

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月 16日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21791936

研究課題名(和文) セメント質および歯根膜を含む歯周組織再生を目指した歯根延長法の開発

研究課題名(英文) Development of tooth root distraction toward periodontal tissue regeneration with cementum and periodontal ligament.

## 研究代表者

小田 知生 (ODA TOMOO)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10378002

研究成果の概要(和文)：日本白色家兎の下顎骨および臼歯に対して歯槽骨骨切り及び歯根切断術を施行し、骨延長装置を装着した後、歯槽骨および歯根の仮骨延長術を施行した。延長中、低出力超音波パルス照射を併用した結果、延長部位にセメント質や歯根膜の再生が観察された。またX線画像では予想外に象牙質や歯髄にも一部再生を期待させる像が観察されたため組織学的評価を進めている。

研究成果の概要(英文)：Osteotomy of alveolar bone with molar roots were carried out in the mandible of Japanese white rabbit. Distraction osteogenesis of alveolus and tooth roots was performed after distractor was put on the mandible. During distraction, mandible of the ultrasound group was treated with low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS), and regeneration of cementum and periodontal ligament was observed in the lengthening site. Partial regeneration of dentin and pulp was radiographically observed contrary to our expectations, so that histological observation is attempted now.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯科医用工学・再生歯学

キーワード：再生歯学・セメント質再生

## 1. 研究開始当初の背景

齶蝕や歯周疾患に侵され抜歯の適応と診断される場合、歯冠や歯根の大半が病的状態となっており、通常の保存・補綴治療では耐えられないと判断されるが、健全な歯根が一部残存していることはよくある。もしこの歯根の一部を利用して、再び咬合力に耐えられる程度まで歯根を再生することができれば、

歯の喪失を防ぐことが可能となるばかりか、今まで不可能であった歯の再生が一部分であれ実現できることとなり歯の再生治療の糸口になる。

本研究者は、これまでの仮骨延長法に関する一連の研究で、顎骨欠損部の再建や変形症への応用、萎縮した歯槽骨の再生が可能であることを明らかにしてきた。これらの仮骨延長法に関する一連の研究から骨および骨

周囲組織の再生が可能であることと、組織再生を得るためには組織への血行が重要であることが示されてきた。また低出力超音波パルス(LIPUS)が骨形成を促進することは、既に知られており、骨延長での再生においても効果的であるとの報告がある。

顎顔面領域での仮骨延長法に関する報告はこれまで多くなされてきたが、本研究のような歯根延長法の報告はまだなく、さらに歯根延長法と低出力超音波パルス刺激を組み合わせた報告もない。従前行われた研究において仮骨延長法が歯胚に及ぼす影響を解析した結果では、骨延長によって形成途中の歯根が変形しながら完成し、萌出することが明らかとなったが、その実験では歯胚そのものは切断せず、その周囲の骨を切断した上での延長であることや歯根形成中の歯胚のため周囲組織からの血行が豊富な環境である点で、本研究の目的とは大きく異なり、歯根完成後の歯根そのものを切断して延長を行い、歯周組織を構成するセメント質・歯根膜・歯槽骨・歯肉のすべての再生を目指す本研究は、極めて独創的である。

本研究では、この組織延長術とも呼べる仮骨延長法の手法と低出力超音波パルスを組み合わせて歯根に応用して歯根を延長することで、セメント質・歯根膜・歯槽骨・歯肉の歯周組織を構成するすべての組織を再生させる方法を開発すべく計画した。

## 2. 研究の目的

骨組織に対して様々な方法でメカニカル・ストレスを加える実験が行われているが、低出力超音波パルスは偽関節部の仮骨形成の促進などのために臨床応用されており、急速骨延長法や骨硬化期間の短縮のためにLIPUS照射の併用が効果的であったとの報告がある。また仮骨延長法の原理は、組織を徐々に牽引するとストレスが生じ、それが組織の再生や発育を促進することであり、“Tension-Stress Effect”と呼ばれている。これまでに行われてきた研究では仮骨延長法によって骨のみではなく上皮を含む歯肉、神経、筋などの骨周囲組織も同時に再生できることが分かっている。また本研究者らの以前の研究において仮骨延長法が歯胚に与える影響を解析し、歯根の変形を観察している。しかし、この仮骨延長法によって歯根膜やセメント質を再生したという報告はない。また本研究者のこれまでの仮骨延長法の基礎研究の結果、骨形成には骨切り部の骨膜伸展と周囲組織の血行が重要であることが示唆されているが、単純に仮骨延長法を歯根延長に応用しても、特にセメント質は、無細胞セメント質があることや象牙質側からの血行が期待できない部位のため再生には困難が予

想される。そこで組織再生の促進を期待できる低出力超音波パルスを照射することでセメント質をはじめとする歯周組織の再生を促進させる効果があるか実験を行い、歯根延長によってセメント質・歯根膜・歯槽骨・歯肉を再生させることが可能かどうか、以下の3点を評価する。

- (1) 仮骨延長法を歯根延長に応用し、低出力超音波パルスを照射した場合のセメント質・歯根膜・歯槽骨・歯肉の再生へ及ぼす効果の評価。
- (2) 歯根延長における各組織の再生に対する至適条件の調査。
- (3) 歯髄および象牙質に対する影響の評価。

## 3. 研究の方法

(1) 歯根延長法に用いる延長デバイスの開発：顎骨延長装置を改良して、支持装置は歯根延長のために歯根幅より長いプレートとし、延長用スクリューについては標準的な延長速度(0.5~1.0mm/day)よりも低速に調節可能なようにピッチを細かく設定するように改良を行い作製する。予備実験で延長装置の骨固定性や耐久性などを評価し、本実験に適したものを開発する。

(2) 動物実験(歯根延長モデル)：ビーグル犬の下顎前臼歯を対象として歯根延長法を行う。右側を手術のみを行い延長は行わない対照側とする。左側を実験側として下顎前臼歯の歯根を含む歯槽骨を矩形に骨切りを行い、水平骨切りは歯根中央部を通るように設定する。移動歯根を含む移動骨片と母骨に延長デバイスを装着した後、7日間の待機期間を設定。その後、0.5mm/dayの速度で10日間の延長を行う。まず開発した延長デバイスを使用して予備実験を行い、標本の摘出を延長終了直後、2週後、4週後、8週後に行い、まず単純X線撮影とマイクロCTによる三次元的構造の観察を行う。

(3) 低出力超音波パルス照射の予備実験：無刺激下での歯根延長法による各組織再生の評価を対照群として、歯根延長中に低出力超音波パルス(周波数3.0MHz, パルス幅2ms, パルス周期10ms, 出力40mW/cm<sup>2</sup>)を15分間照射して、延長終了直後、2週後、4週後、8週後に単純X線撮影とマイクロCTによる三次元的構造の観察を行い、実験条件の妥当性を評価する。また、照射によって効果が上がらない場合は、待機期間中や延長終了後の低出力超音波パルス照射、また照射時間の延長などの照射条件の変更も検討する。

(4) 低出力超音波パルス照射の最適化実験：歯根延長法に低出力超音波パルス照射を併用した結果を踏まえて、照射の最適条件を調査する。待機期間中や延長終了後の低出力超音波パルス照射、また照射時間・照射回数な

どの照射条件を変更しながら組織再生を評価していく。単純X線撮影とマイクロCTによる三次元的構造の観察を行いながら、最適な照射条件を導く。

(5)再生セメント質・歯根膜・歯槽骨・歯肉の組織学的解析：歯根延長法単独での再生組織を組織学的に評価、さらに画像処理を行ってセメント質・歯根膜・歯槽骨・歯肉の再生を定量的に評価する。また、低出力超音波パルス照射を併用した歯根延長法での再生組織も同様に組織学的評価と定量化を行う。

(6)歯根延長法を行った部位での象牙質・歯髓の組織学的解析：上記のセメント質・歯根膜・歯槽骨・歯肉の再生を組織学的評価する際、同時に延長部位の象牙質および歯髓の組織学的な評価を行う。本研究においては、象牙質は細胞成分や血行の乏しさから十分な再生は困難と思われるため、その再生は主目的としていないが、そこにどのような反応が観察されるかによって、今後の研究発展への見通しが立てられることが期待でき、人工材料や幹細胞の培養・移植といった組織工学的手法の併用などによる再生治療の応用を検討する。

(7)歯根延長部の機械的性質の解析：一連の歯根延長法モデルや低出力超音波パルス照射の併用によって再生されたセメント質をはじめとする歯根の機械的性質を計測して、咀嚼に耐えるような歯根としての十分な機能が得られるかどうか評価する。

#### 4. 研究成果

(1)歯根延長法に用いる延長デバイスの開発：まず既製のチタン製ミニプレートを改良して延長用スクリューと組み合わせて開発したが、実験中にデバイスの破損が認められ、初期デバイスの強度不足が疑われた。そのため装置を改良して強度を向上させたデバイスで実験を行った結果、破損しなくなった。

(2)動物実験（歯根延長モデル）：ビーグル犬の下顎前臼歯を対象に歯根延長法を行ったが、当初はデバイス破損があったため計画より遅れてしまった。また手術の際には歯根と骨の切断面を揃えてデバイスを設置する計画であったが、実際の手技には困難な点があり手術手技の改善を検討しながら実験した。歯根延長については7日間の待機期間を設定し、0.5mm/dayの速度で10日間の延長を行った。予備実験として延長後4週間、8週間単独X線および病理組織学的検索を行った。

(3)低出力超音波パルス照射の予備実験については、(1)の予備実験で装置破損があったため初年度は実施できなかったが、装置の安定が確認された後、照射群を設定して初期条件として周波数3.0MHz、パルス幅2ms、パルス周期10ms、出力40mW/cm<sup>2</sup>を15分間照射す

る実験を行った。

(4)再生セメント質・歯根膜・歯槽骨・歯肉の組織学的解析：初年度の予備実験で延長装置の破損が問題になり、装置改良のため実験に遅れがでていたが、順調に歯根延長法が動物実験で実施できるようになったので、ビーグル犬の下顎前臼歯を対象に歯根延長法を行い、骨標本を作製し組織学的評価をした。一部でセメント質の延長が観察されたが、周囲骨との癒合や線維組織の形成が多く再生組織の評価が非常に困難なものが多かった。本実験で期待した組織再生のためには、さらに手術手技の精度向上、特に歯根の切断面をより正確に位置合わせすることと切断時の組織のロスを抑制する必要があるのではないかと考え実験計画の一部変更を検討した。また歯根延長に関する条件については当初、7日間の待機期間を設定し、0.5mm/dayの速度で10日間の延長を行っているが、この条件についても手術手技の精度向上と合わせて再検討した。また低出力超音波パルス照射に関しては予備実験での、照射群で初期条件の周波数3.0MHz、パルス幅2ms、パルス周期10ms、出力40mW/cm<sup>2</sup>、15分間照射で組織再生を促す傾向を示しており、先程の実験結果が改善すれば、相乗効果の期待できそうな所見であった。

(5)歯根延長法を行った部位での象牙質・歯髓の組織学的解析：最終年度の研究ではそれまでの実験で延長装置の破損の問題や、不十分な組織再生に対する対策を検討した上で動物実験を遂行した。まず装置の強度向上のために骨延長装置に専用の製品を取り入れた所、強度とともに精度も向上した。また強大な咀嚼力に対抗するために装置の改善だけではなく実験動物もビーグル犬から日本白色家兎に変更して検討することにした。また手術手技の精度向上のために骨切り術に薄刃レシプロケーティングソーを導入して組織のロスを抑制するように工夫を加えた。歯根延長に関する条件については、当初の通り7日間の待機期間を設定し、0.5mm/dayの速度で10日間の延長を行っていて、その他条件については今後の検討課題として残されている。低出力超音波パルス照射に関しては照射群では初期条件の周波数3.0MHz、パルス幅2ms、パルス周期10ms、出力40mW/cm<sup>2</sup>、15分間照射で組織再生を促す傾向を得たので、本年度もこの条件で先に述べた改良実験を進めた。照射条件の変更しながら最適な照射条件を導く所までは出来なかったが、単純X線撮影での観察では歯根延長を行った部位では昨年度までの実験結果と同様に歯槽骨再生が得られた他、昨年度までは不完全な再生であったセメント質や歯根膜の再生が観察された。また予想外に象牙質や歯髓まで延長されて再生しつつある画像所見が得

られた。現在、組織標本を作製して歯根延長で得られた再生組織の評価をしている所であり、結果が解析でき次第、学会発表等をしていく予定である。

#### 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 2 件)

- ①Hideharu Hibi, Kiyoshi Sakai, Tomoo Oda, Hisashi Hattori, Minoru Ueda, Masaru Sakai. Stability of a locking plate and self-drilling screws as orthodontic skeletal anchorage in the maxilla: a retrospective study. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 査読有, 68: 1783-1787, 2010.
- ②Tomoo Oda, Kazuhiko Kinoshita, Minoru Ueda. Effects of Cortical Bone Perforation on Periosteal Distraction: An Experimental Study in the Rabbit Mandible. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 査読有, 67: 1478-1485, 2009.

[学会発表] (計 14 件)

- ①加納史也、小田知生、吉見涼子、木下一彦、服部 宇、日比英晴、上田 実、Treacher Collins 症候群に伴う小下顎症に対して骨延長を施行した 1 例、第 56 回 日本口腔外科学会総会・学術大会、2011. 10. 22、大阪
- ②木下一彦、片桐渉、大杉将嗣、八島明弘、健石英夫、小田知生、日比英晴、上田 実、幹細胞培養上清由来成長因子を用いたウサギ上顎洞挙上術モデルにおける骨形成性の検討、第 56 回 日本口腔外科学会総会・学術大会、2011. 10. 22、大阪
- ③Hattori H, Sieron A L, Oda T, Hibi H, Ueda M, Fertala A. Testing the utility of rationally engineered recombinant collagen-like proteins for applications of bone regeneration in tissue engineering. World conference on regenerative medicine, 2009. 10. 29-11. 2 Leipzig, Germany
- ④井上崇徳、小田知生、服部 宇、日比英晴、上田 実、口蓋に発生した筋上皮腫の 1 例、第 55 回 日本口腔外科学会総会・学術大会、2010. 10. 16、幕張
- ⑤服部 宇、浜村和紀、木下一彦、池野正幸、渋谷英伸、廣中克紀、小田知生、上田 実、機能性リコンビナントコラーゲンの基礎的研究 第 2 報スキヤフォールドとしての検討、第 54 回 日本口腔外科学会総会・学術大会、2009. 10. 10、札幌

⑥高後友之、小田知生、服部 宇、日比英晴、上田 実、特異な X 線像を呈した良性セメント芽細胞腫と単純性骨嚢胞が併発した 1 例、第 54 回 日本口腔外科学会総会・学術大会、2009. 10. 9、札幌

⑦ Hideharu Hibi, Kazuhiko Kinoshita, Daiki Mizuno, Tomoo Oda, Hisashi Hattori, Minoru Ueda. Internal transport distraction for mandibular reconstruction. 13th Biennial International Congress Incorporating the Paris Distraction Symposium, 2009. 9. 26 Oxford, UK

[図書] (計 1 件)

小田知生、他、医学書院、今日の治療指針 2011 年版 2011 年 pp.1320-1321

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

小田 知生 (ODA TOMOO)  
名古屋大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：10378002

##### (2) 研究分担者なし

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者なし

( )

研究者番号：