

令和元年6月10日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H03159

研究課題名(和文) 骨再生の三要素を併用した難治骨欠損の再建

研究課題名(英文) Reconstruction of refractory bone defects combined with three elements of bone regeneration

研究代表者

鎌倉 慎治 (KAMAKURA, SHINJI)

東北大学・医工学研究科・教授

研究者番号：80224640

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：骨再生の三要素の一つである足場材料としてのオクタカルシウムフォスフェート・コラーゲン複合体(OCP/Col)と、同じくシグナル分子としてのテリパラチド(TPTD)を併用し、大型動物の下顎骨を離断した難治性骨欠損モデルに適用すると、術後6か月後には全例において十分な骨形成を認め、離断部位が新生骨によって繋がった(骨架橋)。一方、3つの対照群では骨架橋を認めたものは0～50%であった。従って、OCP/ColにTPTDを併用することで、難治性骨欠損モデルにおける再現性のある骨再生が実現できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はOCP/ColとりわけOCP/Col/TPTDが骨欠損における現在の標準治療である自家骨移植の代替手法となりうる可能性を示唆している。OCP/Colは本邦発の骨再生材料であり、今後、整形外科、脳神経外科等を含めた他領域への展開による波及効果やJapanブランドの骨再生材料としての海外展開が期待される。

研究成果の概要(英文)：Octacalcium phosphate collagen composite (OCP/Col) is one of three elements for bone regeneration as a scaffold, and teriparatide (TPTD) is that as a signal molecules. In this study, OCP/Col combined with TPTD (OCP/Col/TPTD) was implanted into a refractory bone defect model which was amputated a part of canine mandible. All cases of OCP/Col/TPTD demonstrated sufficient bone regeneration, and the amputated mandibles were connected with newly formed bone (bone bridge) after 6 months, whereas the other three control groups indicated 0-50% of bone bridge. Therefore, OCP/Col/TPTD achieved reproducible bone regeneration, when it implanted into the refractory bone defect model.

研究分野：再生医工学

キーワード：トランスレーショナルリサーチ 移植・再生医療 生体材料 複合材料・物性 骨再生 歯学 リン酸カルシウム コラーゲン

1. 研究開始当初の背景

先人の努力によって、口腔外科領域や整形外科領域等における「骨欠損」に対してハイドロキシアパタイト(HA)やβ-リン酸三カルシウム(β-TCP)等の人工骨が臨床応用されるようになってきた。しかしながら、残念なことに臨床現場では未だに量的制約を持った自家骨移植(患者自身の骨を採取して補填材料とする)が第一選択とされることが多い。自家骨移植は最も信頼できる治療法であるが、採取骨量に制限があり、採取に付加的な手術侵襲を伴い、多量の骨が必要な場合は腸骨から採取するなど、患者の負担が大きい。一方、他家骨移植はプリオン病等の感染性の問題のため本邦では米国等に比べて普及していない。従って自家骨の骨再生能に匹敵し得る量的制限のない生体材料の出現が望まれていた。オクタカルシウムフォスフェート(OCP)はHAやβ-TCP同様リン酸カルシウムに分類され、骨芽細胞への分化を促進し、HAやβ-TCPに比べ骨再生能・吸収性が卓越する。しかし、OCP単体は結晶構造上、加熱成形が困難で形態付与・操作性に問題があった。そこで研究代表者らはOCP・コラーゲン複合体(OCP/Col:特許第5046511号)を開発し、以下の特徴を具備した骨再生材料であることを確認してきた。即ち、(1)細胞やシグナル分子を補充せずに有効に骨再生を実現し、(2)OCP単体や既存骨代替材料の骨再生能を凌駕する。また、(3)生体内でOCPがアパタイトに不可逆的に転換し、生理的な骨改造が期待でき、(4)優れた賦形性・操作性を有し、煩雑な操作や管理体制を必要としない。更に大型動物の「抜歯窩」・「顎裂」でも優れた骨再生能を確認し、「抜歯窩・嚢胞腔」での世界初の臨床研究(UMIN000004655:実施責任者:鎌倉慎治)で骨再生能と安全性を確認し、2015年4月には治験届を提出し、歯科口腔外科領域の骨欠損(顎裂部、インプラント埋入前提の骨造成、嚢胞腔等)を対象として企業主導治験が開始されていた。しかしながら、実臨床では様々な「骨欠損」があり、しばしば口腔癌の外科的治療に伴って行われる下顎骨の離断部のような難治性骨欠損に対する再現性のある骨再生の実現が望まれていた。

2. 研究の目的

今日、骨修復の三要素としてその直接的な担い手としての「細胞」、細胞の分化・増殖を制御する「シグナル分子」、および前二者の機能を発揮させる足場としての「担体」が重要な役割を演じ、これら三要素の協調によって効率的な骨修復が行われることが明らかになってきている。本研究では「担体」としてのOCP/Colを基幹材料として用い、他の二要素を組み合わせ、最も困難な骨欠損タイプ(顎骨離断など)に適用した際に、再現性のある骨再生が実現可能かを検証し、骨再生療法の新たな選択肢を提案することを目的とした。

3. 研究の方法

自然治癒の望めない成犬下顎骨離断骨モデル(難治性骨欠損モデル)にOCP/Colあるいはそれらに加えてシグナル分子等を埋入した。その後、経時的な肉眼的、エックス線学的観察を行い、標本採取後はエックス線学的・組織学的手法を用いて、骨再生能を評価した。

(1) OCP/Col 作製・材料学的解析:人工合成したOCP顆粒とブタ皮膚由来アテロコラーゲンを混練・凍結乾燥・成型、熱架橋処理しOCP/Col スポンジを作製し、弾性率算出やX線回折法による結晶構造変化等の材料学的解析を行った。

(2) シグナル分子の調整および間葉系幹細胞(Mesenchymal Stem Cells; MSC)単離:骨粗鬆症の治療に用いられている副甲状腺ホルモン(PTH)の活性部分であるテリパラチド(TPTD)はシグナル分子の一種であり、投与方法を工夫することで、骨再生を促すことが報告されている。それらを参考にしてTPTDを埋入手術時にOCP/Colに併用するよう事前調整し、冷凍庫保存した。またイヌ腸骨より吸引法にて骨髓間質細胞を採取し、それらをOCP/Col埋入時に併用すべく自己血清培地に播種・培養後、骨分化培地にて継代培養した。

(4) 難治性骨欠損モデルの埋入手術:実験動物として雄性ビーグル犬(成犬)を用いた。第1期手術(抜歯手術):左下顎第1~4前臼歯を抜歯後、安静期間を確保する。第2期手術(試料埋入手術):第1~4前臼歯部の下顎骨を前後径15mm連続離断し骨欠損を作製する。その後、作製した骨欠損内にOCP/ColあるいはOCP/ColにTPTDを滴下したもの(OCP/Col/TPTD)を埋入した。OCP/Colの対照として市販のヒドロキシアパタイト・コラーゲン複合体(HA/Col)およびHA/ColにTPTDを滴下したもの(HA/Col/TPTD)を用いた。なお、MSCの安定的な回収や増殖を確立できなかったため、それらを難治性骨欠損モデルに適用することは行わなかった。各群5~6頭、計4群を用い、第2期手術後6ヶ月で標本採取し、エックス線学的・組織学的に骨再生能を評価した。

4. 研究成果

難治性骨欠損モデルにおいて、OCP/Col/TPTD 群では術後 1～2 か月の早期に X 線不透過像が確認され、6 か月後には全例で十分な骨形成により離断部位の連続性（骨架橋）を回復し、口腔内では良好な顎堤が形成された。また、OCP/Col 群では 50%で骨架橋を認めただのに対し、HA/Col 群および HA/Col/TPTD 群では全く骨架橋を認めなかった。従って、OCP/Col に TPTD を併用することで、難治性骨欠損モデルでの骨再生が再現性を持って実現できること示された。また、本研究と並行して進められた小動物の骨欠損モデルを用いた研究から OCP/Col に TPTD を滴下あるいは滴下後、凍結乾燥体としたものを小動物の骨欠損に適用すると骨再生が促進することを見出し、それらの内容を特許出願し、査定を受けることで権利化を成し得た。そして、同様に本研究と並行して進められた小動物の骨欠損モデルを用いた免疫組織学的研究から OCP/Col 埋入部では他のリン酸カルシウム・コラーゲン複合体と比べ、骨形成マーカーや血管内皮増殖因子の強い発現を認め、OCP/Col 埋入部では迅速で良質な骨再生を促進しうることが明らかになった。更に並行して行われた歯科口腔外科領域の骨欠損を対象とした OCP/Col 単独の企業主導治験終了後には OCP/Col の製造販売承認申請が行われ、近い将来の上市が期待される。

これらの成果は OCP/Col、とりわけ OCP/Col/TPTD が骨欠損における現在の標準治療である自家骨移植の代替手法となりうる可能性を示唆している。OCP/Col は本邦発の骨再生材料であり、今後、整形外科、脳神経外科等を含めた他領域への展開による波及効果や Japan ブランドの骨再生材料としての海外展開が期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 16 件)

(1) Miura K, Sumita Y, Kajii F, Tanaka H, Kamakura S, Asahina I. First clinical application of octacalcium phosphate collagen composite on bone regeneration in maxillary sinus floor augmentation: a prospective, single-arm, open-label clinical trial. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, in press (2019) doi: 10.1002/jbm.b.34384 査読あり

(2) 鎌倉慎治. 東北大発の新規骨再生材料の開発とその製品化. *東北矯正歯科学会雑誌* 26: 101-104 (2018) 査読あり

(3) 鎌倉慎治. 人工臓器—最新の進歩 人工骨, 人工臓器, , 47: 180-184 (2018) 査読あり

(4) Matsui K, Takahashi T, Kawai T, Kamakura S. First clinical application of new bone substitute material to the alveolar cleft. *J Clin Trials* 8: 346 (2018). doi: 10.4172/2167-0870.1000346 査読あり

(5) Iwai A, Kajii F, Tanaka H, Sasaki K, Matsui K, Kawai T, Kamakura S. Bone regeneration by freeze-dried composite of octacalcium phosphate collagen and teriparatide. *Oral Dis* 24: 1514-1521 (2018) doi: 10.1111/odi.12923 査読あり

(6) 川井 忠, 松井桂子, 鈴木 治, 高橋 哲, 鎌倉慎治. リン酸オクタカルシウム・コラーゲン複合体. *歯界展望*, 査読あり, 131: 870-876(2018) 査読あり

(7) Kawai T, Matsui K, Ezoe Y, Kajii F, Suzuki O, Takahashi T, Kamakura S. Efficacy of octacalcium phosphate collagen composite for titanium dental implants. *Materials (Basel)* 11: E229 (2018) doi: 10.3390/ma11020229 査読あり

(8) Kajii F, Iwai A, Tanaka H, Matsui K, Kawai T, Kamakura S. Influence of electron beam irradiation doses on bone regeneration by octacalcium phosphate collagen composites. *J Tissue Eng Regen Med* 12: e1186-e1194 (2018) doi: 10.1002/term.2505 査読あり

(9) Kajii F, Iwai A, Tanaka H, Matsui K, Kawai T, Kamakura S. Single-dose local administration of teriparatide with an octacalcium phosphate collagen composite enhances bone regeneration in a rodent critical-sized calvarial defect. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 106: 1851-1857 (2018) doi: 10.1002/jbm.b.33993 査読あり

(10) Kawai T, Tanuma Y, Matsui K, Suzuki O, Takahashi T, Kamakura S. Clinical safety and efficacy of implantation of octacalcium phosphate collagen composites in tooth extraction sockets and cyst holes. *J Tissue Eng* 7:2041731416670770 (2016) doi: 10.1177/2041731416670770 査読あり

(11) Kanda N, Matsui K, Kawai T, Edamatsu H, Tanuma Y, Suzuki O, Takahashi T, Kamakura S. Implantation of octacalcium phosphate collagen composites (OCP/Col) after extraction of canine deciduous teeth achieved undisturbed permanent tooth eruption. *Archs Oral Biol* 72: 179-186 (2016) doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.08.027 査読あり

[学会発表](計 48 件)

- (1) 松井桂子, 鎌倉慎治, 川井 忠, 江副祐史, 柳沢俊樹, 安田彩人, 高橋 哲. テリパラチドを局所併用した各種骨再生材料によるイヌ下顎骨離断部の骨再生. 第 18 回日本再生医療学会総会, 2019
- (2) Kamakura S, Iwai A, Kajii F, Tanaka H, Sasaki K, Matsui K, Kawai T. New combination products of bone substitutes: Freeze-dried composite of octacalcium phosphate collagen and teriparatide. 13th Asian Congress on Oral and Maxillofacial Surgery, 2018
- (3) Kamakura S, Iwai A, Kajii F, Tanaka H, Matsui K, Kawai T. New freeze-dried bone regenerative material consisting of octacalcium phosphate collagen composite and teriparatide. The XX Congress of European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery, 2018
- (4) Kamakura S, Iwai A, Kajii F, Tanaka H, Matsui K, Kawai T. New freeze-dried bone regenerative material consisting of octacalcium phosphate collagen and teriparatide. 5th Tissue Engineering & Regenerative Medicine International Society (TERMIS) World Congress, 2018
- (5) Kamakura S, Kajii F, Iwai A, Tanaka H, Matsui K, Kawai T. Single-dose local administration of teriparatide with a octacalcium phosphate collagen composite enhances bone regeneration in a rodent critical-sized calvarial defect. International Bone-Tissue-Engineering Congress, 2017
- (6) Kajii F, Iwai A, Tanaka H, Matsui K, Kawai T, Kamakura S. Single-dose local administration of parathyroid hormone (1-34) with octacalcium phosphate collagen composites enhances bone regeneration in a rodent critical-sized calvarial defect. The European Chapter Meeting of the Tissue Engineering & Regenerative Medicine International Society, 2017
- (7) Kawai T, Matsui K, Ezo Y, Kajii F, Iwai A, Tanaka H, Kamakura S. Effects of octacalcium phosphate collagen composites for osseointegration of dental implants in canine infrabony defects. Tissue Engineering & Regenerative Medicine International Society (TERMIS) American meeting, 2016
- (8) Kamakura S. Clinical application and Bone Regeneration by Octacalcium Phosphate and Collagen Composite. Tissue Engineering & Regenerative Medicine International Society (TERMIS) 2016 Asia Pacific meeting, 2016
- (9) Kawai T, Matsui K, Ezo Y, Tanuma Y, Tanaka H, Kajii F, Iwai A, Suzuki O, Kamakura S, Takahashi T. Bone augmentation in sinus floor elevation by octacalcium phosphate collagen composite. 10th World Biomaterials Congress, 2016
- (10) Kawai T, Matsui K, Ezo Y, Tanuma Y, Tanaka H, Kajii F, Iwai A, Takahashi T, Suzuki O, Kamakura S. Reconstruction of a dog mandibular segmental defect by octacalcium phosphate collagen composite. The 6th International Symposium for Interface Oral Health Science, 2016

[産業財産権]

出願状況(計 1 件)

名称: リン酸カルシウム含有多孔質複合体及び P T H の組み合わせ
発明者: 鎌倉慎治、中條 悟、岩井敦史、梶井文彦、田中秀典、佐々木和夫
権利者: 東洋紡株式会社、東北大学
種類: 特許
番号: 特願 2016-157877
出願年: 2016

国内外の別: 国内

取得状況(計 1 件)

名称: リン酸カルシウム含有多孔質複合体及び P T H の組み合わせ
発明者: 鎌倉慎治、中條 悟、岩井敦史、梶井文彦、田中秀典、佐々木和夫
権利者: 東洋紡株式会社、東北大学
種類: 特許
番号: 特許第 6094716 号
取得年: 2017

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

東北大学研究シーズ集「リン酸オクタカルシウム(OCP)・コラーゲン複合体による骨再生治療」(<http://www.rpip.tohoku.ac.jp/seeds/profile/359/lang:jp/>)

Tohoku University Research Profiles: Bone Regenerative Therapy by Octacalcium Phosphate (OCP) Collagen Composites

(<http://www.rpip.tohoku.ac.jp/seeds/profile/359/lang:en/>)

東北大学病院臨床研究推進センター：リン酸オクタカルシウム(OCP)・コラーゲン複合体による骨再生治療 (<http://www.crieto.hosp.tohoku.ac.jp/seedlist/seed26.html>)

Clinical Research Innovation and Education Center Tohoku University Hospital: Seeds "Bone Regenerative Therapy by Octacalcium Phosphate Collagen Composites (OCP/Col)" (<http://www.crieto.hosp.tohoku.ac.jp/english/seeds/shinji-kamakura>)

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：松井 桂子

ローマ字氏名：(MATSUI, keiko)

所属研究機関名：東北大学

部局名：大学院歯学研究科

職名：助教

研究者番号：00302159

研究分担者氏名：川井 忠

ローマ字氏名：(KAWAI, tadashi)

所属研究機関名：岩手医科大学

部局名：歯学部

職名：講師

研究者番号：50547263