

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：82406

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H07458

研究課題名(和文)顎骨骨髓炎への応用を目指した新規抗菌性ハイブリッド生体材料の創製

研究課題名(英文) Development of novel antimicrobial hybrid biomaterial aiming at application to osteomyelitis of jaw

研究代表者

村上 馨 (MURAKAMI, Kaoru)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究・病院 歯科口腔外科・講師)

研究者番号：50778462

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：顎骨骨髓炎は代表的な菌性感染症であり、治療に難渋することが多い。顎骨骨髓炎を制御するために高い抗菌活性を有する銀ナノ粒子に着目し、銀ナノ粒子を簡便かつ効率的に合成する方法を開発した。生体親和性に優れたナノ多孔性表面構造を有するキトサン、TCP、アテロコラーゲンスポンジが銀ナノ粒子を吸着し、強い抗菌活性を有することを確認した。

研究成果の概要(英文)：Jaw osteomyelitis is a typical odontogenic infection, and it is often difficult to treat. We focused on silver nanoparticles with high antibacterial activity to control jaw osteomyelitis and developed the method to synthesize silver nanoparticles conveniently and efficiently. It was confirmed that biocompatible chitosan with nanoporous surface structure, TCP, atelocollagen sponge have strong antibacterial activity

研究分野：口腔外科学

キーワード：抗菌性 銀ナノ粒子 生体材料 骨補填材

1. 研究開始当初の背景

歯性感染を契機とする顎骨骨髄炎の治療では、感染範囲の確実な同定が困難で、初期治療後に疾患の再燃を生じることがあり、広範囲の外科的顎骨切除に伴う機能的・審美的障害のために根治的的外科手術を躊躇せざるを得ず、結果的に疾患の慢性化を引き起し、患者の病悩期間を長期化させることがある。このため顎骨骨髄炎の治療では再燃を防止し得る抗菌性を有する骨補填材の臨床応用が望まれるが、口腔外科領域では臨床応用がほぼなされていないのが現状である。銀ナノ粒子は安定的な貴金属としては比較的安価であり、強力な抗菌活性が知られている。研究代表者が所属する研究グループは銀ナノ粒子の医療応用を目指して、銀ナノ粒子のクリーンな(有害物質の使用および排出のない)合成法を新規開発した。すなわち銀供給源である1 wt%の銀イオン含有ガラス粉末(粒径:約10 μm)と銀イオンを銀粒子に還元する還元剤であるグルコース(0.8%)を用いて121・5気圧下20分間のオートクレーブで、均一な粒子径(約5±2 nm)を有する銀ナノ粒子の合成法である。また研究代表者は豊富なバイオマス資源であるアルギン酸/キチン・キトサンの複合体を創製し、優れた創傷治癒促進効果を有することを明らかにしている。これらの研究成果に基づき、本銀ナノ粒子と口腔外科領域で用いられているキトサン等の生体材料の複合化により、歯性感染症の原因菌を含む広範囲の口腔内常在細菌に対して殺菌活性を示すとともに、担体が元来有する生体に有利な骨伝導能や創傷治癒促進性を併せ持つハイブリッド生体材料を創製することが可能ではないかとの着想に至った。

2. 研究の目的

顎骨骨髄炎は代表的な歯性感染症であ

り、抗菌化学療法が発達した現在でも治療後に再燃し、外科的治療による機能的・審美的障害を生じることが珍しくない。顎骨骨髄炎を制御するために高い抗菌活性を有する銀ナノ粒子に着目し、銀イオン含有ガラス粉末、還元剤としてグルコースの混合液をオートクレーブすることで、銀イオン含有ガラス界面からの銀イオンの拡散及び還元により均一な粒子径(約5±2 nm)を有する銀ナノ粒子を効率的に合成する方法を開発した。本研究課題では生体親和性に優れたナノ多孔性表面構造を有するキトサンや-tricalcium phosphate(-TCP)およびアテロコラーゲンスポンジに銀ナノ粒子を安定に吸着させた複合体を用いて、優れた殺菌活性、および骨伝導能や創傷治癒促進効果を有する銀ナノ粒子/担体ハイブリッド生体材料を創製する。

加えて、*in vitro*での抗菌活性と細胞毒性のメカニズムを検討し、最適な銀ナノ粒子吸着量を明らかにするとともに小動物を用いて顎骨骨髄炎モデルを作製し、顎骨骨髄炎術後骨補填材としての治療効果をエックス線学的および組織学的に評価する。また銀ナノ粒子の抗菌活性のメカニズムについても検証を行う。これらの結果に基づいて、銀ナノ粒子/担体ハイブリッド生体材料の抗菌性骨補填材としての将来的な臨床応用を目指していく。

3. 研究の方法

銀供給源に銀イオン含有ガラス粉末、還元剤にグルコースを用いて121・5気圧下20分間のオートクレーブで5±2 nmの均一な銀ナノ粒子が生成される。この銀ナノ粒子と安定した複合体を形成しうる生体親和性に優れた材料を探索すべく、多孔性キトサン、-TCP およびアテロコラーゲンスポンジを担体候補とし銀ナノ粒子/担体ハイブリッド生体材料を創製する。加えて、*in vitro*で顎骨骨髄炎の代表的原因菌に対する抗菌活性とラット頭蓋由来骨芽細胞に対する細胞毒性

を検討し、担体への最適な銀ナノ粒子吸着量と添加する銀ナノ粒子の濃度を明らかにする。ラットを用いて顎骨骨髓炎モデルを作製し、顎骨骨髓炎術後骨補填材としての治療効果をエックス線学のおよび組織学的に評価する。これらの結果に基づいて、顎骨骨髓炎治療に最適な担体と吸着させる銀ナノ粒子濃度を決定し、銀ナノ粒子/担体ハイブリッド生体材料の抗菌性骨補填材としての将来的な臨床応用に繋げる。TCP は吸収性骨補填材として整形外科や口腔外科領域での骨欠損に対して臨床応用されている。アテロコラーゲンはコラーゲンから主要抗原を除去して作られており、高い生体親和性や創傷治癒促進効果のために形成外科や口腔外科領域での組織欠損に対して臨床応用されている。そこで TCP とアテロコラーゲンに対する銀ナノ粒子の吸着性と安定性について電子顕微鏡を用いて検証し、先行実験を行っている多孔性キトサンと同様に銀ナノ粒子が直接吸着し安定的な複合体を形成可能かどうか確認する。また in vitro で多孔性キトサン、TCP、アテロコラーゲンスポンジを担体とした銀ナノ粒子/担体ハイブリッド生体材料の抗菌活性 (Pseudomonas Aeruginosa、Streptococcus Anginosus) とラット頭蓋由来骨芽細胞の培養系を用いて細胞毒性を評価し、担体への最適な銀ナノ粒子吸着量と添加する銀ナノ粒子の濃度を明らかにするとともに、顎骨骨髓炎治療に最適な銀ナノ粒子の担体を決定する。同時にラット顎骨骨髓炎モデルの作製を行う。ラット頬側下顎骨骨面を露出させ、歯科用ラウンドバーにて米粒大の小腔を形成し、それぞれ 1.0×10^8 CFU/ml に菌数調整した Pseudomonas Aeruginosa および Streptococcus Anginosus の2種の菌液を接種し、顎骨骨髓炎が惹起されるかどうか組織学的手法と骨髄内生菌数の測定により評価する。

4. 研究成果

生体親和性に優れた多孔性キトサン、-TCP、アテロコラーゲンが銀ナノ粒子を吸着し、銀ナノ粒子/担体ハイブリッド生体材料となりうる点と銀ナノ粒子の吸着濃度別に各々の抗菌活性を in vitro で確認した。

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)

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

村上 馨 (MURAKAMI Kaoru)
防衛医科大学校・病院歯科口腔外科・講師
研究者番号：50778462

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()