

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 8 月 24 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24063

研究課題名(和文) FGF-2を用いたインプラント周囲炎に対する新規治療法の基盤構築

研究課題名(英文) Effects of novel regenerative treatment for ligature-induced Periimplantitis with fibroblast growth factor-2.

研究代表者

福場 駿介 (Fukuba, Shunsuke)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：50845625

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：まずはインプラント周囲側裂開モデルを作製し、既存の治療法であるEMDと異種骨を用いてインプラント周囲への骨形成の検証し、その有効性を報告した。またEMDとFGF-2を比較するため、側裂開モデルを作製し、 $\beta$ -TCPと併用して際の骨形成能の有効性を評価し、その有効性を報告した。既存の人工骨の機能向上を目的として、 $\beta$ -TCPに分極化処理を行った場合に有意に骨形成が促進することを報告した。また最適な人工骨を探索するために入手可能な人工骨に関して網羅的な解析を行った。緊急事態宣言による実験期間の制限のため、FGF-2を用いたインプラント周囲炎に対する治療効果の検証に関しては現状として不可能であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、歯科インプラントが広く用いられるようになったのに伴い、インプラント周囲炎の報告が増えている。インプラント周囲炎は歯周炎と類似した臨床症状を呈するにも関わらず、歯周炎で有効な効果が得られた治療を行っても、必ずしも良好な結果が得られておらず、新規治療法の開発が喫緊の課題である。本研究では、インプラント周囲へのエナメルマトリックスタンパクと異種骨の併用の有効性や、新しい材料として荷電したバイオセラミックスの有効性、市場で入手可能な人工骨の網羅的な解析を通じて、今後のインプラント周囲炎治療に対するアプローチに関する研究において一助となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：A buccal dehiscence model around the implant in dogs was surgically created to evaluate the bone formation potential as the conventional treatment using Enamel matrix derivative (EMD) with xenograft, and its efficacy was reported. In order to compare EMD and Fibroblast growth factor-2(FGF-2), a buccal dehiscence model in dogs was surgically created to evaluate the bone formation potential of concomitant use of FGF-2 and  $\beta$ -TCP was evaluated, and its efficacy was reported. As for improving the potential of available alloplastic bone graft materials;  $\beta$ -TCP, it was reported that polarization of  $\beta$ -TCP promoted the bone formation. A comprehensive analysis was performed to search for the optimal alloplastic bone products for the peri-implantitis treatment. Unfortunately, it has not been possible to verify the efficacy of FGF-2 on peri-implantitis.

研究分野：歯周病学

キーワード：インプラント周囲炎 FGF-2 歯周治療学 顎堤保存術 分極化 骨補填材 人工骨

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

近年、歯科インプラントが広く用いられるようになったのに伴い、インプラント周囲炎の報告が増えている。インプラント周囲炎は歯周炎と類似した臨床症状を呈するにも関わらず、歯周炎で有効な効果が得られた治療を行っても、必ずしも良好な結果が得られておらず、新規治療法の開発が喫緊の課題である。塩基性線維芽細胞増殖因子(FGF-2)は強力な血管新生作用を有し、組織の修復と再生に重要な役割を果たすことが広く知られ、骨形成作用を有する。そこで本研究計画では、このFGF-2の骨形成作用に注目し、効果的なインプラント周囲炎治療の探索を検討することとした。

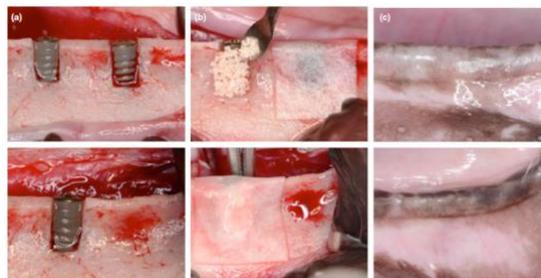
### 2. 研究の目的

大型動物を用いてインプラント周囲炎モデルを作成し、既存のエナメルマトリックスタンパク(EMD)を用いた治療法と比較する形で、FGF-2や様々な骨補填材を応用した場合の治療効果を形態学的、組織学的に評価することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) EMD liquid を用いたインプラント周囲への骨形成能の組織学的評価

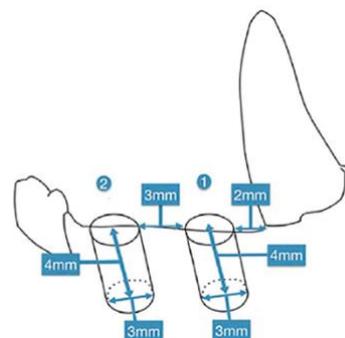
歯周組織再生療法でその有効性が示されている EMD について、骨形成能に特化した液状の EMD liquid が知られている。インプラント周囲炎の治療に用いる生物製剤や骨補填材の検討として、大型動物を用いて液状の EMD liquid と異種骨（無機ウシ骨基質）を併用した場合のインプラント周囲のオッセオインテグレーションへの有効性に関する分析を行った。ビーグル犬を使用し、下顎両側欠損部顎堤に、近遠心幅 3.0mm、深さ 5.0mm の頬側裂開欠損を作成し、直径 3.3mm φ 8.0mm のボーンレバルインプラントを埋入した。頬側裂開部インプラント体表面に①異種骨と吸収性コラーゲン膜、②異種骨と EMD liquid、吸収性コラーゲン膜、③吸収性コラーゲン膜の 3 群を無作為に分けて補填した。術後 12 週後に安楽殺、標本ブロックの採取を行なった。非脱灰研磨切片を作成し、組織学的評価を行なった。



#### (2) 分極化 β-TCP 骨補填材の作成と骨形成能の組織学的評価

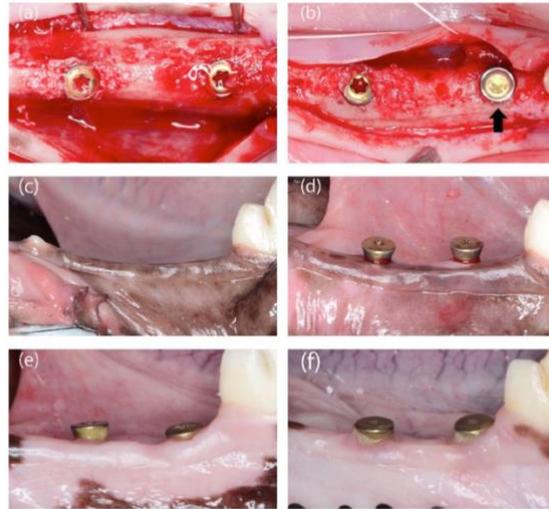
ハイドロキシアパタイトなどのバイオセラミックスでは分極化させ荷電させることで、骨形成能が向上することが知られている。既存の人工骨(β-TCP)の高機能化として、分極化したβ-TCPを歯槽骨内に填入した際の骨形成能の評価を行なった。分極化β-TCPを作成するため、顆粒状のβ-TCPをシリンダーに填入し、両端より電圧をかけることで荷電させた。荷電状態の確認を行なったのち、新規骨補填材の骨形成能を評価することを目的として、ビーグル犬を使用し、上顎犬歯近心欠損部顎堤に直径 3mm 深さ 4mm の円柱状顎骨欠損モデルを作成し、①分極化β-TCP、②荷電されていない既存のβ-TCPを填入した。術後 4 週および 8 週に安楽殺、標本ブロックの採取を行なった。

microCT 撮影にて形態学的評価を行なったのち、組織切片を作成し組織学的評価を行なった。



(3) 実験的インプラント周囲炎に対する各種骨補填材の炎症抵抗性の評価

インプラント埋入前に骨補填材などを用いて骨造成を行うことが一般的である。しかしながら、その後、インプラント周囲に炎症が生じた場合、使用した骨補填材によってその信仰に違いがあるか分かっていない。ビーグル犬を使用し、下顎両側欠損部顎堤に直径 3.3mm φ 8.0mm のボーンレベルインプラントを埋入し、その近遠心幅 3.0mm、頬舌幅 2.0mm、深さ 3.0mm の骨欠損を作成した。作成した骨欠損部に①自家骨②異種骨③骨欠損なしの 3 群を無作為に補填した。術後 12 週後からヒーリングアバットメントを装着し、その 4 週間後から 4 週間 3-0 絹糸結紮による実験的インプラント周囲炎を惹起させた。その後、安楽殺、標本ブロックの採取を行なった。非脱灰研磨切片を作成し、組織学的評価を行なった。



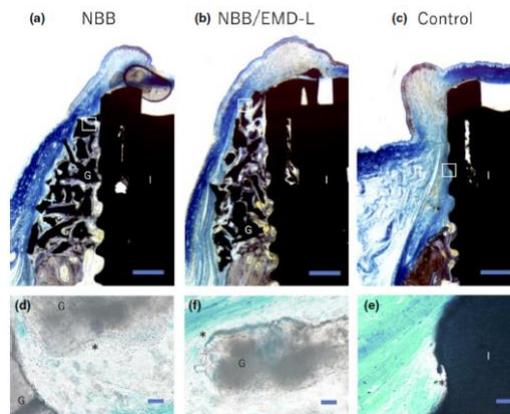
4. 研究成果

(1) EMD liquid を用いたインプラント周囲への骨形成能の組織学的評価

ウシ脱灰骨基質と歯周組織再生治療に使用されるエナメルマトリックスタンパクを液状にした成長因子を併用することで、組織学的にインプラント周囲の骨再生、特にインプラントと骨結合に有効であること、一方で新生骨形成は単独使用の群と統計学的な有意な差を認めないことが分かった。

本研究結果では、EMD liquid と Natural bovine bone を併用した場合、インプラント周囲の骨造成と骨結合が促進されることが示された。

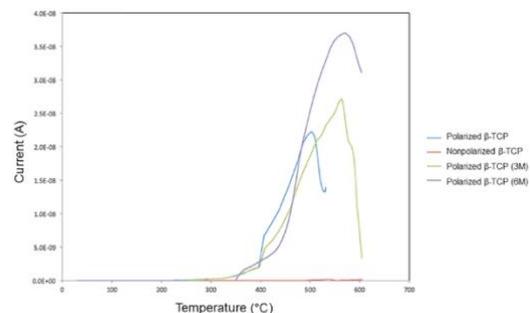
	NBB	NBB/EMD-L	Control
Augmented area (mm <sup>2</sup> )	6.9 ± 2.3*	8.0 ± 1.5*	2.6 ± 1.4
Mineralized tissue (%)	32.8 ± 15.6	25.3 ± 14.0	26.5 ± 20.1
Fibrovascular connective tissue (%)	36.2 ± 8.9	34.4 ± 9.3	73.4 ± 20.1**
Residual bone graft (%)	29.9 ± 16.3	35.3 ± 13.9	
BIC (%)	52.8 ± 11.7*	57.4 ± 7.1*	20.5 ± 5.6
fBIC (mm)	1.2 ± 0.2	0.4 ± 0.1****	2.0 ± 0.1***



(2) 分極化 β-TCP 骨補填材の作成と骨形成能の組織学的評価

分極化した β-TCP は 6 ヶ月後においても荷電を帯びていることが分かった。

本研究結果から分極化 β-TCP は、より早期に新生骨へ置換することが示された。



• microCT での骨欠損内の新生骨の割合

% Area	P.O. 4w (%)	p value	P.O. 8w (%)	p value
Nonpolarized group	41.2 ± 9.0*	.028	58.1 ± 8.0	.463
Polarized group	54.5 ± 10.5*		60.8 ± 6.0	

Note: Average ± SD. \*p<0.05.

• microCT での骨欠損内の残留 β-TCP の割合

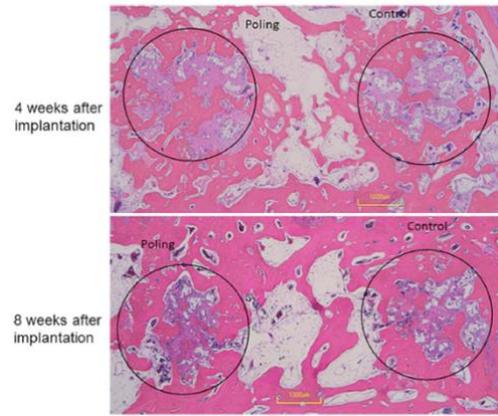
% Area	P.O. 4w (%)	p value	P.O. 8w (%)	p value
Nonpolarized group	19.5 ± 8.6	.116	9.9 ± 8.5	.600
Polarized group	15.4 ± 8.4		11.2 ± 3.1	

Note: Average ± SD.

• 組織切片での骨欠損内の新生骨の割合

% Area	P.O. 4w (%)	p value	P.O. 8w (%)	p value
Nonpolarized group	41.5 ± 8.4*	.028	54.2 ± 12.7*	.028
Polarized group	54.9 ± 13.0*		61.4 ± 13.1*	

Note: Average ± SD. \*p<0.05.

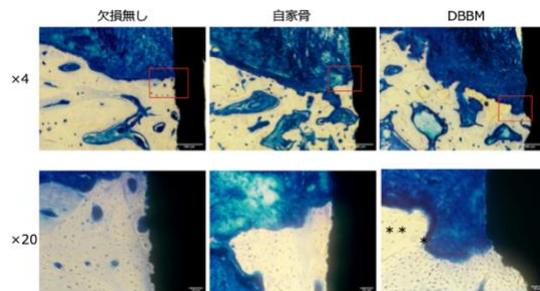


(3) 実験的インプラント周囲炎に対する各種骨補填材の炎症抵抗性の評価

全ての群において、インプラントショルダーより根尖側に及ぶ骨吸収を認めた。

3 群間で各パラメータでの有意差を認めなかった。今回の観察期間では、自家骨と異種骨でのインプラント周囲組織の炎症抵抗性はほぼ同等であると考えられる。

	欠損無し	自家骨	DBBM
BIC(%)	60.1±1.92	61.2±3.41	55.6±4.51
fBIC(mm)	1.19±0.07	1.16±0.10	1.33±0.16
新生骨面積(ml)	6.21±0.42	5.79±0.31	5.14±0.21
骨欠損面積(ml)	2.80±0.43	3.21±0.31	3.52±0.21



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ikawa Takahiro, Akizuki Tatsuya, Shujaa Addin Ammar, Fukuba Shunsuke, Stavropoulos Andreas, Izumi Yuichi	4. 巻 30
2. 論文標題 Enamel matrix derivative in liquid form as adjunct to natural bovine bone grafting at buccal bone dehiscence defects at implant sites: An experimental study in beagle dogs	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Oral Implants Research	6. 最初と最後の頁 989 ~ 996
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/clr.13512	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Nohara Kohei, Itoh Soichiro, Akizuki Tatsuya, Nakamura Miho, Fukuba Shunsuke, Matsuura Takanori, Okada Munehiro, Izumi Yuichi, Iwata Takanori, Yamashita Kimihiro	4. 巻 108
2. 論文標題 Enhanced new bone formation in canine maxilla by a graft of electrically polarized tricalcium phosphate	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials	6. 最初と最後の頁 2820 ~ 2826
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.b.34612	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Fukuba Shunsuke, Akizuki Tatsuya, Matsuura Takanori, Okada Munehiro, Nohara Kohei, Hoshi Shu, Shujaa Addin Ammar, Iwata Takanori, Izumi Yuichi	4. 巻 56
2. 論文標題 Effects of combined use of recombinant human fibroblast growth factor 2 and tricalcium phosphate on ridge preservation in dehiscence bone defects after tooth extraction: A split mouth study in dogs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Periodontal Research	6. 最初と最後の頁 298 ~ 305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jre.12818	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fukuba Shunsuke, Okada Munehiro, Nohara Kohei, Iwata Takanori	4. 巻 14
2. 論文標題 Alloplastic Bone Substitutes for Periodontal and Bone Regeneration in Dentistry: Current Status and Prospects	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 1096 ~ 1096
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ma14051096	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 野原 康平, 秋月 達也, 松浦 孝典, 福場 駿介, 岡田 宗大, 和泉 雄一, 岩田 隆紀, 山下 仁大
2. 発表標題 分極化した $\beta$ -リン酸三カルシムを用いたイヌ上顎顎堤欠損モデルにおける骨形成の評価.
3. 学会等名 第63回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2020年 ~ 2021年

1. 発表者名 佐藤諒、松浦孝典、秋月達也、福場駿介、岡田宗大、野原康平、竹内俊介、星嵩、小野彌、丸山起一、和泉雄一、岩田隆紀
2. 発表標題 異なる骨補填材を用いてGBRを行なったインプラント周囲組織に対する炎症の影響 イヌ実験的インプラント周囲炎モデル.
3. 学会等名 第64回春季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2020年 ~ 2021年

1. 発表者名 野原康平, 松浦孝典, 秋月達也, 星 嵩, アマル・シュジャ・アディン, 福場駿介, 岡田宗大, 森祥太郎, 佐藤 諒, 竹内 俊介, 和泉雄一, 岩田隆紀
2. 発表標題 骨移植後の再生組織に対する細菌感染の影響
3. 学会等名 第62回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	岡田 宗大  (okada munehiro)		

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	野原 康平  (nohara kohei)		
研究協力者	佐藤 諒  (sato ryo)		
研究協力者	竹内 俊介  (takeuchi shunsuke)		
研究協力者	秋月 達也  (akizuki tatsuya)		
研究協力者	松浦 孝典  (matsuura takanori)		
研究協力者	星 嵩  (hoshi shu)		
研究協力者	井川 隆博  (ikawa takahiro)		
研究協力者	岩田 隆紀  (iwata takanori)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------