

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：33902

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K17212

研究課題名（和文）口唇裂・口蓋裂患者の顎裂部閉鎖に用いる新規補填材の臨床応用

研究課題名（英文）Clinical application of new material for jaw cleft patients

研究代表者

吉岡 基子（Yoshioka, Motoko）

愛知学院大学・歯学部・招へい教員

研究者番号：00612003

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：炭酸アパタイトをラット口蓋裂に移植後、放射線学的評価としてCT撮影を移植前、移植後4、8、12、16週で行ったが、母骨と移植材料のCT値が近接しており、区別が困難で正確な数値を求めることができない可能性が高く、新生骨の評価方法はH-E染色、TRAP染色及びALP染色による組織学的評価により破骨細胞数と骨芽細胞数をカウントし、骨代謝の生じる時期について検討した。移植後12週よりも16週時において破骨細胞数及び骨芽細胞数が有意に多く存在した。以上より骨のリモデリングは移植後緩やかに行われ、移植床の母骨を吸収しすぎずマイルドな骨代謝を期待することができ、顎裂骨欠損部への移植は有効であると考えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在顎裂の骨欠損部に対する骨再建は、犬歯萌出期に行う自家骨（腸骨）移植が主流であるが、小児にとって採取の際の負担は大きい。それを軽減するための治療法として人工材料である炭酸アパタイトが自家骨の代替移植材料として利用が可能か否かを検討すべく、ラット口蓋裂を用いた移植実験を行い、組織学的及び放射線学的評価を行った。その結果、炭酸アパタイトは母骨を吸収しすぎずマイルドな骨代謝を期待することができ、顎裂骨欠損部への移植材料として有効であると評価できた。

研究成果の概要（英文）：After transplanting carbonated hydroxyapatite into cleft palate rats, CT imaging was performed as a radiological evaluation before transplantation, and at 4, 8, 12, and 16 weeks after transplantation. It was difficult to distinguish because the CT values of the mother bone and the transplanted materials were almost same to each other. As a method for evaluating new bone, the number of osteoclasts and osteoblasts were counted by histological evaluation by HE staining, TRAP staining, and ALP staining, and the timing of bone metabolism was examined. The number of osteoclasts and osteoblasts was significantly higher at 16 weeks than at 12 weeks after transplantation. Based on the above, it was considered that bone glue modeling is performed gently after transplantation, mild bone metabolism can be expected without excessive absorption of the mother bone of the transplantation area, and transplantation to the cleft bone defect of the jaw is effective.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：顎裂部骨再生 骨再生 炭酸アパタイト

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

口唇裂・口蓋裂 (CLP) は、歯槽骨および口蓋に骨欠損を生じ、顔面形態と咬合改善のための骨移植を必要とする、日本人で最も出生報告の高い先天異常 (奇形) で、本邦では 25 ~ 30 万人の患者がこの病気で苦しんでいる。本疾患では現在、骨欠損部に腸骨を用いた骨移植を学童期に行うことが多い。しかしながら腸骨移植の際の侵襲は大きく、長期入院の必要や術後の疼痛、運動制限、後遺症の存在など、改善すべき問題点は多い。CLP 患者本人およびその家族、特に両親にとっては、心身的な負担の軽減につながるため、腸骨移植に代わる新規治療は待ち望まれていることである。そこで腸骨の代用となる移植材料の利用が考えられるが、口腔内の骨再生においては、歯の萌出や移動の障害とならない、つまり、速やかに吸収されかつ確実に新生骨に置き換わる性質を持つ素材である必要がある。

これまで申請者は、CLP 患者顎裂部骨移植時の腸骨採取に伴う侵襲を低減しながら骨再生を達成する方法として、骨髄由来未分化間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cells: MSC) (MSC) と炭酸アパタイト (carbonated-hydroxyapatite; CHAP) 担体の移植による骨再生療法に関する検討を重ねてきた。この度 CHAP が新規骨補填材として国の承認を得、現在では正式に骨補填材として販売が開始されている。CHAP が認可済みの骨補填材となったことで、これまでよりスムーズな検討が行えるようになった。CLP の骨再生では、ただ骨が再生されればよいというわけではなく、骨再生部への歯の萌出を妨げず、再生部への歯の移動が可能であるような、正常骨と同様の代謝を有する骨の再生が必要である。骨移植は歯科矯正治療と並行して行われることが多く、移植後速やかに歯の萌出および移動が可能となる骨の再生が望まれる。MSC に関しては、しかしながら、より低侵襲を求めて顎骨から採取する際のその骨髄液は微量であり、安定した供給源とは言い難く、細胞培養の際の薬剤、施設等多くの問題があった。

## 2. 研究の目的

本研究は CLP 患者の上顎骨欠損部に対する CHAP を用いた腸骨移植に代わる安全かつ低侵襲な骨再生療法を確立することを目的とする。

CHAP は元來生体の骨や歯の主要な無機成分であり、生体親和性および吸収性が高い利点を有しているため、生体適合性が高くかつ低侵襲な骨再生が可能となることが予測される。現在様々な骨補填材があるが、CLP における顎裂部の骨再生に最適と予想される CHAP の有用性を、ラット口蓋裂モデルを用いて検討および評価を行う。腸骨移植に置き換わる、CLP 患者の低侵襲な骨再生療法を確立することを目的とする。

## 3. 研究の方法

本研究では、基礎研究として 11 週齢メス SD ラットを用いた検討を行う。ラットの口蓋中央部の骨空洞に処置を施し口蓋裂モデルを作製する。上顎左側切歯歯肉辺縁部から 10 ミリ臼歯部方向へ骨膜下に切開を加え、骨膜を剥離し、口蓋中央部にある骨空洞 (左側口蓋裂) を明示し、口蓋裂モデルラットとする。作製した口蓋裂モデルラットに対して、CHAP や自家骨、その他の骨補填材を移植し、骨再生の検討と比較を行う。移植後の骨再生部の評価は放射線学および組織学的に検討する。

放射線学的評価は CT 撮影にて行い、移植前、移植後 4、8、12、16 週とする。組織学的評価は、移植後 12 週と 16 週で屠殺、組織切片を作製し、H-E 染色、TRAP 染色及び ALP 染色を行う。

さらに CHAP の評価を行った後は CHAP にヒト歯髄細胞を混和した際の骨再生に関する検討を行う。

#### 4. 研究成果

放射線学的評価は CT 撮影にて、移植前と移植後 4、8、12、16 週で行った (図 1)。新生骨の体積・密度について解析したが、母骨と移植材料の CT 値が近接しており、区別が困難で、正確な数値は求めることができない可能性が高いことがわかった。

そのため、新生骨の評価方法は組織学的評価が主体となった。移植後 12 週と 16 週で屠殺、組織切片を作製し、H-E 染色、TRAP 染色及び ALP 染色を行った。破骨細胞数と骨芽細胞数をカウントし、骨代謝の生じる時期について検討した結果、移植後 12 週よりも 16 週時において破骨細胞数及び骨芽細胞数が有意に多く存在しており、骨のリモデリングは移植後緩やかに行われると考察できた (図 2-4)。

以上のことから、CHAP に関しては移植床の母骨を吸収しすぎず、マイルドな骨代謝を期待することができ、顎裂部骨欠損部への移植は有効であると考ええる。

CHAP にヒト歯髄細胞を混和した際の骨形成に関しては、本研究期間内に結果が出ていないため、今後別の媒体で結果報告を行う予定である。

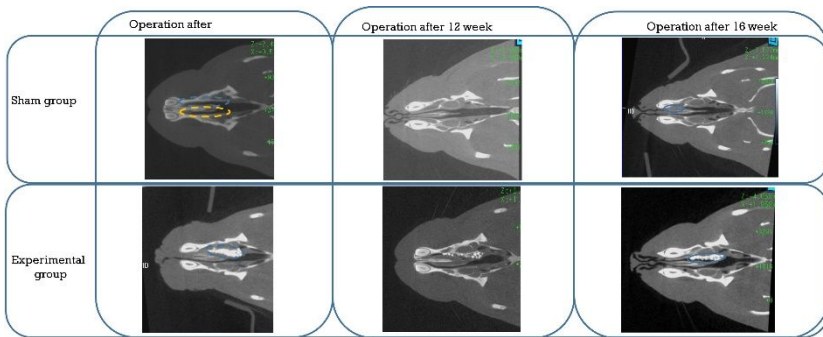


図 1 CT

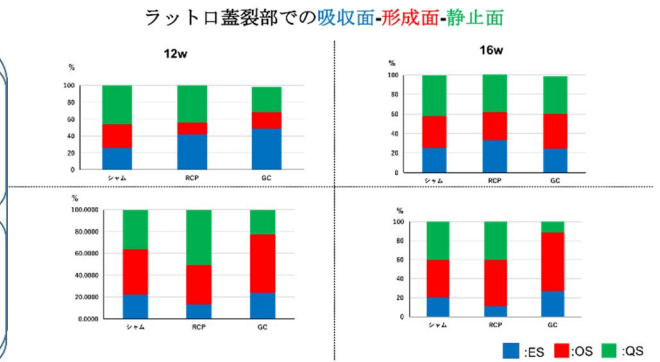


図 2 面積

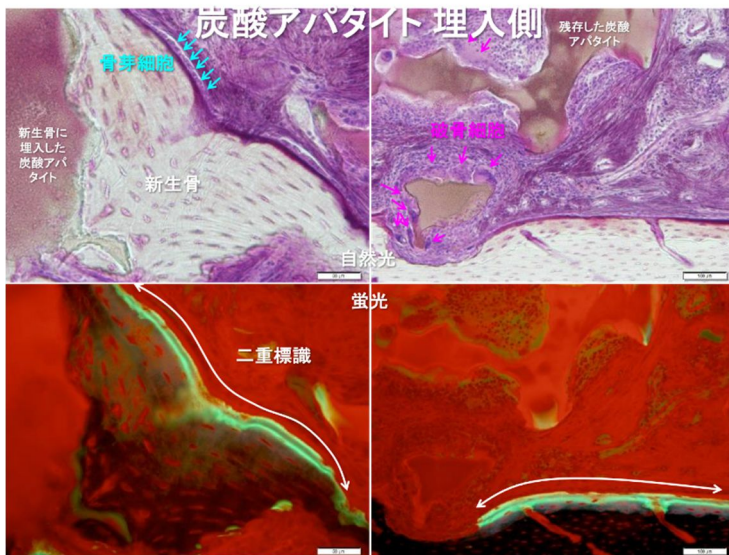


図 3 組織像

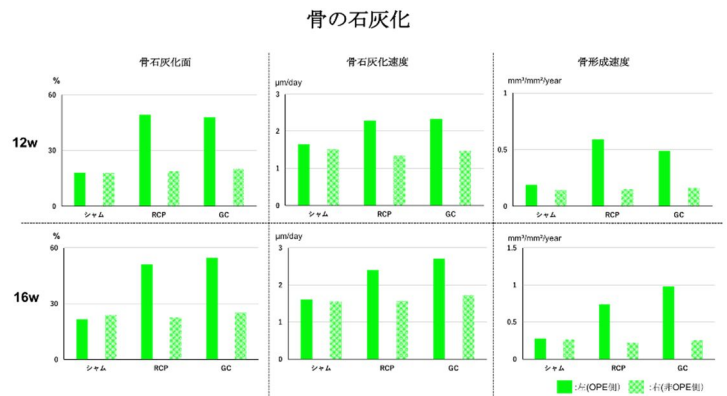


図 4 骨石灰化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Chimedtseren I, Yoshioka M, Ito M, Toriumi T, Akiyama Y, Garidkhuu A, Bazar A, Gantugs A-E, Jadamba T, Honda M, Natsume N:
2. 発表標題 Effect of “Carbonate Apatite” bone regeneration on Cleft lip and palate in SD rat
3. 学会等名 The Joint Meeting of the 59th Annual Meeting of the Japanese Teratology Society and the 13th World Congress of the International Cleft Lip and Palate Foundation - CLEFT 2019 (Nagoya) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshioka M, Shibazaki T, Minami K, Imura H, Natsume N
2. 発表標題 A maxillary and mandibular surgical treatment case of CLP patient without maxillary protraction.
3. 学会等名 The Joint Meeting of the 59th Annual Meeting of the Japanese Teratology Society and the 13th World Congress of the International Cleft Lip and Palate Foundation - CLEFT 2019 (Nagoya) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	夏目 長門  (Natsume Nagato)  (90183532)	愛知学院大学・歯学部・教授    (33902)	
研究協力者	井村 英人  (Imura Hideto)  (10513187)	愛知学院大学・歯学部・講師    (33902)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	芝崎 龍典 (Shibazaki Tatsunori) (70399757)	愛知学院大学・歯学部・招へい教員  (33902)	
研究協力者	伊東 雅哲 (Ito Masaaki)	愛知学院大学・歯学部・大学院生  (33902)	
研究協力者	秋山 泰範 (Akiyama Yasunori)	愛知学院大学・歯学部・大学院生  (33902)	
研究協力者	チメドツェレン イチンノロブ (Chimedtseren Ichinnorov)	愛知学院大学・歯学部・客員研究員  (33902)	