

令和元年6月11日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11823

研究課題名(和文) 複数のスキャホールドを用いた新規空間的ドラッグデリバリーシステムの開発

研究課題名(英文) The development of the novel spatial drug delivery system using a number of scaffolds

研究代表者

齋藤 恵美子 (SAITO, EMIKO)

北海道大学・歯学研究院・助教

研究者番号：80374528

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、広い骨欠損を有する重度の歯周病患者に対して、歯周組織再生量、特に支持骨の再生量の増大を図る目的で、現在、歯周組織再生に有効性が認められている成長因子であるFGFを用いて、複数の組織から成り立つ歯周組織を、再生させる組織ごとに複数の担体を組み合わせる移植法の有効性を探索した。その結果、広い水平性骨欠損部において1種類の担体を用いて移植を行った場合に比べて、複数の担体を用いて移植を行ったほうが、支持骨の再生量が增大するという結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在の歯周組織再生療法では、歯を支える支持骨が多く失われてしまった患者にとって、支持骨を確実に再生させることはできない。そこで我々は、審美性をはじめ咬合等の機能回復のためにも、このような歯を支える支持骨が失われた広い骨欠損を対象とした歯周組織再生療法の開発は急務であると考えた。本研究では、歯を支える支持骨の再生量の増大を図るために、再生させる組織ごとに、歯根面側と歯槽骨側で担体の種類を変えて移植を行ったところ、支持骨の再生量を増大させることに成功した。本研究の結果は、歯周病によって、歯を失うことが多い歯周病患者にとって、新しい歯周組織再生療法の開発に貢献することができると考えられる。

研究成果の概要(英文)：This study investigated the effect of multiple scaffolds when the multiple scaffolds using FGF were implanted in the large bone defects with the aim of increase of periodontal regeneration, especially alveolar supporting bone regeneration.

From the above results, this study suggested that implantation method of the multiple scaffolds using FGF could enhance periodontal regeneration containing a large quantity of bone regeneration.

研究分野：歯周病学

キーワード：スキャホールド ドラッグデリバリーシステム 歯周組織再生 bFGF コラーゲン TCP

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

歯周組織再生療法は、臨床的ニーズが高く、様々な研究が行われている分野である。しかし水平性骨欠損のような広い骨欠損は、有効な再生療法がないのが現状である。そこで審美性をはじめ咬合等の機能回復のためにも、このような歯を支える支持骨が失われた広い骨欠損を対象とした歯周組織再生療法の開発は急務であると考えられる。Bone Morphogenetic Protein (BMP)は水平性骨欠損部において、唯一、新生骨を歯冠側に形成する能力を持つと報告されている。しかし一部の研究者らから、骨性癒着や根吸収を引き起こす危険性を指摘された。それについて申請者は、BMP と根面との間にスパーサー膜を利用する移植法を考案して、指摘されていた異常治癒を抑制できることを報告した。(北海道歯学会賞受賞(2003)、Journal of Periodontology (2003)、Clinical Advances in Periodontics: 80-87,(2011) Bashutski らに最も信頼できる BMP 論文 5 選として紹介された)しかし、BMP には歯根膜細胞の増殖を促進する作用は無く、結合組織性付着の形成には有効ではないと考えられた。そこで申請者は再生を誘導するスペースを2つに分け、歯根膜スペースに FGF-2 を配置して、その外側の骨の再生スペースに BMP を移植する空間的ドラッグデリバリーシステム Double-layer method) を考案した。動物実験の結果では、FGF-2 と BMP を混合して移植を行うと、根面に骨性癒着と根吸収が生じるのに対して、この移植方法は、結合組織性付着量は FGF-2 単独の場合よりも多く、骨形成量は BMP 単独よりも増大した。(2013 年 99th AAP (米国歯周病学会)の Research Forum Poster Session and Competition に選出され、Basic Science award を受賞)考案した移植法によって歯冠側方向へも骨新生が観察されたが、新生骨の幅径(厚み)は従来の歯槽骨よりも薄い傾向が認められた。この原因として、担体として用いたコラーゲンは、歯根膜スペースのように複雑な根面形態に適合する柔軟性に優れているが、歯槽骨の形態(幅径)をスペースメイキングするための強度が十分ではなかったと推測される。このことより歯槽骨スペースにはスペースメイキングに優れたスキャホールドが必要であると考え、申請者は、歯根膜スペースと歯槽骨スペースそれぞれに適した成長因子とスキャホールド(担体)を組み合わせる移植法を考案した。スキャホールドに関して、これまで申請者は、内径約 300  $\mu\text{m}$  のトンネル構造が、周囲組織からトンネル内に進入した血管と細胞を、管腔内を通して速やかに反対側へ方向に増殖させる性質に着目し、この構造が、組織再生の早期化と増量に対して与える影響について検索を行った。その結果、これまでにトンネル構造をランダムに配列したランダムトンネル構造の TCP は、3 級根分岐部欠損モデルにおいて、連続気孔を持つ TCP (オスフェリオン)よりも再生量が増大することを明らかにした(Dental Materials Journal (2012))。さらに FGF-2 を配合することによって、組織の再生量が増大した(Dental Materials Journal (2013))。また、トンネル構造を同じ方向に配列したハニカム構造のコラーゲンは、トンネルの方向を歯軸に平行に移植すると、既存組織から歯冠側に向かって歯根膜や新生骨を誘導する事を報告した。(2014 年 100th AAP Research Forum Poster Session) これらの結果より、この2種類のスキャホールドをそれぞれ、歯根膜スペースにハニカムコラーゲンを、歯槽骨スペースにランダムトンネル構造の TCP を移植する移植法を考案した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、トンネル構造を有する2種類のスキャホールドを用いた新規空間的ドラッグデリバリーシステムが水平性骨欠損部の歯周組織再生に対して与える影響について検索することである。特に、2種類のスキャホールドの組み合わせの効果と、成長因子 FGF を配合した再生への効果について着目して、以下の項目を検索して、評価する。

- 1、再生スペースのスペースメイキングの保持効果
- 2、再生骨の骨密度、構造、既存骨との関係
- 3、歯周組織再生量の評価

### 3. 研究の方法

1. 実験モデルの作成 (Saito E et al. J Periodontol, 2003 に準じて行う) ビーグル犬の下顎前臼歯部の歯槽骨を骨頂より 4mm 削除して、水平性骨欠損を作成する。
2. 移植材の調整と移植手術 移植群は以下の7群とし、全層弁を剥離してスケーリング・ルートプレーニングを行った後に、ランダムに移植を行う。
  - 1) 2種類のスキャホールドの組み合わせの効果 (4群) ハニカム構造のコラーゲン、ランダム構造の  $\beta$ TCP をそれぞれ単独、および組み合わせで移植を行う。尚、何も移植しない群を対照とする。
    - I) ハニカム collagen 群
    - II) ランダム  $\beta$ TCP 群
    - III) ハニカム collagen + ランダム  $\beta$ TCP 群
    - IV) コントロール (no implant) 群
  - 2) FGF を配合した歯周組織再生への効果 (3群追加)
  - V) FGF/ハニカムコラーゲン群: 0.3% FGF-2 をハニカムコラーゲンに配合して移植を行う
  - VI) FGF/ランダム構造  $\beta$ TCP 群: 0.3% FGF-2 をランダム構造  $\beta$ TCP に配合して移植を

行う

VII) FGF/ハニカムコラーゲン + FGF/ランダム構造  $\beta$ TCP 群:根面側に 0.3%FGF-2 配合ハニカムコラーゲンを移植して、その歯槽骨側に 0.3%FGF-2 配合ランダム構造  $\beta$ TCP を重ねて移植を行う

その後、歯肉弁を復位縫合した。

3.術後の管理 週に 1 度ブラッシング、口腔ケアを行う。体重測定を行って体調を管理する。観察期間は 8 週とした。評価方法は、micro-CT 撮影後、通法に従い、病理組織標本を作製して、H 染色を行って病理組織学的観察及び組織計測を行った。統計学的分析には、Kruskal-Wallis test を用いた。

#### 4. 研究成果

成長因子として FGF を用いて、根面側のスキャホールドとしてハニカムコラーゲンを、歯槽骨側のスキャホールドとしてランダム TCP を組み合わせて移植を行った群では、ランダム TCP は、新生骨の再生スペースをしっかりと保持した結果、幅径（厚み）の増大、及び歯冠側方向への再生（高さ）の増大を伴う歯槽骨の再生を確認した。本研究の結果は硬組織と軟組織からなる歯周組織の特殊な解剖学的構造を考慮して、それぞれの組織に応じて、成長因子を配合する担体を複数組み合わせることで、単一の担体を用いて移植を行うよりも、歯槽骨スペースにおいて、再生スペースをしっかりと保持することが可能となり、歯槽骨の再生量の増大につながったと考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

齋藤恵美子: 歯周治療で正中離開が閉鎖した 11 年経過症例、歯界展望 130(6): 1082 -1087、2017 (査読無)

Saito E, Saito A, Kato H, Shibukawa Y, Inoue S, Yuge F, Nakajima T, Takahashi T, Kawanami M.: A Novel Regenerative Technique Combining Bone Morphogenetic Protein-2 With Fibroblast Growth Factor-2 for Circumferential Defects in Dog Incisors. J Periodontol. 2016 Sep;87(9):1067-74. doi: 10.1902/jop.2016.150746. (査読有)

〔学会発表〕(計 2 件)

齋藤恵美子、齋藤彰、加藤 熙、川浪雅光: 前歯の病的移動により生じた正中離開を基本治療と咬合調整で閉鎖した後大白歯に再生療法を行った一症例. 日本歯周病学会誌第 59 巻春季特別号プログラム及び講演抄録集 2017 年 5 月 11 日~12 日 福岡県(福岡市) P165、2017

齋藤恵美子、齋藤彰、加藤 熙、川浪雅光: 清掃を困難にしていた歯冠形態を修正後に歯周外科処置を行い歯周支持組織の改善を行った一症例. 日本歯周病学会誌第 58 巻春季特別号プログラム及び講演抄録集 2016 年 5 月 19 日~20 日 鹿児島県(鹿児島市) P166 2016

#### 6. 研究組織

##### (1)研究分担者

研究分担者氏名: 齋藤 彰

ローマ字氏名: Saito Akira

所属研究機関名: 北海道大学大学院

部局名: 歯学研究院

職名: 助教

研究者番号(8桁): 20301913

##### (2)研究分担者

研究分担者氏名: 高橋 茂

ローマ字氏名: Takahashi Shigeru

所属研究機関名: 北海道大学大学院

部局名: 歯学研究院

職名: 准教授

研究者番号(8桁): 70241338

(3)研究協力者

研究協力者氏名：高橋 智美

ローマ字氏名：Takahashi Tomomi

所属研究機関名：北海道大学大学院

部局名：歯学研究院

職名：技術専門職員

研究者番号(8桁): 50399953

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。