

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 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：2015～2016

課題番号：15H06190

研究課題名(和文) 足場との静電氣的結合による線維芽細胞増殖因子-2の徐放化を利用した歯周組織再生

研究課題名(英文) Periodontal tissue regeneration using controlled release of fibroblast growth factor-2 by electrostatic binding with scaffold

研究代表者

星 嵩 (hoshi, shu)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・非常勤講師

研究者番号：70757210

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：ビーグル犬を用いた歯周組織欠損モデルにおいて実験を行った。  
-TCPゼラチンスポンジとの静電氣的結合による線維芽細胞増殖因子-2の徐放化は、歯肉退縮における根面被覆術において有効であった。酸性の -TCPゼラチンスポンジと線維芽細胞増殖因子-2の併用は、塩基性の -TCPゼラチンスポンジと線維芽細胞増殖因子-2の併用と比べ、歯槽骨再生に有効であった。歯周組織再生療法において、-TCPゼラチンスポンジと線維芽細胞増殖因子-2の併用は -TCPと線維芽細胞増殖因子-2の併用と比べ、有効性は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：Experiments were carried out on periodontal defect model using beagle dogs. Controlled release of fibroblast growth factor-2 by electrostatic binding with -TCP acidic gelatin sponge was effective in root cover to gingival recession. Combined use of acidic -TCP gelatin sponge and fibroblast growth factor-2 was effective for regenerating alveolar bone compared to the combination of basic -TCP gelatin sponge and fibroblast growth factor-2. In periodontal tissue regeneration therapy, the combination of -TCP gelatin sponge and fibroblast growth factor-2 was not effective compared with the combination of -TCP particles and fibroblast growth factor-2.

研究分野：歯周病学

キーワード：線維芽細胞増殖因子-2 徐放化 歯周組織再生 歯周病

### 1. 研究開始当初の背景

歯周組織再生の足場として、異種骨、人工骨などの骨移植材が使用され、優れた臨床成績が報告されてきた。しかしながら、これらの骨移植材は結合組織に被包され、長期にわたり残留してしまうため再生を阻害しているのではないかと懸念されていた。理想的な足場とは、細胞・細胞増殖因子と併用しやすく、内部への組織再生を促す多孔性の構造を有し、適切な期間で生体分解されるものである。

我々の研究室ではこれまでに、動物実験モデルにて -TCP・ゼラチン複合体を線維芽細胞増殖因子-2 (FGF-2) と併用することにより歯槽骨再生を報告してきた。-TCP・ゼラチン複合体は、下記の理想的な足場としての性質を有する。

- (1)ゼラチン架橋により細胞の侵入・増殖に有効な三次元網目状多孔構造を有する。
- (2)機械的な強度を保ちつつ、数週間のうちに生体内で完全に吸収される。
- (3)酸性ゼラチンと FGF-2 の静電気的な結合により、FGF-2 の徐放化を可能にする。

現在、歯周組織再生療法において臨床応用されている材料で、これらの性質を有している材料は認められない。酸性ゼラチンとの静電気的な結合を利用した FGF-2 の徐放化は血管再生や骨再生などの領域で既にヒトへ臨床応用されている技術であり、良好な治療成績が報告されている。申請者はこの技術を利用した歯周組織再生の有効性を明らかにしたいと考えた。

### 2. 研究の目的

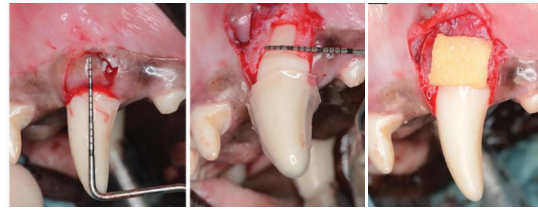
足場との静電気的な結合による FGF-2 の徐放化が歯周組織再生に有効か確認するため、大型動物 (ビーグル犬) を用いた歯周組織欠損モデルで以下のことを明らかにすることを目的とした。

- (1)根面被覆術において、-TCP・ゼラチン複合体と FGF-2 の併用が有効であるか。
- (2)歯槽骨再生において、足場の等電点を変化させることで FGF-2 の効果が変化するか。
- (3)歯周組織再生療法において、FGF-2 と併用する足場として、-TCP・ゼラチン複合体が -TCP 顆粒と比べ、有効性があるか。

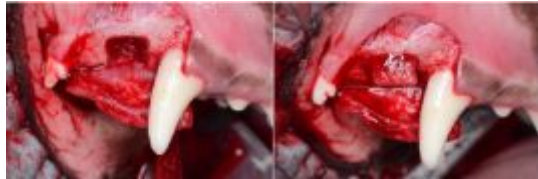
### 3. 研究の方法

ビーグル犬を使用し、全ての外科手技は全身麻酔・局所麻酔下で行われた。手術 12 週前に歯周組織欠損作製のため拔牙を行った。12 週の治癒期間を待ち手術を行った。

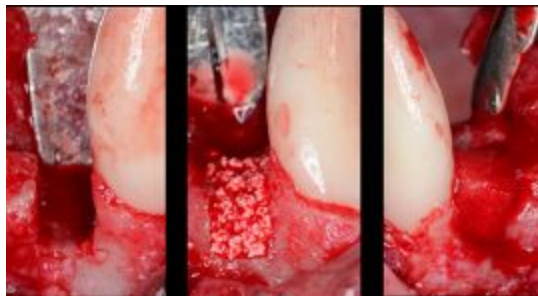
(1) ビーグル犬に歯肉退縮 (幅 5mm×高さ 6mm) を作成し、-TCP・ゼラチン複合体と FGF-2 を使用した際の、根面被覆術の治療成績を評価した。



(2) 酸性ゼラチンあるいは塩基性ゼラチンから構成される -TCP・ゼラチン複合体を作成した。ビーグル犬に歯槽骨欠損 (幅 8mm×高さ 5mm) を作成し、FGF-2 と併用する足場として等電点の異なる -TCP・ゼラチン複合体を使用した際の、歯周組織再生を評価した。



(3) ビーグル犬に歯周組織欠損 (幅 4mm×高さ 6mm) を作成し、FGF-2 と併用する足場として -TCP・ゼラチン複合体、または -TCP 顆粒を使用した際の、歯周組織再生を評価した。



8 週後に安楽殺を行い、microCT 画像、病理組織切片、石膏模型による評価を行った。

### 4. 研究成果

(1) 根面被覆術  
FGF-2 と -TCP・ゼラチン複合体を併用した群 (実験群) は、-TCP・ゼラチン複合体単体群 (対照群) に比べ、microCT 画像の計測で有意に大きい新生骨量を認めた。病理組織切片の計測では実験群は対照群と比較し、有意に大きい新生セメント質、新生骨を認めた。

#### 病理組織切片 計測値

評価項目	Test (N = 5)	Control (N = 5)	P Value
上皮 (mm)	1.36 ± 0.87	2.51 ± 0.80	0.01*
結合組織 (mm)	0.19 ± 0.17	1.21 ± 1.08	0.04*
新生セメント (mm)	4.90 ± 0.77	2.57 ± 1.62	0.02*
新生骨高さ (mm)	3.66 ± 0.62	2.29 ± 1.01	0.045*
新生骨広さ (mm <sup>2</sup> )	0.85 ± 0.18	0.31 ± 0.08	0.0025*
被覆高さ (mm)	7.25 ± 1.02	6.68 ± 0.75	0.23
欠損高さ (mm)	6.48 ± 0.64	6.32 ± 0.81	0.38

\* P < 0.05; \*\* P < 0.01 (Paired t test)

## (2) 歯槽骨再生

術後に採取したの石膏模型での計測では、酸性の -TCP ゼラチンスポンジと FGF-2 の併用群(実験群)は、塩基性の -TCP ゼラチンスポンジと FGF-2 の併用群(対照群)と比べ、顎堤の陥凹が小さかった。microCT 画像の計測では実験群が対照群と比較し、有意に大きい新生骨量を認めた。病理組織切片は現在作成中であり、研究期間内の計測は行えなかった。

## (3) 歯周組織再生療法

-TCP・ゼラチン複合体と FGF-2 併用群は -TCP 顆粒と FGF-2 併用群と比較し、病理組織切片の計測では有効性は認められなかった。

### 病理組織切片 計測値

評価項目(mm)	rhFGF-2/ $\beta$ -TCP	rhFGF-2/gelatin/ $\beta$ -TCP
上皮	2.50 $\pm$ 1.12	2.40 $\pm$ 1.82
結合組織	3.44 $\pm$ 1.13	3.32 $\pm$ 1.44
新生セメント質	2.50 $\pm$ 0.85	2.69 $\pm$ 0.95
新生骨	3.08 $\pm$ 0.80	1.35 $\pm$ 0.50
欠損高さ	5.77 $\pm$ 0.84	5.86 $\pm$ 0.31

## 結論

1. -TCP ゼラチンスポンジとの静電氣的結合による線維芽細胞増殖因子-2 の徐放化は、歯肉退縮における根面被覆術において有効であった。
2. 酸性の -TCP ゼラチンスポンジと線維芽細胞増殖因子-2 の併用は、塩基性の -TCP ゼラチンスポンジと線維芽細胞増殖因子-2 の併用と比べ、歯槽骨再生に有効であった。
3. 歯周組織再生療法において、-TCP ゼラチンスポンジと線維芽細胞増殖因子-2 の併用は -TCP と線維芽細胞増殖因子-2 の併用と比べ、有効性は認められなかった。

## 展望

実験結果より、足場との静電氣的な結合による FGF-2 の徐放化は歯周組織再生において有効だと考えられるが、既存の足場(-TCP 顆粒)と比較し有効性は認められなかった。-TCP ゼラチンスポンジは足場としての機械的強度が十分ではなく、治療期間中に再生が起きるスペースを維持できなかったことが原因であると考察される。今後、足場の機械的強度を向上させさらなる実験を行っていききたい。また、既存の足場に電化を付加することで、FGF-2 を徐放化する足場を作製していききたい。

## 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)

Shujaa Addin A, Akizuki T, Hoshi S, Matsuura T, Ikawa T, Fukuba S, Matsui M, Tabata Y, Izumi Y. Biodegradable gelatin/beta-tricalcium phosphate sponges incorporating recombinant human fibroblast growth factor-2 for treatment of recession-type defects: A split-mouth study in dogs. J Periodontol Res. 査読有り 2017 Mar 27. doi: 10.1111/jre.12456.

Ikawa T, Akizuki T, Matsuura T, Hoshi S, Ammar SA, Kinoshita A, Oda S, Izumi Y. Ridge Preservation After Tooth Extraction With Buccal Bone Plate Deficiency Using Tunnel Structured B-Tricalcium Phosphate Blocks: A 2-Month Histological Pilot Study in Beagle Dogs. J Periodontol. 査読有り 2016 Feb;87(2):175-83. doi:10.1902/jop.2015.150246.

Hoshi S, Akizuki T, Matsuura T, Ikawa T, Kinoshita A, Oda S, Tabata Y, Matsui M, Izumi Y. Ridge augmentation using recombinant human fibroblast growth factor-2 with biodegradable gelatin sponges incorporating  $\beta$ -tricalcium phosphate: a preclinical study in dogs. J Periodontol Res. 査読あり 2016 Feb;51(1):77-85. doi: 10.1111/jre.12285

[学会発表](計 1 件)

星嵩、-TCP ゼラチンスポンジ、ヒトリコンピナント線維芽細胞増殖因子-2 を使用した顎堤増大術 - ビーグル犬顎堤欠損モデル -、第一回日本骨免疫学会、2015 年 6 月 30 日、沖縄県宮古島 ホテルブリーズバイマリーナ

[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

星 嵩 (HOSHI, Shu)  
東京医科歯科大学・歯周病学分野・  
非常勤講師  
研究者番号：70757210

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

##### (4) 研究協力者

秋月 達也 (AKIZUKI, Tatsuya)  
松浦 孝典 (MATSURA, Takanori)  
和泉 雄一 (IZUMI, Yuichi)