

平成 30 年 9 月 4 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11312

研究課題名(和文) 口腔硬組織欠損に対する修復促進作用を有する創保護材の開発に関する基礎的研究

研究課題名(英文) Basic study on development of wound protect material with repair promotion effects for oral hard tissue deficiency

研究代表者

藤村 和磨 (Kazuma, Fujimura)

京都大学・医学研究科・非常勤講師

研究者番号：30252399

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)：LYDEXは生体親和性を持ち、抗菌作用を持っており、生体内で安静に保てる部位に応用すると、組織接着性があり、劣化分解時期を調節でき、また、FGF-2などのサイトカインとも混和でき、さらに徐々に分解するためDrug Delivery System (DDS) 作用も期待できる理想的な生体材料である。しかし、唾液や血液が存在すると組織接着性が全く無くなり、また、寒天状で脆いため咀嚼の振動で崩壊する欠点が明らかになった。LYDEXは、本研究では口腔内応用には適していないが、組織内でのDDS作用を活用した骨癒合などの臨床応用では有用であると思われる。

研究成果の概要(英文)：LYDEX has an effect for the in vivo site which does not move. LYDEX has biocompatibility, antibacterial action and effects to adhere to the tissue. Also, we can mix with cytokine such as FGF-2. Because it gradually disintegrates itself, it is the ideal biomaterial as the Drug Delivery System (DDS) effects. However, in this animal experiment, in a extraction site of tooth, tissue adhesive property goes out when it is used area of existing saliva or existing blood. Also, a problem to collapse at chewing became clear because it was fragile with an agar form. LYDEX was not suitable for intraoral application after extracting a tooth in this study, but seemed to be useful for the clinical application such as the osteosynthesis by DDS effects in the tissue.

研究分野：口腔外科学

キーワード：LYDEX

1. 研究開始当初の背景

口腔領域では、特に悪性腫瘍や前癌病変は広範囲に亘って発症することがある。これらの病変を切除した場合、広範囲の粘膜欠損および粘膜下組織欠損が残り、創閉鎖に苦慮することが多い。

従来、この広範囲な口腔組織欠損に対しては、人工真皮グラフト(テルダーミス®)などの人工材料や中間層皮膚移植などを使用するか、あるいは自家遊離複合組織移植などでなんとか治療を行ってきたが、前者は、タイオーバーなどで圧迫固定が必要であるが、口腔は狭小で複雑な形態であるため、組織が運動機能を有する動きやすい部位では、圧迫固定が困難で苦慮することが多い。また後者は、前腕および下腿や腹部などから健全な部位の皮膚や深部組織を採取する必要があり問題がある。一方、自己の口腔粘膜細胞やiPS細胞を培養し、欠損部位へ貼り付ける再生粘膜移植法の研究が進められおり、将来有力な治療法になると思われるが、移植細胞を作製するには時間を要し、非常に高価であるため、現時点では一般臨床で使用出来ない。最近、上述の皮膚移植や人工真皮グラフトの代わりに、フィブリン糊(ポルフィール®)とポリグルコール酸を材料とした吸収性縫合補強材(ネオパール®)を併用し、口腔粘膜欠損の創部保護を行い治療が試みられている。この生体材料は、ポリグルコール酸メッシュを補強材として粘膜欠損創部に置き、その上からフィブリン糊を噴霧して固定するため、操作が非常に簡単で操作時間も短い。また、創部表面を緻密に覆うため感染しにくく疼痛が少ない。さらに、自己含嗽ができ、早期に食事摂取が可能で入院期間が大幅に短期化できるなどの利点がある。申請者らは、この生体材料を悪性腫瘍や前癌病変の切除術後の粘膜および粘膜下組織欠損症例に使用し、良好な結果が得られたため、日本口腔科学会近

畿地方部会で報告した。現在、多施設で多くの患者に使用されているが、この生体組織接着剤(ボルヒール®)は、心臓血管、肝臓、人工脳硬膜の手術における止血剤、肺からの空気漏れ防止剤等として、心臓外科(心臓動脈手術等)、一般外科(肺ガン手術、肝臓手術等)、脳神経外科、整形外科等で多く用いられている。しかし、口腔での使用は保険適応がなく高価であることなどの欠点がある。そのため、このフィブリン糊に代わるもの、すなわち、生体に安全で安価な人工材料を是非とも開発する必要があった。

申請者らは、2006年に京都大学再生医科学研究所で「自己分解性を有する食品添加物を用いた医療用接着材」として開発されたLYDEX3)に着目した。これは、増粘剤や保湿剤や血漿増量剤として広く知られている多糖類であるデキストランをある条件下に酸化させてアルデヒド基を導入させたものに、食品添加物(保存剤)として広く一般的に使用されている-ポリリジン4)を混合しながら創面上に塗布して硬化させる生体材料である。また、他の特徴としてアルデヒド基の導入量によって硬化時間が自由に調節でき、さらに、ポリリジンに加える無水酢酸の濃度を変えることで、自由に自己分解時間が調整できることが解っている。この材料は既述したように、生体安全性が確立されつつあり、硬化後の材質の硬さ、分解速度を自由に調整できるため、臨床では、多種多様な術後の口腔組織欠損部に応用できる可能性があると思われる。しかし、口腔は咀嚼時には激しく運動し、食物の通過摩擦により剥がれ易いため、材質の調整が必要である。この材料の粘膜欠損と硬組織に対する応用での動物実験における基礎データは全くないため、可動粘膜下組織との接着力、親和性、癒痕拘縮率、自己分解速度、上皮細胞の伝導能を検定す

る必要がある。もし、この結果が良好なものであれば、頭頸部領域でのニーズは莫大であるため、社会的貢献度は大きいと思われる。

2. 研究の目的

(1) LYDEX の軟組織欠損、顎骨露出部への創保護剤としての有用であるかどうか。

(2) FGF-2 を含有させることでの、粘膜修復促進と同時に歯槽骨欠損（抜歯窩）に対して骨増生促進作用を示すかどうかを明らかにすること。

3. 研究の方法

平成27年からの3年間の期間内で、ラット下顎骨に直径2mm骨欠損を形成し、LYDEXを充填して軟組織保護材としての評価を行った。さらに、FGF-2を添加した混合剤LYDEX-F（FGF-2 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ LYDEX）を充填し、術後1、3、8週（各々n=5）後に摘出して組織学的評価を行った。

4. 研究成果

ラット下顎骨に直径2mm骨欠損を形成し、LYDEX 単独とLYDEX+FGF-2を添加した混合剤LYDEX-F（FGF-2 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ LYDEX）を充填し、術後1、3、8週（各々n=5）後に摘出して組織学的評価を行った。しかし、本研究結果では、現時点でのLYDEX 性状（欠点）から、組織摘出以前に脱落する数が多くn数が少なくなってしまう、検定が出来なかった。別の実験で、ラット背部皮膚に適応した場合は、癒痕形成割合平均72%であり、癒痕拘縮率を大幅に防ぐ可能性がある。しかし現時点でのLYDEX の性状では、口腔内応用は難しいと考えられた。

組織学的評価では、LYDEX-F 群では、骨増生面積は、術後3週（評価可能であった検体数：n=3）では44%、8週（n=2）では67%であり、骨欠損部底部付近に周囲骨からの骨増生が観られた。コントロール群（LYDEX 単独）では、術後3週（n=4）では8%、8週（n=3）では21%であった。コン

トロール群では、本研究の前の予備実験での骨欠損のみ作成して放置した群である自然治癒過程と骨増生能に差はなかった。組織切片のALP 活性染色による骨増生面積では、LYDEX-F群は、術後3週（n=5）で38%、8週（n=3）で12%であった。術後3週組織の方がALP 活性が高かった。これらの結果から、LYDEX は、単独での骨誘導能は認められなかった。LYDEX-F では、3週から8週にかけて経時的に骨増生が観られ、8週では、コントロール群の1.5倍の増骨能を示していた。

結論：LYDEX は生体親和性をもち、抗菌作用を持っており、生体内で安静に保てる部位に応用すると、組織接着性があり、劣化分解時期を調節でき、また、FGF-2などのサイトカインとも混和でき、さらに徐々に分解するためDrug Delivery System (DDS) 作用も期待できる理想的な生体材料である。しかし、唾液や血液が存在すると組織接着性が全く無くなり、また、寒天状で脆いため咀嚼の振動で崩壊する欠点が明らかになった。本実験のようにラット口腔内でのLYDEX 充填での応用は、多くの充填物が剥がれ落ちるか、振動で崩壊してしまい、摘出までの期間途中で脱落してしまう検体が多く成果が得られなかった。LYDEX は、本研究では口腔内応用には適していないが、組織内でのDDS 作用を活用した骨癒合などの臨床応用では有用であると思われる。今後適応部位を変えて、研究計画の見直し再検定が必要と思われる。

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 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤村和磨（FUJIMUJAR KAZUMA ）

兵庫県立尼崎総合医療センター

京都大学大学院医学研究科・非常勤講師

研究者番号：30252399

(2)研究分担者

中尾一祐（NAKAO KAZUMASA ）

京都大学大学院医学研究科・助教

研究者番号：40599932

山口昭彦（YAMAGUTI AKIHIKO ）

京都大学大学院医学研究科・講師

研究者番号：50423942

園部純也（SONOBE JUNYA ）

京都大学大学院医学研究科・講師

研究者番号：50464219

別所和久（BESSHO KAZUHISA ）

京都大学大学院医学研究科・教授

研究者番号：90229138

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし