

ゼラチンハイドロゲルを用いた顎骨再生療法の開発

大阪大学歯学部附属病院 口腔外科 1 <制御系>

松川 誠

1. 諸言

顎顔面領域では口唇口蓋裂や顔面外傷などにより大きな骨欠損が生じることで、口腔機能や審美性が低下し、**quality-of-life (QOL)** を著しく低下させる。これらの疾患に対する骨移植術では大量の移植骨を要する場合もあり、採骨部位には腸骨が選択されることが多い。腸骨は良好な移植骨が大量に採取される反面、術後の歩行制限が必要となり、数週間程度の入院期間が必要となるなど手術侵襲が大きい。また口腔領域以外に手術侵襲を加えることについても抵抗を示す場合もある。特に口唇口蓋裂患者における咬合再建の場合、小児期に顎裂部（歯槽部）の骨欠損を回復する必要がある。従来法である腸骨を用いての顎裂部骨移植術を行った場合、2 週間程度の入院期間だけでなく、退院後についても運動制限のため不自由な社会生活を強いてしまっているのが現状である。

昨今では組織欠損領域の周囲に良好な足場を形成し、細胞増殖子を提供すること、欠損領域周囲の分化能力が高まり、自然治癒力が促進され組織欠損が修復することが報告されている。すでに皮膚難治性潰瘍にともなう上皮小欠損や歯周病により生じた軽度の歯周組織欠損に対してゼラチンハイドロゲルと呼ばれる機能性足場材と共に細胞増殖因子である **basic fibroblast growth factor (bFGF)** を移植することで良好な組織再生が可能という報告がなされている¹⁾。また、顎骨に対しては下顎骨下縁に作製した小欠損に対し **bFGF** 含浸ゼラチンハイドロゲルを補填することで骨修復が可能なが示されている²⁾。ゼラチンハイドロゲルとは体内環境に似た三次元的な吸収性の足場材であり、分子サイズを調整することで生体内での分解速度を調整することが可能である。またゼラチンハイドロゲルには種々の生理活性物質を添加することが可能であり、ゼラチンハイドロゲルが生体内で吸収されると添加された生理活性物質が周囲に徐放される性質を持つ。本研究では成犬を用いて実験的に作成した下顎骨の大欠損に対し、**bFGF** 含浸ゼラチンハイドロゲルのみを補填することで用いて骨再生が可能かを検討した。

本研究では良好な顎骨再生が可能となれば顎骨に対する骨再生術における手術侵襲の軽減が可能となる。

2.方法

2.1 実験動物

生後約 10 ヶ月、体重約 10 kgのビーグル成犬を用いた。大阪大学歯学部実験動物施設にて 3-4 週間後飼育後、異常のないことを確認し、実験に供した。

2.2 埋入材料の調整

bFGF 溶液は、トラフェルミン（遺伝子組み換え）噴霧剤（フィブラストスプレー®）（科研製薬株式会社、東京、日本）500 µg を、リン酸緩衝生理食塩水（phosphate-buffered saline : PBS）を用い、0.5 µg/µL の濃度で溶解して作製した。メドジェル®シート（PI5）（新田ゼラチン、大阪、日本）を用いた。メドジェル®シート（PI5） 37.5 mg に対し、300µL の bFGF 溶液を滴下し、37°Cで1時間静置し、bFGF 溶液を完全にメドジェル®シートに含浸させた。対照材料として同量の bFGF 溶液を可吸収性止血剤であるサージセル・アブソバブル・ヘモスタット®綿型に滴下したものを用いた。

2.3 埋入場所の作成

ビーグル成犬に塩酸メデトミジン（0.02 mg/kg、ドミトール®：日本全薬工業株式会社、福島、日本）、ミダゾラム（0.3 mg/kg、ドルミカム®：アステラス製薬株式会社、東京、日本）、酒石酸ブトルファノール（0.2 mg/kg、ベトルファール®、Meiji Seika ファルマ株式会社、東京、日本）の筋肉内注射による全身麻酔を行った。下顎正中部より皮膚切開を行い、広頸筋直下にて剥離を進め、下顎骨下縁を露出させた。レスプロケーティングソーを用いて下顎第3前臼歯の近遠心で骨離断を行い、15 mm 幅の骨欠損を作製した。骨離断前に屈曲したチタン製ミニプレートを用いて、顎位を復元した。下顎第3前臼歯の歯頸部歯肉を縫合し、移植床を作成した。

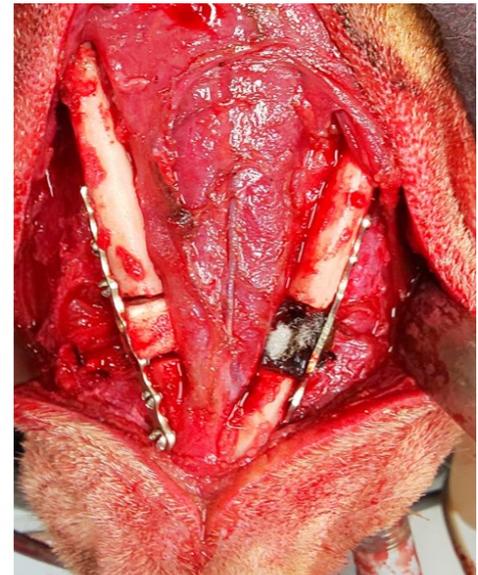


図1 材料埋入の様子

左側骨欠損部にbFGF含浸ゼラチンハイドロゲルを
右側骨欠損部にbFGF含浸サージセルを埋入した

2.3 材料の埋入

左側の骨欠損腔に bFGF 含浸ゼラチンハイドロゲルを充填し、右側の骨欠損腔には bFGF 含浸サージセルを充填した（図 1）。充填後、骨膜・皮下・皮膚を縫合した。埋入終了後に下顎咬合法を用いてレントゲン撮影を行った。術後 5 日間は感染予防のため、アモキシシリン 200 mg 分 2 で経口投与した。

図 3 に方法シエーマを示す。

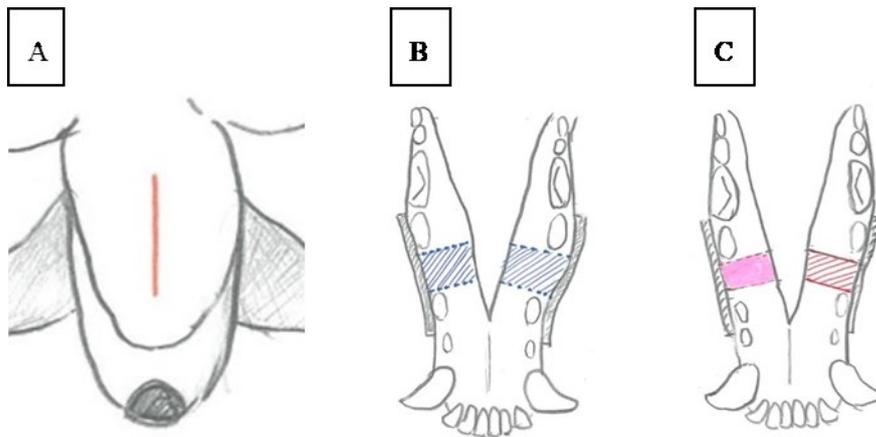


図2 方法シェーマ

A:皮膚切開

下顎正中中部に皮膚切開を行った

B:

下顎第3前臼歯の近遠心で骨離断し、15mm幅の骨欠損腔（青斜線部）作製し、チタン製プレート（黒斜線部）固定した

C:材料の埋入

左側骨欠損腔にbFGF含浸ハイドロゲル（赤斜線部）、右側骨欠損腔にbFGF含浸サージセルを填入（桃色）した

2.4 観察方法

埋入後1か月ごとに全身麻酔下にて口腔内写真撮影および下顎咬合法によるレントゲン撮影を行った。

埋入後6か月に周囲に一層の軟組織をつけて両側下顎骨を摘出し、 μ CT撮影を行った。

3.結果

3.1 口腔内所見

術後1か月時点での口腔内所見を示す（図3）。術後1か月時点で両側の創部に弾性軟の境界明瞭な腫瘍を認めた。観察期間においては腫瘍のサイズの変化は認めなかった。また、bFGF含浸サージセル側の方がbFGF含浸ゼラチンハイドロゲル側と比較し大きな腫瘍を認めた。



図3 術後1ヵ月時点での口腔内写真
 両側の材料埋入相当部に弾性軟の境界明瞭な腫瘍を認めた。
 観察期間内では大きさの変化はみとめなかった。

3.2 レントゲン所見

術後のレントゲン所見を示す(図4)。左側骨欠損部(bFGF含浸ゼラチンハイドロゲル填入側)では術後1ヵ月時点で骨離断部の両側から骨新生を認めた。術後6ヵ月時点では線状のX線透過領域を認めるものの、骨離断部を同程度の幅の骨新生が認められた。右側骨欠損部(bFGF含浸サージセル填入側)では術後1ヵ月時点で骨離断部の近心側から骨新生を認めた。6ヵ月時点では楔上のX線透過領域をみとめ、新生骨は骨離断部断端より細いものであった。



図4 X線所見(左:術直後、中央:術後1ヵ月、右:術後6ヵ月)
 左側(bFGF含浸ゼラチンハイドロゲル填入側)で良好な顎骨再生を認める。

3.3 μ CT 所見

術後 6 か月時点での μ CT 所見を示す (図 5)。左側骨欠損部 (bFGF 含浸ゼラチンハイドロゲル填入側) で皮質骨と同程度の CT 値を示す皮質骨および内部に海綿骨様の領域を認め、新生骨を認めた。右側骨欠損部 (bFGF 含浸サージセル填入側) においても皮質骨を同程度の CT 値を示す新生骨を認めたが、反対側と比較すると新生骨の骨幅は狭い。また両側骨欠損部に充填した材料は確認できなかった。

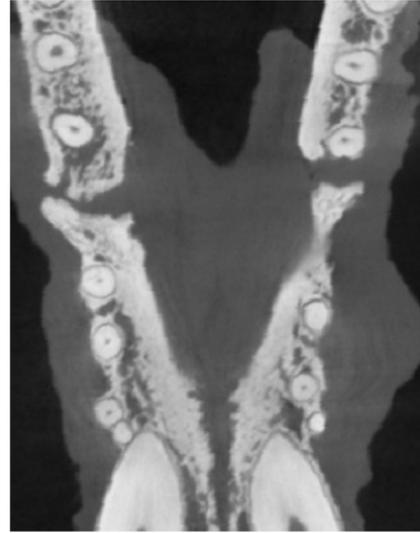


図5 μ CT所見
左側骨欠損部 (bFGF含浸ゼラチンハイドロゲル填入側) で皮質骨と同程度のCT値を示す皮質骨および内部に海綿骨様の領域を認める。新生骨を認める。右側骨欠損部 (bFGF含浸サージセル填入側) においても皮質骨を同程度のCT値を示す新生骨を認めるが、反対側と比較すると新生骨の骨幅は狭い。

4. 考察

口腔領域においては外傷、口唇口蓋裂などの先天異常により歯槽骨に大きな欠損が生じるために口腔機能や審美性が喪失し、QOLを著しく低下させる。歯槽骨造成法には自家骨移植、人工補填剤を用いる方法、歯槽骨延長術などがあるが、大きな欠損に対しては大量の移植骨が必要とされることから腸骨移植が選択されることが多い。腸骨移植は大量の良好な海綿骨が採取できる反面、口腔外へ侵襲を加えることとなり、術後の歩行制限が必要など患者への負担も大きくなる。³⁾ 本研究では大きな骨欠損に対し、自家骨を使用せず細胞増殖因子である bFGF および機能性足場材料であるゼラチンハイドロゲルを用いた骨再生について検証を行った。骨欠損部に bFGF 含浸ゼラチンハイドロゲルおよび bFGF 含浸サージセルを填入することで、自家骨移植を行わなくても骨再生が可能であることが示された。さらに、bFGF 含浸ゼラチンハイドロゲル側については対照側と比較し、新生骨幅が広く良好な顎骨再生が可能であることも示された。bFGF には未分化間葉系細胞、血管内皮細胞等に対して、細胞増殖及び細胞遊走の促進作用等を示すことが報告されている⁴⁾。さらに骨折において間葉系幹細胞の増殖および分化を促進することにより治癒を促進することも報告されている⁵⁾。これらの作用により血管新生を伴って増殖した未分化間葉系細胞は骨芽細胞へ分化し、骨を再構築することで、顎骨が再生されたと思われる。bFGF 含浸サージセル側では含浸された bFGF 溶液は骨欠損腔に留まらず、即座に周囲組織に流れだし

たと推測される。その結果、骨欠損腔ではなく、歯肉に bFGF が作用し歯肉増殖が生じたのではないかと思われる。bFGF 含浸ゼラチンハイドロゲル側においては、ゼラチンハイドロゲルを担保とすることで bFGF が骨欠損腔に留まることが可能となり、約 2 週間に亘って骨欠損腔の周囲細胞に細胞増殖因子を供給した結果、良好な骨再生ができたのではないかと思われる。

5.結語

本研究より下顎骨の大欠損に対し、bFGF 含浸ゼラチンハイドロゲルのみを補填することで良好な顎骨再生が可能となる可能性が示唆された。今後、さらなる検証を行い、顎骨再生手術の侵襲軽減を図りたい。

6.文献

- 1) Marui Akira, Tabata Yasuhiko, Kojima Shunsuke, Yamamoto Mmasaya, Tambara Kenichi, Nishina Takeshi, et al. A novel approach to therapeutic angiogenesis for patients with critical limb ischemia by sustained release of basic fibroblast growth factor using biodegradable gelatin hydrogel: an initial report of the phase I-IIa study. Official Journal of the Japanese Circulation Society 2007,71:1181-1186.
- 2) 横矢重俊,木下靱彦,福岡真一,水沼秀之,小園 知,田畑泰彦ほか.bFGF 含浸ゼラチン粒子の顎骨再生におよぼす影響. 口科誌. 2002;51 (5) :324-334
- 3) 山本信治,浜瀬真紀,古谷義隆,山内智博,須賀賢一郎,片倉 朗ほか.ボーングラフトはゴールドスタンダード.歯科学報.106(1)5-12
- 4) Gospodarowicz D, Ferrara N, Schweigerer L, Neufeld G: Structural characterization and biological functions of fibroblast growth factor. Endocr Rev, 8(2): 95-114, 1987.
- 5) Kawaguchi Hiroshi.Bone fracture and the healing mechanisms. Fibroblast growth factor-2 and fracture healing. Clin Calcium, 19(5):653-659. 2009

7.成果発表

なし