

学 位 論 文 題 名

中年齢ビーグル犬に rhBMP-2を
応用した場合の歯周組織再生

学位論文内容の要旨

緒 言

これまでに rhBMP-2 を用いた骨誘導や歯周組織再生の研究が数多く行われ、その有効性が報告されている。しかし、これらの研究は骨代謝の活発な若い動物を用いた実験がほとんどであり、歯周病に罹患した中高齢者に rhBMP-2 を移植した場合の歯周組織の再生状態は、若い動物を用いて実験した場合と大きく異なる可能性がある。そこで、本研究は中年齢の歯周病患者の歯周組織に BMP を移植した場合の歯周組織再生への有効性を検討する目的で、rhBMP-2 配合 PGS を、中年齢及び若年齢ビーグル犬の下顎前臼歯周囲の人工的歯槽骨欠損部に移植して、比較検討した。

材料と方法

1, BMP と担体

rhBMP-2 移植群は、rhBMP-2 (溶媒: LF6 緩衝液) をポリ乳酸グリコール酸共重合体/ゼラチンスポンジ複合体 [(PGS), 5×35×2 mm (350 μ l)] 含浸して使用した (BMP の濃度は担体 1 μ l あたり 0.4 μ g)。PGS 移植群は、BMP 溶液と等量の LF6 緩衝液を PGS に含浸した。

2, 実験動物と被験部位

雌ビーグル犬 (若年群: 14 ヶ月齢 - 3 頭, 中年齢群: 6 歳齢 - 3 頭) を用

いた。被験部位は下顎第二前臼歯、第三前臼歯、第四前臼歯の頬側部とした。

3, 実験方法

被験部位の全層弁を剥離し、垂直的に 5 mm, 近遠心的に 35 mm, 頬舌的には歯槽骨の頬側面から歯根頬舌幅径の中央に位置する歯槽骨までを削除し、頬側水平性骨欠損を作製した。根面はルートプレーニングし、最根尖側にノッチを付与した。

実験群は、中年齢 rhBMP-2 移植群 (MB 群), 若年齢 rhBMP-2 移植群 (YB 群), 中年齢 PGS 移植群 (MP 群), および若年齢 PGS 移植群 (YP 群) とした。各動物の右側は rhBMP-2 移植群とし、左側は PGS 移植群とした。

移植 1 2 週後に屠殺した。薄切は頬舌断面で行い、5 ~ 6 μ m の連続切片を作製して、H-E 染色後、光学顕微鏡で観察した。

4, 組織学的計測

各被験歯根の近遠心的中央部の切片を用いて、以下の項目の計測を行なった。

- 1) 欠損の大きさ (DH): ノッチから CEJ までの距離
- 2) 歯槽骨新生率: 新生骨最歯冠側端 ~ ノッチ間距離 (NB) の DH に対する割合
- 3) セメント質新生率: 根面にセメント質様硬組織が新生している部分 (NC) の DH に対する割合
- 4) 骨性癒着率: 根面の骨性癒着部分 (AK) の DH に対する割合
- 5) 接合上皮深部増殖率: CEJ ~ 接合上皮最根尖側端間距離 (JE) の DH に対する割合
- 6) 歯根吸収率: 歯根吸収がみられ、セメント質の添加のない部分 (RR) の DH に対する割合
- 7) BMP 依存骨新生促進量: 同一個体、同名歯根の rhBMP-2 移植群と

PGS 移植群の NB の差 (mm)

8) BMP 依存セメント質新生促進量: 同一個体, 同名歯根の rhBMP-2 移植群と PGS 移植群の NC の差 (mm)

5. 統計学的分析

Mann-Whitney の U 検定を用いた。

結果

1. 病理組織学的観察

1) MP 群

接合上皮は CEJ よりもやや根尖側に位置していた。根面は、滑らかな部分と、浅い皿状の吸収窩がみられる部分があり、根面に平行に線維が走行していた。そのさらに根尖側には、既存セメント質から連続した新生セメント質が観察された。新生骨の形成はノッチ付近にとどまっていた。骨性癒着は 2 部位で、ノッチ付近にわずかにみられた。

2) YP 群

MP 群と同様の病理組織学的所見を示したが、骨性癒着はみられなかった。

3) MB 群

接合上皮の最根尖側端はほぼ CEJ 付近にみられた。さらに根尖側の根面には、滑らかな部分と浅い皿状の吸収窩が散在して認められ、根面に平行な線維がみられた。新生セメント質は既存セメント質と連続して形成され、形成した範囲は被験部位によってばらつきが大きかった。新生骨の形成は、PGS 移植群よりも大きく認められたが、ばらつきが大きかった。骨性癒着は、骨頂部に限局してみられた (3 部位)。

4) YB 群

病理組織学的所見は、骨性癒着がないことを除いて MB 群とほぼ同様で

あった。

2. 組織計測の結果

- 1) 歯槽骨新生率：MB群（42%）はMP群（14%）よりも有意に大きかった。YB群（43%）はYP群（14%）よりも有意に大きかった。MB群とYB群の間、MP群とYP群の間に有意差は認められなかった。
- 2) セメント質新生率：MB群（42%）はYB群（56%）よりも有意に小さかった。また、YB群はYP群（33%）よりも有意に大きかった。MB群とMP群（29%）の間に有意差は認められなかった。
- 3) 骨性癒着率：MB群に3部位、MP群に2部位とわずかに認められたが、1%未満であり、両群間に有意差は認められなかった。
- 4) 接合上皮深部増殖率：MB群（7%）、MP群（13%）、YB群（7%）、YP群（7%）で、群間に有意差はみとめられなかった。
- 5) 歯根吸収率：MB群（8%）はMP群（13%）よりも有意に小さかった。YB群（8%）はYP群（12%）よりも有意に小さかった。MB群とYB群、MP群とYP群の間に有意差は認められなかった。
- 6) BMP依存骨新生促進量：中年齢群（1.4 mm）と若年齢群（1.2 mm）の間に有意差は認められなかった。
- 7) BMP依存セメント質新生促進量：中年齢群（0.6 mm）は、若年齢群（1.5 mm）よりも有意に小さかった。

考察

実験用ビーグル犬の平均寿命は9.2歳と報告されている。また、6歳犬は人間に換算すると約40歳、14ヶ月齢犬は10歳代後半から20歳代前半といわれており、それぞれ、中年齢、若年齢として使用した。

歯槽骨の新生について、加齢による骨芽細胞の増殖能、分化能の低下、数の減少などが報告されているが、本研究の結果からは中年齢ビーグル犬では、

加齢の影響は少なく、骨形成能は若年齢とほぼ同等と考えられた。また、中年齢ビーグル犬において、rhBMP-2による骨形成に対する反応も若年齢と同等と思われた。

セメント質新生については、rhBMP-2によるセメント質新生促進作用に対する反応性は中年齢では低下していると考えられた。これまでのrhBMP-2を用いた若年齢動物の歯周組織再生に関する研究では、セメント質再生が促進されたという報告が多いが、中高齢動物のセメント質再生について検討した報告はない。今後さらに中高齢動物においてBMPの濃度や欠損形態などの影響も検討すべきである。

骨性癒着は、わずかに中年齢群のみにみられた。rhBMP-2のセメント質新生促進作用は中年齢では低下し、骨形成能は低下しないと考えられるので、術後、歯根膜由来のセメント質形成細胞が遊走、増殖するよりも早期に、骨形成能を有する細胞が根面に到達し、骨性癒着が生じた可能性が考えられる。

歯根吸収率について、rhBMP-2移植群は、歯根吸収した部分にセメント質が形成され、歯根吸収として計測された部分が少なくなったと思われる。

本研究では、中年齢ビーグル犬の歯周組織再生にrhBMP-2を応用した場合、歯槽骨再生は若年齢と同等に生じたが、セメント質再生促進効果は少なかった。また、若年齢犬に比べて、骨性癒着はわずかに生じたものの、歯根吸収、接合上皮深部増殖に関して差はなかった。これらのことから、中年齢者の歯周組織再生療法にrhBMP-2を応用した場合、セメント質再生促進の低下、骨性癒着の可能性を残すものの、歯周組織の再生を亢進できると考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 川 浪 雅 光

副 査 教 授 田 村 正 人

副 査 教 授 鈴 木 邦 明

学 位 論 文 題 名

中年齢ビーグル犬に rhBMP-2 を 応用した場合の歯周組織再生

審査は主査、副査全員が一同に会して口頭で行った。はじめに申請者に対して本論文の要旨の説明を求めたところ、以下の内容について論述した。

本研究は、歯周病罹患率の高まる中年齢患者の歯周組織再生に rhBMP-2 を応用することを想定して、中年齢ビーグル犬（6 歳齢）の下顎前臼歯部頰側に水平性歯槽骨欠損を作製し、rhBMP-2 配合ポリ乳酸グリコール酸共重合体/ゼラチンスポンジ複合体（PGS）と PGS のみの移植を行った。また、中年齢群と比較するために、若年齢ビーグル犬（14 ヶ月齢）に対しても同様に移植を行った

移植 12 週後に、病理組織学的観察及び組織計測を行った。その結果、中年齢犬に rhBMP-2 を応用した場合の歯槽骨新生率は、若年齢と同程度であり、PGS のみの場合よりも有意に高かった。また、セメント質新生率については、中年齢 rhBMP-2 移植群では、PGS 移植群よりも高い傾向をしめしたものの、有意差はみとめられず、若年齢 rhBMP-2 移植群よりも有意に低かった。また、接合上皮深部増殖、歯根吸収、骨性癒着はわずかであった。

以上のことから、中年齢患者の歯周組織再生療法に rhBMP-2 を応用した場合、若年齢に比べてセメント質新生に対する効果は低下する可能性があるが、歯槽骨の新生は増加し、良好に歯周組織再生を促進できると考えられた。

引き続き、審査担当者と申請者との間で、論文内容および関連事項について

質疑応答が行われた。

主な質問事項は、

- 1) 使用したビーグル犬の年齢、歯周組織の状態
- 2) rhBMP-2 の濃度、希釈方法
- 3) 人間とビーグル犬の歯周組織再生の違い
- 4) rhBMP-2 を応用した場合の歯槽骨、セメント質の再生様式
- 5) 今後の課題（この研究をどのように発展させていくのか）
- 6) rhBMP-2 を用いた歯周組織再生療法への展望

などであった。

これらの質問に対して、申請者は適切な説明によって回答し、本研究の内容を中心とした専門分野はもとより、関連分野についても十分な理解と、学識を有していることが確認された。

本研究は、中年齢においても rhBMP-2 により歯周組織再生が促進されたことを明らかにし、臨床応用した場合に歯周組織を再生できる可能性があることを明確にした点が高く評価された。本研究の内容は、歯科医学の発展に十分貢献するものであり、博士（歯学）の学位を授与するに価するものと審査担当者全員が認めた。