

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 25 年 5 月 23 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22792078

研究課題名（和文）水平性骨欠損部の歯周組織再生量の増大を目的とした成長因子複合移植法の検討

研究課題名（英文）Research of the implantation method of the mixture of growth factor to increase the amount of periodontal tissue regeneration of horizontal bone defect

研究代表者

齋藤 恵美子（SAITO EMIKO）

北海道大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：80374528

研究成果の概要（和文）：本研究では、歯周組織再生量の増大をはかる目的で、成長因子の担体の構造が歯周組織再生に与える影響、および、BMP と FGF の併用の有効性を検索した。その結果、内径 300 μ m のトンネル構造の場合、移植材内部および欠損全体に血管新生が促進され、骨形成が増大した。このことより血管を誘導する構造の重要性が示された。さらに、BMP と FGF の多層移植法を用いた場合には、単独または混合した場合よりも、新生骨と新生セメント質の形成量の増大がみられ、さらに異常治癒を抑制した。以上の結果から、考案した多層移植法が、歯周組織再生に有効である可能性が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：This study investigated the effect of the combination of BMP and FGF, and the effect of structure of carrier used when the growth factor was implanted with the aim of increase of periodontal regeneration. A tunnel pipe structure having an inner diameter of 300 μ m induced an increase in cells and blood vessels derived from the residual bone into carrier and the bone defects, and that the amount of the bone reparation increased. This study suggested that the structure to conduct the vessel invasion was important. Additionally, the new bone formation and cementum formation of the multi-layer implantation method consisting of both BMP-2-containing carrier and bFGF-2-containing carrier were larger than that of the complex implantation method of BMP-2 and bFGF-2 and BMP-2 or bFGF-2 only implantation method. The aberrant healing like ankylosis was inhibited, too. From the above results, this study suggested that implantation method of the multi-layer using both BMP-2-containing carrier and bFGF-2-containing carrier could enhance periodontal regeneration.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
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・歯周治療系歯学

キーワード：歯周外科学

1. 研究開始当初の背景

現在、垂直性骨欠損を適応症とする歯周組織再生療法が臨床応用されているにもかかわらず、水平性骨欠損に有効な歯周組織再生療法はない。これは歯冠側に向かって骨を形成することが困難なためであると考えられる。

異所性の骨誘導能をもつ **BMP(Bone Morphogenetic Protein)**は、水平性骨欠損部にも歯槽骨を形成するが、**BMP** の強力な骨再生能力が歯根面上に直接働くことによって、根面で骨性癒着したり、根吸収を生じる異常治癒を引き起こすと報告され、臨床応用には至っていない。

研究代表者は、この骨性癒着と根吸収は、従来行われてきた根面に直接接触させて移植する移植法に原因があると考えたので、スプレーを用いた新しい移植法を行って、この異常治癒を抑制出来ることを報告した。

しかし、臨床に即した歯周炎モデルでの検索では、歯周組織再生量が単なる骨欠損モデルに比べて減少し、歯周組織欠損に対して新生骨量は 11%、結合組織性付着が 52%であった。今後は再生量の増加についての検討が必要と考えられる。

そこで、骨誘導能をもつ **BMP** と結合組織形成能を有する **FGF-2** の二つの成長因子を組み合わせることで移植を行うことで歯周組織の再生量が増大できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、ビーグル犬に作製した歯周組織欠損モデルを用いて、以下の項目を本研究の目的とした

- ①担体の構造が歯周組織再生へ与える影響を検索する。
- ②**BMP** と **FGF** の併用の有効性を検索するとともに、新しく考案した移植法の歯周組織再

生への有効性を検討する。

3. 研究の方法

(1) 担体の構造が歯周組織再生に与える影響についての検索

ビーグル犬の前臼歯部の分岐部に分岐部Ⅲ級骨欠損モデルを作製した。

実験群は、作製した骨欠損部に内径 300 μ m のトンネル構造をランダム方向に配列したスキャホールド (β -TCP) の移植を行った。比較群は、連続気孔を持つオスフェリオン[®]の移植を行った。コントロール群は何も移植をおこなわなかった。

観察期間は 8 週とし、病理組織標本作製、病理組織学的観察および組織計測を行った。

(2) 成長因子を組み合わせることによる歯周組織再生に与える影響の検索

ビーグル犬の上下顎前歯部に歯槽骨を骨頂より 4mm 削除して水平性骨欠損モデルを作製した。

コラーゲンを担体として、以下の 5 群を設定して、移植を行った。

- i) **BMP-2** と **bFGF-2** を混合して担体に配合して移植を行う群(**FB-M group**)
 - ii) **BMP-2** と **bFGF-2** をそれぞれの個々の担体に配合して、歯根面側 **bFGF-2/collagen** を移植してその上に重ね **BMP-2/collagen** の移植を行う群(**FB-DL group**)
 - iii) **BMP-2** を担体に配合して移植を行う群(**B group**)
 - iv) **bFGF-2** を担体に配合して移植を行う群(**F group**)
 - v) コラーゲンを移植する群(**control group**)
- 1 週間に 1 度ブラッシングを行い、体調管理を行った。

8 週の観察期間終了後に、病理組織標本作製、病理組織学的観察および組織計測を行っ

た。

4. 研究成果

(1) 内径 300 μ m のトンネル構造をランダム方向に配列したスキャホールド (β TCP) が、連続気孔を持つオスフェリオンよりも移植材内部および欠損全体に血管新生が促進され、骨形成が増大した。

Histometric Analysis of Periodontal Healing (Group mean \pm SD in percentage)

Parameter	実験群 (n=10)	比較群 (n=10)	コントロール群 (n=10)
Regenerated bone area	38.6 \pm 4.3* [†]	30.8 \pm 3.4	24.2 \pm 9.3
Epithelium	6.94 \pm 5.6* [†]	29.5 \pm 8.8	48.2 \pm 3.1
New cementum	69.4 \pm 6.1* [‡]	51.6 \pm 7.8 [‡]	23.4 \pm 11.6

n=number of sites; P value by Kruskal-Wallis test.

*Significantly different from control group ($p < 0.01$).

[†]Significantly different from control group ($p < 0.01$).

[‡]Significantly different from control group ($p < 0.05$).

(2) BMP-2 と bFGF-2 を組み合わせて移植を行う際、同一担体内に同時に配合して移植を行った場合には、新生骨の形成量が増大するが、異常治癒（アンキローシス）が発生した。一方、われわれが考案した、多層移植法を用いて根面側に bFGF-2/collagen の移植を行い、その上に重ねて BMP-2/collagen の移植を行った場合には、新生骨の形成量の増大、新生セメント質の形成量の増大、さらに異常治癒を抑制した。

以上の結果から、歯周組織再生を目的として、成長因子を組み合わせて移植を行う場合には、移植法が影響することが明らかとなった。

Histometric Analysis of Periodontal Healing (Group mean \pm SD in percentage)

Parameter(%)	Junctional epithelium	New cementum	New bone	Ankylosis
control group	82.8 \pm 8.5	4.1 \pm 5.0	-1.38 \pm 4.45	0 \pm 0
F group	30.6 \pm 8.5 ^a	34.5 \pm 12.0 ^a	9.4 \pm 14.7	0 \pm 0
B group	27.8 \pm 6.6 ^b	13.3 \pm 11.5	41.0 \pm 17.1 ^b	4.7 \pm 8.1
FB-M group	28.8 \pm 8.2 ^c	7.57 \pm 7.43	73.1 \pm 11.8 ^{c,g}	18.1 \pm 16.3 ^{c,g}
FB-DL group	28.6 \pm 9.8 ^d	59.1 \pm 10.3 ^{d,e,f}	61.4 \pm 9.01 ^{d,h}	0 \pm 0 ^f

Kruskal-Wallis test; statistical differences between the five groups.

^a C group vs F group ($p \leq 0.05$)

^b C group vs B group ($p \leq 0.05$)

^c C group vs FB-M group ($P \leq 0.05$)

^d C group vs FB-DL group ($p \leq 0.05$)

^e B group vs FB-DL group ($p \leq 0.05$)

^f FB-M group vs FB-DL group ($p \leq 0.05$)

^g F group vs FB-M group ($p \leq 0.05$)

^h F group vs FB-DL group ($p \leq 0.05$)

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)

1. Emiko Saito, Akira Saito, Yoshinori Kuboki, Mariko Kimura, Yoshiyuki Honma, Tomomi Takahashi, Masamitsu Kawanami: Periodontal repair following implantation of beta-tricalcium phosphate with different pore structures in class III furcation defects in dogs. **Dental Materials Journal** 31: 681-688.(2012)査読有
2. Akira Saito, Emiko Saito, Yoshitaka

Yoshimura, Dairo Takahashi, Ryohei Handa, Yoshiyuki Honma, Noboru Ohata: Attachment formation after transplantation of teeth cultured with enamel matrix derivative in dogs. *Journal of Periodontology* 82 :1462-1468.(2011)査読有

[学会発表] (計 18 件)

1. Emiko Saito, Akira Saito, Hitomi Odanaka, Toshinori Nakajima, Fumihiko Yuge, Hiroki Uekita, Yoshiyuki Honma, Masamitsu Kawanami: Periodontal healing after implantation of combination BMP with B-FGF in circumferential defects of dogs. 第 98 回米国歯周病学会、2012 年 9 月 30 日、ロサンゼルスコンベンションセンター、アメリカ.
2. Akira Saito, Emiko Saito, Toshinori Nakajima, Fumihiko Yuge, Tsuyoshi Kato, Hiroki Uekita, Yoshiyuki Honma, Noboru Ohata: Periodontal regeneration following application of basic fibroblast growth factor 2 in combination with beta tricalcium phosphate in class III furcation defects in dog. 第 98 回米国歯周病学会、2012 年 9 月 30 日、ロサンゼルスコンベンションセンター、アメリカ.
3. 弓削文彦, 齋藤 彰, 齋藤恵美子, 加藤剛士, 中島利徳, 上北広樹, 大畑 昇: コラーゲンハニカム構造が水平性骨欠損部の歯周組織治癒に及ぼす影響. 第 121 回日本補綴学会 2012 年 5 月 26-27 日, 神奈川県民ホール/産業貿易センタービル, 横浜.
4. 加藤剛士, 齋藤 彰, 齋藤恵美子, 中島利徳, 弓削文彦, 上北広樹, 大畑 昇: 根分岐部欠損 III 度へ bFGF-2 配合ランダムトネル型 -TCP を移植した後の歯周組織再生; 第 121 回日本補綴学会 2012 年 5 月 26-27 日, 神奈川県民ホール/産業貿易センタービル, 横浜.
5. 上北広樹, 齋藤 彰, 齋藤恵美子, 弓削文彦, 中島利徳, 加藤剛士, 大畑 昇: 根分岐部欠損 III 度へ移植した β TCP の気孔構造が歯周組織再生に及ぼす影響. 第 121 回日本補綴学会, 2012 年 5 月 26-27 日, 神奈川県民ホール/産業貿易センタービル, 横浜.
6. 中島利徳, 齋藤恵美子, 齋藤 彰, 弓削文彦, 加藤剛士, 上北広樹, 大畑 昇: エムドゲインと BMP の併用が水平性骨欠損の歯周組織治癒に及ぼす影響. 第 121 回日本補綴学会, 2012 年 5 月 26-27 日, 神奈川県民ホール/産業貿易センタービル, 横浜.
7. Akira Saito, Emiko Saito, Dairo Takahashi, Fumihiko Yuge, Tsuyoshi Kato, Yoshiyuki Honma, Noboru Ohata: Effect of tunnel pipe structure of bone grafts on periodontal regeneration in furcation class III defects. 第 97 回米国歯周病学会, 2011 年 11 月 11-15 日, マイアミビーチコンベンションセンター (アメリカ).
8. Emiko Saito, Akira Saito, Ryohei Handa, Yoshiyuki Honma, Masamitsu Kawanami: Periodontal healing after transplantation of teeth cultured with EMD in vitro. 第 97 回米国歯周病学会, 2011 年 11 月 11-15 日, マイアミビーチコンベンションセンター, アメリカ.
9. 齋藤 彰, 齋藤恵美子, 大畑昇: 根分岐部欠損 III 度へ移植した β TCP の気孔構造が歯周組織再生に及ぼす影響. 第 54 回日本歯周病学会秋季学術大会. 2011 年 9 月 24

- 日, 海峡メッセ下関, 山口.
10. 齋藤恵美子, 齋藤 彰, 半田良平, 小田中瞳, 川浪雅光: 根分岐部欠損Ⅲ度へbFGF-2 配合ランダムトンネル型 β -TCP を移植した後の歯周組織再生. 第 54 回日本歯周病学会秋季学術大会, 2011 年 9 月 24 日, 海峡メッセ下関, 山口.
 11. Emiko Saito, Akira Saito, Ryohei Handa, Masamitsu Kawanami: Effect of Enamel matrix derivative Application for healing after transplantation of teeth with periodontitis. 第 43 回日本結合組織学会学術大会 第 58 回マトリックス研究会 合同学術集会, 2011 年 6 月 10 日, 別府ビーコンプラザ, 大分.
 12. 齋藤恵美子, 齋藤 彰, 高橋大郎, 半田良平, 川浪雅光: 重度歯周炎罹患歯の移植後の治癒に対するエムドゲイン塗布の効果. 第 134 回日本歯科保存学会春季学術大会, 2011 年 6 月 9 日, 東京ベイ舞浜ホテル, 東京.
 13. 弓削文彦, 齋藤 彰, 齋藤恵美子, 谷野之紀, 加藤剛士, 大畑 昇: エムドゲインを塗布する前に行う根面処理が抜去歯の残存歯根膜へ及ぼす影響: 日本補綴歯科学会第 120 回記念学術大会, 2011 年 5 月 20 日, 広島国際会議場, 広島.
 14. 加藤剛士, 齋藤 彰, 齋藤恵美子, 弓削文彦, 大畑 昇: 歯牙移植後の付着様式に与えるエムドゲイン塗布と組織培養の影響. 日本補綴歯科学会第 120 回記念学術大会, 2011 年 5 月 20 日, 広島国際会議場, 広島.
 15. Akira Saito, Emiko Saito, Yoshinori Kuboki, Yoshitaka Yoshimura, Dairo Takahashi, Yoshiyuki Honma, Hiroko Takita, Mariko Takayama, Ryohei Handa, Keishi Honma, Noboru Ohata: Effect of

- tunnel pipe structure of bone grafts on regeneration. IADR 88th General Session, 2010 年 7 月 14-17 日, バルセロナ国際コンベンションセンター, スペイン.
16. Emiko Saito, Akira Saito, Yoshinori Kuboki, Dairo Takahashi, Yoshiyuki Honma, Hiroko Takita, Mariko Takayama, Ryohei Handa: Bone and vascular formation by a beta-TCP with random-tunnel structure in furcation class III defects. 第 42 回日本結合組織学会学術大会 第 57 回マトリックス研究会 合同学術集会, 2012 年 8 月 19-20 日, 秋田拠点センター・アルヴェ, 秋田.
 17. 齋藤 彰, 齋藤恵美子, 友永章雄, 弓削文彦, 加藤剛士, 小野倫之, 大畑 昇: 歯牙移植後の付着様式に与えるエムドゲイン添加培養歯根膜の効果. 平成 22 年度日本補綴歯科学会東北・北海道支部学術大会, 2010 年 10 月 24 日, 北海道歯科医師会館, 北海道.
 18. 齋藤 彰, 齋藤 恵美子, 福本真大, 大畑 昇: rhBMP-2 の担体に感温性ゲルを移植した場合の硬組織形成. 日本補綴歯科学会第 119 回学術大会, 2010 年 6 月 12 日, 東京ビッグサイト, 東京.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 恵美子 (SAITO EMIKO)
北海道大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号: 80374528