

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2011～2015

課題番号：23592891

研究課題名(和文) 骨成長因子・骨補填材を用いた骨造成術における三次元的・病理組織学的検討

研究課題名(英文) 3-dimensional and histo-pathological examination on the bone augmentation using bone growth factor and bone substitute

研究代表者

西原 一秀(Nishihara, kazuhide)

琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：30253892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では骨造成術における骨成長因子、骨補填材の有用性をCBCTによる3次元の並びにHE染色とTRAP、ALP免疫染色による病理組織学的に評価・検討した。骨造成術には自家骨単独とPRP、CGFなどの骨成長因子、HA、HA+b-TCP、b-TCPなどの骨補填材を用いた。骨成長因子のみ骨造成では十分な骨造成は見られなかったが、骨補填材と混合した骨造成は十分な骨造成を認め、自家骨単独より骨吸収は少なかった。

研究成果の概要(英文)：In this present study, the effects of bone growth factor and bone substitute on the bone augmentation by three-dimensional (3-D) and histopathological evaluation were examined. 3-D evaluation was used cone beam CT and histopathological was HE staining and TRAP or ALP immunostaining. The bone augmentation was performed by the materials using autologous bone alone and the mixed bone growth factor (PRP or CGF) and a bone substitutes (HA or HA + b-TCP or b-TCP). The bone augmentation using only bone growth factor was not sufficiently observed on the 3-D and histopathological evaluation. On the other hand, the bone augmentation using the materials mixed bone growth factor and bone substitute is observed enough. The bone resorption on this bone was small than that on the bone using the autologous bone alone.

研究分野：口腔外科

キーワード：骨造成 骨補填材 骨成長因子

1. 研究開始当初の背景

咀嚼機能の維持・向上は、健康の増進ならびに楽しい食生活をおくるために、歯科医師に最も求められている役目である。これまで、不幸にして歯を歯周病や外傷などで失った場合には、その機能を補綴治療で維持し、多数歯欠損では床義歯による治療が行われてきた。しかし、最近では多くの患者がインプラント治療による欠損補綴によって違和感の少ない、審美的・機能的な咬合機能が回復されている。インプラント治療では、インプラントを長期間維持するために患者のインプラント埋入部位に十分な骨量が必要である。したがって、骨が著しく欠損している部位では、積極的に骨造成術を行ってインプラントが埋入されている。

骨造成術に用いられる骨移植材では、自家骨がGolden Standardと従来から云われているが、自家骨は手術部位が複数になり手術侵襲が大きくなる、必要十分な骨量が採取できない、骨造成後の吸収率が大きいなどの問題点が指摘されているために、インプラント治療では人工骨の骨補填材や骨成長因子など自家骨と組み合わせて骨造成術を行うことが多い。しかし、骨造成術によって確実にインプラントが埋入できる骨量およびインプラントを支持する骨質が得られているかは不明である。また、どのような骨補填材と骨成長因子が臨床的に最も有効的な組み合わせであるかどうかの検索は十分に行われていない。

われわれは、これまで唇顎口蓋裂患者の顎裂部骨移植術に自家骨ならびに骨成長因子を多く含む多血小板血漿(Platelet Rich Plasma、以下、PRP)を用いて骨再生および骨増生の形成過程をアルミ当量値により経時的に観察し、PRPが自家骨の骨再生機能を促進し、骨密度が増大するなどPRPの有用性について報告した。また、骨補填材であるβTCPやハイドロキシアパタイト(HA)と骨成長因子PRPを自家骨と混合し、ソケットブリザーベーションや上顎洞底挙上術、悪性腫瘍術後の顎骨欠損部に使用した。そして、臨床的効果をパノラレントゲン写真で経時的に観察した結果、上顎洞底挙上術においてパノラマ写真による経時的評価では、βTCP+HA混和骨補填材は、術後1年でインプラント周囲の骨吸収はほとんど認めず、良好な結果であったが、この評価は二次元的な形態変化に過ぎず、詳細な病理組織学的検索は行われなかった。したがって、インプラントを長期間支持できるための三次元的な骨形態ならびに病理組織学的な骨質については不明な点が多い。

そこで、今回、本研究では骨造成術後の骨形

態について三次元的ならびに骨質の病理組織学的検索によってインプラント治療に有効な骨造成術の材料、方法を解明することとした。

2. 研究の目的

本研究では、人工骨補填材(β-TCP、HA、)自家骨、骨成長因子(PRP、CGF(concentrated growth factor)、BMPなど)を使用してインプラント治療のための骨造成術(上顎洞底挙上術、サイナスリフト、ソケットブリザーベーション、GBR)を行い、人工骨補填材単独、自家骨+人工骨補填材、自家骨+人工骨補填材+PRP、CGFなど、人工骨補填材の使用法を変更して骨造成術に効果的な人工骨補填材、骨成長因子の使用法を三次元的形態および病理組織学的に解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) インプラント治療・骨造成術について

骨欠損部に対してインプラント治療を希望するが、骨量が不足している患者に自家骨移植、人工骨補填材、骨成長因子(PRP、CGF、BMP)の使用についての利点、欠点を説明し、患者に使用する骨移植材を決定させる。その骨移植材を使用して上顎洞底挙上術、サイナスリフト、ソケットブリザーベーション、GBRなどの骨造成術を行う。

(2) 骨組織の採取および組織切片の作成

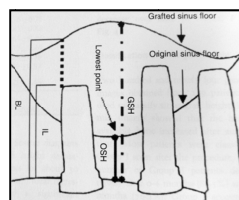
骨造成術後3~6か月後にインプラントを埋入する。その時にトレフィンバーを用いて骨試料を採取する。採取した骨試料は脱灰標本として保存する。パラフィン固定された骨試料を組織標本として使用する。

(3) 免疫組織学的検討

組織標本はHE染色、TRAP/ALP染色に骨芽細胞、破骨細胞の分化の状態、骨組織における分布の状態、骨補填材の作用を評価する。

(4) CBCTによる三次元的骨形態の検討

骨形態は、パノラマ、デンタルX線写真での評価と同時に、CBCTを使用して三次元的に骨形態を評価する。



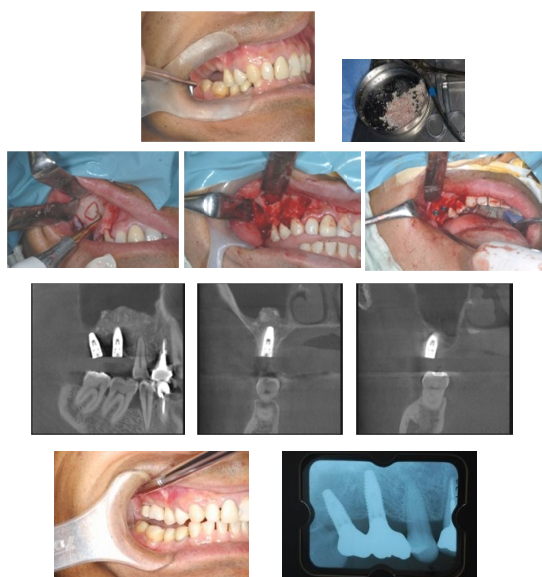
パノラマ写真による骨形態の評価方法

以上の評価をもとにインプラント治療・骨移植術を継続しながら、経時的に骨形態の変化を評価する。

尚、本研究は鹿児島大学病院臨床研究倫理委員会にて「濃厚血小板および人工骨補填材を用いた骨造成術における三次元的・病理組織学的検討」にて承認のもと行われた。

4. 研究の成果

(1) インプラント治療・骨造成術について「上顎洞底挙上術の術式」



(2) 免疫組織学的検討

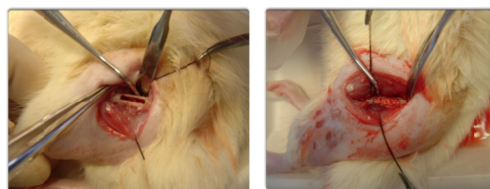
bTCP における経時的变化について

基礎的な研究成果のために動物実験を行った。尚、本研究は鹿児島大学動物実験倫理委員会の承認を得て行われた。

対象：週齢 18 週の Wister 系ラットを用いて研究を行った。

| | 体重 | 移植床 | | 経過 |
|---|-------|--------|--------------------|------|
| 1 | 348.0 | 10×3×2 | Autogenous | 1Y3M |
| 2 | 481.8 | 7×3×2 | β-TCP + Autogenous | 1Y2M |
| 3 | 345.4 | 10×3×2 | β-TCP | 1Y3M |
| 4 | 558.6 | 10×3×2 | β-TCP | 1Y0M |
| 5 | 517.0 | 10×3×2 | β-TCP + Autogenous | 1Y0M |
| 6 | 481.8 | 7×3×2 | Autogenous | 1Y2M |
| 7 | 502.5 | 7×3×2 | None | 1Y2M |
| 8 | 468.7 | 7×3×2 | β-TCP + Autogenous | 1Y2M |

方法：ラットの大腿骨に 10*5mm の骨欠損部を作製し、骨欠損部に bTCP 単独、自家骨単独、bTCP と自家骨の混合した補填剤を挿入し、1 年以上経過後に病理組織学的ならびにレントゲンの評価を行った。



[ラットの大腿骨の骨欠損部作製]

結果

1) ソフト X 線写真

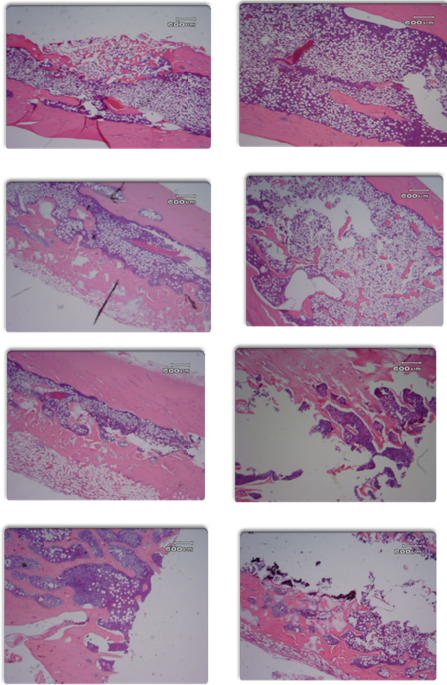
| | |
|---|--------------------|
| 1 | Autogenous |
| 2 | β-TCP + Autogenous |
| 3 | β-TCP |
| 4 | β-TCP |
| 5 | β-TCP + Autogenous |
| 6 | Autogenous |
| 7 | None |
| 8 | β-TCP + Autogenous |



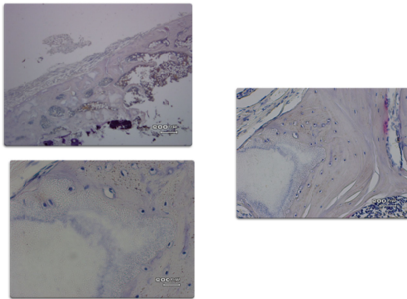
術後 1 年経過では、自家骨単独の骨欠損部は自家骨で覆われ、周囲骨と区別されなかった。しかし、bTCP を使用した骨欠損部は不透過性が亢進し、周囲骨より欠損部が明らかになっていた。したがって、骨の硬化性が増大したと推測される。

2) 病理組織学的検討

「HE 染色」



「 β TCP 充填骨の ALP、TRAP 染色」



β -TCP 周囲に新生骨を認めた。
 β -TCP は生体内に残存している。
 β -TCP および新生骨周囲には骨芽細胞および破骨細胞はほとんど見られなかった。
 β -TCP 単独より自家骨と併用した方が新生骨の密度が高くなることが示唆された。

3) 骨造成術後のレントゲンの検討



| | absorption % (<12M) | absorption % (>=12M) |
|------|---------------------|----------------------|
| 1 | 80.50% | 69.90% |
| 2 | 95.00% | 93.70% |
| 3 | 71.40% | 66.00% |
| | 81.63% | 78.47% |
| 4 | 99.50% | 98.90% |
| Avg. | 85.61% | 81.39% |
| 5 | 74.20% | - |

自家骨単独が最も吸収率が高かった。
骨充填の方法で吸収率は異なった。
初期の3か月で吸収されるが、その後はほとんど吸収されていなかった。

したがって、骨吸収は骨の remodeling が行われる初期に大きく、その後の経過は安定することが示唆された。

5. 症例報告

「顎骨腫瘍術後に自家腸骨と骨補填材を使用して咬合再建した1例」

患者: 40歳、男性

初診日: 1999年6月

主訴: 下顎左側臼歯部の腫瘍形成

現病歴: 1999年6月、下顎左側臼歯部の腫瘍と自発痛を自覚したために近医歯科医院を受診し、精査目的に紹介にて当科を受診。

外来にて36抜歯と生検を施行し、病理組織学的診断はエナメル上皮腫であった。同年、9月に全身麻酔下に33、34、35の抜歯と腫瘍切除術ならびに開窓術を施行した。

術後4年6か月時に腫瘍の再発増大を認めためたために再度腫瘍切除術を行って経過観察していたが、再手術後5年目に自己中断した。

2011年12月、下顎左側臼歯部の腫脹を主訴に再診し、2012年2月にエナメル上皮腫再発にて腫瘍切除術、下顎骨区域切除術、腸骨ブロック骨による即時顎骨再建術を行った。その後、腫瘍の再発はなく経過良好である。術後、同部に固定性による補綴治療を希望されたために、インプラント治療による固定性の広範囲顎骨支持型補綴治療を計画した。

既往歴: 高血圧症、脂肪肝

現症:

全身所見: 体格はやや痩せ型で、栄養状態は良好であった。

口腔外所見: 左側頬部に瀰漫性の腫脹が見られ、自発痛を認めた。頬部の痺れは認めなかった。

口腔内所見: 左側臼歯部の歯肉頬移行部に圧

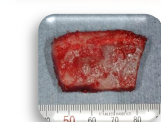
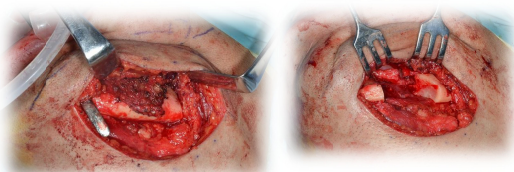
痛を認め、4(失活歯)に打診を認めた。



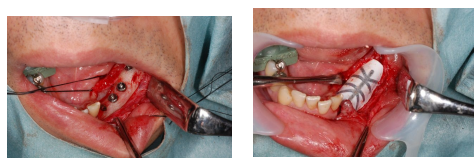
「初診時パノラマ X 線写真」



「口腔内写真」



「腫瘍切除時写真」



「インプラント埋入時」



「インプラント補綴終了後」

まとめ：

顎骨腫瘍切除後の口腔機能再建には、自家腸骨と骨補填材による骨造成術はインプラント補綴治療を可能とし、有用な治療法と考えられた。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計7件)

- 1) 田中莊子, 西原一秀, 野添悦郎, 新崎 章, 中村典史: 歯科用インプラント埋入後の上顎洞関連合併症の検討, 日本口腔インプラント学会, 28 巻, 45-51, 2015
- 2) Kazuhide Nishihara, Etsuro Nozoe, Aya Maeda, Norifumi Nakamura et. al.: Outcome following secondary autogenous bone grafting before and after canine eruption in patients with cleft lip and palate. The Cleft Palate-Craniofacial Journal, 51, 165-171, 2014
- 3) Aya Maeda, Sawako Uehara, Kazuhide Nishihara, Norifumi Nakamura, et. al.: Changes in grafted autogenous bone during Edgewise treatment in patients with unilateral cleft lip/palate or alveolus. The Cleft Palate-Craniofacial Journal, 51, 525-532, 2014
- 4) Takao Fuchigami, Norifumi Nakamura, Kazuhide Nishihara, et. al.: Short-term effects on the upper alveolar arch following unilateral cleft lip with/without nasal vestibular expansion. The Cleft Palate-Craniofacial Journal, 51, 557-568, 2014
- 5) Kouzo Matsumoto, Etsuro Nozoe, Kazuhide Nishihara, Norifumi Nakamura, et. al.: Surgical strategy for primary bilateral cleft lip and palate and short-term outcomes in comparison to those healthy children. Oral Science International, 1-7, 2013
- 6) 大河内孝子, 西原一秀, 中村典史, 他: 小児期の片側性唇裂外鼻二次修正術の三次元的解析. 日口外誌, 59, 301-310, 2013
- 7) Shin-ichiro Yoshinime, Kazuhide Nishihara, Etsuro Nozoe, Masako Yoshimine, Norifumi Nakamura: Topographic Analysis of Premolars and Molars and Maxillary Sinus using cone Beam Computed Tomography. Implant Dentistry. 21, 528-535, 2012

(学会発表)(計8件)

- 1) 西原一秀, 中村典史, 新崎 章, 他: 下顎骨エナメル上皮腫切除後に腸骨移植術とインプラント治療による咬合再建を行った1症例。第33回日本口腔インプラント学会九州支部学術大会 2016年1月30日 長崎 長崎ブリックホール
- 2) K. Nishihara, N. Nakamura, T. Goto, A. Arasaki, et. al.: Short-term outcome after a modifying protocol of secondary autogenous bone grafting in

- our clinic. 2014.9.9 2014. Ulaanbaatar, Mongolia.
- 3) 西原一秀、中村典史、他:二次的顎裂部骨移植術再考後の短期成績。第38回日本口蓋裂学会総会・学術集会 2014年5月29日 札幌 札幌コンベンションセンター
- 4) 西原一秀:顎裂部骨移植術を行うひとのためのコツとポイント。日本口腔外科学会総会・学術大会 2013年10月11日 福岡 福岡国際会議場
- 5) 西原一秀、中村典史、他:当科における二次的顎裂部骨移植術の術後評価。第67回日本口腔科学会学術集会 2013年5月23日 宇都宮 栃木県総合文化センター
- 6) Kazuhide Nishihara, Norifumi Nakamura, et al.: Outcome following secondary autogenous bone grafting before and after canine eruption in patients with cleft lip and palate. 12th International congress on CLP Craniofacial anomalies. 2013.5.7 Florida USA.
- 7) 西原一秀、中村典史、他:唇顎口蓋裂患者に対する二次的顎裂部骨移植術の術後評価。第24回日本小児口腔外科学会総会・学術大会 2012年11月24日 名古屋 名古屋国際会議場
- 8) 西原一秀、松山孝司、中村典史、他:当院を受診したインプラントチロ湯に関する偶発症・合併症患者の臨床的検討。第42回日本口腔インプラント学会・学術大会 2012年9月22日 大阪 大阪国際会議場

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西原一秀 (NISHIHARA KAZUHIDE)
琉球大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号:30253892

(2) 研究分担者

中村典史 (NAKAMURA NORIFUMI)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・教授
研究者番号:60217875

田松裕一 (TAMATSU YUICHI)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・准教授
研究者番号:80266569

松山孝司 (MATSUYAMA TAKASHI)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・准教授
研究者番号:40253900

新崎 章 (AKIRA ARASAKI)
琉球大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号:00175960

後藤尊広 (TAKAHIRO GOTO)
琉球大学・医学部附属病院・助教
研究者番号:60578912

牧志祥子 (SHOKO MAKISHI)
琉球大学・医学部附属病院・助教
研究者番号:60457679