒子封入リポソームの腫瘍集積性に関する研究. 三ヶ田護, Nicolas S, 阪本真弥, 森士朗. 第 29 回日本 DDS 学会 (2013 年 7 月 4 ~ 5 日京都)

ラット抜歯窩治癒に及ぼす IGF-I 投与の効果に関する研究. 熊坂 晃, 飯久保正弘, 小嶋郁穂, 庄司憲明, 阪本真弥, 笹野高嗣. 第 54 回日本歯科放射線学会 (2013 年 6 月 1 ~ 2 日福岡)

咬筋における筋疲労と浮腫性変化の関連に関する研究. 佐々城真, 飯久保正弘, 下里 舞, 笹野高嗣. 第 54 回日本歯科放射線学会 (2013 年 6 月 1 ~ 2 日福岡)

リンパ行性薬剤送達システムの開発. 畠山  
友梨子, 李麗, サックスニコラ, 奥野竜希,  
加藤茂樹, 阪本真弥, 森士朗, 小玉哲也.  
日本機械学会 2012 年度年次大会 (2012  
年 9 月 10 ~ 12 日金沢)

〔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 :  
出願年月日 :  
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

飯久保正弘 ( I I K U B O Masahiro )  
東北大学・歯学研究科 ( 大学院 ) ・講師  
研究者番号 : 80302157

### (2)研究分担者

笹野高嗣 ( SASANO Takashi )  
東北大学・歯学研究科 ( 大学院 ) ・教授  
研究者番号 : 10125560

小嶋郁穂 ( KOJIMA Ikuho )  
東北大学・歯学研究科 ( 大学院 ) ・助教  
研究者番号 : 80447169

阪本真弥 ( SAKAMOTO Maya )  
東北大学・大学病院・講師  
研究者番号 : 90157686

### (3)連携研究者

小玉哲也 ( KODAMA Tetsuya )

東北大学・医工学研究科・教授  
研究者番号 : 40271986

森 士朗 ( MORI Shiro )  
東北大学・大学病院・講師  
研究者番号 : 80230069