

## 学位論文の内容の要旨

論文提出者氏名	松浦 孝典
論文審査担当者	主査 春日井 昇平 副査 山下 仁大、寺島 達夫
論文題目	Effect of a tunnel-structured $\beta$ -tricalcium phosphate graft material on periodontal regeneration: a pilot study in a canine one-wall intrabony defect model.
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>&lt;要旨&gt;</p> <p>歯周組織再生治療において、様々な骨補填材が足場として使用されている。既存の材料は顆粒状のものが主であり、遮蔽膜の併用が必要となるケースが多い。この場合、形態付与は可能であるが膜であるため外力により変形しやすく、形態維持の点での欠点がある。そのために1壁性骨欠損など重度な欠損形態では十分な再生を得ることが難しい。そこで顆粒状の材料より強度があり、形態維持が得られやすく、また緻密なブロック上のものより組織再生に有効で血管新生を起ししやすい多孔質である筒状の<math>\beta</math>-三リン酸カルシウム(<math>\beta</math>-TCP)を多数焼結させたトンネル型<math>\beta</math>-TCPを作製した。本実験では1壁性骨欠損において、本材料が単独使用でも骨形成が有意に多く起きることが証明された。単独使用で重度な歯周組織欠損を治療できることは、操作性に優れ、より簡便に再生治療が行えるという点で臨床的に意義があると考えられる。</p> <p>&lt;緒言&gt;</p> <p>歯周組織再生療法にて、骨補填材が足場として単独または他の材料と併用で幅広く使用されている。近年ではサイトカイン治療や細胞治療といった治療法が活発に研究されているが、理想的な足場は未だ確立されていない。歯周組織再生には自家骨移植がゴールドスタンダードと考えられているが、供給部への侵襲や採取量の制約といった欠点があるため、ハイドロキシアパタイト(HA)やTCP等の人工材料が代替として使用されている。特にTCPは高い生体親和性、生体溶解性、生体吸収性から再生に適していると考えられている。また、補填材の気孔率や化学的特性と幾何学的構造は骨再生に影響を与えており、これまでの研究で骨再生に最適な構造が研究されてきた。幾何学的構造に着目すると、多孔構造は骨再生に適していると考えられている。さらに孔のサイズ・形状が骨再生に影響を与え、HAとTCPの複合材の研究では0.7-1mmの連通孔を有すると新生骨が誘導されると報告されている。また、最適な孔径を調べたHAの研究では300-400<math>\mu</math>mの孔径で最も多くの骨量を示した。さらにBMP-2を含浸させた顆粒型、ブロック型、貫通孔を有するハニカム型のHAを比較し、幾何学的構造の骨誘導能への影響を調べた研究では、ALP活性とオステオカルシンがハニカム型で最も高く発現した。ただし、ハニカム構造のトンネル間の緻密な部分では骨再生が弱いため、改善すべくトンネル型<math>\beta</math>-TCPを作製した。本材料はラン</p>	

ダムに焼結させた筒状の $\beta$ -TCP からなるブロック型の補填材である。本研究は、臨床応用前の予備的研究としてトンネル型 $\beta$ -TCP をイヌ 1 壁性骨欠損に適用した場合の歯周組織再生に与える影響を評価した。

#### <方法>

ペースト状の $\beta$ -TCP を内径 300 $\mu$ m 外径 500 $\mu$ m の中空構造の筒型で押し出し、900 $\mu$ m の長さで切断した後、10x10x12mm の型に方向が不均一となるように集め 1100 $^{\circ}$ C で焼成し気孔率が 69% のトンネル型 $\beta$ -TCP を作製した。そして欠損サイズに近い 4x5x12mm に切断した。ビーグル犬 6 頭の下顎第二、第三切歯を抜歯し 12 週後に、下顎犬歯近心に幅 4mm 深さ 8mm の 1 壁性骨欠損を外科的に作製した。

根面のセメント質はルートプレーニングを行い除去した。実験群ではトンネル型 $\beta$ -TCP を整形し補填、対照群では何も補填せずに縫合閉鎖した。手術は全て全身及び局所麻酔下で行った。術後の管理として抗菌薬 3 日間の投与および週 3 回 2% クロロヘキシジンで洗口した。術後 12 週に安楽殺を行い、標本を採取しホルマリン固定した。micro CT 撮影し、3 次元のおよび 2 次元の画像を取得し、その後脱灰切片を作製し H.E.

及び AZAN 染色を行い組織学的評価を行った。評価では以下の項目を測定した。新生骨：欠損底部から新生骨最歯冠側部、新生セメント質：欠損底部から新生セメント質最歯冠側部、新生結合組織性付着：欠損底部から上皮性付着最根尖側部、欠損高さ：欠損底部からセメントエナメル境得られた結果は対応のある t 検定を用い実験群と対照群の差を統計学的に分析した。

#### <結果>

実験群、対照群ともに術後 12 週において肉眼的に炎症所見は認めず、良好な治癒を認めた。micro CT で得た 3 次元画像では、実験群の欠損がトンネル型 $\beta$ -TCP ではほぼ充塞されている像を認めた。一方で対照群では欠損上部が陥凹していた。断面像では、実験群にトンネル型 $\beta$ -TCP と骨様不透過像を認めた。一方で対照群では狭く深い欠損を認めた。

組織学的計測では両群ともに細菌や炎症性細胞の浸潤等の感染および炎症所見を認めなかった。弱拡大像では、実験群では骨欠損が補填材と新生骨で密に埋まっていた。また補填材周囲に沿って新生骨を認めた。結合組織による被包化は認めなかった。対照群では新生骨が疎に埋まっていた。強拡大像では、実験群は対照群より狭い歯根膜腔を認めた。根尖側では、実験群では厚いセメント質と活動的なセメント芽細胞の配列を歯根象牙質表面に認めた。両群ともに歯根膜腔で新生セメント質へ埋入している結合組織を認めた。トンネル型 $\beta$ -TCP の表面は部分的に吸収し新生骨の形成を認めた。トンネル型 $\beta$ -TCP の内腔では血管新生を認めた。統計学的分析では、実験群は対照群に比べ有意に新生骨の量を多く認めた。新生セメント質、新生結合組織性付着は有意な差を認めなかった。

#### <考察>

本実験は一般的に使われているモデルより厳しい大きな欠損サイズで行ったが、そのような欠損でもトンネル型 $\beta$ -TCP は歯周組織の治癒、特に骨形成を促進した。ブロック型の補填材と同

様に、トンネル型 $\beta$ -TCP も欠損に完全に適合させることは困難であり、既存骨の間に隙間が生じるが、それら隙間も新生骨で完全に閉鎖する。これはトンネル構造が血管の新生を促進するからだと考えられる。

本研究で使用したトンネル型 $\beta$ -TCP の孔内径は、げっ歯類での研究に基づき骨新生に最適である  $300\mu\text{m}$  であり、本研究の結果に基づくこの構造は骨形成に理想的であると考えられる。歯冠側で新生骨の形成を認める組織学的所見から、本材料は少なくとも骨伝導能を持っている可能性がある。これは新生骨がトンネル型 $\beta$ -TCP および欠損底部から誘導された骨芽細胞の両方から形成することを示している。生体材料は骨伝導能と骨誘導能を有し、特に幾何学的特性が骨誘導能に関係しているという報告があるが、骨誘導能については筋肉内または皮下モデルの実験を行い評価する必要がある。

新生セメント質と新生結合組織の形成では対照群でも良好な治癒が生じたため両群で有意な差は認めなかったが、組織学的所見では実験群の新生セメント質は対照群よりも厚みがあり、歯根膜腔の幅は狭く、歯根膜線維はセメント質に垂直に埋入していた。これらの所見はトンネル型 $\beta$ -TCP が歯周組織の治癒に有利な役割を果たしていると考えられる。

一般的に $\beta$ -TCP は生体内で早期に吸収・溶解されるが、トンネル型 $\beta$ -TCP は術後 12 週でも残存している。多孔性 $\beta$ -TCP は 24 ヶ月で完全に吸収されるという報告があるので、本材料を含め様々な形状の $\beta$ -TCP の完全吸収を評価する長期的な研究を行う必要がある。

トンネル型 $\beta$ -TCP はすべての実験群で歯肉弁の壊死や創の離開、材料の露出などの合併症を認めず、臨床的な安全性を示した。組織学的所見でも感染や炎症所見を認めず、既存骨と新生骨に $\beta$ -TCP が結合していたことから生体親和性が高いと言える。本研究の良好な結果に基づくと、ヒトを対象に本材料を使用し歯周組織、特に骨の再生での評価をする次の段階の研究を行うべきだと考える。

#### <結論>

本実験の結果より、トンネル型 $\beta$ -TCP は大きな 1 壁性骨欠損において、新生骨の形成を促す足場としての有効性を示した。

## 論文審査の要旨および担当者

報 告 番 号	甲 第 4803 号	松浦 孝典
論文審査担当者	主 査 春日井 昇平 副 査 山下 仁大、寺島 達夫	
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>歯周疾患により破壊された歯周組織の再生治療を行う際に、様々な骨補填材が足場として使用されているが、理想的な足場は未だに確立されていない。ゴールドスタンダードは自家骨と言われているが、侵襲部の増加や採取量の制約があり代替物が求められている。既存の骨補填材は主に顆粒状であるため、スペース保持のために遮蔽膜の併用が必要となり手技が煩雑となる場合が多い。</p> <p>松浦孝典らは、骨再生に適していると報告されている孔径 300 <math>\mu\text{m}</math> のチューブ型の <math>\beta</math>-TCP を多数焼結させた多孔質なブロックであるトンネル型 <math>\beta</math>-TCP を作製した。そしてビーグル犬に再生を得ることが困難な 1 壁性歯周組織欠損を作製し、本材料を単独で補填することで、組織再生に与える影響を組織学的に検討した。このような形状の骨補填材に関する研究はおこなわれておらず、本研究の新規性は極めて高い。</p> <p>本研究ではビーグル犬 6 頭の下顎犬歯近心を評価部位とし、欠損作製の間を確保するため、下顎第 2 第 3 切歯の抜歯が手術に先立ち行われた。作製したトンネル型 <math>\beta</math>-TCP の気孔率は 69% であった。また本材料単独での 1 壁性歯周組織欠損における影響を調べるため、対照群には骨補填材を適用しなかった。術後 12 週で標本を採取し、<math>\mu\text{CT}</math> を撮影した後に組織切片を作製し H. E. 染色および AZAN 染色を行い組織学的に観察した。また欠損底部を基準として新生骨、新生セメント質、新生結合組織性付着を計測した。対応のある t 検定を用い実験群と対照群を比較し評価した。本研究において、実験モデルおよび実験手法は適切に選択されていた。</p> <p>本研究から以下のような結果を得られた。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 実験群、対照群ともに術後 12 週において炎症所見は認められず良好に治癒した。</li> <li>・ 実験群では新生骨の形成が統計学的に有意に高かった。</li> <li>・ 新生セメント質、新生結合組織性付着に関しては両群で有意差は認められなかった。</li> <li>・ 実験群ではトンネルの内面および外面に沿った、既存骨と連続した新生骨が形成された。</li> <li>・ 実験群では狭い歯根膜腔、新生骨と新生セメント質に埋入したシャーピー線維、厚い新生セメント質が確認された。</li> </ul> <p>これらの実験結果は、論文中に明確に記載されていた。</p> <p>これらの結果から以下のことが考察された。</p> <p>本材料は単独使用でも歯周組織に有効な骨補填材であり、歯周組織の再生にも影響を与えている可能性が示された。またトンネル構造が骨形成に先立つ血管新生を促進することで、結合組織に被包されず既存骨と連続した新生骨が形成されると考えられた。実験結果に対して適切な考察</p>		

がなされていることを確認した。

本研究において松浦孝典は、外科的に作製したイヌ下顎 1 壁性歯周組織欠損に本材料を単独で補填することで、比較的簡便に骨再生が得られることを明らかにした。また本材料が被包化されず残存組織との連続性を保ったことから、細胞や増殖因子の足場としても有効である可能性が考えられる。本論文において得られたこれらの結果は、歯周病学分野に限らず、骨補填材を用いる歯科および医科の臨床の発展に大きく貢献することが期待できる。

よって本論文は、博士（歯学）の学位申請を行うにあたって十分価値あるものと認められた。