

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：17701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659878

研究課題名(和文)高膨潤性高分子を用いた超低侵襲な骨膜挙上材の開発

研究課題名(英文)Development of polymer materials for ultralow invasive periosteum lifting

研究代表者

西村 正宏(Nishimura, Masahiro)

鹿児島大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：00294570

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：歯周病や加齢によって吸収した歯槽骨を増生することはインプラント埋入前に高い頻度で求められることであるが、実際には困難を伴う。本研究の目的は移植体を容易に充填するために、骨膜を挙上し、骨の間にスペースを確保するための材料と方法を検討することであった。材料としてはポリ乳酸化合物(PLLA/PLGA)の膜をラットの頭頂骨上に用いた。膜を早期に除去する場合は3週間以内に除去することが適切であること、およそ9週間後からは膜内部に異所性の骨形成が起こり始めることが示された。膨潤することで骨膜を挙上して移植部位の確保を図る以外のPLLA/PLGA膜の新たな使い方が示された。

研究成果の概要(英文)：Alveolar ridge tends to absorb by periodontal diseases or aging, and its augmentation technique is required in many cases before dental implantation. However alveolar ridge augmentation is not an easy surgery. The purpose of this study was to evaluate the best material or method to reserve a required space for periosteum augmentation. We used PLLA/PLGA membrane as the periosteum lifting auto-swelling material on rat calvaria model. As a temporary insertion usage, the membrane should be removed within 3 weeks before its self resorption. Interestingly, ectopic bone formations in the PLLA/PLGA membrane were observed after 9 week. Insertion of PLLA/PLGA membrane underneath the periosteum might be an alternative method for alveolar ridge augmentation.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯科医用工学・再生歯学

キーワード：骨造成 骨増生 骨膜挙上

1. 研究開始当初の背景

移植を伴わない低侵襲で確実な骨の増生法は術者にとっても患者にとっても求められている治療法であるが、口腔内側の骨増生は感染リスクが高く、高度な技術が必要である。特殊な機器を用いることなく骨膜を徐々に拳上して骨膜と骨の間にスペースを確保することが可能になれば、骨膜が比較的保存された状態で閉鎖した空間に細胞/担体複合体を充填することが可能になる。その結果として骨増生は極めて確実、低侵襲に行われることが期待される。研究開始当初に、このようなコンセプトをもつ研究や手法は無かったため、骨を造成した後は、粘膜を減張切開して縫合する方法が一般的にとられていた。しかし減張切開を行うと、角化粘膜の幅は増大せず、可動粘膜が歯槽堤上部に達し、その後の義歯やインプラントの治療には様々な点で不利となっていた。

2. 研究の目的

本研究では、粘膜に最小限の切開を加え、骨膜を鋭利な骨膜剥離子で剥離して高膨潤性の材料を骨上へ設置し、元通りに粘膜を縫合し、自然にその材料が膨潤することで骨膜を温存したまま、骨膜下にスペースを確保し、その後の骨増大スペースを確保する方法と材料を見出すことである。

3. 研究の方法

(1) 材料の膨潤性の検討

各ポリマーの種類、プラズマ処理の有無、さらに圧縮率の違いによる材料膨潤率を検討  
ポリマーとして直径 9mm 程度、PLLA/PLGA 比率は 75/25 で、分子量 22 万、ガラス転移点 51.3 度、分子量 25.4 万、ガラス転移点 53 度の 2 種類を用意した。それぞれをプラズマ処理、非処理、元の厚みから 16% から 50% になるよう圧縮を加えた。各材料は通常濃度の 10 倍量の抗生物質入りの MEM に浸漬して 2 か月間経過後、厚みを測定した。

(2) 膨潤性材料の生体内での挙動解析

PLLA/PLGA の膜を製作する際に、厚みのある膜は均質に作ることが困難である。高い圧縮率のポリマーで同じ厚みを確保するとポリマーの質量そのものが高くなり、分解時に酸を産生することにもなるため、適度な圧縮率と厚みをもつ膨潤材が適当であると考えられる。一方で PLLA/PLGA 膜はその製作時は均質に厚いものを製作することが困難であるため、最大厚が 4mm 弱のものを準備し、3 種類の厚み(3.6 2.2 mm; 約 63%, 3.6 1.7 mm; 約 48%, 3.76 1.1 mm; 約 29%) になるように圧縮を加えた。その膜をラット頭頂骨上の骨膜下へ挿入し、生体の反応とその後の組織学的観察を行った。

4. 研究成果

(1) 材料の膨潤性の検討結果

圧縮後の状態から最も高い膨張率を示したのはのポリマーで、プラズマ処理せず、16% に圧縮した材料であった。次いで同じものをプラズマ処理した材料であった。したがって、ポリマーとしては分子量には依存しないこと、プラズマ処理は材料の膨潤率を減少させることが示された。高圧縮の材料は圧縮後からの膨潤率は高かったが、圧縮前の厚みから比較すると還元率は低かった。そしていずれの材料も圧縮前よりも厚くなることはなかった。つまり圧縮することで分子構造が破壊されてはいるが、結果として 16% 程度の圧縮は最も高い膨張率を与えられることが示された。また同じ圧縮率の と の材料では、その膨潤率には有意差は認められなかった(表 1)。したがって、骨膜拳上するに必要な各ポリマーは圧縮率が高い方がその後の膨張率も高くなるが、膨潤後の厚みは必ずしも圧縮前からの膨張率とは比例しないことが判明し、今後の材料検討は圧縮後からの膨張率を指標として選定すれば良いことが分かった。

サンプル No.	ポリマーメーカー	プラズマ処理	圧縮前 [mm]	圧縮後 [mm]	圧縮率 [%]	使用時の厚み [mm]	圧縮後からの膨張率	圧縮前からの膨張率
5		-	2.069	0.321	16	0.86	268	42
9			2.107	0.310	15	0.77	248	37
11		-	2.287	0.654	29	1.3	199	57
3		-	2.265	0.721	32	1.32	183	58
10		-	2.134	1.074	50	1.96	182	92
8			2.272	0.510	22	0.9	176	40
4		-	2.062	0.546	26	0.96	176	47
13			2.307	0.700	30	1.13	161	49
2		-	2.281	0.970	43	1.55	160	68
7			2.254	0.677	30	1.05	155	47
1		-	2.167	0.996	46	1.4	141	65
12			2.373	1.094	46	1.3	119	55
6			2.413	1.085	45	1.19	110	49

表 1 1 種類のポリマー、プラズマ処理の有無、圧縮率の違いによる材料膨潤率

(2) 膨潤性材料の生体内での挙動解析結果

移植材料の外観での膨潤状況と撤去性について

PLLA/PLGA の膜を骨膜下へ移植したラット頭頂部は 2 週間、いずれも良好に膨れていた。



図 1 : ラット頭頂骨上に直径約 9mm, 1.5mm 厚の PLLA/PLGA 膜を挿入し、3 週後の全体観。明らかに当初移植した 1.5mm の倍程度の 3mm 程度は盛り上がっている。

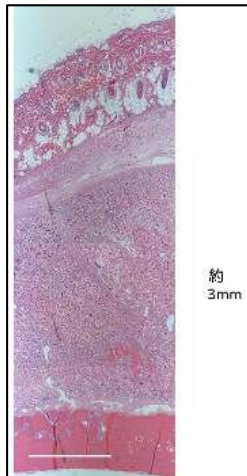
3週後に圧縮約63%の膜を挿入した部位を開くと、既に母床骨と弱く結合していた。そのため、膜を除去するためには3週以内が適切であることが示唆された(図2)。



図2: 1mm厚の PLLA/PLGA 膜を挿入し、3週後に取り出した状態。厚みは2.5mm程度となり膨潤していた撤去膜

#### 移植部位の組織化学的反応

さらに長期的に PLLA/PLGA 膜がどのように変化するかを観察するため、9週後と12週後での頭頂骨上全体の組織を回収し、組織学的に観察した。9週後にはいずれの膜を挿入した部位も母床と強固に連続し、約3mmの厚みであり、頭頂骨は若干陥没していた。



1.0mm厚の膜を移植し、9週後の組織像(前頭断)を左に示す。下部の頭頂骨の上に膨潤した膜が存在し、その上に表皮が盛り上がっている。皮下組織には強い炎症細胞の浸潤は認められない。頭頂骨の約0.5mm上方には異所性の骨形成も認められる(図3組織像の白いバーは1mmを示す)。

図3 1.0mm厚の膜を移植後の頭頂骨から表皮を含む組織像(H&E)

次に1.5mm厚の膜を移植した群の組織像を示す。この標本についても同様に皮下組織には強い炎症細胞の浸潤は認められない。頭頂骨の約0.5mm上方には異所性の骨形成が複数認められた(図4)。

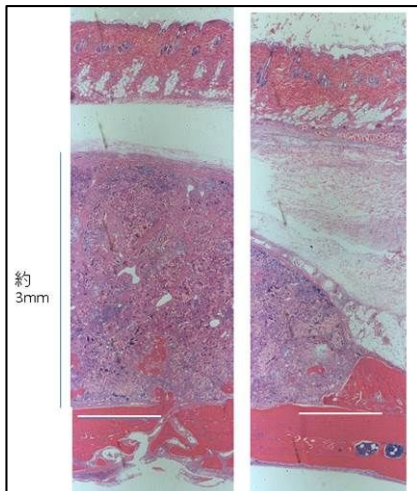


図4 1.5mm厚の膜を移植後の頭頂骨から表皮を含む組織像(H&E)

次に2.0mm厚の膜を移植した群の組織像を示す。この標本についても同様に皮下組織には強い炎症細胞の浸潤は認められない。頭頂骨の約0.5mm上方には異所性の骨形成が複数認められる(図5)。

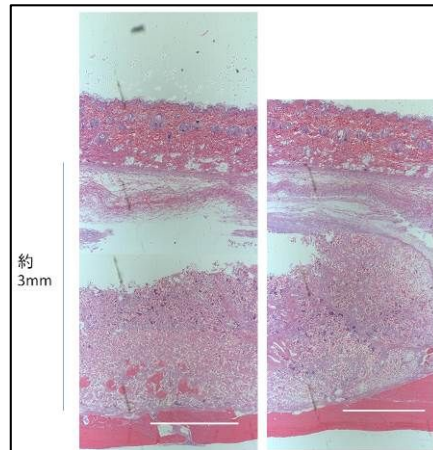


図5 1.5mm厚の膜を移植後の頭頂骨から表皮を含む組織像(H&E)

次に圧縮約29%の膜で最終的な厚みが約1mmの膜を移植12週後に移植部分の組織を回収した。



図6 1.0mm厚の膜を移植後12週後の回収時の組織外観

12週後には移植した膜は強固に頭頂骨と結合していた(図6)。この部分を回収して脱灰後、組織学的に観察したところ、約2mm程度の高さまで骨が形成されていた(次ページ図7)このメカニズムは明らかではないが、骨膜と頭頂骨の間にスペースが確保され、骨形成を抑制する方向のシグナルが膜によって遮断されたことにより、自発的に骨が拳上してきたものと思われる。また PLLA/PLGA 膜自体は自然分解し、その分解産物も骨形成を抑制しないことが示唆された。



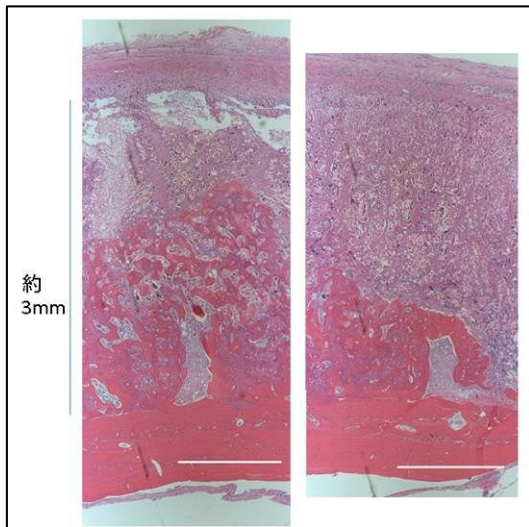


図7 図6の膨潤部分のほぼ中央の組織像 (H&E)

一方圧縮約 48%の膜を移植した頭頂部はあまり膨れておらず、頭頂骨と強固に結合した膜は既に吸収が起こっており、これを除去すると頭頂骨は極めて薄くなった(図8)。



図8 膜を剥離後の概観  
そして脳硬膜に至る部分まで一部吸収が見られた(図9)。

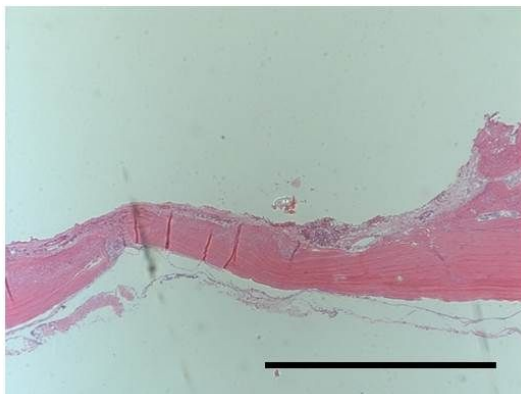


図9 膜を剥離後の組織像 (H&E) (バーは1mm) 頭頂骨が大きくえぐれている。従って、圧縮率の高い(約 29%)膜のほうが圧縮率の低い(約 48%)膜よりも膨潤する量が多く、膜内部での骨形成が極めて旺盛であることが示された。

したがって、膜を除去してスペースメイキング材として使うならば、3週間以内に除去

することが適切であること、およそ9週前後から膜内部に異所性の骨形成が起こり始め、12週では膨潤した膜の内部およそ2/3まで新生骨が形成されることが示された。したがって、膨潤することで骨膜を拳上して移植部位の確保を図る以外の PLLA/PLGA 膜の新たな使い方が示された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.hal.kagoshima-u.ac.jp/dental/Prosth2/Nishimura\\_study.html](http://www.hal.kagoshima-u.ac.jp/dental/Prosth2/Nishimura_study.html)

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

西村 正宏 (Nishimura Masahiro)

鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・教授  
研究者番号：00294570

(2)研究分担者

村田 比呂司 (Murata Hiroshi)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授  
研究者番号：40229993

末廣 史雄 (Suehiro Fumio)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教  
研究者番号：40524781