HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Periodontal wound healing by collagen hydrogel scaffold and FGF2 in class II furcation defects in dog [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	百瀬, 赳人
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11724号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59240
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Takehito_Momose_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（歯学）　　氏　名　百瀬 赳人

学　位　論　文　題　名

Periodontal wound healing by collagen hydrogel scaffold and FGF2 in class II furcation defects in dog

（イヌ根分岐部Ⅱ級骨欠損におけるコラーゲンハイドロゲルスキャフォールドとFGF2による歯周組織治癒）

緒言

歯周組織再生療法において細胞の増殖，分化を促進する増殖因子，スキャフォールドの研究開発が進められている．中でも，天然高分子であるハイドロゲルは生体内細胞外マトリックスによく似た特性を持っており，良好な生体吸収性，生体親和性を有している．近年，銅-アスコルビン酸システムで架橋されたタイプⅠコラーゲンハイドロゲルの作製方法とその良好な細胞侵入性が報告された．また，このコラーゲンハイドロゲルとコラーゲンスポンジを組み合わせた 3 次元構造を有するスキャフォールドが歯周組織治癒を促進したことも報告されている．しかし，歯槽骨の再生は作製した欠損部の半分程度までしか起こらなかった．

一方で，FGF2 は血管内皮細胞，線維芽細胞を増殖し，創傷治癒促進効果があることが報告されている．また，in vivo にて骨芽細胞増殖作用による骨形成促進効果も明らかとなっている．近年，FGF2 をコラーゲンハイドロゲルスキャフォールドと組み合わせることで骨増生が促進されることが確認された．したがって，我々はFGF2 とコラーゲンハイドロゲルスキャフォールドの組み合わせが歯周組織再生に有効ではないかと考えた．本研究の目的は，FGF2 含有のコラーゲンハイドロゲルスキャフォールドをイヌ根分岐部Ⅱ級骨欠損に埋植し，

歯周組織の治癒を病理組織学的に評価することである.

方法

コラーゲンハイドロゲルスキャフォールドの作製方法

コラーゲンハイドロゲルはウシ真皮由来アテロコラーゲン粉末に滅菌蒸留水を加え攪拌後，塩酸を加えてアテロコラーゲン溶液とし，L(＋)-アスコルビン酸と塩化第二銅二水和物を加え，1.5%コラーゲンハイドロゲルを作製した．次に，作製したコラーゲンハイドロゲルに FGF2(フィブラストスプレー500)を混和，攪拌して FGF2 含有コラーゲンハイドロゲルを作製した．その後，FGF2 含有コラーゲンハイドロゲルをコラーゲンスポンジ(5×3×3 ミリ；テルダーミス®)に真空化で含浸させた.

手術方法

実験動物は，約体重 10kg の雌ビーグル犬(12-16 か月齢)を用いた．ビーグル犬の上下顎前臼歯部を被験部位とした．部分層弁にて歯肉を剥離し，骨膜を除去，高さ 5㎜，水平的深さ 3㎜ の根分岐部Ⅱ級骨欠損を作製した．その後被験部位を 3 群に分け，コラーゲンハイドロゲルスキャフォールドのみを埋植する Col 群と，FGF2 含有コラーゲンハイドロゲルスキャフォールドを埋植する FGF 群では，それぞれ作製した欠損部に試料を埋植して歯肉を復位，縫合した．また何も埋植しないコントロール群を設定した.

病理組織学的観察及び計測方法

10 日，4 週後に通法に従い薄切標本を作製し，HE 染色，マッソントリクローム染色を行った．組織学的計測には根分岐部中央と頬側方向に 120，240，360，480μm 離れた切片の５枚を選択した．光学顕微鏡像を画像解析ソフトウェアを用いて新生骨率，新生歯根膜様組織率，新生セメント質様硬組織率，上皮侵入率を求めた．また，新生セメント質様硬組織は無細胞性セメント質と有細胞性セメント質の割合を調べ，新生歯根膜様組織は線維の密度によってスコア化(Kim らの方法)した.

結果

1）術後 10 日

コントロール群では分岐部内は炎症細胞および血管新生からなる肉芽組織が観察された．分岐部内の歯冠側では上皮の侵入が認められた．歯槽骨の新生は殆ど認められなかった．Col 群では上皮の侵入は認められず，分岐部内はスキャフォールドで満たされており，スキャフォールド内は血管の新生，線維芽細胞を認めた．歯槽骨はわずかに形成されていた．FGF 群では，血管の新生と線維芽細胞が多数認められた．新生骨形成は欠損底の既存骨から連続して活発に観察された．

2）術後 4 週

コントロール群では分岐部内の大部分は肉芽組織で満たされていた．新生骨の形成は欠損底部にのみ認められた．歯根膜様組織やセメント質様硬組織の新生は少量欠損底部にのみ認められ，歯冠側には認められなかった．Col 群では欠損部の半分程度まで新生骨が認められた．歯根膜様組織とセメント質様硬組織の形成が認められ，一部では骨とセメント質様硬組織のシャーピー線維と連なり，根面に垂直に走行する線維を認めた．上皮の侵入は殆ど認められず，歯根吸収やアンキローシスなども認められなかった．FGF 群では分岐部内の大部分は新生骨で満たされていた．頬側方向の組織切片においても，新生骨形成が多く認められた．また，歯根膜様組織とセメント質様硬組織の形成も多く認められた．マッソントリクローム染色では線維性に富み，シャーピー線維様構造を認めた．上皮の侵入は殆ど認められず，歯根吸収とアンキローシスは認められなかった．

3）組織学的計測結果

新生骨率，新生歯根膜様組織率，新生セメント質様硬組織率は全ての群間で有意差が認められた．特に FGF 群では有意に高い値を示した．FGF 群の新生骨率はコントロール群の約 2

倍大きかった．歯根膜の密度はFGF群で1.89±0.33，Col群で1.56±0.53，コントロール群で 1.22±0.44 であつた． 新生セメント質様硬組織は大部分が無細胞性セメント質であった．上皮侵入率はFGF群，Col群に有意な差は認められず，コントロール群で大きい値を示し，有意差が認められた．頬側の部位では，骨，歯根膜様組織，セメント質様硬組織の新生率は分岐部中央部より減少したが，FGF群では他の群に比較して有意に高い値を示した．

考察

10 日の組織学的観察においてCol群で細胞のイングロースが多数認められた．コラーゲンハイドロゲルはタイプⅠコラーゲンであり，生体親和性が良好で高い細胞誘導性を示したという報告を支持するものである．また，FGF2 の線維芽細胞増殖能，骨芽細胞増殖能の効果がコラーゲンハイドロゲルとの組み合わせによって創傷治癒のための生物学的活性を増強したと考えられる．加えて，コラーゲンハイドロゲルは自重の 200 倍の水分保持能力を有しており，FGF2 がスキャフォールドと共に維持されて効果を保つことができたと考えられる．よって，FGF群では活発な骨新生が10日から起きたと考えらえる．

4W の組織学的観察においてFGF群では骨新生が著名に認められた．骨新生には必ず血管の新生が必要であり，FGF2 の血管新生効果により増殖因子の供給，酸素分圧の向上，未分化間葉細胞の蓄積によってさらにリモデリングが促進したと考えられる．実際に，10 日のFGF群の組織像では血管の新生が多く認められた．一方で，本実験では FGF 群において新生骨は欠損内に著名に認められたが，アンキローシスは認められなかった．FGF2 は線維芽細胞増殖能を持ち，歯根膜様組織を再構築するとの報告がある．本研究においても同様に，FGF群は骨新生量に応じて新生歯根膜様組織の形成が多く認められた．FGF2 の自己組織化効果は歯周組織治癒を計る上で有用であると考えられる．

また，Col群，FGF群の上皮侵入率が有意に少なかったことから，スキャフォールドは分岐部内への上皮侵入を抑制し，これによって歯周組織再生の場を確保できた可能性が考えら

れる．よって，コントロール群と比較して，歯周組織の治癒が促進したと推測される．

以上より，コラーゲンハイドロゲルと FGF2 の組み合わせは歯周組織の創傷治癒のための生物学的効果を増強したと考えられた．

結論

FGF2 含有のコラーゲンハイドロゲルスキャフォールドは早期から細胞のイングロースが認められ，新生骨，新生歯根膜様組織，新生セメント質様硬組織の形成を有意に増加させた．このことから，歯周組織再生療法に有用であることが示された．