

学 位 論 文 題 名

BMP (Bone Morphogenetic Protein) を
配合したコラーゲン膜による骨誘導と
その歯周組織再生に及ぼす影響について

学位論文内容の要旨

歯周治療の最終目標は、歯周炎により喪失したセメント質、歯根膜、歯槽骨を再生させ、歯の支持を回復することである。しかし、従来の原因除去を主目的とした治療法では炎症の改善や、病変の進行抑制は可能でも、十分な歯周組織の再生は期待できない。そこで昨今、より確実な歯周組織の再生を求めた治療法が試みられている。例えば、骨再生を促す目的で用いられる種々の骨補填材の応用や、膜を利用して歯肉上皮の歯根面への移動増殖を排除して、歯根膜由来組織を誘導しようとする組織誘導再生法（GTR法）などがあるが、いずれも未だ十分な成果は得られていない。

一方近年、種々の原因により生じた骨欠損に対する治療法として、骨基質中に微量に存在し、未分化間葉系細胞に作用して骨組織を誘導する成長分化因子で、transforming growth factor- β (TGF- β) のスーパーゼンファミリーに属すると考えられている Bone Morphogenetic Protein (BMP) の応用が各分野から注目を集めている。

BMP は、骨基質中の微量成分で、収量は僅かであるが、この微量の BMP で有効に骨誘導を発現させるためにはなんらかの担体が必要であり、これまでに臨床応用可能な担体のスクリーニングが行われてきた。しかし、歯周治療に BMP を応用する場合の適切な担体は未だ明確にされていない。

本研究は、BMP を歯周治療に応用することを目指して、アテロコラーゲンの線維形成度を高め架橋導入し膜状に調製した強化コラーゲン線維膜[®]FCM1、及び、FCM1の線維形成度を更に高めて、吸湿性を抑え、臨床的操作性を向上させた[®]FCM3、を BMP の担体として用いることを試み、その *in vivo* における骨誘導に関して検討する目的で、幼若ラット及び成体ラットを用いて、病理組織学的に評価した。

BMP はウシ中手骨皮質より抽出，部分精製（S-300分画）したものをを用いた。

FCM1 は，ウシ真皮由来のアテロコラーゲンより作成し，5 mm×5 mm（平均重量0.5mg）に裁断して使用した。

<実験1>

BMP の担体としての FCM1 の有効性を検討する目的で，BMP を配合した FCM1 を，幼若ラットの背部皮下に移植して観察した結果，明瞭な骨梁構造と，骨髄を伴う異所性骨誘導がみられ，FCM1 が BMP の担体として有効であることが示された。

<実験2>

BMP は収量が僅かである為，より少量の BMP で有効な量の骨誘導を得ることが望ましい。そこで，FCM1 を担体とした場合の BMP の適切な濃度について検討する目的で，FCM1 に配合する BMP 量を変化させて，幼若ラットの背部皮下に移植して観察した結果，濃度を FCM1 に対する BMP の重量比（mg/mg）で表すと，骨誘導を発現させるには最低0.2以上必要であり，臨床的に有効であると思われる骨形成量を得るには1.0程度が適切と思われた。

また一般に，BMP は軟骨性化骨を誘導するといわれているが，FCM を担体とした場合，軟骨形成はほとんど観察されなかったことから，BMP による骨誘導様式は担体によって異なり，担体の性質によっては線維性化骨を誘導するという可能性が示唆された。

<実験3>

実験1，2では，FCM1 を BMP の担体として使用し，幼若ラットに移植して評価した。しかし，FCM1 は操作性が悪いという欠点があったので，まず FCM1 を改良した FCM3 を作製した。さらに，歯周治療の対象はほとんどが成人である為，幼若ラットに比べ組織活性が低い成体ラットで評価する必要がある。また，皮下組織と口腔内，特に骨に近接した組織とでは反応が異なることも予想されるので，この点についても検討する必要がある。

そこで実験3では，改良した FCM3 の BMP の担体としての有効性について成体ラットで検討するとともに，背部皮下及び口蓋部骨膜下に移植した場合について病理組織学的に比較検討した。

FCM3 は，FCM1 の作製過程で線維の凝集の為にいったん中性透析にアルカリ透析を追加したもので，これを0.5mm×4 mm（平均重量0.13mg）に裁断し，BMP0.15mg配合したものを移植した。

この結果、背部皮下では異所性骨誘導が、口蓋部骨膜下では母床骨に連続して骨が増成されているのが観察され、FCM 3 を担体とした場合、成体においても骨誘導が可能であり、BMP の担体として有効であることが示された。更に、背部皮下と口蓋部骨膜下を比較すると、後者に形成された骨は、前者より成熟した構造を呈していた。これは後者の骨形成に骨膜細胞が強く関与し、骨芽細胞への分化と、骨形成がより早期に始まったことによると考えられた。

<実験 4 >

BMP による骨誘導が歯周組織の再生に及ぼす影響について検討する目的で、成体ラットの歯槽骨に人工的に骨欠損を形成して、移植材と骨欠損壁のあいだに空間ができるようにして、BMP を配合した FCM 3 を移植し、6 週間にわたり経時的变化を病理組織学的に観察した。

この結果、移植後 1 週目から移植材と欠損壁の間で骨芽細胞の分化増殖が見られ、3 週では移植材を取り囲むように母床骨と連続した骨新生が見られ、6 週では移植材は観察されず、母床骨と同様の構造の骨が新生しており、また対照群に比べ歯槽骨頂が高い傾向があったことから、歯槽骨の再生が BMP を配合した FCM 3 の移植より促進されたものと思われた。

また、BMP の担体として FCM 1 と FCM 3 を用いた場合の骨誘導について比較すると、FCM 1 では移植材のコラーゲン線維が貧食されたあとに骨が形成されていると思われたのに対して、FCM 3 では移植材のコラーゲン線維を基質の一部として直接骨が形成されていると思われた。このことから、FCM 1 は BMP の担体として、FCM 1 より有効性が高いと思われた。更に、BMP による骨誘導は、担体の組成のみならず、その構造にも依存していると考えられた。

以上実験 1～4 から、FCM 1 と FCM 3 は両者とも BMP の担体として有効で、これに適切な濃度で BMP を配合した場合、臨床的に有効と思われる量の骨が誘導されることが明らかとなった。更に FCM 3 は、移植材のコラーゲン線維を基質の一部とした骨が形成され、口腔内で骨を増成し、人工的歯槽骨欠損の再生が促進されたことから、歯周炎による歯槽骨欠損に対する治療に適応できる可能性が高いものと思われた。

今後は、BMP による骨誘導と根面への付着様式の関係、担体の作用や動態をより明確にして、歯周治療における臨床応用を図り、歯槽骨、歯根膜、セメント質の再生を誘導する為の術式の開発などについて更に検討を加える必要がある。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 加 藤 熙
副 査 教 授 下 河 辺 宏 功
副 査 教 授 久 保 木 芳 徳

歯周治療の大きな目標の一つは、歯周炎により喪失した歯周組織を回復することであるが、従来の治療法では、十分な歯周組織の再生は困難である。そこで昨今、GTR法など新しい歯周組織の再生療法が試みられているが、歯槽骨の再生は少なく、適応症が限られており、十分な成果は得られていない。

一方近年、骨基質中に微量に存在し骨を誘導する成長分化因子である Bone Morphogenetic Protein (BMP) が注目を集めている。BMP で骨を誘導するには担体が重要であり、この点も併せて研究が進められている。

本研究は、BMP を歯周治療に応用することを目標とし、歯周治療に適切と思われる BMP の担体として、GTR法に用いられている、アテロコラーゲンの太い線維から成る強化コラーゲン線維膜「FCM1」、及びこれに改良を加えた「FCM3」を用いることを考え、*in vivo* における骨誘導状態と歯周組織再生の可能性を探る目的で、幼若ラット及び成体ラットに移植実験を行い、病理組織学的に評価した。

<実験1>

BMP の担体としての FCM1 の有効性を検討する目的で、BMP を配合した FCM1 を、幼若ラットの背部皮下に移植して観察した結果、明瞭な骨梁構造と、骨髄を伴う異所性骨誘導がみられた。

<実験2>

FCM1 を担体とした場合の BMP の適切な濃度について検討する目的で、FCM1 に配合する BMP 量を変化させて、幼若ラットの背部皮下に移植して観察した結果、骨誘導が見られたのは、FCM1 に対する BMP の重量比で0.2以上であり、臨床的に有効な骨形成量を得るには1.0程度が適切と思われる。なお、BMP は軟骨性化骨を誘導すると報告されているが、本実験では軟骨形成はほとんど観察されなかったことから、BMP による骨誘導は担体によって異なり、FCM

を担体とした場合、線維性化骨を誘導することが示唆された。

<実験 3 >

実験 1, 2 では、FCM 1 を担体とし幼若ラットに移植したが、FCM 1 は操作性が悪いためこれを改良した FCM 3 を担体として用い、歯周治療の対象の多くが成人なので成体ラットを実験動物とし、背部皮下及び口蓋部骨膜下に移植して、FCM 3 の担体としての有効性について検討した。

FCM 3 は、FCM 1 の作製過程で線維の凝集の為に行った中性透析にアルカリ透析を追加したもので、これに BMP を配合して移植した。この結果、背部皮下では異所性骨誘導が見られ、口蓋部骨膜下では母床骨に連続して骨が増成されているのが観察され、FCM 3 を担体とした場合、成体においても骨誘導が可能であり、BMP の担体として有効であることが示された。更に、口蓋部膜下で形成された骨は、背部皮下より成熟した構造を呈しており、これは骨膜下移植では骨膜細胞が骨形成に強く関与し、骨芽細胞への分化と、骨形成がより早期に始まったことによると考えられた。

<実験 4 >

BMP による骨誘導が歯周組織の再生に及ぼす影響について検討する目的で、成体ラットの歯槽骨に人工的に骨欠損を形成して、BMP を配合した FCM 3 を移植し、6 週間にわたり経時的変化を観察した。この結果、移植後 1 週目から移植材と欠損壁の間で骨芽細胞の分化増殖が見られ、3 週では母床骨と連続して移植材を取り込むように骨が新生し、6 週では移植材は消失し、母床骨と同様の構造の骨が新生しており、また BMP を作用させていない対照群に比べ歯槽骨頂が高い傾向があった。これらの所見から BMP を配合した FCM 3 の移植は歯槽骨の再生を促進させたものと考えられた。

以上のように本研究は、FCM 1 と FCM 3 は BMP の担体として有効で、適切な濃度で BMP を配合すれば、臨床的に有効な量の骨が誘導されること、更に FCM 3 を担体とした場合、成体ラットの人工的歯槽骨欠損の骨再生を促進し、歯周炎による歯槽骨欠損に対する治療に適応できる可能性が高いことを示し、歯周治療の発展に寄与するところが大きいと考えられる。

論文の審査にあたっては、主査及び副査全員が出席し、まず申請者が本論文の概要について説明を行い、次いで本論文の内容ならびに関連領域にわたる試問が行われ、いずれについても適切な回答が得られた。なお論文中に一部修正すべき表現がある旨、審査委員より指導がなされた。

本研究は骨組織の再建に関して重要な見解を示したものであり、臨床的にも有意義であると認められた。

以上のような審査の結果、審査委員は全員、本研究が学位論文に十分に値し、申請者が博士の学位を授与するにふさわしいものと認定した。