

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24792182

研究課題名(和文)ゼラチンハイドロゲルを用いたFGF除放による顎骨延長法の改良

研究課題名(英文)Gelatin hydrogel as a carrier of FGF during rat mandibular distraction

研究代表者

樺沢 勇司(KABASAWA, YUJI)

東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・講師

研究者番号：10396963

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的はrhFGF-2によるラット顎骨延長モデルを用いた骨新生効果がゼラチンハイドロゲルによってどのような効果があるかを評価することにある。28匹の雄ウイスターラットを5グループに分けた。rhFGF-2単独(n=5)、コラーゲン単独(n=6)、コラーゲン+rhFGF-2(n=6)、ゼラチンハイドロゲル単独(n=5)、ゼラチンハイドロゲル+rhFGF-2(n=6)。下顎骨は29日後に摘出。切片を作製した。グループ5がコラーゲンに比べて著明に皮質骨量や骨密度が上昇した。著明な新生骨量の増加が認められた。グループ5はまた、破骨細胞数の増加を認めた。

研究成果の概要(英文)：Purpose: The aim of the present study was to evaluate the feasibility of a gelatin hydrogel system to enhance recombinant human fibroblast growth factor-2 (rhFGF-2) induced osteogenic effects during rat mandibular distraction.

Materials and Methods: Mandibular distraction was performed in 28 male Wistar rats. Then, the rats were divided into 5 groups in which the designated gel mix was inserted into the distracted area: group 1, rhFGF-2 alone (n = 5); group 2, collagen alone (n = 6); group 3, collagen incorporating rhFGF-2 (n = 6); group 4, gelatin hydrogel alone (n = 5); and group 5, gelatin hydrogel incorporating rhFGF-2 (n = 6). Results: Peripheral quantitative computed tomographic analysis, von Kossa staining, and calcein staining showed that using gelatin hydrogel with rhFGF-2 (group 5) significantly increased cortical bone mineral density. Group 5 also had a significantly larger number of cells compared with group 3 and radiopaque areas were observed more frequently.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系歯学

キーワード：口腔外科 骨延長 ゼラチンハイドロゲル FGF

1. 研究開始当初の背景

bFGF は骨形成促進作用のある成長因子です。しかし生物学的半減期が短く、また高用量では骨形成を抑制することも報告されています。bFGF を効果的に用いる方法のひとつとして担体の使用が有ります。bFGF に適した担体の条件とは、徐放可能であり、また生理活性の維持が可能な材料です。近年、徐放が可能で生物活性の維持が可能な担体としてゼラチンハイドロゲルが注目されています。臨床研究ではヒトの脛骨骨折に bFGF 含有ゼラチンハイドロゲルを使用することにより骨形成が促進された事が報告されています。しかし下顎骨延長に bFGF とゼラチンハイドロゲルを用いた研究の報告はありませんでした。

2. 研究の目的

下顎骨延長の治療期間を短縮するため、成長因子として bFGF、その担体として gelatin hydrogel を用いました。その結果ラット下顎骨延長での骨形成への影響を評価することを目的としました。

3. 研究の方法

下図の様に、28 匹のウイスターラット 28 匹を 5 群に分けました。

Table 1. THE FIVE EXPERIMENTAL GROUPS USED IN THIS STUDY

Materials	Group 1 (n = 5)	Group 2 (n = 6)	Group 3 (n = 6)	Group 4 (n = 5)	Group 5 (n = 6)
rhBFGF	○		○		○
Collagen		○		○	
Gelatin hydrogel					○

Abbreviation: rhBFGF, recombinant human fibroblast growth factor-2.

延長部に下顎切歯が入ってしまうため、実験開始日、2 日、4 日目に下顎切歯先端をトリミングし、6 日目に切歯を抜歯、抜歯 7 日後に第二臼歯近心部で骨切りし、初期延長を 1.5mm とし延長装置を装着しました。延長部に各種材料を填入しました。

5 日間の待機期間を設け、1 日に 0.6mm の延長を 6 日間、計 3.6mm の延長を行いました。

骨を標識するため延長終了後 10 日目と 16 日目にカルセインを投与し、18 日間の保定期間を設け、屠殺しました。解析は放射線学的、組織学的に行い、スタットビュー（解析ソフト）にて統計学的解析を行いました。放射線学的には延長部を soft X 線と、 μ CT での 3D 構築にて視覚的な評価をしました。また pQCT では、延長中央部 0.8mm の範囲の 3 断面の測定値を用い、石灰化骨の成熟度、骨塩量・骨密度を計測しました。放射線学的な分析の後、下顎骨を MMA 包埋し、骨切り線と平行に 5 μ m に非脱灰切片を作製しました。

組織学的には、延長中央部の切片を用い、von kossa 染色では染色された面積を KS400 で計測し、蛍光ラベリングはカルセインにて標識された面積を KS400 で計測しました。また TRAP 染色にて染色された、1 視野あたりの破骨細胞数を計測しました。

4. 研究成果

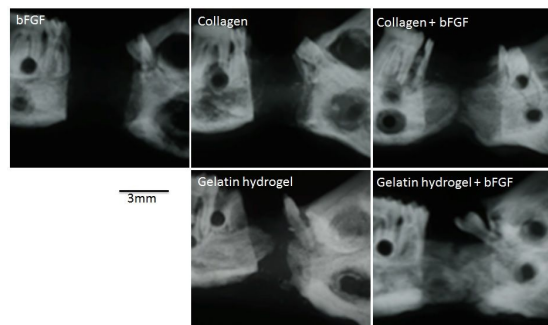
bFGF 含有ゼラチンハイドロゲルを填入した群で延長部の不透過性の亢進を認めました。皮質骨面積も大きくなっていました。つまり、骨量の増加、骨の成熟度の進行が認められました。

破骨細胞数の増加も認められ、骨リモデリングが盛んに行なわれたことが示唆されました。

ラット下顎骨延長モデルにおいて bFGF の担体としてゼラチンハイドロゲルを用いる事によりコラーゲンをを用いた場合と比べ、骨形成が亢進しました。

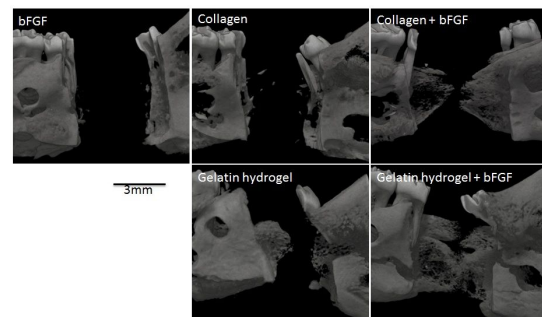
以下に図を用いて、結果を説明いたします。(図 1)として軟 X 線写真所見を示します。

(図 1)



(図 2)は同部位のマイクロCTの画像です。

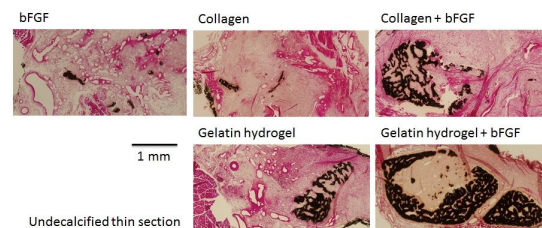
(図 2)



(図 3)は非脱灰標本を von kossa 染色した組織像です。

染色された面積は、bFGF 含有ゼラチンハイドロゲルの群においてその他の群と較べ広くみえています。

(図 3)

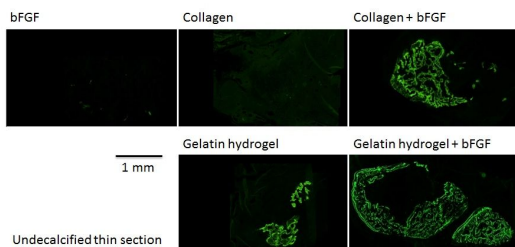


(図 4)はカルセインにて蛍光標識された面積です。

bFGF 含有ゼラチンハイドロゲルを用いた群では 2 重ラベルが入り、より骨形成が亢進し

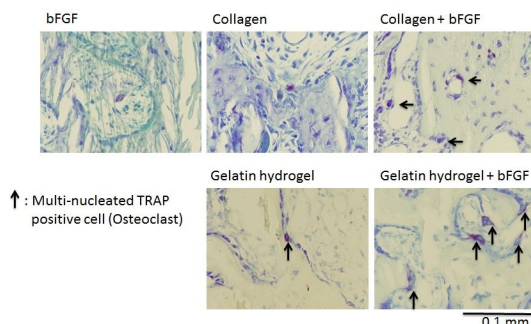
ていることがわかり、その他の群と較べ面積も広く認められました。

(図4)



(図5)として、TRAP染色で染色された2核以上の破骨細胞を示します。1視野あたりの破骨細胞数は bFGF 含有ゼラチンハイドロゲルの群でその他の群と較べ多くみられました。

(図5)



以上の結果から、下顎骨延長において bFGF 含有ゼラチンハイドロゲルの使用により治療期間を短縮できる可能性が示唆されました。

本研究によって、FGF の担体として、ゼラチンハイドロゲルが有用であることが改めて示され、今後の臨床研究への足がかりを付けることが出来た。

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)

- Kimura A, Kabasawa Y, Tabata Y, Aoki K, Ohya K, Omura K: Gelatin hydrogel as a carrier of recombinant human fibroblast growth factor-2 during rat mandibular distraction. J Oral Maxillofac Surgery, 2014, e1-17. (査読あり)
- Kabasawa Y, Sato M, Kikuchi T, Sato Y, Takahashi Y, Higuchi Y, Omura K :

Analysis and comparison of clinical results of bilateral sagittal split ramus osteotomy performed with the use of monocortical locking plate fixation or bicortical screw fixation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013 Nov;116(5):e333-4 (査読あり)

〔学会発表〕(計 7 件)

Kabasawa Y, et.al, The feasibility of gelatin hyrogogel as a carrier of bFGF-2 for bone formation in rat mandibular distraction. 2014年9月23日 - 26日、プラハ、チェコ

Kabasawa Y, et.al., Mandibular prognathism treatment in patients with OSAS: two case reports. TOMS annual meeting 2014年3月8日・9日、台南市、台湾

木村敦、権沢勇司 他、ラット下顎骨延長における bFGF 含有 gelatin hydrogel の有用性、2014年3月5日、京都

木村敦、権沢勇司 他、ラット下顎骨延長モデルを用いた bFGF 含有ゼラチンハイドロゲルの有用性評価、口腔病学会、2013年12月6日、東京

木村敦、権沢勇司 他、ラット下顎骨延長モデルを用いた bFGF 含有ゼラチンハイドロゲルの有用性評価、第33回日本薬物療法学会、2013年12月6日、東京

権沢勇司、他、上下顎骨同時形成術後の口唇および咬合平面のカント変化の検討、第23回日本顎変形症学会、2013年6月13日、大阪

Kabasawa Y et.al, Analysis of facial palsy after orthognathic surgery. XXI congress of EACMFS, 2012年9月。ドブロブニク、クロアチア

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：

取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

榊沢 勇司 (KABASAWA Yuji)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研
究科・講師
研究者番号：10396963

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：