

平成 2 8 年 6 月 2 0 日現在

機関番号： 1 2 6 0 2

研究種目： 若手研究(B)

研究期間： 2013 ~ 2015

課題番号： 2 5 8 6 1 9 1 7

研究課題名 (和文) 薬剤徐放性生体吸収メンブレンとFGF-2・骨髄幹細胞を用いた顎骨延長法の確立

研究課題名 (英文) Establishment of mandibular distraction using drug controlled release-related living body absorption membrane and FGF-2, marrow stem cells

研究代表者

樋口 佑輔 (HIGUCHI, YUSUKE)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号： 2 0 6 3 5 5 3 6

交付決定額 (研究期間全体) : (直接経費) 3,000,000 円

研究成果の概要 (和文) : 本研究目的は、ウサギ顎骨モデルにおいて、線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) の徐放化を図るためにゼラチンハイドロゲル・骨髄幹細胞を応用した顎骨延長術に、さらに、骨形成の再建治癒促進を図るために、吸収性薬剤徐放性メンブレンで被覆した場合に、より早期に成熟安定した骨形成が得られるかを評価解明することである。その結果、従来の骨延長と比べ、X線像において延長部の不透過性の亢進を認め、pQCT では、延長中央部の皮質骨骨密度や皮質骨量の増加を認め、骨の成熟度の進行が明らかとなった。また組織学的にも von Kossa 染色にて染色された面積、calcein ラベリングにより標識された面積の増加を認めた。

研究成果の概要 (英文) : This study was designed to evaluate the effect of drug controlled release-related living body absorption membrane and FGF-2, marrow stem in rabbit mandibular distraction. Peripheral quantitative computed tomographic analysis, von Kossa staining, and calcein staining showed significantly increased cortical bone mineral density, also had a significantly larger number of cells and radiopaque areas were observed more frequently. The present findings suggested that the combined use of drug controlled release-related living body absorption membrane and FGF-2, marrow stem cells reduced the treatment period for distraction osteogenesis and accelerated the formation of a new high-quality bone.

研究分野： 外科系歯学

キーワード： 骨延長 メンブレン FGF-2 骨髄幹細胞 吸収性人工骨

1. 研究開始当初の背景

骨延長法は、手術侵襲も比較的少なく、骨そのものを延長して骨の形態を整える他に、その周囲の軟組織を含めた histogenesis といわれている。すなわち、組織伸展法(Tissue expansion)として、伸展余剰皮膚を作成し再建に用いる方法としても応用されており、組織の拘縮に対して、骨病変における再建においても応用可能であると言える。

口腔外科領域、特に顎変形症治療では、最終的な咬合状態を目標に骨延長を行う必要性があり、延長方向に角度をつけた3次元的な延長が必要となってくる。そのためには、あらかじめ骨片間の距離に間隙をつくる、すなわち、Initial gap を設定することが有効とされている。

しかし、欠点として、延長期間、保定期間が長い、骨形成量不足などの欠点があり患者側に負担をかけている。期間が長期化すると、延長装置周囲の感染や骨の感染を引き起こす可能性がある。

欠点を改善するひとつの方法として、Initial gap に -TCP を充填し、FGF-2 を添加する方法が考えられる。しかし、FGF-2 の用量が多くなること、また用量を増量しても、その効果が延長初期に限られるため、さらなる骨新生を期待するには限界があった。FGF-2 を持続的に皮下投与することが有効との報告があるが、臨床応用を考えると、現実的ではない。FGF-2 の徐放性を付与させることが、現実的であり、そのために徐放性ゼラチンハイドロゲルに着目した。また、このゼラチンハイドロゲルは、骨髄幹細胞を含めることで、さらなる骨新生効果をもつことが報告されており、骨形成を行う細胞が十分に供給されることで、FGF-2 との相互効果を期待した。また、吸収性薬剤徐放性メンブレンで骨延長部を被覆することによって骨形成を促進させるテクニックを応用することにより、粘膜治癒促進をはかり、骨延長の利点である硬組織のみならず軟組織を含めた再建を試み、生体内のポテンシャルを十分に活用する方法を開発することを目指とする。

2. 研究の目的

ウサギ顎骨モデルにおいて、吸収性人工骨 -TCP に growth factor のひとつである線維芽細胞増殖因子(FGF-2)の徐放化を図るためにゼラチンハイドロゲル・骨髄幹細胞を応用した顎骨延長術に、さらに、骨形成・粘膜軟組織の再建治癒促進を図るために、吸収性薬剤徐放性メンブレンで被覆した場合に、より早期に成熟安定した骨形成および周囲軟組織の再建が得られるか否かを有害事象の有無を含め評価解明し、臨床応用を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

Initial gap は、3mm とし、1mm/日 10 日間の延長期間とした。ウサギ大腿骨からの骨髄細胞の採取を行い、骨髄幹細胞を誘導。FGF-2 を含浸させたゼラチンハイドロゲルに骨髄幹細胞を含め、骨切り部に -TCP と FGF-2 (50 µg) 含有ゼラチンハイドロゲル骨髄幹細胞を填入した。薬剤徐放性メンブレンで延長部を被覆し、延長装置を装着し、骨延長を開始した。延長終了後骨標識としてカルセインを皮下投与した。保定後屠殺し、下顎骨を摘出した。その後、軟 X 線、µCT にて下顎骨延長部の不透過性を比較検討した。また pQCT において、下顎骨延長中央部の皮質骨骨密度、硬組織面積、皮質骨面積、全骨骨塩量、皮質骨骨塩量を比較検討した。さらに同部の非脱灰薄切標本を作製し、カルセインにて標識された面積の計測、von Kossa 染色にて染色された面積、TRAP 染色を施し染色された 2 核以上の破骨細胞数を比較検討した。

4. 研究成果

従来の骨延長と比べ、軟 X 線、µCT 像において延長部の不透過性の亢進を認め、pQCT では、延長中央部の皮質骨骨密度、硬組織面積、皮質骨面積、全骨骨塩量、皮質骨骨塩量の増加を認め、骨の成熟度の進行為明らかとなった。また組織学的にも von Kossa 染色にて染色された面積、calcein ラベリングにより標識された面積の有意な増加を認め、石灰化骨の量が多いことが明らかとなった。同様に従来の骨延長と比べ TRAP 陽性細胞数の有意な増加を認め、骨リモデリングが盛んに行われていることが示唆された。

以上の結果から、薬剤徐放性生体吸収メンブレンと FGF-2・骨髄幹細胞を下顎骨延長法に応用することにより、間葉系細胞が増加し、骨形成の促進、破骨細胞数の増加がおり、骨のリモデリングの亢進が認められる可能性が考えられ、治療期間を短縮できる可能性が示唆された。

しかし下顎骨延長におけるゼラチンハイドロゲルによる FGF-2 の最適な徐放期間や今回の研究における骨形成に働くメカニズムの評価は解明されておらず、さらなる分析が必要であると考えられた。

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 3 件)

Marukawa E, Tamai M, Takahashi, Y, Hatakeyama I, Sato M, Higuchi Y, Kakidachi H, Taniguchi H, Sakamoto T, Honda J, Omura K, Harada H.: Comparison

of magnesium alloys and poly-L-lactide screws as degradable implants in a canine fracture model. J Biomed Mater Res B Appl Biomater.2015.(査読あり)
森 正次, 樋口佑輔, 相澤 悟: 2 次性メトヘモグロビン血症の既往を持つ患者の抜歯の 1 例. 日本口腔診断学会雑誌第 27 巻 3 号, Page 307-310 2014.(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. 116(5):e333-41. 2013.(査読あり)

〔学会発表〕(計 16 件)

樋口佑輔 他, Le Fort I 型骨切り術に伴う鼻口唇形態変化の検討. 第 60 回日本口腔外科学会総会・学術大会 2015 年 10 月 16 日-18 日, 名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)
樺沢勇司, 樋口佑輔 他, 顎矯正手術後の神経障害に対する鍼治療の臨床的効果. 第 60 回日本口腔外科学会総会・学術大会 2015 年 10 月 16 日-18 日, 名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)
樺沢勇司, 樋口佑輔 他, 顎矯正手術後の神経障害に対する鍼治療の臨床的検討. 第 25 回日本顎変形症学会 2015 年 6 月 4 日-5 日, ベルサール神田(東京都千代田区)
佐藤昌, 樋口佑輔 他, 下顎枝矢状分割術後下顎枝形態, 下顎管の解剖学的位置とオトガイ神経麻痺との関係. 第 59 回日本口腔外科学会総会・学術大会 2014 年 10 月 17 日-19 日, 幕張メッセ(千葉県千葉市)
丸川恵理子, 樋口佑輔 他, 生分解性マグネシウム合金の骨接合材への有効性の検討. 第 59 回日本口腔外科学会総会・学術大会 2014 年 10 月 17 日-19 日, 幕張メッセ(千葉県千葉市)
Kimura A, Higuchi Y et al, The feasibility of gelatin hydrogel as a carrier of basic fibroblast growth factor for bone formation in rat mandibular distraction. The 22nd Congress of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery. 2014 年 9 月 23 日-26 日 Prague, Czech
Marukawa E, Higuchi Y et al, Comparison of magnesium alloy and poly-L-lactide screws as degradable implant in canine fracture model. 6th Symposium on Biodegradable Metals 2014 年 8 月 24 日-29 日 Maratea, Italy

高原楠晃, 樋口佑輔 他, MRI を用いた下顎枝矢状分割術後の顎関節への影響についての検討. 第 24 回日本顎変形症学会 2014 年 6 月 10 日-11 日, アクロス福岡(福岡県福岡市)
樺沢勇司, 樋口佑輔 他, 睡眠時無呼吸を有する下顎前突症患者 2 例の治療経験. 第 24 回日本顎変形症学会 2014 年 6 月 10 日-11 日, アクロス福岡(福岡県福岡市)
Kabasawa Y, Higuchi 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, 樋口佑輔 他, ラット下顎骨延長における bFGF 含有 gelatin hydrogel の有用性. 第 13 回日本再生医療学会総会 2014 年 3 月 4 日-6 日, 国立京都国際会館(京都府京都市)
丸川恵理子, 樋口佑輔 他, 低濃度 BMP-2/ナノゲル複合体含有 -TCP の異所性骨誘導能. 第 13 回日本再生医療学会総会 2014 年 3 月 4 日-6 日, 国立京都国際会館(京都府京都市)
木村敦, 樋口佑輔 他, ラット下顎骨延長モデルを用いた basic fibroblast growth factor 含有ゼラチンハイドロゲルの有用性評価. 第 78 回口腔病学会 2013 年 12 月 6 日-7 日, 東京医科歯科大学(東京都文京区)
丸川恵理子, 樋口佑輔 他, ナノゲル-BMP-2 複合体含有 -TCP の骨誘導能の検討. 第 58 回日本口腔外科学会総会・学術大会 2013 年 10 月 11 日-13 日, 福岡国際会議場(福岡県福岡市)
木村敦, 樋口佑輔 他, ラット下顎骨延長モデルを用いた basic fibroblast growth factor 含有ゼラチンハイドロゲルの有用性評価. 第 33 回歯科薬物療法学会 2013 年 6 月 14 日-16 日, 東京医科歯科大学(東京都文京区)
樺沢勇司, 樋口佑輔 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-14 日, 大阪国際会議場(大阪府大阪市)

〔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

樋口 佑輔（HIGUCHI Yusuke）
東京医科歯科大学歯学部附属病院・医員
研究者番号：20635536

(2)研究分担者

（ ）

研究者番号：

(3)連携研究者

（ ）

研究者番号：