

学位論文題名

リコンビナントヒト BMP-2 を応用した
歯周組織再生療法に関する研究

学位論文内容の要旨

【緒言】

当教室では歯周組織再生が困難な水平性や根分岐部三級骨欠損に、ウシ骨抽出部分精製 BMP (s-300 BMP) の強い骨誘導を応用した歯周組織再生療法の研究を行ってきた。しかし、臨床応用を可能にするためにはヒトに対して免疫原性が高い s-300 BMP よりも免疫原性の低い rh BMP を応用する必要があると考え、中でも骨誘導能のある rh BMP-2 に着目した。BMP は担体の種類により骨誘導形成の状態に差が生じるほか、担体に配合した量により骨誘導活性が変化するため、十分な骨形成を得るには適した担体を選択し、その担体に適切な量の BMP を配合することがきわめて重要である。

そこで本研究は rh BMP-2 を応用した歯周組織再生療法を可能にする目的で、我々の教室で担体として使用を試み有効な成果をあげているコラーゲン膜(改良 FCM1) と、新たに山之内製薬が開発したポリ乳酸/ゼラチン複合体(PGS) を用い、実験1としてネコを用いて各担体の rh BMP-2 の適切配合比率を求め、実験2としてその比率で各担体に rh BMP-2 を配合し、セメント質を除去したネコの根分岐部三級骨欠損に移植して歯周組織再生形態を病理組織学的に検討した。

【材料および方法】

【実験1】

担体として改良 FCM1 (0.5mg) および PGS (2.0mg) を用い、rh BMP-2 を 1 (1 μ g 配合群)、5 (5 μ g 配合群)、10 μ g (10 μ g 配合群) を配合して、ネコ (N=8) の犬歯遠心頬側骨面 (32部位) に移植し、観察期間を 3、5、7、9週とし、骨誘導の状態を病理組織学的に観察し、担体と rh BMP-2 の適切な配合比率の判定した。

【実験2】

ネコ (N=10) の上下顎前臼歯32歯に根分岐部三級骨欠損を作製し、セメント質と歯根膜を除去した後、実験群には実験1で適切と判定した配合比率で rh BMP-2 を含む各担体 (体積; 12mm³ 乾燥重量; 改良 FCM1 1.2mg、PGS 1.6mg

g)を移植し、対照群には担体のみ移植し、観察期間を6週(対照群n=2、実験群n=2)、12週(対照群n=6、実験群n=6)とし、臨床的ならびに病理組織的観察と組織学的計測を行い、歯周組織の再生状態を評価した。

【結果】

【実験1】

改良FCM1では対照群と1 μ g配合群は新生骨が観察されず、5 μ g配合群と10 μ g配合群は7週と9週で新生骨が観察された。全ての群で9週まで改良FCM1は残存していた。

PGSでは対照群と1 μ g配合群は新生骨は観察されず、5 μ g配合群では3週と5週に、10 μ g配合群では3週に新生骨が見られた。

7週以降、全ての群で担体は吸収され、新生骨と母床骨の形態的な判別ができなかった。

【実験2】

術後の臨床的観察では移植部位は炎症はなく良好に経過し、一部の被験歯に術後4週頃から根分岐部の露出が観察され、X線規格写真では改良FCM1とPGSの実験群では3週後から分岐部内の不透過性が確認され、経時的に増加した。

病理組織学的観察では改良FCM1の6週の対照群では分岐部内全体に担体が残存し、実験群では担体の吸収が進み、歯槽骨が再生され、根面と骨が癒着していた。12週の対照群では6週と同様に担体が残存し、実験群では6週より担体の吸収が進み、歯槽骨、歯根膜、セメント質が再生され、一部に根面と骨の癒着が見られた。

PGSの6週の対照群と実験群では歯槽骨の再生が少なく、最歯冠側では上皮が侵入し、12週の対照群では歯槽骨、セメント質、歯根膜が再生されたが、最歯冠側までには至らず、上皮が侵入しており、実験群では6歯中4歯は歯槽骨、セメント質、歯根膜がほぼ完全に再生され、根面と骨の癒着はなかった。

組織学的計測では、改良FCM1の場合、歯槽骨の再生量は実験群が対照群より危険率1%で有意に大きく、セメント質や歯根膜では実験群が対照群より危険率5%で有意に大きかった。

一方、PGSの場合、歯槽骨や歯根膜の再生量は実験群が対照群より大きな傾向を示したが、有意差はなかったが、セメント質の再生量は実験群が対照群より危険率5%で有意に大きかった。

【考察及び結論】

実験1の結果、両担体とも5 μ g配合群と10 μ g配合群で新生骨が観察されたことから、適切な配合比率は10 μ g rhBMP-2/1mg改良FCM1、1 μ g rhBMP-2/3mm³PGSと判定した。

実験2の観察の結果、改良FCM1はすべての被験歯に担体の残存が見られ、一部に根面と骨の癒着が観察された。担体が残存した原因は移植時に改良FCM1を4重に重ねて使用したため厚みが増加したこと、コラーゲン膜の線維密度が高いことや線維間の結合が強いことが考えられる。癒着が生じた原因は改良FCM1の吸収が遅く、根面に改良FCM1が密着し、セメント質の再生を妨げたこと、しかもその状態が長期間続いたためセメント質の再生が妨げられたことや、根面との接触

部位から骨形成が生じた可能性などが考えられる。

P G Sは、改良 F C M 1より結果は良好であった。対照群では術後4週頃から実験群や改良 F C M 1使用群に比べ分岐部の露出(上皮の侵入)が多く見られた。一方、実験群では分岐部の露出(上皮の侵入)が少なく、これは術後3週には分岐部内全体に骨が再生し、上皮の侵入を阻止したためと考えられる。しかし、実験群でも骨の再生が少ない場合にはP G Sが早期に吸収されると上皮の侵入を阻止するものがなくなり、上皮が侵入すると考えられる。高度な骨欠損部の骨の再生には時間を必要とすることから、吸収の早いP G SではB M Pを局所に長期間維持できず、十分に歯槽骨が再生しないうちに上皮の侵入や分岐部の露出が生じる危険性も考えられる。

B M Pを歯周治療に用いる場合、担体の形状や性状は重要である。担体は生体内吸収性である必要があり、吸収速度も再生量に大きく影響し、適度な速度で吸収される材料である必要があると考えられる。r h B M P-2の担体がどのような性状や形状でどの程度の吸収速度であればよいのかは今回の研究のみでは判定が難しいが、著者は改良 F C M 1とP G Sとの中間の性状を持った担体がよいのではないかと考えており、今後さらに検討を加えたいと考えている。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 加 藤 熙
副 査 教 授 向 後 隆 男
副 査 教 授 久 保 木 芳 徳

学 位 論 文 題 名

リコンビナントヒト BMP-2 を応用した 歯周組織再生療法に関する研究

審査は、まず、申請者に提出論文の概要の説明を求めた後、本論文の内容とその関連事項について口頭により試問した。

当教室では歯周組織再生が困難な水平性や根分岐部Ⅲ級骨欠損の治療法にウシ骨抽出部分精製BMP（s-300BMP）を応用した歯周組織再生療法の研究を行って有効性が高いことを示唆してきた。しかし、s-300BMPはヒトに対し免疫原性の示す未知の物質が含まれている可能性があり、s-300BMPよりも免疫原性の低いリコンビナントヒトBMP(rhBMP)を応用する必要がある。中でも骨誘導能があるrhBMP-2に着目した。

BMPは担体の種類により骨誘導形成の状態に差が生じるほか、投与量により骨誘導活性が変化するため、十分な骨形成を得るには適した担体を選択し、その担体に適切な量のBMPを配合することがきわめて重要である。本研究では本教室での研究より適切な担体としてコラーゲン膜（改良FCM1）とポリ乳酸/ゼラチン複合体（PGS）を選択し、実験1として各担体のrhBMP-2の適切な配合比率を検討し、実験2ではその比率でrhBMP-2を配合した担体を根分岐部Ⅲ級骨欠損に移植して、rhBMP-2の効果と各担体の関連性を比較検討した。

【実験1】担体として改良FCM1 0.5mgとPGS 2.0mgを用い、ネコの犬歯遠心頬側骨面32部位を被験部位として担体のみと担体にrhBMP-2を1、5、10 μ g配合した群に区分して移植し、観察期間を3、5、7、9週とし、病理組織学的観察を行って適切な配合比率を検討した。その結果、両担体とも1 μ g配合群では新生骨が認められず、5 μ gと10 μ g配合群で新生骨が認められ、適切な配合比率は改良FCM1は0.5mgあたり5 μ gのrhBMP-2、PGSは2.0mgあたり5 μ gのrhBMP-2と判定した。

【実験2】ネコの前臼歯に根分岐部Ⅲ級骨欠損を作製し、根面をルートプレーニングしてセメント質を除去し、担体のみを対照群と担体に実験1で適切と判定した配合比率でrhBMP-2を組み合わせた実験群に区分し移植した。観察期間は6、12週とし、臨床的、病理組織学的観察、組織学的計測を行った。実験群では炎症所見はほとんどなく、X線所見では各担体とも根分岐部の不透過性が観察され経時的に増加した。歯周組織の再生量は改良FCM1では歯槽骨は2.58mm、セメント質は2.50mm、歯根膜は2.39mm、PGSでは歯槽骨は2.57mm、セメント質は2.93mm、歯根膜は2.62mmであり、両担体とも実験群が対照群よりも大きな値を示した。

考察と結論

本研究の結果は、両担体とも適切な比率でrhBMP-2を配合し移植すれば、歯槽骨、セメント質、歯根膜が再生されることを示している。しかし、改良FCM1では担体を重ねて用いたこと、膜の線維密度が大きかったこと、線維間結合が強かったことが担体の吸収を遅延させ、担体が長期間残存し骨やセメント質の再生を妨げたと考えられる。一方、PGSでは6週で根分岐部に上皮の侵入が一部認められたが、これはPGSの吸収が早過ぎてBMPを局所に長期間維持できず、十分に再生が生じ

ないうちに上皮が侵入したと考えられる。これらのことから、rhBMP-2による歯周組織の再生には改良FCM1とPGSの中間の性状を持った担体が適切なのではないかと考えられる。

引き続き各審査委員と申請者の間で、本論文の内容とその関連項目について質疑応答がなされた。これらに対して申請者は本研究から得た知見と文献を引用して明快かつ適切な解答を行った。本研究は改良FCM1とPGSを担体としてrhBMP-2の適切な配合比率を求めて移植し、その効果について検討し、rhBMP-2を用いた歯周組織再生療法が臨床応用できる可能性が高いことを示したことが高く評価された。これらのことは歯科医学の発展に十分貢献するものであり、博士（歯学）の学位授与に値するものと判断した。