

令和元年6月27日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11712

研究課題名(和文) 混酸・加熱処理と選択的レーザー溶融法を応用した次世代骨誘導チタンメッシュの創成

研究課題名(英文) Development of custom-made titanium mesh treated with mixed heated acid treatment as next generation biomaterial.

研究代表者

植野 高章 (Ueno, Takaaki)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：60252996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：顎顔面領域の腫瘍や外傷で生じた骨欠損は患者の機能・審美障害を引き起こすため、骨再建術は不可欠な治療法である。移植骨を欠損部形態に適合させるための多大な労力などが問題とされている。この問題を解決するため3Dプリンター技術を応用した積層造形カスタムメイドチタン人工骨の開発を行っている。さらに混酸・加熱処理を施すことで、従来処理法を飛躍的に高める骨形成能を持つ次世代チタン人工骨開発を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体骨内に埋植された積層造形チタン人工骨の周囲骨との結合過程を明らかにした報告はない。われわれは、ここから更に研究を進めて、無処理の積層造形チタン人工骨がラット頭蓋骨欠損において骨と一体化することまですでに確認している。表面処理により骨形成を付与することで低侵襲手術の開発に直結し、実用化された場合、社会的・学問的意義は高い。

研究成果の概要(英文)：We compared the osteogenic capacity of materials composited by the method developed by Kokubo et al. of treating 3D-printed titanium (Ti) mesh with a mixture of H₂SO₄ and HCl and heating (mixed-acid and heat treatment) with that of materials subjected to conventional chemical treatment. Ti plates treated with this method have been found to promote highly active bone formation. No previous study has compared this method with other surface treatment methods. We used histological and other observations to compare the bone formation process in bone defects when Ti meshes prepared by the selective laser melting technique (SLM) and treated either with mixed acids and heat or with conventional chemical Ti surface treatments were implanted in a rat calvarial bone defect model. We found that both micro-computed tomography and histological observations showed that the best bone formation was observed in rats implanted with mesh treated with mixed acids and heat.

研究分野：骨再生

キーワード：チタン 顎骨欠損 積層造形技術 カスタムメイド人工骨 骨形成能 混酸・加熱処理 組織 マイクロCT

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 我々は、腫瘍や外傷などで喪失した骨組織の再建材料として「顎顔面領域における再建用医療機器」の開発を、積層造形技術の一つである選択的レーザー溶融法を用いて進めている。これまでに、選択的レーザー溶融法による純チタン粒子からの自由造形人工骨の作製に成功し、ラットなどの小動物骨欠損モデルを使って基礎研究を行ってきた。この申請課題では、積層造形チタン人工骨に骨結合能を有する表面処理である混酸・加熱処理を行い、生体内での有効性・安全性を動物実験にて行った。

(2) 過去に多くの臓器再生の研究がなされてきた。その中で最も重要であり、解決されていない課題として、再生する目的臓器の「形態制御」、つまり様々な形態を持つ欠損臓器を個々の個体に合わせて作製することが挙げられる。申請者は、立体的自由造形を、生体親和性の最も高い材料であるチタンを用いて完成し、さらに世界で初めて積層造形チタンに化学処理を施し、化学処理チタン人工骨の骨形成能促進効果を証明した。

2. 研究の目的

(1) 積層造形チタンメッシュ人工骨を病院倫理委員会の承認を得て顎骨骨欠損再建患者に使用し、現在まで 10 例において、最長 19 か月の長期経過を含め安定した臨床結果を得ている。そしてこれらの研究成果をもとに国内での医療機器承認を得るため日本医薬品機構 PMDA の RS 戦略相談を実施し今後の具体的な研究目標として医療機器としての承認を目指す。

(2) 臨床研究成果の蓄積と PMDA 面談意見を反映して、実用化に向けた基礎的研究を行った。臨床研究については、骨形成の CT 画像による評価に加えて有害事象の発生と 2015 年経産省積層造形技術ガイドラインに従い製造工程の検証を行った。基礎研究において、ラット頭蓋骨骨欠損モデルを用いて骨欠損部に積層造形チタン人工骨埋植を行い、埋植後にラット頭蓋骨摘出を行い、マイクロ CT にて X 線学的観察を行い、チタン人工骨・形成骨の状態を非脱灰研磨標本作製し、トルイジンブルー染色を行い骨とチタンの結合状態を、形成骨を占有比率で比較検証する。

3. 研究の方法

(1) ヒトでの臨床試験：病院倫理委員会・認定臨床研究審査委員会の承認のもとで顎骨萎縮患者に積層造形チタンメッシュを使用して有効性・安全性を検証する。適応症例は小欠損とする。

(2) ラットの骨欠損モデル：積層造形チタン人工骨に従来のチタン表面処理と混酸・加熱処理を施し骨欠損部における骨形成量の比較をマイクロ CT、非脱灰研磨標本による組織学的観察を行い検証する。

4. 研究成果

2016 年度：生体に親和性の高いチタンを自由に造形できる積層造形法 Selective Laser Melting 法により自由造形作製を行ったチタン人工骨に、各種生体活性処理を施し、骨欠損部での骨形成モデルの確立を行った。SD ラットの頭蓋骨骨欠損モデルを使用して人工的な骨欠損（円形径 7mm）を作製し、積層造形法で作製した純チタン性膜を作製し、下記の 5 つの処理を施し、生体活性チタン膜を作製し、メッシュ膜で骨欠損部を被覆しスクリュー固定を行い、NaOH 加熱処理 (n=15)、NaOH・HCl・加熱処理 (n=15)、NaOH・CaCl₂・加熱・温水 (n=15)、混酸・加熱 (n=15)、無処理 (n=15)埋植、2、4、7 週目に摘出し、マイクロ CT を用いた画像解析、および非脱灰切片の組織学的観察を行い、骨形成の評価を行った。結果、混酸・加熱処理群でもっとも高い骨形成能が観察された。全群においてチタン膜周囲の炎症性反応、骨欠損部

よりのチタン膜の逸脱など不具合は認めなかった。これらの結果から、造形純チタン人工骨においては混酸・加熱処理がもっとも高い骨形成能を示したことを証明した。この研究において、積層造形チタンが高い生体親和性を持つこと、生体活性処理の種類による骨形成能の経時的変化を in vivo で解明した。これまでに生体内で造形チタンに化学処理を施し比較検証した報告はなく、きわめて新規性が高い結果である。さらに、この結果から、造形チタンに生体活性処理を施すことで生体適合性、強度、高い骨形成能が確認され、今後の造形チタン人工骨の実現にむけた貴重な成果を得ることができた。

2017年度：この年度は、前年度の研究成果をさらに検証するために実験動物の数を増やし、その成果を学会や研究会で報告し様々な角度から研究方法、評価方法の検証を行い次年度につなげる研究計画見直しを行った。

2018年度：今年度は研究期間の最終年度として以下の研究成果を得た。昨年度までの研究で、積層造形チタン人工骨の表面処理として混酸・加熱処理がもっとも高い骨形成能をもつことを、メッシュ状にした積層造形チタン人工骨設置ラット頭蓋骨骨欠損モデルで証明した。擬似体液を用いた非生体において、混酸・加熱処理の高い骨形成能は報告されているが、生体内での他処理法と比較・検証した報告はなく、論文として国際雑誌で初めて掲載された (Yamamoto K, Ueno T, et. al. RSC Advanced 2018)。この研究をさらに発展させ、骨欠損部に形体を一致させた埋め込み型積層造形チタン人工骨を用いて欠損部における積層造形チタン人工骨の骨形成能評価を予備的に行なった。非脱灰研磨標本とマイクロ CT 観察において積層造形チタン人工骨には周囲から活発な骨形成がなされ骨と一体化する様子が観察された。この結果は、積層造形チタン人工骨が生体内においてカスタムメイド人工骨として使用される可能性を強く示唆している。

またヒトの顎骨欠損症例においても患者 CT データをもとにカスタムメイドで積層造形チタンメッシュを作製・使用 (大阪医科大学：特定臨床研究審査委員会にて特定臨床研究として承認) し、欠損部への適合性、安全性、骨形成有効性の評価を行い期間内に 7 名の患者で、良好な結果を得ることができ国際学会や国際雑誌で報告 (発表：Ochi A, Ueno T, et .al. The 26th EACMFS, Munich, 2019. 論文：Inoue K, Ueno T, et. al. Implant Dentistry 2019) した。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 15 件)

1. Kazuya Inoue, Yoichiro Nakajima, Michi Omori, Yoshifumi Suwa, Nahoko Kato-Kogoe, Kayoko Yamamoto, Hisashi Kitagaki, Shigeo Mori, Hiroyuki Nakano, and Takaaki Ueno. Reconstruction of the Alveolar Bone Using Bone Augmentation With Selective Laser Melting Titanium Mesh Sheet: A Report of 2 Cases. Implant Dentistry 査読あり; 27(5): 602-607.2018.
2. Kayoko Yamamoto, Seiji Yamaguchi, Tomiharu Matsushita, Shigeo Mori, Azumi Hirata, Nahoko Kato-Kogoe, Hiroyuki Nakano, Yoichiro Nakajima, Yoshihiro Nishitani, Hitoshi Nagatsukaf, Takaaki Ueno. Osteogenic capacity of mixed-acid and heattreated titanium mesh prepared by a selective laser melting technique. Royal Society of Chemistry Advances 2018 査読あり; 8: 26069-26077, 2018.

3. Akihiro Sunano, Nozomu Fukui, Miwa Kanou, Yoshihiro Kimura, Yoichiro Nakajima, Yuichi Ito, Yasunori Ariyoshi, Haruhiko Terai, Peter K. Moy, Takaaki Ueno. Histological evaluation of alveolar bone ridge augmented with Platelet-rich Fibrin and Artificial Bone. J Oral Tissue Engin. 査読あり 14(1):15-20, 2016.
4. Yoichiro Nakajima, Takaaki Ueno, Nahoko Kato-Kogoe, Kayoko Yamamoto, Nozomu Fukui, Yoshifumi Suwa, Yoshihiro Kimura, Yuichi Ito, Yasuko Takahashi, Shin Kasuya, Miwa Kanou, Haruhiko Terai, Tomoyuki Tano and Yasunori Ariyoshi. Study on Suitability of Grafted Bone Following Mandibular Reconstruction Evaluated According to Masticatory Performance Scores Using Half-Portion Gummy Jelly. Journal of Hard Tissue Biology. 査読あり 25(4): 247-430, 2016.
5. Yoichiro Nakajima, Takaaki Ueno, Nahoko-Kato-Kogoe, Kayoko Yamamoto, Nozomu Fukui, Yoshifumi Suwa, Yoshihiro Kimura, Yuichi Ito, Yasuko Takahashi, Miwa Kanou, Haruhiko Terai, Tomoyuki Tano, Yasunori Ariyoshi. Clinical analysis of surgical guide plate to provide bone suitability in mandibular reconstruction. J Oral Tissue Engin. 査読あり 14(1): 51-58, 2016.

[学会発表](計 47 件)

1. Ayako Ochi, Nahoko Kato-Kogoe, Kayoko Yamamoto, Kazuya Inoue, Shihoko Inui, Takaaki Ueno. Bone Augmentation Performed With SLM Titanium Mesh: A Case Report. 24th Congress of the European Association for Cranio Maxillo Facial Surgery. Munich – Germany. 20, September 2018.
2. Ayako Ochi, Nahoko Kato-Kogoe, Kayoko Yamamoto, Kazuya Inoue, Shihoko Inui, Takaaki Ueno. Clinical Evaluation of Titanium Mesh Prepared Using Selective Laser Melting Technique (Additive Manufacturing) For Alveolar Ridge Augmentation. 24th Congress of the European Association for Cranio Maxillo Facial Surgery. Munich – Germany. 20, September 2018.
3. Kazuhiro Inoue, Kato-Kogoe Nahoko, Kayoko Yamamoto, Takaaki Ueno. Biological Safety of SLM Titanium Mesh: 24th Congress of the European Association for Cranio Maxillo Facial Surgery. Munich – Germany. 20, September 2018.
4. Michi Omori, Norihiro Hashiguchi, Kayoko Yamamoto, Motoshi Kimura, Yoichiro Nakajima, Yuichi Ito, Yoshihiro Kimura, Wataru Sonoyama, Takaaki Ueno. Extremely unusual cases of foreign bodies in the maxillary sinus. The 23rd Congress of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery. The Queen Elizabeth Conference Centre London UK. 2016.

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 1 件)

名称：骨修復インプラント及びその製造方法

発明者：植野高章 他

権利者：学校法人大阪医科薬科大学

種類：特許

番号：特願 2018-149414

出願年：平成 30 年

取得状況（計 0 件）
該当なし

〔その他〕
ホームページ等 該当なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：山口 誠二

ローマ字：(Yamaguchi, Seiji)

所属研究機関名：中部大学

部局名：生命健康科学部

職名：講師

研究者番号（8 桁）: 50726198

研究分担者氏名：中島 世市郎

ローマ字：(Nakajima, Yoichiro)

所属研究機関名：徳島大学

部局名：大学院医歯薬学研究部（歯学域）

職名：助教

研究者番号（8 桁）: 10720691

研究分担者氏名：伊藤 雄一

ローマ字：(Ito, Yuichi)

所属研究機関名：大阪医科大学

部局名：医学部

職名：非常勤講師

研究者番号（8 桁）: 10530701

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

該当なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。