

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20505

研究課題名(和文) マグネシウム修飾型吸収性ハイドロキシアパタイト線維を用いた促進的骨再生材料の開発

研究課題名(英文) Development of precipitative bone regeneration material: Magnesium modified Hydroxyapatite Fiber

研究代表者

今 一裕 (KON, Kazuhiro)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・特任助教

研究者番号：70609718

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)： 歯科領域における骨補填材に関する様々な開発・研究がなされているが、自家骨と同じリモデリング能を有する代替材料は未だ開発されていない。我々は、これまでにハイドロキシアパタイトファイバー(以下HAファイバー)が、骨造成、骨治癒の足場となり、自家骨に似た骨補填材としての有用性を示してきた。

このHAファイバーを利用し、近年、骨代謝に重要であると着目されている「マグネシウム」を修飾することで期待される骨再生促進効果を、臨床使用を想定したモデルにおける骨組織再生を検討した。最終的には、得られた結果から、有効性、安全性の評価を十分に行い、既存の材料に代わる新たな次世代骨補填材としての確立を検討した。

研究成果の概要(英文)： In dental bone regeneration field, many bone substitutes were developed and studied, though, there are no bone substitutes, which have comparable remodeling ability with native host bone. Our department developed Hydroxyapatite Fiber (HA fiber), and it could demonstrate bone augmentation and healing ability.

In this research, we applied HA fiber with Magnesium, pointed as important factor for bone remodeling. With this modification, we expect 'precipitative bone regeneration ability' for HA fiber. Our research for this new Magnesium modified HA fiber (Mg mod HA fiber) were planned on in vitro and in vivo study. In vivo study demonstrated that Mg mod HA fiber enhance osteogenic gene expression. In vitro study demonstrated that Mg mod HA fiber enhance bone formation. We concluded that Magnesium modification for HA fiber was effective for bone formation.

研究分野： 歯科医学

キーワード： 骨再生

1. 研究開始当初の背景

歯科領域において、喪失歯に関する治療が行われている。歯周疾患による歯の喪失は、歯根を支えている歯槽骨の吸収を伴うことが多い。最近では、国民の口腔衛生への意識が向上してきているため、う蝕や歯周疾患がある程度管理されてきている。しかし、従来無髄歯よく見られていた歯根の破折が有髄歯でも散見されており、国民における歯の喪失は完全には無くならないと思われる。また、歯根破折に伴う歯の喪失部については、破折部の骨吸収が特異的に存在することが多い。

近年、歯の喪失に対して、インプラント治療が広く応用されている。しかしながら、歯槽骨の吸収や、もともとの解剖学的な骨形態により、インプラント治療が困難となる症例が多数存在している。現在、さまざまな骨補填材が開発されているが、自家骨と同じリモデリング能を持つものは未だ開発されていない。

我々の研究室では、自家骨と同様のリモデリング能をもつ骨補填材としてハイドロキシアパタイトファイバー (HA ファイバー) を開発しており、既存の材料に代わる新たな次世代骨補填材としての確立を検討した。

2. 研究の目的

近年、骨代謝に重要であると着目されているマグネシウムを、HA ファイバーに添加することにより、優れた促進的骨補填材を開発および評価することを目的としている。

3. 研究の方法

① In Vitro 系におけるマグネシウム修飾型 HA ファイバーの最適化

Mg による骨治癒促進効果については、さまざまな濃度のものが応用されているため、HA ファイバーにとっての最適付加量を検討するために in vitro 系にて評価および検討を行った。

播種濃度の BMSC に HA ファイバーに Mg (0、5.7、11.4、28.5mol%) を修飾したものを加え、骨誘導培地にて培養を行い (3 日、5 日、7 日)、リアルタイム PCR にて ALP、Col type 1、Osteocalcin の発現を調査した。

② ウサギ頭蓋モデルによる骨増生能力の評価

日本白色種頭蓋に内径 5 mm 高さ 3mm のテフロンチャンバーを固定して、HA ファイバー 30mg にそれぞれ Mg を付加 (0、5.7、11.4、28.5mol%) したものを、HA ファイバー単体および移植しなかったものについて、予備的に骨増生の状態を評価した。4 週の治癒期間後に、標本摘出し、非脱灰標本を作製し、光学顕微鏡にて評価を行った。

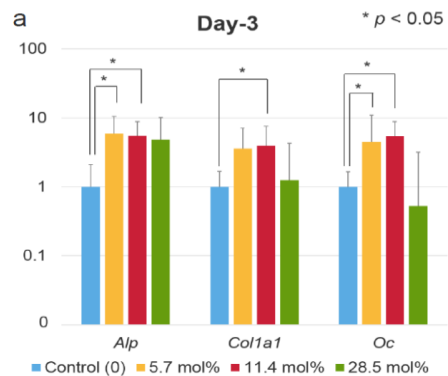
良好な結果を示した Mg 量にて、頭数を増やし、4 週および 8 週における骨増生量の評価を行った。

また、定量的な評価を目的として、 $\mu$ CT を使用し、骨量および骨形成割合を算出した。

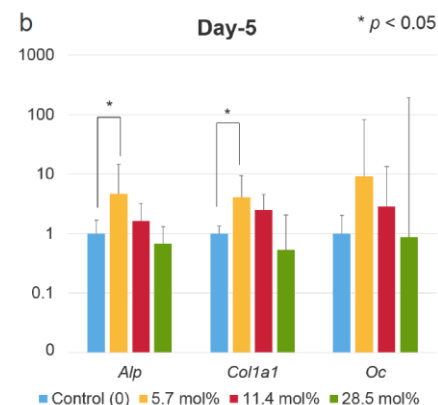
4. 研究成果

① In Vitro 系におけるマグネシウム修飾型 HA ファイバーの最適化

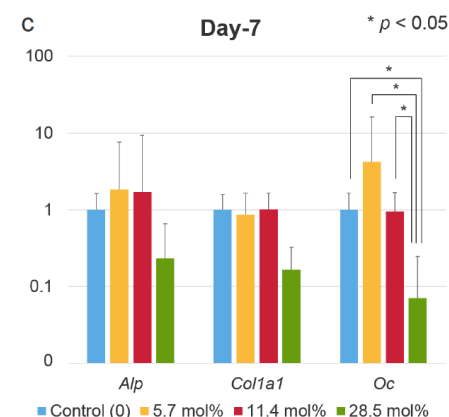
Day3 において、Mg5.7mol% を付加した HA ファイバーが Alp、Osteocalcin にて、コントロール群と比較して統計学的に有意な差を呈した。また、11.4mol% 付加した HA ファイバーが Alp、Col type 1、Osteocalcin にてコントロール群と比較して統計学的に有意な差を呈した。



Day5 において、Mg5.7mol% を付加した HA ファイバーが Alp、Col type 1 にて、コントロール群と比較して統計学的に有意な差を呈した。



Day7 において、Mg28.5mol% を付加した HA ファイバーが Osteocalcin にて、コントロール群、Mg5.7mol%、Mg11.4mol% と比較して統計学的に有意な差を呈した。



②ウサギ頭蓋モデルによる骨増生能力の評価

日本白色種頭蓋に内径 5 mm 高さ 3mm のテフロンチャンバーを固定して、HA ファイバー30mg にそれぞれ Mg を付加 (0, 5.7, 11.4, 28.5mol%) し、予備的研究として、4 週後の評価を行った。

HA ファイバーを移植しなかったものでは、わずかな骨形成のみを認めた。

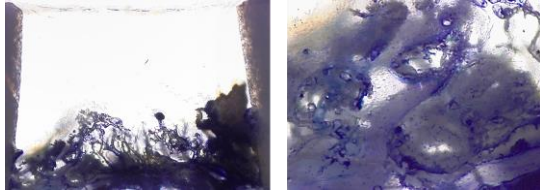


Fig: HA ファイバーを移植しなかったもの

Mg を添加しない HA ファイバーを移植したものは、チャンバー下部における疎な骨形成を認めた。

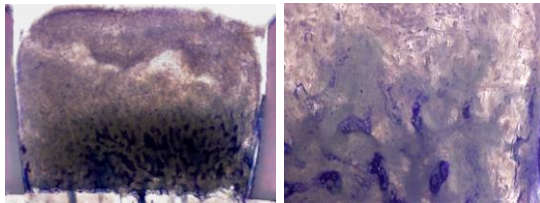


Fig: HA ファイバー単体移植

5.7mol%Mg を付加した HA ファイバーは、チャンバー下部に極めて密な骨形成を認めた。

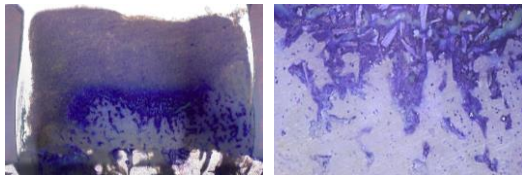


Fig: HA+Mg5.7mol%

11.4mol%Mg を付加した HA ファイバーは、チャンバー下部にやや密な骨形成を認めた。

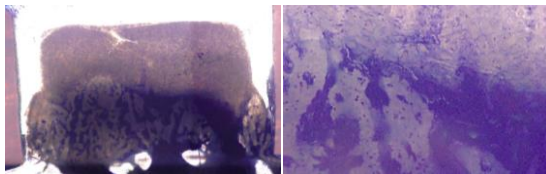
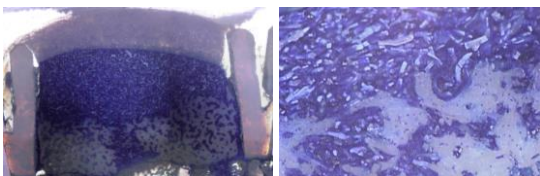
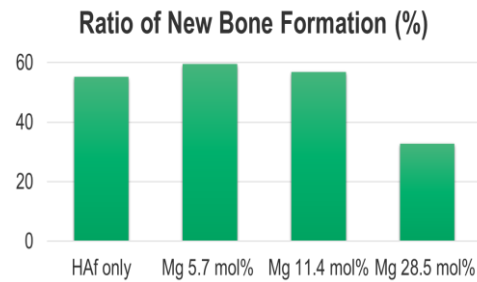


Fig: HA+Mg11.4mol%

28.5mol%Mg を付加した HA ファイバーは、チャンバー下部にやや疎な骨形成を認めた。



$\mu$  CT を用いて、チャンバー内の骨形成部の定量的な評価を行ったところ、Mg5.7mol%を添加した HA ファイバーにて、骨増生割合が高かった。



以上の結果を総合し、Mg5.7mol%を添加した HA ファイバーの骨造成能が優れていると判断し、HA ファイバー単体との比較を、より長期かつ頭数を増して継続した。(移植後 8 週)

8 週後、Mg を添加しない HA ファイバーを移植したものは、チャンバー中央から下部にかけてやや密な骨形成を認めた。

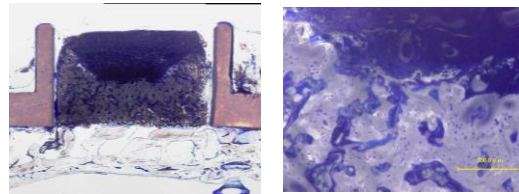


Fig: HA ファイバー単体 8 週

8 週後、5.7mol%Mg を付加した HA ファイバーは、チャンバーをほぼ満たすような、極めて密な骨形成を認めた。

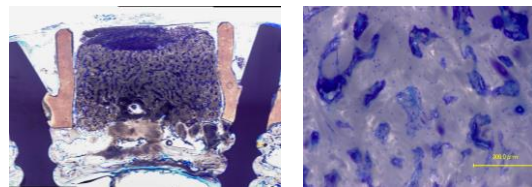
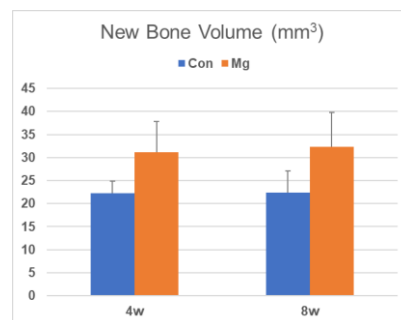
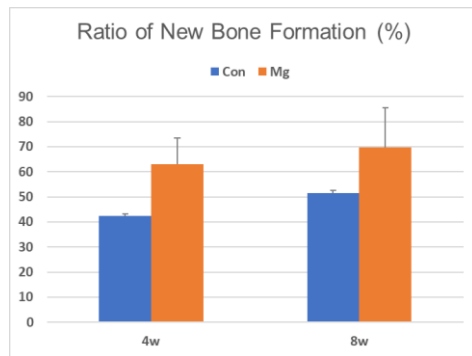


Fig: HA+Mg5.7mol% 8 週

$\mu$  CT を用いて、チャンバー内の骨形成部の定量的な評価を行ったところ、4 週および 8 週の両タイムポイントにおいて、Mg5.7mol%を添加した HA ファイバーにて、骨増生量および骨増生割合が高かった。





以上により、HA ファイバーに Mg5.7mol%付加することにより、骨形成を促進することが示された。

今後、生体内での安全性をより詳細に検討を行い、臨床応用に向けて研究を遂行していく方針である。

#### 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 1 件)

①Wataru Wataru Kozuma, Kazuhiro Kon, Sawako Kawakami, , Sawako Kawakami, A. BO BO THIKE, Masahiro Shimogishi , Makoto Shiota , Shohei Kasugai  
 Effect of Hydroxyapatite Fiber Material with Magnesium on Bone Effect of Hydroxyapatite Fiber Material with Magnesium on Bone Effect of Hydroxyapatite Fiber Material with Magnesium on Bone Effect of Hydroxyapatite Fiber Material with Magnesium on Bone Regeneration: in vivo and in vitro study vivo  
 Academy of Osseointegration 2018 Annual Meeting (国際学会)  
 Feb. 28 – Mar. 3. 2018, Los Angeles (L.A. Convention Center)  
 Travel Grant を受賞

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

今 一裕 (Kon, Kazuhiro)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・特任助教

研究者番号：70609718