

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10445

研究課題名(和文) 進化分子工学と先端接着技術による脆弱性骨折の治療法の開発と実用化に向けた検討

研究課題名(英文) Development of fragility fracture treatment using molecular evolution engineering

研究代表者

渡邊 典行 (Watanabe, Noriyuki)

岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号：80708107

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：新規生体材料であるチタン結合性BMPの有用性について検討した。チタン結合性BMPを付与したチタンワイヤーと付与していないチタンワイヤーをそれぞれラット大腿骨に埋植したところ、チタン結合性BMP群の方がワイヤー周囲の骨新生が有意に増加していた。また引き抜き強度も有意に増加しており、チタン結合性BMPはインプラント周囲の固定力を早期に増加させる可能性がある。以上よりチタン結合性BMPは粗鬆骨に対する治療において有用であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the availability of a titanium binding bone morphologic protein(TB-BMP), which is a new biological material. TB-BMP coating titanium wires and conventional titanium wires were implanted in the femur of rats. TB-BMP coating titanium wires significantly enhanced bone formation on the surface of titanium compared to conventional titanium wires. Pull-out strength was also significantly increased in TB-BMP group. These results suggest that TB-BMP is a useful material for the treatment for the osteoporotic patients.

研究分野：整形外科学

キーワード：生体材料 チタン結合性BMP リン酸化プルラン

1. 研究開始当初の背景

高齢社会の到来により、変形性関節症に対する人工関節置換術の手術件数は増加の一途をたどっている。また、脆弱性骨折の頻度も増加傾向にあり、骨折に対する手術治療もまた増加傾向にある。これらの粗鬆骨に対する固定性は問題となり得るため、インプラント-骨間の固定性や骨片間の骨癒合はより早期に得られることが望ましい。BMPなどの成長因子は治療に効果的に働くことが期待できるが、これらの機能を十分に発揮させるには、まず患部にそれらの成長因子を留めて、必要に応じて効果的に徐放させる技術を開発しなければならない。そこで、近年、ムラサキガイの接着タンパク質の医療応用が注目されており、その主要アミノ酸である3,4-dihydroxyphenethylamine (L-DOPA)を成長因子に取り込むことで、金属への接着作用を発揮することが可能ではないかと考えた。この成長因子にL-DOPAを直接導入する方法が理化学研究所にて開発され、in vitroにおいては生物活性を有したままチタン表面へ強固に固定され、チタン結合性成長因子の有用性が示されている (Zhang C et al. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2016, 図1)。

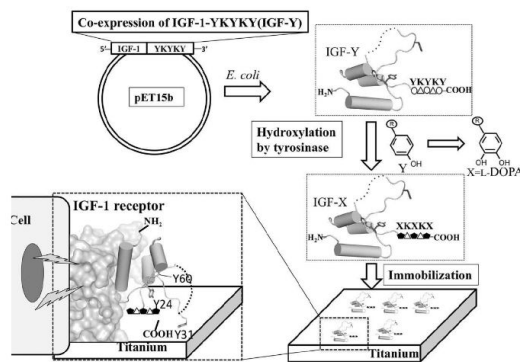


図1 チタン結合性成長因子

また、当大学では新しい高機能材料である多糖複合体リン酸化プルランを創製して組織再生能に優れ、骨に対し強固に接着する全く新しい骨補填材の実用化に取り組んでいる。これらの新規生体材料による骨形成促進効果はin vivoにおいては、まだ不明であり今後の臨床応用へ向けた課題となっている。

2. 研究の目的

本研究では、2つの新規生体材料であるチタン結合性BMP-2、リン酸化プルランによるBMP-2のチタンコーティングを動物モデルに用いることにより、その有用性を示し、骨粗鬆症患者の骨折治療に有効な新しい骨組織再生・再建技術を開発することを目的としている。

3. 研究の方法

SDラットの8週齢メスの大腿骨遠位部よ

り以下のチタンワイヤー (1.0mm、長さ10mm) をそれぞれ挿入した。何も処理をしていない群 (control 群、n=6)、チタン結合性BMPをコーティングした群 (以下、dopa 群、n=6) の2種類を挿入した。

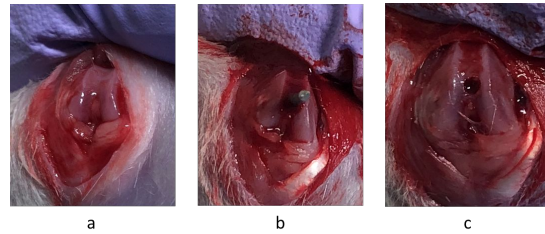


図2 チタンワイヤーの埋植方法

- a ラット大腿骨顆間部を露出
- b 1.1mmドリルで骨孔をあけチタンワイヤーを挿入
- c 関節内へ突出しないように骨内へ埋め込む

6週の時点で sacrifice し、マイクロCTを撮影し骨密度 (単位: mg/cm²) を測定した。撮影部位は大腿骨遠位骨幹端とした。骨密度測定に関してはチタンワイヤー表面から0.5mm 周囲の海綿骨を分析した (図3)。また、それぞれ5肢に対してはマイクロCT撮影後に -20 で凍結した後、引き抜き強度試験を行い、その引き抜き強度 (単位: N) を測定した。引き抜き試験デバイスを用い、100mm/min の速度でチタンワイヤーを引き抜き、その最大破綻強度を計測した。残りの1肢に関してはマイクロCT撮影後にホルマリン固定を行い、走査型電子顕微鏡 (SEM) にて画像評価を行い、チタンワイヤー周囲の骨形成量について検討した。チタンワイヤーを中心とした1.5×1.5mmの正方形内に存在する海綿骨が占める領域を画像解析ソフトMATLAB (The MathWorks, Natick, MA, USA) を用いて計測した。

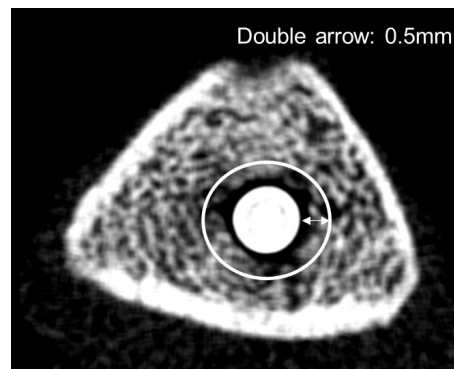


図3 マイクロCTでの骨密度測定領域
チタンワイヤー表面から0.5mm 周囲の領域に対して骨密度計測を行った

4. 研究成果

マイクロ CT を用いた骨密度測定においては、dopa 群の方が骨密度が高い傾向にあったが、有意差は得られなかった(図 4)。一方で、引き抜き強度試験においては、有意に dopa 群で引き抜き強度の増加を認めた(図 5)さらに、SEM を用いた画像評価で行った領域計測では、チタンワイヤー周囲の海綿骨の量が dopa 群において control 群と比較して 1.8 倍増加していた(図 6、図 7)。

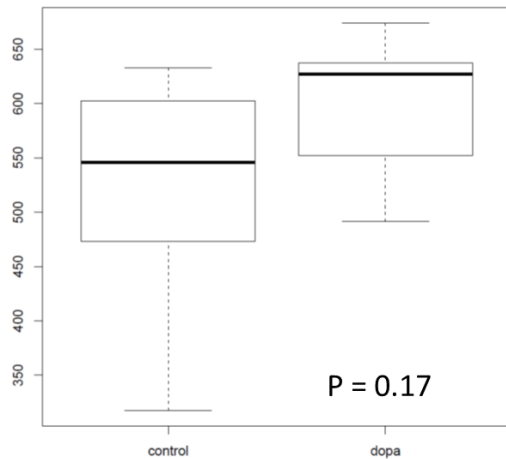


図 4 骨密度測定の結果
チタンワイヤー周囲の骨形成は dopa 群で高い傾向にあった

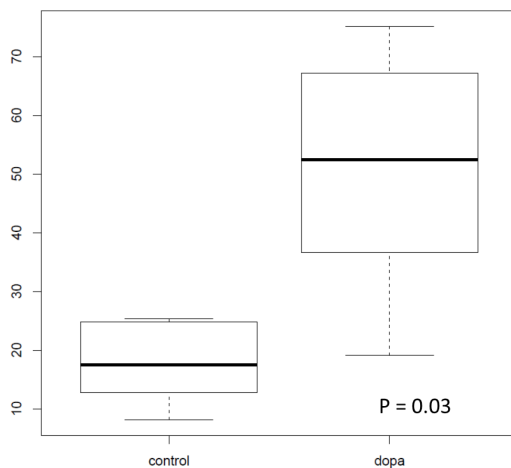


図 5 引き抜き強度の結果
dopa 群で有意に引き抜き強度は高かった

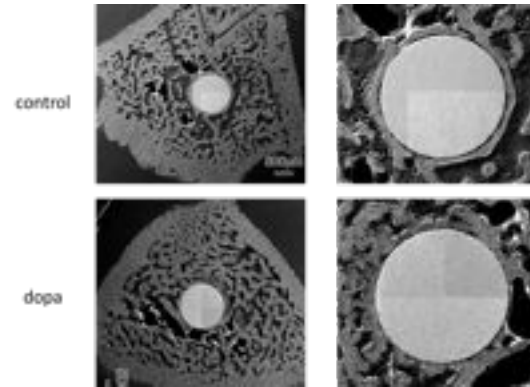


図 6 SEM における画像評価
チタンワイヤー表面における骨形成像も確認することができる

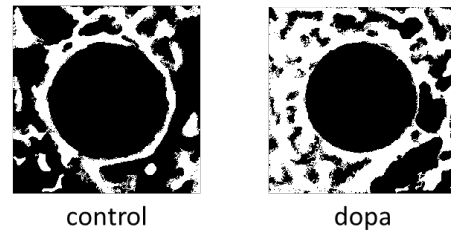


図 7 SEM における領域計測
MATLAB を用いて海綿骨とその他の領域を二値化した(白:海綿骨、黒:その他)

dopa 群の方が、引き抜き強度が強く、また SEM で観察したチタンワイヤー表面に固着した海綿骨の量も多かったことから、マイクロ CT における骨密度増加について有意差は得られなかったものの、チタンワイヤー周囲のアーチファクトの影響が考えられた。

チタン結合性 BMP-2 を用いたチタンワイヤーにおいて、有意な骨形成促進効果を認めた。この結果は、粗鬆骨に対する骨折治癒促進や、インプラント - 骨間の早期固定性増加のみならず、正常骨に対しても効果的である可能性があることを示している。臨床的にみても、正常骨においても重度外傷後などには偽関節や骨癒合遷延を経験することは多く、これらに対する応用を含めて、本研究の意義は極めて大きいと考える。

本研究における動物種は通常ラットのみであり、骨粗鬆症モデルにおける骨形成促進効果については今後検討していく必要がある。また、リン酸化プルランを用いた BMP-2 コーティングに関しては現在、研究中であり、成果については十分な報告ができなかったが、今後も研究を続けていき、チタン結合性 BMP との比較などを含めて検討していく予定である。

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2件)

内野崇彦, 塩崎泰之, 吉田晶, 吉村将秀, 宇川諒, 池田吉宏, 村岡聡介, 伊藤嘉浩, 松川昭博, 尾崎敏文, ラットにおけるチタン結合性 BMP の骨形成促進効果についての検討, 第37回整形外科バイオマテリアル研究会, 2017年12月2日, J-Hall (Junko Fukutake Hall)(岡山県岡山市)

内野崇彦, 塩崎泰之, 吉田晶, 宇川諒, 池田吉宏, 村岡聡介, 辻寛謙, 野田知之, 伊藤嘉浩, 松川昭博, 尾崎敏文, ラットにおけるチタン結合性 BMP の骨形成促進効果についての検討, 第33回日本整形外科学会基礎学術集会, 2018年10月11-12日, 奈良春日野国際フォーラム 麓~I・RA・KA~(奈良県奈良市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

渡邊 典行(WATANABE, Noriyuki)
岡山大学, 医学部, 客員研究員
研究者番号: 80708107

(2)研究分担者

尾崎 敏文(OZAKI, Toshifumi)
岡山大学, 医歯薬学総合研究科, 教授

研究者番号: 40294459

松川 昭博, (MATSUKAWA, Akihiro)
岡山大学, 医歯薬学総合研究科, 教授
研究者番号: 90264283

(3)連携研究者

()

研究者番号:

(4)研究協力者

()