

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23792465

研究課題名(和文)石灰化歯根膜シートと人工ペプチドを使用した歯周組織再生

研究課題名(英文)Periodontal regeneration using calcified periodontal ligament cell sheet and artificial peptide

研究代表者

秋月 達也(Akizuki, Tatsuya)

東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：50401378

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：現在、歯周病により破壊された歯周組織の再生を得るべく、様々な治療が行なわれているが、歯周組織、特に歯根膜の量が少ない、大きな欠損においては完全な再生は得られていない。本研究では、歯根膜シートを石灰化することで硬組織の形成を促そうと試みたが、良好な結果は得られなかった。しかしながら、同時に用いる担体を検討する過程で、骨形成を促進する新規の形状を有する担体を作製し、再生の難しい大きな欠損における歯槽骨を含む歯周組織を得ることができ、国際誌に発表した(in press)。

研究成果の概要(英文)：The ultimate goal of periodontal treatment is to regenerate lost tissue caused by periodontitis. However, it is still difficult to regenerate lost tissue in case of the lost tissue has less periodontal ligament. The objective of this research was to evaluate the effectiveness of the calcified periodontal ligament on periodontal regeneration. Although we couldn't show the positive result, we explored the noble bone grafting material has unique structure for bone formation. We successfully showed that this material could regenerate periodontal tissue even in large defect model.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯周治療系歯学

キーワード：歯周組織再生 骨補填材 リン酸三カルシウム

1. 研究開始当初の背景

歯周炎により失われた歯周組織を再生させることは歯周治療の究極の目標であり、これまでに多くの歯周組織再生治療が開発されてきた。しかしながら、失われた歯周組織の量が大きい場合、特に残存している歯根膜の量が少ない場合には、歯周組織の再生が得られないことが分かっている。研究開始当初、研究者らは、残存している歯根膜の量が少ない部位に歯根膜由来の細胞を培養して移植することで歯周組織の再生を期待する治療法について研究を行っていた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、通常の培養法での歯根膜細胞シートによる再生治療に代わる、硬組織形成能をもった歯周組織再生治療について研究を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 新規担体の探索

いままでより大きな骨欠損を再生させるべく、欠損部を埋めるのに十分な大きさで、適切な強度を有する担体を決めることとした。担体としては、人工ペプチドが入りできなかったため、代替として、-TCP 含有ゼラチンスポンジ、ランダムトンネル型 -TCP 骨移植材を使用して検討を行った。-TCP 含有ゼラチンスポンジは、イヌ上顎前臼歯部に頬側 2 度根分岐部欠損を作製し、欠損を作製したのみのもものと比較した。ランダムトンネル型 -TCP 骨移植材は、イヌ下顎の 1 壁性の歯周組織欠損に対して応用し、欠損を作製したのみのもものと比較した。

(2) 石灰化歯根膜シートの応用

石灰化歯根膜シートを用いることで、硬組織形成に関して利点があるかどうかということ調べた。ビーグル犬を用いて行った予備実験において、石灰化条件下で培養した歯根膜由来細胞シートを歯周組織欠損に応用し、通常通り培養した歯根膜シートを応用したものと組織学的に比較した。

(3) 新規担体と歯根膜細胞の応用

新規担体である -TCP 含有ゼラチンスポンジに歯根膜細胞を併用したときにおこる歯周組織の再生について評価するため、イヌの上顎前臼歯に対して頬側 2 度の歯周組織欠損を作製し、評価した。また、本研究では、成長因子である bFGF を組み合わせた群も設定し評価を行った。

4. 研究成果

(1) 新規担体の探索

新規担体の探索としては、-TCP 含有ゼラチンスポンジ、ランダムトンネル型 -TCP という 2 つの種類の担体を検討することができた。前者は軟らかく複雑な骨欠損の形態に合わせやすい担体であり、後者は硬く強度を

保つことができる担体である。-TCP 含有ゼラチンスポンジについて検討した結果としては、何も入れなかったものと比較して、上顎根分岐部の歯槽骨の閉鎖が優位に大きかった(2012 年歯科保存学会にて発表)。この結果から、この担体は、-TCP を加えることで、軟らかいながらもある程度の強度を保ち、上皮の骨欠損部への侵入を抑制し、歯槽骨の形成を促す可能性があることが示唆された。同様の結果は、顎堤増大術にこの担体を単独で用いた研究でも示唆され(2014 年再生医療学会にて発表)、本担体の再生治療への有用性が示唆された。また、ランダムトンネル型 -TCP の 1 壁性骨欠損への応用では、本担体の生体親和性の高さ、歯周組織再生への効果が示され、特に歯槽骨の形成に関して効果が大きいことが示唆された(2012 年歯科保存学会にて発表、2014 年 Journal of Periodontal Research(in press))。

(2) 石灰化歯根膜シートの応用

石灰化歯根膜シートを通常の歯根膜シートと応用した結果、歯周組織の再生のうち、歯槽骨、セメント質の再生について通常の培養法で行ったものと比較して差がなかった。本研究結果は、論文投稿 (Journal of Periodontal Research) を行ったが Reject となった。今後、さらなる検討を加え、本当に差がないのかどうかを調べる必要があると考えられる。

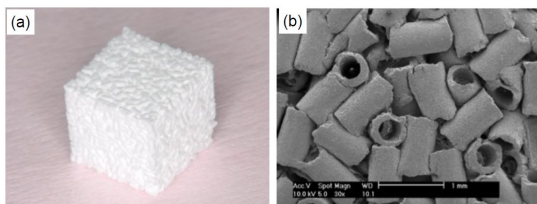
(3) 新規担体と歯根膜細胞の応用

今回探索することができた 2 つの新規担体は歯槽骨の形成に関して、良好なものであった。歯周組織再生から離れ、顎堤の増大に関しても検討を行い、良好な結果を得ている。-TCP 含有ゼラチンスポンジは、イヌの上顎顎堤欠損に応用し、担体のみと b-FGF との組み合わせで使用したものとで比較をしたが、担体のみでも過去の報告で何も入れなかったものと比較して、顎堤の軟組織の高さ、歯槽骨の形成に関して、大きい値となった。bFGF を含有させたものでは、軟組織の形成量も大きかったが、歯槽骨形成が含有しなかったものと比較して大きく、顎堤増大に使用するのにも適していると考えられた。また、歯周組織の再生に関して、この担体と歯根膜細胞、bFGF を組み合わせて使用した際の再生をイヌの上顎前臼歯部の頬側根分岐部欠損モデルにて観察したところ、歯根膜細胞を入れた群でコントロールと比べ歯槽骨の水平的形成量が大きく、また歯根膜細胞、bFGF を組み合わせた群ではより大きな歯槽骨の形成がおこる傾向が認められた(統計学的有意差は認めなかった)。

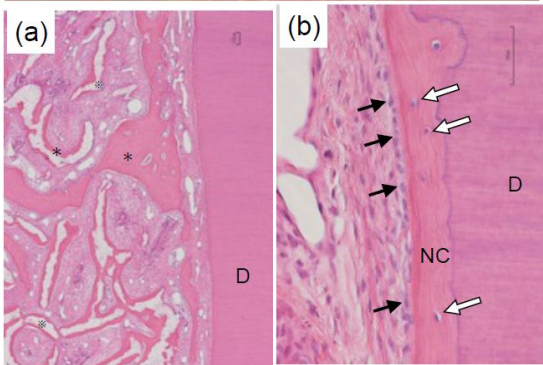
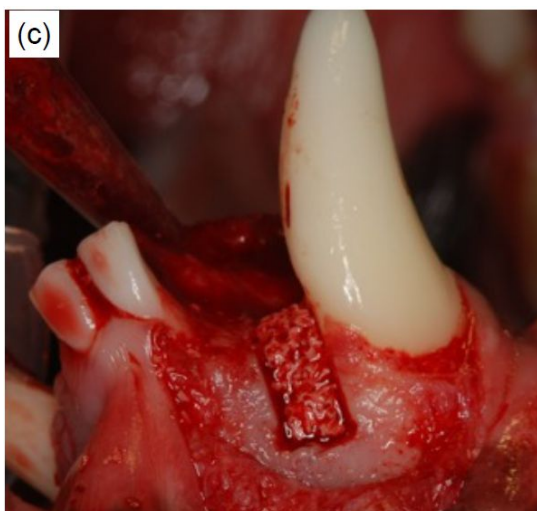
(4) まとめ

今回の研究では、当初予定していた担体が使用できず、代替の担体を使用する必要があった。結果として、計画していた担体よりも、

目標としていた硬組織の形成に関してより良い結果を出すことができる担体を見出すことができた。これまでに再生の難しいとされている1壁性の歯周組織欠損に対して応用した際にも良好な歯周組織の再生が期待でき、さらなる検討を加えたいと思っている。



ランダムトンネル -TCP



実験群。良好な歯周組織の再生が認められた。

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 2件)

Takanori Matuura, Tatsuya Akizuki, Shu Hoshi, Takahiro Ikawa, Atsuhiko Kinoshita, Masayo Sunaga, Shigeru Oda, Yoshinori Kuboki, Yuichi Izumi. Effect of a Tunnel-Structured β -Tricalcium Phosphate Graft Material on Periodontal Regeneration: A Pilot Study in a Canine One-Wall Intrabony Defect Model. Journal of Periodontal Research. 査読あり (in press)

Izumi Y, Aoki A, Yamada Y, Kobayashi H, Iwata T, Akizuki T, Suda T, Nakamura S, Wara-Aswapati N, Ueda M, Ishikawa I. Current and future periodontal tissue engineering. Periodontology 2000、査読あり、56(1): 166-87.2011.

〔学会発表〕(計 9件)

- ＝ 井川貴博, 秋月達也, 松浦孝典, 星嵩, 竹内祥吾, 小野彌, 丸山起一, 木下淳博, 小田茂, 和泉雄一. トンネル -TCP 骨補填材を用いた歯槽堤保存術 -イヌでの6ヶ月評価-. 第57回春季日本歯周病学会学術大会(滋賀). 2014.
- ＝ 星嵩, 秋月達也, 松浦孝典, 井川貴博, 木下淳博, 小田茂, 和泉雄一. -TCPゼラチンハイドロゲル、塩基性線維芽細胞増殖因子を使用した軟組織増大術ピーグル犬顎堤欠損モデル. 第13回日本再生医療学会総会.(京都). 2014.
- ＝ Ikawa T, Akizuki T, Matsuura T, Hoshi S, Takeuchi S, Ono W, Maruyama K, Oda S, Izumi Y. Alveolar ridge augmentation using random tunnel -TCP block. 9th World Congress for Oral Implantology (Seoul, Korea), 2013.
- ＝ Matsuura T, Ikawa T, Akizuki T, Hoshi S, Takeuchi S, Izumi Y. The Ability of Newly Designed β -TCP Materials for Tissue Regeneration. Pen Periodontal Conference 2013(Philadelphia, U.S.A.), 2013.
- ＝ 星嵩, 秋月達也, 松浦孝典, 井川貴博, 竹内祥吾, 丸山起一, 小野彌, 小田茂, 松井誠, 田畑泰彦, 和泉雄一. -TCPゼラチンハイドロゲル, 歯根膜細胞, rhFGF-2を併用した歯周組織再生 -イヌ根分岐部歯周組織欠損-. 第56回秋季日本歯周病学会学術大会(前橋). 2013.
- ＝ Matuura T, Akizuki T, Hoshi S, Kinoshita A, Sunaga M, Ikawa T, Imamura R, Kimura M, Kuboki Y, Izumi Y. Periodontal tissue regeneration using random tunnel beta-TCP ceramics in dogs. 98th Annual Meeting American Academy of Periodontology. (Los Angeles, U.S.A.). 2012
- ＝ 井川貴博, 秋月達也, 松浦孝典, 星嵩, 今村亮祐, 木下淳博, 須永昌代, 木村満利子, 久保木芳徳, 和泉雄一, ランダムトンネル型 TCPによるソケットブリザベーション 犬でのパイロットスタディー 特定非営利活動法人日本歯科保存学会(つくば市)2012年度春季学術大会(第136回).
- ＝ 松浦孝典, 秋月達也, 星嵩, 井川貴博, 木下淳博, 須永昌代, 木村満利子, 久保木芳徳, 和泉雄一, ランダムトンネル型 TCPを用いた歯周組織再生 イヌ下

顎 1 壁性骨欠損における組織学的評価
(宜野湾市), 2012.

- 星崇, 秋月達也, 松浦孝典, 今村亮祐,
小田茂, 松井誠, 田畑泰彦, 和泉雄一.
TCP 含有ハイドロゲルを用いた歯周
組織再生イヌ上顎根分岐部骨欠損におけ
る組織学的評価 a pilot study . 特定
非営利活動法人日本歯科保存学会 2012
年度春季学術大会 (第 136 回). (宜野湾
市), 2012.

〔図書〕(計 1 件)

秋月達也, 白方良典, 和泉雄一 (共著). 第 3 編ア
ドバンス編 専門的な歯周治療 第 25 章骨移植
術. 臨床歯周病学 第 2 版. 医歯薬出版株式会社
p258 - 265. 2013.

〔その他〕

ホームページ等

以下のホームページにて、研究業績に関して
記載している。

[http://www.tmd.ac.jp/dent/peri/peri-j.h
tm](http://www.tmd.ac.jp/dent/peri/peri-j.htm)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秋月 達也 (AKIZUKI, Tatsuya)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究
科・歯周病学分野・助教

研究者番号：50401378