

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 2 日現在

機関番号：37114

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：平成 20 年度～平成 23 年度

課題番号：20390526

研究課題名（和文）bFGF による口蓋裂術後癒痕形成の制御に関する基礎的研究

研究課題名（英文）Study of effects of bFGF administration on the control of postoperative scar tissue formation after palatoplasty

研究代表者

石川博之（ISHIKAWA HIROYUKI）

福岡歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：20184492

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：口蓋裂、癒痕組織、bFGF、筋線維芽細胞、アポトーシス

1. 研究計画の概要

本研究では、Push Back 法による口蓋形成手術において、術直後の bFGF の局所投与により癒痕形成の抑制と上顎骨の成長抑制の緩和をはかる新しい口蓋裂治療の確立のため、動物モデル実験により基礎データの蓄積を目指す。具体的には、ラット口蓋に粘膜骨膜剥離の骨露出創を形成し、フィブリングルー塗布後に bFGF 水溶液の局所投与を行い、その創傷治癒過程の検索から、bFGF の筋線維芽細胞のアポトーシスの促進効果、コラーゲン線維成熟の抑制効果、血管新生の効果、さらに骨成長に与える影響を明らかにすることを目的とする。

2. 研究の進捗状況

平成 20 年度は、bFGF の筋線維芽細胞のアポトーシス促進効果について観察することを優先し、その評価法を確立するための資料採得と手技の確立を行った。

（方法）生後 20 日齢の雄性ウイスターラットの口蓋に粘膜骨膜剥離の骨露出創を作製して bFGF を投与後、前頭断連続切片を作成した。その後 TUNEL 染色を用いて筋線維芽細胞のアポトーシスを蛍光顕微鏡で観察した。

平成 21 年度は、確立した手技に基づき、bFGF の筋線維芽細胞のアポトーシス促進効果を以下の方法で評価し学会発表を行った。

（方法）対照群、粘膜骨膜を剥離した癒痕形成群、剥離直後に bFGF を投与しフィブリン糊で被覆した bFGF 投与群、Sham 群を設定した。術後 2 日、5 日、1 週、2 週に麻酔下に屠殺し前頭断連続切片を作製し、HE 染色による病理組織学的検索と筋線維芽細胞に発現する α -SMA とアポトーシス細胞を染め分け

る TUNEL 法の蛍光二重染色を用いて免疫組織化学的検索を行った。bFGF 投与群は、術後 5 日で癒痕形成群、Sham 群とほぼ同様に α -SMA のアポトーシス像を呈したが、術後 1 週以降では対照群に類似した組織像を示した。一方、癒痕形成群および Sham 群は、術後 5 日、術後 1 週でどちらもアポトーシス像が見られたが、術後 2 週では、どちらもアポトーシス像が見られなかった。これらのことから、bFGF 投与群は、癒痕形成群および Sham 群と比べ術後 5 日でアポトーシス反応が最も広範に認められアポトーシスが促進されていることが考えられた。

平成 22 年度は、bFGF の筋線維芽細胞のアポトーシス促進効果について定量的に評価した結果をまとめて学会発表を行った。

（方法）昨年度までの方法に加え α -SMA がアポトーシスを起こした面積を画像処理ソフトウェア ImageJ にて定量し、Scheffe 法にて多重比較検定を行った。

結果は、 α -SMA のアポトーシス陽性反応について、癒痕形成群、Sham 群において術後 5 日、1 週で対照群と比較して有意に増加し、術後 2 週で減少を認めた。一方、bFGF 投与群は、術後 2 日で対照群と比較して有意に増加し、術後 5 日以降で減少を認めた。このことから、bFGF を投与することにより、創傷治癒過程で現れる筋線維芽細胞のアポトーシスが促進されていることが考えられた。さらに、bFGF 投与群は、HE 染色像において術後 2 週で癒痕形成群、Sham 群と比較して線維性結合組織が疎であり対照群に類似した組織像を示し、二重免疫染色像において筋線維芽細胞と思われる α -SMA の陽性反応が減少していた。これらのことから、bFGF を投与することにより、筋線維芽細胞が減少し、癒

痕形成が緩和される可能性が考えられた。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由) 目的である bFGF の (1) 筋線維芽細胞のアポトーシスの促進効果、(2) コラーゲン線維成熟の抑制効果、(3) 骨成長に与える影響、さらに (4) 血管新生の効果のうち、(1) と (2) は結果が出ており今後論文にまとめる予定であること、(3) についても現在実験中であり今年度中に学会発表と論文投稿する予定であることから判断した。(4) についても免疫染色による検討を予定している。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 昨年度までの bFGF の筋線維芽細胞のアポトーシス促進効果について定量的に評価した結果を論文として公表する。

(2) 現在進めている、コラーゲン線維の動態と歯列幅に対する bFGF の効果について、実験結果をまとめる。結果は学会発表と論文投稿を行う予定である。

5. 代表的な研究成果

(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3件)

① 植木猛士、秦雄一郎、敦賀英知、沢禎彦、谷口邦久、石川博之 ラット口蓋部の創傷治癒における筋線維芽細胞のアポトーシスに対する bFGF 投与の定量的評価、第69回 日本矯正歯科学会大会、2010年9月27-29日、パシフィコ横浜 (神奈川)

② Yuichiro Hata, Takeshi Ueki, Kazuki Nakashima, Yuka Nakatomi, Eich Tsuruga, Yoshihiko Sawa, Kunihisa Taniguchi, Hiroyuki Ishikawa, Effect of Immediately Post-operative Administration of bFGF on Myofibroblast Apoptosis in the Wound Healing Process of Rat Palate、The 7th International Orthodontic Congress、2010年2月6-9日、Sydney Convention and Exhibition Centre (シドニー、オーストラリア)

③ 秦雄一郎、植木猛士、敦賀英知、沢禎彦、谷口邦久、石川博之 術直後の bFGF の局所投与はラット口蓋部の創傷治癒における筋線維芽細胞のアポトーシスを促進する、第68回日本矯正歯科学会大会、2009年11月17-18日、マリンメッセ福岡 (福岡)