

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 16 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861695

研究課題名(和文)BRONJに対する多血小板フィブリンによる新たな治療戦略の確立

研究課題名(英文)Establishment of the new treatment strategy by Platelet-rich fibrin for BRONJ

研究代表者

浅香 卓哉 (Asaka, Takuya)

北海道大学・歯学研究科・助教

研究者番号：80637265

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：近年、種々の自己血小板由来因子を創傷治癒に用いる取り組みがなされている。その中でも多血小板フィブリン(PRF)の利用は、創治癒促進や骨新生誘導目的に口腔外科領域でも報告例が散見される。本研究の目的はBP使用患者の抜歯時においてPRF填入を行うことで、その治癒促進効果を評価し、薬剤関連性顎骨壊死の発症予防効果を確認することである。結果として、PRF填入を行った全患者(ステロイドや免疫抑制剤使用も含む)で早期の抜歯窩治癒を認め、非填入群では一部に治癒遅延を認めた。本研究より、PRFによる経口BP製剤使用患者抜歯時の治癒遅延防止効果が確認され、さらには顎骨壊死発症予防効果の可能性が認められた。

研究成果の概要(英文)：Historically, several autologous platelet concentrates (APCs) have been used to promote healing. Platelet-rich fibrin (PRF) have been reported to be effective in the acceleration of tissue healing and bone regeneration following oral surgery procedures. The aim of the present study was to evaluate the effectiveness of PRF as an accelerator of wound healing in patients undergoing oral BP therapy and requiring tooth extractions. The study also aimed to explore the possibility of its use as a method of prophylaxis for MRONJ. As a result, early epithelization was confirmed in all PRF patients including patients receiving steroids and immunosuppressants. Thus, PRF may reduce the risk of delayed recovery in tooth extracted patients undergoing oral bisphosphonate therapy. Moreover, PRF may be useful in preventing medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ) in patients receiving oral BP.

研究分野：口腔外科

キーワード：顎骨壊死 多血小板フィブリン

## 1. 研究開始当初の背景

現在、口腔外科領域ではビスフォスフォネート(BP)系製剤使用患者における顎骨壊死(BRONJ)に対して発症機序の解明が進められ、治療に対するポジションペーパーが公表されているものの、未だ有効な治療法は確立されていない(J Bone Miner Metab 28:365-383 2010.)。そのため、本邦では長期のBP経口製剤使用歴のある患者の抜歯に際して、可能であれば術前3か月以上のBP製剤の休薬を依頼した上で、抜歯を施行している。しかし、抜歯に際して可及的に閉鎖創とするなど様々な配慮がなされているにも関わらず、抜歯窩治癒の遷延化やBRONJ発症が報告されている。特にBP注射製剤使用患者でのBRONJ発症率は高く、投薬背景からも休薬が困難であることから、可能な限り保存的な対応とし、急性化を繰り返すような症例のみ止む無く抜歯としているのが現状である。

一方、組織再生療法として知られる多血小板フィブリン(PRF)による歯科領域での応用が報告され始め、その適応は徐々に広がりをみせている(TISSUE ENGINEERING 17: 349-359, 2011.)。本邦では開業医での自費診療によるPRFの使用が散見されるが、その抜歯窩への作用について未だ十分な報告はされていない。PRFは患者血液を10ml程度採取し、抗凝固剤やゲル化剤などの添加剤は一切使用せず、一定の条件で早急に遠心分離を行うだけで採取が可能であり、血漿と血小板を含む自己由来性の線維膜により構成されている。この中の血小板より前炎症サイトカイン、抗炎症サイトカイン、PDGF・FGF・EGFなどの各成長因子が徐々に放出されるため、軟組織の治癒効果や骨造成の早期完了が期待できるとされている。また、PRFは弾力に富み、抜歯窩の充填や骨面への被覆などの操作性にも優れている。

近年、BP注射製剤使用患者の抜歯に際し、PRFとほぼ同様の組成と考えられるPlasma Rich in Growth Factor (PRGF成長因子を豊富に含んだ血漿)を抜歯窩に充填、閉鎖創とすることでBRONJの発症を予防できたとする報告が散見され出した(Oral Oncology 48(5):469-474 2012.)。しかし、PRGFは採取過程で抗凝固剤を使用し、手技もやや煩雑であるため、添加物がなく、手技も比較的容易なPRFを使用する方が実用的である。また、BRONJ発症機序解明と治療方法確立に必要な不可欠であるBRONJモデル動物についても近年報告され始めた(Bone 56:101-109 2013.)。BRONJの発症頻度や難治性を考慮すると、先述したBRONJ発症予防に関する研究は少なくとも動物モデルでの観察と共に実施されることが望ましいと考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究の目的として、手技が容易で汚染の危険性に乏しいPRFについて、抜歯等の口腔内外科的処置時に使用することで治癒促進作用を確認する。また、組織治癒促進効果を動物モデルを使用して客観的に確認する。

## 3. 研究の方法

### (1)BP内服患者の抜歯時におけるPRF充填の実施と評価

当院で抜歯を実施したBP内服患者102名218本(男9女93名、中央値年齢69歳;24-88歳)をPRF填入群(29名、2013-2015に実施)PRF非填入群73名、2006-2010に実施)に分類し、患者背景、BP製剤の種類、休薬の有無、抜歯窩の治癒経過について術後3ヶ月まで比較検討した。

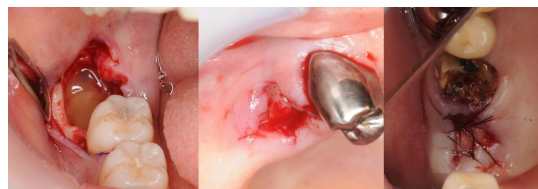
PRFの分離:抜歯直前に10-20mlの採血を実施、400Gにて10分間遠心分離後、PRFを採取した。



抜歯手技:単純抜歯、埋伏歯抜歯を問わず、口腔外科専門医による抜歯を実施。非填入群では減張切開や周囲骨削除などの積極的な抜歯窩閉鎖は行わず、填入群でも同様であり、PRF留置目的の可及的な縫合のみとした。また、PRF以外の止血剤等の填入は行っていない。

抜歯窩の評価:抜歯後1,2,4,8,12週目までの評価を行い、抜歯窩が完全に粘膜で被覆された状態を治癒と定義し、治癒が抜歯後4週の時点で認められない場合を治癒遅延とした。

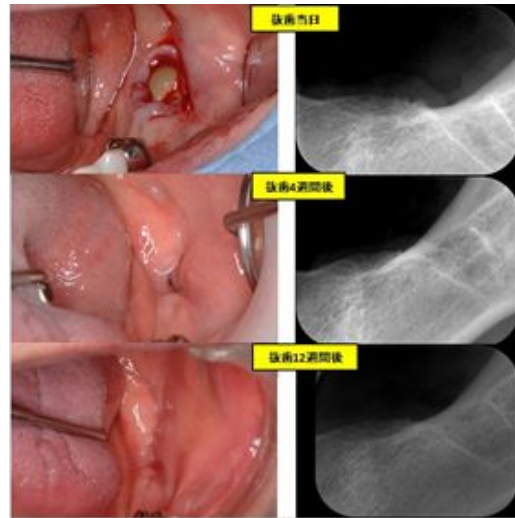
なお、PRF填入群については抜歯後4週ならびに12週でデンタルX線写真による評価を行った。



統計学的解析：両群間に対する比較として Fisher's exact test および Mann-Whitney U test を実施、さらに治癒遅延に対して単変量ロジスティック回帰分析、多変量ロジスティック回帰分析による評価を行った

## (2) 野生型ラットでの抜歯およびPRF填入手技の確立

生後4週齢雄性 Wistar 系ラットに対して、全身麻酔下に右心室から直接採血し、400G で10分間の遠心分離を行い、PRFを採取する。採取後、抜歯窩のサイズにトリミングを行う。次いで、別のラットに対して全身麻酔下に左側上顎臼歯3本の抜歯を行い、PRF 填入群と非填入群に片側のみPRFの填入を行う。



## 4. 研究成果

(1) PRF 填入群と非填入群の比較では、性別、抜歯部位、年齢、その他の全身的风险因子、使用BP薬剤、BP休薬の有無については有意差を認めず、唯一BP投薬期間に関してのみ、填入群で有意に長かった。

|                 |              | PRF 填入群<br>(n = 29) | PRF 非填入群<br>(n = 73) | Fisher's exact<br>test |
|-----------------|--------------|---------------------|----------------------|------------------------|
| 性別              | 男性           | 3                   | 6                    | N.S.<br>P >0.05        |
|                 | 女性           | 26                  | 67                   |                        |
| 抜歯部位            | 上顎           | 24                  | 89                   | N.S.<br>P >0.05        |
|                 | 下顎           | 28                  | 77                   |                        |
|                 | 合計           | 52                  | 166                  |                        |
| 歯牙の種類           | 前歯           | 14                  | 70                   | N.S.<br>P >0.05        |
|                 | 臼歯           | 38                  | 96                   |                        |
|                 | 合計           | 52                  | 166                  |                        |
| 年齢(年)           | 中央値          | 73(24-87)           | 68(33-88)            | N.S.(P=0.15)           |
| 背景疾患            | 骨粗しょう症       | 20                  | 48                   | N.S.<br>P >0.05        |
|                 | ステロイド性骨粗しょう症 | 9                   | 25                   |                        |
| BPの種類<br>(重複含む) | アレンドロネート     | 10                  | 43                   | N.S.<br>P >0.05        |
|                 | リセドロネート      | 12                  | 37                   |                        |
|                 | ミドドロネート      | 10                  | 2                    |                        |
|                 | エチドロネート      | 1                   | 4                    |                        |
| その他<br>リスク因子    | なし           | 15                  | 47                   | N.S.<br>P >0.05        |
|                 | ステロイド        | 9                   | 15                   |                        |
|                 | ステロイドと免疫抑制剤  | 3                   | 7                    |                        |
|                 | 免疫抑制剤        | 1                   | 0                    |                        |
|                 | ステロイドと糖尿病    | 1                   | 2                    |                        |
| BP投薬期間(月)       | あり           | 51(13-120)          | 31(12-102)           | P <0.01*               |
|                 | なし           | 4                   | 22                   |                        |
| BP休薬の有無         | あり(休薬期間)     | 25(7.7)             | 51(4.2)              | N.S.<br>P >0.05        |
|                 | なし           | 4                   | 22                   |                        |

(2) ARONJ 発症は全102例で認められなかった。填入群では全例で治癒(抜歯後4週以内の上皮化)を確認し、抜歯3か月後にはX線にて骨新生を認めた一方で、非填入群では9名で治癒遅延(抜歯後4週以降8週未満の骨露出)を認めた。

(3) 治癒遅延に関する単変量解析では、性別、背景疾患、全身的风险因子の有無、PRFの有無に有意差を認めた。多変量解析では全身的风险因子とPRFの有無に有意差を認めた。

(4) 野生型ラットでの抜歯およびPRF填入手技の確立ラットからのPRF採取条件の設定に非常に苦慮した。また、PRF 填入群と非PRF 填入群との比較においては、抜歯1週間の時点で填入群にわずかに創部閉鎖傾向を確認できたが、個体差が大きく、また抜歯2週間以降では肉眼的な創部の状態には有意な差を認めなかった。さらに抜歯窩のHE染色下での比較においても明らかな差は認められなかった。この背景には、PRF 填入が十分量ではなかった可能性や、抜歯窩のPRF保持が縫合困難のためにできておらず、PRFが長期に抜歯窩に留まらなかった可能性が考えられた。



(5) まとめ

以上の結果よりBP休薬と治癒遅延の有意な相関を認めない一方で、その他リスク因子とPRFの使用に治癒遅延との有意な相関を認めた。

抜歯窩閉鎖が比較的困難な臼歯部抜歯と比較的容易な前歯部抜歯との検討では有意な差を認めないことから、創の完全閉鎖と治癒遅延との関連性は確認できなかった。

PRF採取は少量の血液採取を必要とする

が、これまでの自己血小板 由来増殖因子の採取方法と比較しても簡便かつ、安価であり、分離作業や凝固剤使用などによる異物混入のリスクがないことから患者への負担が比較的少ない。

本手法は積極的な抜歯窩閉鎖を行わないため、低侵襲かつ短時間で処置が可能である。

再生医療に関する法律の対象となるため、煩雑な手続きを要するが、ARONJ 発症に関して高リスクにあたる患者の抜歯に関しては、PRF の抜歯窩填入を検討しても差し支えないと考えられた。

## 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 1 件)

H28 年度

Asaka T, Ohga N, Kitagawa Y.(他 3 名、1 番目)

Platelet-rich fibrin may reduce the risk of delayed recovery in tooth-extracted patients undergoing oral bisphosphonate therapy: a trial study. Clin Oral Investig. 査読有、Nov.11:1-8,2016. [Epub ahead of print] DOI: 10.1007/s00784-016-2004-z

[学会発表](計 2 件)

H28 年度

浅香卓哉: Evaluation of platelet-rich fibrin on prevention of MRONJ、2016 AAOM Annual Meeting、平成 28 年 4 月 7 日、(アトランタ、米国)

H27 年度

浅香卓哉: 薬剤関連顎骨壊死予防に対する多血小板フィブリン (PRF) の効果に関する研究、第 60 回公益社団法人日本口腔外科学会総会・学術大会、平成 27 年 10 月 17 日、名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権] (計 0 件)

[その他] なし

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者

浅香 卓哉 (ASAKA Takuya)

北海道大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号: 80637265

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし