

平成 22 年 5 月 1 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006 ～ 2009
 課題番号：18592165
 研究課題名（和文）：多血小板血漿とリン酸オクタカルシウムを用いた骨増生への応用
 研究課題名（英文）：Applied study to bone augmentation using platelet rich plasma and octacalcium phosphate
 研究代表者：君塚 哲（KIMIZUKA SATOSHI）
 東北大学・大学院歯学研究科・助教
 研究者番号：50302154

研究成果の概要（和文）：生体材料である OCP/Collagen と多血小板血漿（PRP）ゲルを用いて家兎の上顎洞を使用して、骨の増生術を施行した。移植 8 週後の摘出標本では、X線学的にコントロール群と比較して有意に骨の増生を認めた。さらにマイクロ X 線 CT 撮影による 3 次元検査では、著明な骨増生を認めた。この結果から、OCP/Collagen と PRP ゲルを用いた骨増生法は、自家骨を必要とせず、第 2 の侵襲を加えることなく骨の増生が行える有用な方法である。

研究成果の概要（英文）：We used an animal model to evaluate for bone regeneration by maxillary sinus floor augmentation with OCP/Collagen and palatelt-rich plasma (PRP) gel. With an extraction specimen after bone transplantation eight weeks, we compared it with a group of control for roentgenology and developed a non-transmitted image significantly. The extraction specimen accepted remarkable new bone formation on examination of 3 dimensions by a microX-ray computed tomography scan.

From the result, OCP/Collagen and bone regeneration method with PRP gel do not need autograft of bone, and it is the methods that are the utility which bone regeneration can do without adding the second operation field.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,600,000	0	1,600,000
2007 年度	800,000	240,000	1,040,000
2008 年度	600,000	180,000	780,000
2009 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
総計	3,500,000	570,000	4,070,000

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：多血小板血漿、リン酸オクタカルシウム、骨増生、サイナスリフト、家兎

1. 研究開始当初の背景

う蝕、歯周病、外傷などにより生じた歯の喪失に対する咬合回復は、歯冠補綴や義歯などによって行われてきた。しかし近年、健全歯保存などを含め、可能な限り天然歯の切削を避ける傾向にあり、インプラント治療が導入され広く一般的に行われるようになってきた。しかしながら、インプラント治療は顎骨に埋入するため、歯牙欠損部へのインプラント治療は当然歯槽骨のある程度の残存が必要であることは言うまでもない。

上顎では上顎洞、下顎では下顎管の存在があり、歯牙を失った部位において残存骨の量が十分に存在することがないのが常である。そのため骨量不足に対しては、骨の増生が必須である。現在、移植材料としては、人口骨は歯科領域では厚生省の認可されているものではなく、口腔内あるいは口腔外からの自家骨採取および骨移植が必要となる。

これまで当科で行っている口唇口蓋裂患者の顎裂部への骨移植において新鮮自家骨がもっとも移植材料で優れているとの結果からもわかるように、従来より骨移植には自家骨が一般的に多く使用されているのが現状である。

しかしながら自家骨移植には、骨採取部位の問題、骨採取量の限界などにより口腔外からの骨採取を求めるのが必須となり、すべての面において患者への負担が増加する。

そのため、なかなか二次的な侵襲（骨採取）を行ってまでもインプラント治療を行う患者は多くなく、断念せざるを得ない状況である。

これらを解決するために、本研究では患者に二次的な侵襲すなわち骨採取という操作を加えることなく骨の増生を行うことができれば、より患者の多くのニーズに対応することができようになる。

すなわち生態為害性がなく速やかに骨へ置換していく生体材料を開発することにより前述のごとく、インプラント治療の適応拡大へとつながることが期待される。

2. 研究の目的

従来より、上顎臼歯欠損部での骨量不足に対しては、しばしば自家骨移植による上顎洞挙上術が行われてきた。前述のごとく多数歯欠損における骨量不足に対しては、骨採取部位の問題、骨採取量の限界などにより口腔外からの骨採取を求めるのが必須となり、すべての面において患者への負担が増すのが現状である。

これらの問題を解決するために、本研究では患者に二次的な侵襲を加えることなく骨の増生を行うことができるかについて、家兎の副鼻腔に人工的な骨欠損部を形成しPRPとOCPを用いて骨の増生が可能かどうか組織学的に

検討を行くことである。これにより将来的に骨移植を必要とするインプラント治療患者に対して、従来からの口腔内外からの骨採取を行うことなく骨の増生を行うことが可能となり、患者の負担を軽減し、インプラント治療の適応拡大につながるることとなる。

3. 研究の方法

本実験において、OCP 単体を使用して予備実験を行った後、より操作性を増したOCP/Collagen を使用して同様の実験を施行した。実験動物としての家兎より 20ml の採血を行い、SmartPreP2（ハーベスト社）のダブルスピン法による遠心分離を用いてPRPの分離を行い、さらにPRPゲル作製のための専用アプリケーションを用いてPRPゲルを作製する。

家兎の両側副鼻腔に対して上顎洞挙上術の術式に準じて骨欠損部を形成する。

まず家兎の両側副鼻腔に上顎洞挙上術に準じて骨欠損部を形成し、右側にはコントロール群として骨欠損のみを形成する。



左側は実験群として、OCP 単体、自家骨（海綿骨髄）、PRPゲルを移植したものとする。術後、4週、8週と屠殺を行い副鼻腔を含む顎骨を摘出し、軟X線（ソフテックスウ）撮影を行い、現像した後に移植骨の状態とコントロール群を比較した。またマイクロX線CT撮影を行い、3次元的な骨の増生と骨の解像度等についてX線形態学的に検討を行った。一方、エックス線撮影を終了した摘出標本は、10%ホルマリンで固定後、EDTA脱灰溶液にて60日間脱灰を行い通法に従い脱水、透徹パラフィン包埋する。厚さ約4ミクロンの薄切切片を作成し、ヘマトキシレン-エオジン染色を行い検鏡し、コントロール群との骨増生（新生骨の形成）および骨吸収について組織学的に比較検討を行った。

4. 研究成果

家兎の上顎洞にOCP/Collagenを埋入したのち、8週経過後に屠殺を行い、頭頂部を摘出した。

(1) 摘出標本の形状について

摘出した標本の両側埋入部位の表面形状は、陥凹などもなくコントロール群および

実験群において特に変化なかった。



(2) 摘出標本の画像分析について

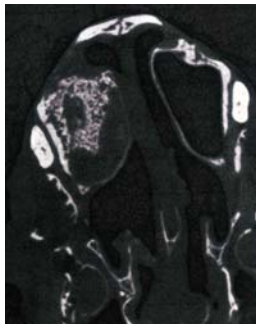
摘出標本をホルマリン固定後に、軟X線(ソフテックス)を用いて撮影を行った。撮影条件は、電圧 35kV と電流 5mA にて1分間X線照射を行い撮影した。

その結果は、コントロール群と比較し実験群において明らかなX線不透過像を呈し、骨の増生が認められた。



またマイクロX線CT検査ではコントロール群に比較して不透過像を呈し骨密度が有意に増強していた。

さらに3次元的な骨増生を検索するためにマイクロX線CT撮影を行ったところOCP/Collagenを埋入した部位にほぼ一致して不透過像を呈しコントロール群と比較して実験群において3次元的にも骨の増生が認められた。



(3) PRP ゲルと OCP/Collagen について

次いで実験動物としての家兎より採血を行い、遠心分離器を用いた規定どおりにPRPの分離を行い、PRPゲルを作製してOCPに混合させることにより3次元的な形態を維持した骨補填材を作成した。骨移植8週後に、屠殺を行い頭頂部を摘出し、前述と同様にX線学的解析を施行した。その結果X線学的にコントロール群と比較して不透過像を呈し、

良好な骨形成像を呈していた。

これらの結果からOCP/CollagenとPRPゲルを用いた骨増生法は、自家骨を必要とせず、第2の侵襲を加えることなく骨の増生が行える有用な方法である。

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9件)

①松井有恒、穴田貴久、益田泰輔、川井 忠、田沼裕志、鎌倉慎治、鈴木 治、越後成志：骨再生材料・リン酸オクタカルシウム/コラーゲン複合体(OCP/Co1)による骨造成能とメカニカルストレスの効果. 第29回(社)日本口腔インプラント学会 東北・北海道支部総会、2009年11月14日、盛岡市。

②川井 忠、松井桂子、鎌倉慎治、飯淵信也、松井有恒、穴田貴久、鈴木 治、越後成志：リン酸オクタカルシウム・コラーゲン複合体(OCP/Co1)による骨再生能の検討. 第29回(社)日本口腔インプラント学会 東北・北海道支部総会、2009年11月14日、盛岡市。

③川井 忠、穴田貴久、本田義知、鎌倉慎治、越後成志、鈴木 治：分化培地で前培養した間葉系幹細胞のOCP/Collagen骨補填材への種播効果. 第54回(社)日本口腔外科学会総会 2009年10月9日、札幌市。

④田沼裕志、松井桂子、川井 忠、松井有恒、飯淵信也、佐々木和夫、鈴木 治、鎌倉慎治、越後成志：成犬頭蓋骨欠損モデルにおけるOCPコラーゲン複合体と β -TCPの骨形成能. 第63回日本口腔科学会、2009年4月16日、浜松市。

⑤松井有恒、穴田貴久、益田泰輔、本田義知、川井 忠、鎌倉慎治、鈴木 治、越後成志：リン酸オクタカルシウム・コラーゲン複合体(OCP/Co1)の骨造成能とメカニカルストレスの影響. 第63回日本口腔科学会、2009年4月16日、浜松市。

⑥川井 忠、穴田貴久、益田泰輔、本田義知、坂井裕大、加藤幸夫、鎌倉慎治、越後成志、鈴木

木 治：間葉系幹細胞を組み合わせたリン酸オクタカルシウム・コラーゲン複合体の骨再生能. 第63回日本口腔科学会、2009年4月16日、浜松市.

⑦田沼裕志、松井桂子、川井 忠、松井有恒、飯淵信也、佐々木和夫、鈴木 治、鎌倉慎治、越後成志：イヌ頭蓋骨欠損モデルにおけるOCPコラーゲン複合体と β -TCPとの骨形成能の比較. 第8回日本再生医療学会総会、2009年3月5日、東京.

⑧松井有恒、穴田貴久、本田義知、宮武尚央、益田泰輔、川井 忠、鎌倉慎治、越後成志、鈴木 治：リン酸オクタカルシウム/コラーゲン複合体 (OCP/Co1) による皮質骨上への骨造成の試み. 第8回日本再生医療学会総会、2009年3月5日、東京.

⑨越後成志、松井桂子、君塚 哲、川井 忠、松井有恒、飯淵信也、鎌倉慎治、鈴木 治：「骨再生を探る」 臨床と基礎研究. 第54回東北大学歯学会、2009年2月27日、仙台.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

君塚 哲 (KIMIZUKA SATOSHI)

東北大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：50302154

(2) 研究分担者

鎌倉 慎治 (KAMAKURA SHINJI)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：80224640

鈴木 治 (SUZUKI OSAMU)

東北大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号：60374948