

機関番号：13501

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21791983

研究課題名（和文） BMP-2 遺伝子を用いた骨膜伸展骨形成法

研究課題名（英文） Bone augmentation by extention of the periosteum with BMP-2 gene

研究代表者

小田 充匡（ODA MITSUMASA）

山梨大学・医学部附属病院 ・ 医員

研究者番号：90516915

研究成果の概要（和文）：

H21 年度はウサギを用いて、実験手法の確立と、実験にもちいる器材の選定を行った。その結果を用いて、H22 年度より、BMP-2 遺伝子とアテロコラーゲンを用い、ウサギにて骨膜伸展の実験を行った。しかしながら、予想していたような骨形成を認めることができなかつたため、BMP-2 の蛋白とアテロコラーゲンを含有することにより、骨膜伸展を行うこととした。その結果、ある程度の実験結果を得ることができた。

研究成果の概要（英文）：

At heisei 21, we build a experiment methods and selected materials for experiments. Then at heisei 22, we started rabbit bone augmentation by extention of the periosteum with mixed BMP-2 gene and atero-collagen. But we can not get expected bone augmentation. We changed BMP-2 gene to BMP-2 protein, then we can get bone augmentation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,700,000	510,000	2,210,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：口腔外科学一般

1. 研究開始当初の背景

骨延長法は、顎顔面領域における骨の変形の修正や骨欠損部の再建、デンタルインプ

ラント埋入のための前処置に対する新しい治療法として注目を浴びてきているが、母床骨を骨切りするという外科的侵襲をどう

しても加えることになる。また母床骨の量が乏しく、トランスポートセグメントが確保できないと、延長を行っても十分な骨形成が得られない場合もある。骨切りを要さず、骨延長と同様に骨膜下スペースを徐々に拡張してそのスペースに骨を形成させる骨膜進展骨形成法の手法が近年考案され、実験結果が報告されている。最近では骨膜進展骨形成法と β -TCPなどの生体材料との併用による骨膜下骨形成の実験結果等が報告されているが、 β -TCPなどの生体材料自体には骨形成活性が無いため必ずしも臨床的に満足のいく結果は得られていない。骨形成因子などの **growth factor** を応用した移植実験、及び、骨髄幹細胞を *in vitro* で生体材料に播種・細胞移入した後に移植に供する実験などが報告されているが、これらを骨膜進展骨形成に応用した報告はいまだに発表されていない。そこで私が以前いた研究室では **BMP-2** 遺伝子を用いた骨再生・骨形成の研究を以前に行っており、**BMP-2** 遺伝子を含んだ生体材料により骨形成が促進されるという成果を報告するに至った。このことより、**BMP-2** 遺伝子を含んだ生体材料を用いた骨膜進展骨形成法の開発を着想するに至った。本方法は近未来的に人体応用が可能な顎骨再建および歯槽骨増生法になり得ると同時に、本手法が確立すれば、従来骨再建・骨増生が不可能あるいはリスクが高いとされてきた顎骨や歯槽骨形態を有する患者に対しても顎骨再建やデンタルインプラントの植立が可能になるため、患者に対する利益・貢献度は絶大と考える。

2. 研究の目的

本研究ではウサギを用いて、まず単純な骨膜伸展骨形成法によって実際にどの程度の骨形成が期待できるかを検証する。その上で骨形成誘導因子である **BMP-2** 遺伝子が組み込まれたプラスミドベクターを骨膜伸展骨形成法によって得られたスペースに導入する方法での骨形成を評価する。その間、**BMP-2** 遺伝子の導入方法について、最も旺盛かつ早期に骨形成が得られる条件・方法を解明する。また形成された骨に関しては、恒常性があるのか否か、さらには形成された骨を機能させた場合に、その骨の恒常性に変化が生じるか否かについても検討する。

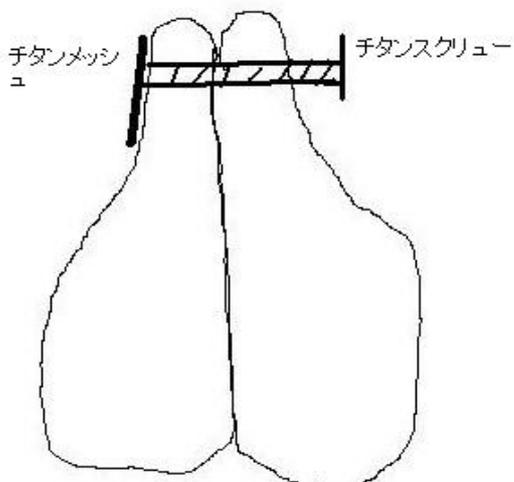
3. 研究の方法

ウサギの下顎骨の頬側にメッシュを挿入し、もう一方の頬側よりチタンスクリューを貫通するように挿入し、このスクリューを回転することによって頬側のチタンメッシュを外側へ移動させる。このチタンメッシュの移動に伴い、骨膜下スペースが頬側へ徐々に拡大することによって、同部の骨新生を期待する。標本は経時的に軟 X 線写真撮影、および CT 撮影し、骨膜伸展によって形成された新生骨の骨質・骨量を評価する。また、同時に組織切片を作製して、組織学的観察を行う。得られた結果を参考に、各種条件（治癒期間や伸展ペース、伸展後固定期間など）を変えて同様に実験を行い、ウサギの単純骨膜伸展骨形成法における骨形成の至適条件を決定する。至適条件が決まったら、実験時に形成される骨膜下スペースに **BMP-2** の遺伝子が組み込まれたプラスミドベクターをアテロコラーゲンゲルに混入の上、導入する。**BMP-2** の遺伝子は単体だと遺伝子導入の効率が悪いので、従

来より使われている遺伝導入法のリン酸カルシウム法を用いて遺伝子導入を行う。また、BMP-2 遺伝子の濃度を変えることにより、最適な濃度を決定する。標本を経時的に軟 X 線写真撮影、および CT 撮影し、BMP-2 の遺伝子の有無による相違を比較検討する。また、同時に組織切片を作製し、組織学的にも比較検討を行う。BMP-2 遺伝子の最適な濃度が決まったら、骨膜伸展に使用する材料をチタンメッシュから多孔質のハイドロキシアパタイトや α -TCP また β -TCP のブロックなどの生体材料に変えて同様の実験を行う。

4. 研究成果

H21 年度は実験の初段階だったため、実験器具をそろえることから始め、ウサギの骨膜伸展法の実験を行うまでにそれなりの時間がかかることとなった。またウサギの骨膜伸展の実験モデルがないため、まずウサギの下顎骨でチタンスクリューとチタンメッシュを用いて骨膜進展を行える部位を見つけ、また骨膜進展法を確立するまでも時間を必要とした。結果的には下図のような方法で実験を行うこととなった。



H21 年度でウサギの下顎骨での骨膜伸展法が確立できたため、BMP-2 遺伝子とアテロコラーゲンを用い、骨膜伸展の実験を行ったが、さまざまなタイミングと濃度の BMP-2 遺伝子をチタンメッシュにより伸展された骨膜下に入れて、実験を行ったが、予想していたような骨形成を認めることができなかった。アテロコラーゲンではなくより骨の成分に近い材料のほうが効果があるのではと考え、臨床で用いられている骨補填剤と BMP-2 遺伝子とを組み合わせ、ウサギで骨膜伸展を行ったが、アテロコラーゲンと同様に予想していたような骨形成を認めることができなかった。そのため、チタンメッシュによる骨膜伸展において、BMP-2 遺伝子では骨形成を誘導するのが難しいのではないかと考え、遺伝子ではなく BMP-2 の蛋白をアテロコラーゲンに含有することにより、骨膜伸展法を行うこととした。何回か蛋白の濃度や入れるタイミングを変えて実験を行い、ある程度の骨形成を認めることができた。しかしながら、まだ研究発表、論文を投稿するには結果やデータが不十分であると思われる。今後、BMP-2 蛋白で骨形成を認めることができたため、再度 BMP-2 遺伝子を用いて、実験方法や転入物の改良して、実験を行っていきたいと考えている。

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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況（計 0 件）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小田 充匡 (ODA MITSUMASA)

山梨大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：90516915

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし