

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11631

研究課題名(和文) 早期骨形成を促す超親水性骨移植材の開発

研究課題名(英文) Development of superhydrophilic bone graft material that promotes early bone healing.

研究代表者

鬼原 英道 (Kihara, Hidemichi)

岩手医科大学・歯学部・特任教授

研究者番号：20431926

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：今回の研究結果より、Mg含有n-HAP / Colが人間の骨欠損で早期に骨新生する可能性が示唆された。今回使用している材料が、全て安価に入手することが可能であり、かつ生体親和性が高く毒性を持たない材料なために、人体での臨床研究へのハードルが高くないと考えられ、早期に臨床研究に移行できる可能性を含んでいる。また、今回研究中ではあるが、大気圧プラズマ処理によるリン酸カルシウム、および生体微量元素の表面改善の可能性も確認中であり、これらも現在利用可能な人工骨補填材に応用可能と考えている。これらの結果により、今回の研究結果は、社会的意義が高いものと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究結果より、Mg含有n-HAP / Colが人間の骨欠損で早期に骨新生する可能性が示唆された。今回使用している材料が、全て安価に入手することが可能であり、かつ生体親和性が高く毒性を持たない材料なために、人体での臨床研究へのハードルが高くないと考えられ、早期に臨床研究に移行できる可能性を含んでいる。また、今回研究中ではあるが、大気圧プラズマ処理によるリン酸カルシウム、および生体微量元素の表面改善の可能性も確認中であり、これらも現在利用可能な人工骨補填材に応用可能と考えている。これらの結果により、今回の研究結果は、社会的意義が高いものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In the verification of calcification by the alkaline phosphatase activity of MgO-containing Nano-Hydroxyapatite/Collagen, the material containing MgO showed higher stainability than the control. However, no significant difference was observed in the other bone differentiation markers compared with the control. From the results of animal experiments, it was suggested that MgO-containing n-HAP / Col may be significantly promote osteogenesis. However, since the bone maturity was insufficient, it was considered that the differentiation promoting effect was small. At present, the surface properties of the Mg-containing n-HAP / Col treated by atmospheric pressure plasma are improved, and additional experiments of additional animal experiments have been conducted.

研究分野：口腔インプラント学

キーワード：Nano-Hydroxyapatite 生体微量元素 酸化マグネシウム I型コラーゲン 表面性状改善

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯牙欠損によって失われた口腔機能を回復する治療法として、インプラント治療は確実な治療法となっている。歯牙を喪失した場合の機能回復の方法として、ブリッジ、義歯（入れ歯）、デンタルインプラントなどが挙げられるが、多数の歯を喪失した場合には、ブリッジの適用は困難となる。一方で、義歯とインプラントの治療効果については残存歯槽骨の状態に左右される部分が大きく、骨量の有無が重要なポイントとなる。インプラント埋入予定部位に骨が不足する場合、インプラント治療は困難となる。現在骨造成のゴールドスタンダードである自家骨移植は、骨採取部位への侵襲が大きいことと、採取骨量に限度があることが問題として挙げられる。



腸骨ブロック骨移植を示す。患者は全身麻酔下にて腸骨を採取、下顎骨に移植された。術後は数日安静状態であり、入院も余儀なくされる。

下顎肢ブロック骨移植を示す。患者は静脈内鎮静法下にて下顎枝より骨採取。術後はドナー部位の高度な侵襲が懸念される。

自家骨の代用として人工骨移植材が数多く使用されてきている。現在、数多く使用されている人工骨移植材料としては、人骨を使用した他家骨や牛骨を使用した異種骨などが数多く臨床で使用されてきている。他家骨は、吸収速度や骨への置換などは自家骨移植に近似しているがウィルスや未知のタンパクなどの感染の問題や、倫理的問題を拭き切ることが出来ない。Bio-Ossなどに代表される異種骨は、感染、倫理的問題も当然のように含んでいるが、吸収速度、骨形成能に関しては自家骨に遠く及ばないのが現状である。上記の結果として、デンタルインプラントが早期にオッセオインテグレーションの獲得が出来るようになった現在では、骨欠損の早期回復が患者のクオリティ・オブ・ライフの改善に大きく貢献できると考えられる。今回我々は、過去の我々の研究で高い生体親和性と生体内崩壊性を有している Nano-Hydroxyapatite^{1,2)} (以下 N-Hap) と生体微量元素を配合した新規人工骨を配合し、さらに親水処理を行い早期の骨形成を促す人工骨移植材を製作することを目的とする。

1. W HATAKEYAMA, M TAIRA, K TAKAFUJI, H KIHARA, H KONDO. Bone-regeneration Trial of Rat Critical-size Calvarial Defects using Nano-apatite/collagen Composites. Nano Biomedicine 2013

2. Wataru HATAKEYAMA, Masayuki TAIRA, Koji IKEDA, Kyoko TAKAFUJI, Hidemichi KIHARA, Hisatomo KONDO, Masayuki HATTORI. In Vivo evaluation of noble porous apatite disks implanted in rat critical-size calvarial defects by Micro-CT and histological observations. Journal of Oral Tissue Engineering 2014

2. 研究の目的

デンタルインプラントは、歯の喪失の機能回復において非常に有意義な治療法となってきている。デンタルインプラントのオッセオインテグレーションが早期に獲得できるようになった現在では、どれだけ骨の回復を早期にできるかが重要なポイントである。現在の歯科治療において使用できる骨補填材は、骨伝導性、骨吸収性に関して自家骨と同等なものは存在しない。そこで我々は、既に報告済みであり骨伝導性および吸収性を有する N-Hap と生体微量元素を使用した早期に骨を回復可能な新規骨移植材料の開発を目的とする。

3. 研究の方法

N-Hap と生体微量元素であるマクシネシウム、および亜鉛を配合した骨補填材の製作するにあたり使用する材料に以下の変更点を加えた。純 Mg と亜鉛の使用は空気中での発火等の危険性があるため酸化マグネシウム (MgO) と酸化亜鉛 (ZnO) を使用した。そして、2 種類の複合体材料を試作した。複合体材料 A では、N-Hap, MgO と ZnO を混合、ニュートンプレスして試作骨補填材とした。複合体材料 B では、N-Hap, MgO, ZnO にブタ型コラーゲン (COL) を追加した。複合体材料 A : M-Hap を母材とし MgO, ZnO の比率を変化させた材料を製作した。複合体材料 B : COL を母材とし、ナノアパタイト (N-Hap)

のみ，MgOのみ，ZnOのみ，3材料混和の4種類を製作した．



上記により作成した N-Hap と生体微量金属であるマグネシウム、および亜鉛を配合した骨補填材を使用し、細胞培養での骨芽細胞の骨形成能の確認を行った。
 さらに、細胞培養実験によって得られたデータからより効果的な材料を使用し、雄性 Wistar ラットで動物実験を行った。頭蓋骨に直径 5mm のトレフィンバーを用いて骨欠損を作成し、n-HAP / Col/Mg 複合体およびマグネシウムを含有しない n-HAP / Col を適応し、一カ月後に屠殺を行った。1 か月後に CO₂ ガスによって屠殺を行い、パラフィン包埋を行った。切片は厚さ 5 μm に薄切し、H-E 染色を行った。
 さらに動物実験での生体親和性が確認されたのち、作製した材料に大気圧プラズマ処理の表面性状改善を行い、動物実験の追加実験を行う。



トレフィンバーを使用して直径5mmの骨欠損を雄性 Wistarラットの頭蓋骨に製作



骨欠損に填入する MgO₂含有n-HAP / Col



実験群：MgO₂ n-HAP / Col
 コントロール群：n-HAP / Col



1カ月の治癒期間後、CO₂ガスによって屠殺

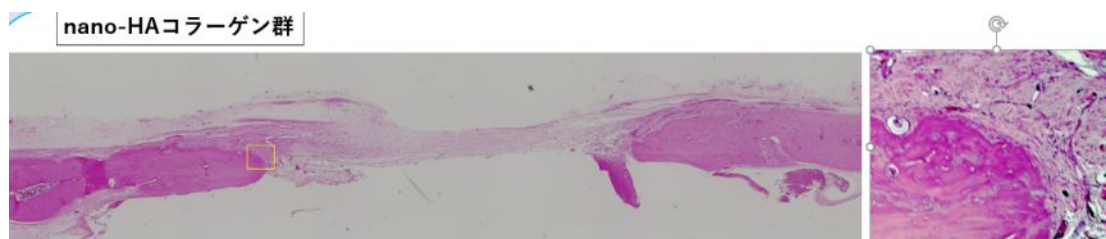
屠殺後、頭蓋骨のトリミングを行い、ホルマリン固定、脱灰、パラフィン包埋を行った。切片は厚さ 5 μm に薄切し、H-E 染色を行い光学顕微鏡による観察を行った。
 (岩手医科大学動物実験員会承認 承認番号 29-028)

4. 研究成果

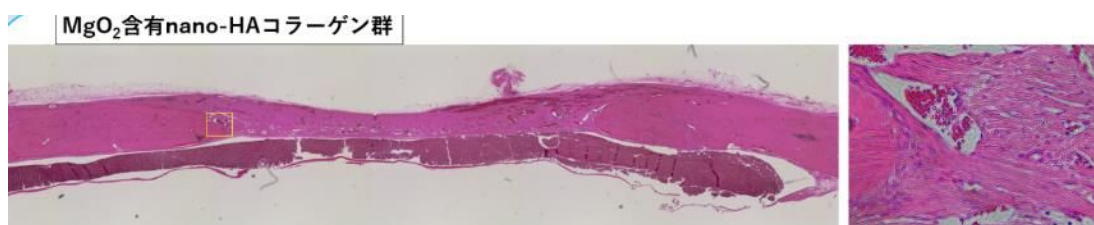
MgO、および ZnO を配合した骨補填材の骨芽細胞の骨形成能アルカリフォスファターゼ活性による石灰化度の検証では、マグネシウム含有金属配合の骨補填材で、コントロールよりも早期に染色性を示した。しかしながらその他の骨分化マーカーでは、コントロールと比べて有意差は認められなかった。

動物実験の結果より、Mg 含有 n-HAP/Col は、骨新生に大きく関与している可能性が示唆された。しかしながら、骨の成熟度が不十分であることから、分化促進作用は少ないと考えられた。

この結果は、日本口腔インプラント学会第 39 回 関東・甲信越支部学術大会で報告している。



コントロール群は、新生骨形成は、ほとんど観察されなかった。骨欠損の中央部分は、疎な線維性結合組織で満たされていた。実験群と比較すると、欠損部位のスペースメイキングに関しては、実験群と同等であり、新生血管の量は少ないようであった。強拡大像では、母床骨の境界は明瞭であり、母床骨周辺で骨欠損部と連続した骨形成は認められなかった。



実験群は、幼弱ではあるものの骨欠損の広範囲において新生骨様組織を確認することができた。骨欠損のスペースには、新生血管も多く確認された。強拡大像では、母床骨と新生骨の境界は不明瞭であり、線維性結合組織から仮骨が形成されていると考えられた。骨欠損のスペースメイキングは維持されており、コラーゲンの吸収前に新生骨形成が早期に開始された可能性が示唆された。

現在、作製した Mg 含有 n-HAP / Col に大気圧プラズマ処理の表面性状改善を行い、追加の動物実験の追加実験を行っている。今後、これらの結果を追加学会発表、および論文報告していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 畠山 航, 近藤 尚知, 鬼原 英道
2. 発表標題 マグネシウム含有ナノハイドロキシアパタイト骨補填材の有効性に関する基礎的研究
3. 学会等名 日本口腔インプラント学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----