

令和 2 年 5 月 24 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17294

研究課題名(和文)高齢者に利用可能なハイブリッド型硬組織再建材料の開発

研究課題名(英文) Examination of hybrid type hard tissue reconstruction material applicable to elderly person

研究代表者

岩田 潤 (IWATA, Jun)

日本大学・歯学部・助教

研究者番号：20757629

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では高齢者において用いることができる再建材料を開発することを目的とした。

放射線学的にまた組織学的に、ラット上顎骨骨膜下にTB、細片軟骨を埋入し材料周囲に良好な骨造成が確認できた。V. Goldner 染色で軟骨内部の一部骨化が確認できた。細片軟骨埋入により生体組織足場素材として、また骨造成材料として利用できることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸骨海綿骨細片とプレートによる骨再建は賦形性および咬合や咀嚼嚥下などの機能面でも有効であるが、海綿骨を大量に必要とし、高齢者からの採取が困難で再建を行えない症例も多い。また各種成長因子が用いられた細胞再生・培養による組織再建も数多く研究されているが、各種成長因子は癌細胞への影響があるため癌患者において使用は禁忌である。このため現在癌患者や高齢者における低侵襲で有効な骨再建方法がないのが現状である。本研究では生体組織である骨膜、軟骨と安全性の担保された人工材料を用いて、顎骨再建に適したハイブリッド型硬組織再建材料の臨床応用の可能性を検討した。

研究成果の概要(英文)：This research is aimed at developing reconstructive materials that can be used by the elderly. Good new bone formation was observed around the material in the model of tetrabone or cartilage implants embedded under the periosteum of rat maxilla. V. Goldner staining showed partial ossification within the cartilage.

It was suggested that the cartilage pieces could be used as scaffolding materials for living tissues and bone building materials.

研究分野：口腔外科

キーワード：骨造成 人工骨 生体材料 顎骨再建

1. 研究開始当初の背景

顎骨および歯槽堤は老化現象、外傷、炎症、腫瘍の外科的切除等により垂直的・水平的に吸収される。顎骨の吸収により義歯やインプラントなどの補綴処置は十分な骨のサポートが得られず、咬合、咀嚼、嚥下などの機能面や口唇陥凹といった審美面が失われることが少なくない。患者のQOLの改善のため最良な骨再建手術が求められている。従来から行われている遊離骨移植や血管柄付き骨移植などの自家骨移植は優れた再建方法ではあるが、複雑な形状を有する顎顔面領域において術中に移植骨の整形が必要となることも多く、審美的に十分に満足がいく再建を行うことは難しい。また重要な支持組織となる骨を患者自身の身体から採取する必要があり侵襲の高い術式となる。さらに移植骨量および採取骨の形態付与にも制限がある中で、咬合・咀嚼といった機能面を考慮し骨再建する必要がある。PCBMとプレートによる骨再建は整容面のみならず賦形性および咬合や咀嚼嚥下などの機能面でも有効であるが、海綿骨を大量に必要とし、脂肪髓の多い高齢者からの採取が困難で再建を行えない症例も多い。このため現在高齢者における低侵襲で有効な骨再建方法がないのが現状である。骨膜、軟骨はそれ自体が骨、軟骨欠損時に欠損部分を修復し、さらに骨、軟骨膜のみでも血行のある状態または血流の豊富な部分への移植で再生能を有していることが明らかになっている(高戸毅, 米原啓之他: 骨端軟骨遊離移植に関する実験的研究. 日本形成外科学会誌 13:169-178, 1993. 米原啓之, 高戸毅他: 膜性骨の骨形成に関する実験的研究(第2報 膜性骨骨膜の骨形成能について). 日本形成外科学会誌 14: 258-267, 1994.). また骨膜からの骨再生過程の研究(Mashimo T, Yonehara Y. et al. Assessment of the Bone Regenerative Process from Fibular Periosteum by in vivo Micro Computed Tomography. Journal of Hard Tissue Biology 22, 391-400, 2013.) から骨膜から再生した骨を顎骨へ移植することで顎骨再建が可能なのは確認できている。

一方、骨膜下に足場素材を移植することによる骨再建を得る方法として、ラット脛骨骨膜下で安全性の担保された人工骨(a-TCP; tetrabone; TB)を用いて骨造成実験を行い、現在歯科領域で用いられているHA、a-TCPペーストなどの人工骨移植、さらに皮質骨を用いたベニアグラフトによる自家骨移植と比較し、TBが骨造成量、機械的強度において骨造成に有用な人工骨であることは明らかになっている(Iwata J, Namaki S, Mashimo T, Ung-il Chung, Honda K, Yonehara Y. Augmentation of flat bone area using Tetrapod-shaped Artificial bone in rats. J Hard Tissue Biology 24, 69-76, 2015)。また自己組織化ペプチドゲル(PureMatrix)の骨芽細胞の増殖、分化に及ぼす影響を評価した研究(Bokhari MA et al. Biomaterials 26(25), 5198-208, 2005)では、自己組織化ペプチドゲルの表面および足場素材内に骨芽細胞の多細胞層を形成することが明らかになっている。この自己組織化ペプチドゲルと、骨膜、軟骨、人工骨を組み合わせることで骨造成量・骨密度を増加させる可能性が考えられる。

本研究では骨膜下に軟骨、安全性の担保された人工骨および自己組織化ペプチドゲルを用いたハイブリッド型再建材料で骨造成を行い、新たな顎骨再建方法の開発を検討する。加えてチタンメッシュプレートを適切に成形することにより、より自然な顎骨形態を付与することも可能であり、PCBMとチタンメッシュプレートを併用する骨再建においても義歯やインプラントを併用することにより良好な咬合・咀嚼といった機能的な回復も期待できる。骨膜挙上を行い骨膜下で骨造成を促す研究(Inoue H, et al. J Hard Tissue Biol 23, 125-130, 2014)において骨造成が期待できることは明らかである。そこで骨膜下骨造成に、軟骨と人工材料を併用した骨再建を行い、特殊なメッシュの形状によりあらゆる曲面に対応できる操作性を有し、加工ストレスが少なく破折しにくいという特性を有したウルトラフレックスチタンメッシュ[®]を用いて母骨の垂直的・水平的骨造成ができるかを検討する。造成骨量、賦形性、機械的強度において再建材料として有用となるような各種条件を検討する。重要な支持組織である骨を採取することなく骨再建が可能となれば、自家骨移植による顎骨再建においてもドナーサイトの犠牲を現状の再建術よりはるかに少ないものに出来る。

2. 研究の目的

本研究では骨膜下に軟骨および安全性の担保された人工材料(TB、PureMatrixなど)を移植し、ハイブリッド型材料による顎骨骨造成モデルラットを作製し、放射線学的に水平的かつ垂直的な骨造成の経時変化を観察し、さらに4週、8週、12週に機械的強度測定および組織学的・免疫組織学的解析を行い、各種成長因子などの生理活性物質を使用することなく生体内組織と人工材料を用いたハイブリッド型再建材料の賦形性と機械的強度を検討して実際の臨床利用についての有効性について検討した。

3. 研究の方法

生体内組織(軟骨、骨膜)および安全性の担保された人工材料(TB、PureMatrix)を用いた顎骨骨造成モデルラットを単体モデルとして作製し、放射線学的に水平的かつ垂直的な骨造成の経時変化を観察し、さらに4週、8週、12週に機械的強度測定および組織学的解析を行った。軟骨は同一ラット肋骨より採取した軟骨を細片状にして細片状軟骨移植により骨造成モデルを作製した。生体内組織と人工材料を組み合わせたハイブリッド型骨造成モデルを作製し、放射線学的な経時変化・機械的強度・組織学的解析を行い、単体モデルとの比較を行うことでハイブリッド型骨造成材料の有効性について検討した。

(1) 骨造成材料の検討

ラット顎骨骨膜を挙上した骨膜下のスペースに軟骨細片および人工材料であるTB、PureMatrix

を挿入し造成スペースを確保した骨造成モデルラットを作製した。手術後、4 週目、8 週目、12 週目で micro-CT 撮影および軟 X 線撮影を行い、micro-CT 画像を用いて経時的な変化を同一個体で観察した。デジタルイメージデータとして PC に取り込み NIHImage ソフトを用いて骨の形成された面積等を算出し、定量的な変化を評価した。一塊となった状態で移植部位より摘出し機械的強度の検討を行った。

(2) 生体内組織と人工材料のハイブリッド型再建材料の検討

骨膜下に、軟骨細片および人工材料である TB、PureMatrix を組み合わせてハイブリッド型再建材料を作製し、単体における骨造成量との比較を(1)の解析方法を用いて同様にを行い、どのハイブリッド型が、より再建材料として有用か検討を行った。

骨造成後の骨組織経時的変化の検討

上記(1)、(2)の結果をふまえて、骨造成に最適な条件を選択し、ラット顎骨造成部位へ骨造成を行ったうえで経時的な変化を micro-CT 画像等を用いて放射線学的に検討した。脛骨骨膜下の骨造成の研究において (Iwata J, et al. J Hard Tissue Biology 24, 69-76, 2015) 12 週で TB の周囲にほぼ均一な新生骨が確認できたことから、ハイブリッド型骨造成材料における骨造成を行い、12 週、48 週といった長期経過後の骨組織解析を行った。

賦形性ならびに機械的強度の検討

顎骨再建において咬合の機能回復ならびに審美性の確保のためには骨造成した部位の賦形性および機械的強度が重要であるため、造成された新生骨に対して賦形性を加える方法(ウルトラフレックスチタンメッシュ[®]、ミニインプラントスクリューの利用; オカダ医材製、東京)と、これにより移植後に機械的強度が十分に確保されるかについての検討を行った。チタンメッシュを併用した骨造成を行った後、チタンメッシュを除去し、(1)の解析方法に準じて圧迫試験を行い、ハイブリッド型骨造成材料のみで骨造成と比較検討した。

4. 研究成果

骨造成後の骨組織経時的変化の検討において経時的な放射線学的観察では TB 単体モデル、TB + PureMatrix モデルにおいては 8 週、12 週と経時的に造成材料周囲に新生骨と思われる不透過像がみられた。細片軟骨単体モデル、細片軟骨 + PureMatrix モデルにおいては、4 週以降に埋入した細片軟骨自体が大きくなる像が確認できた。細片軟骨 + PureMatrix モデルでは造成部位に留まることができず軟骨が散在している像が確認できた。

組織学的観察ではピラヌエバ・ゴールドナー染色を行った。ピラヌエバ・ゴールドナー染色は骨基質の石灰化の程度により類骨が赤、石灰化骨が緑に染色される。TB 単体で埋入したモデルでは TB を周囲に緑に染色された石灰化骨がみられた。TB を足場素材として骨新生したと考えられた。細片軟骨単体モデルでは軟骨周囲に緑に染色された石灰化骨がみられ、軟骨内部も一部緑に染色された石灰化骨がみられた。TB + PureMatrix、細片軟骨 + PureMatrix それぞれのハイブリッドモデルでは、造成材料周囲に緑に染色された石灰化骨の像はみられなかった。細片軟骨 + PureMatrix モデルの軟骨内部には石灰化骨がみられた。泥状の PureMatrix が造成部位で流動したため骨置換されなかったと考えられた。ラット顎骨骨造成において垂直的な骨造成を確実なものとするため賦形性の付与と機械的強度の獲得を目的としたウルトラチタンメッシュ・チタンスクリューを使用し実験を行ったが、術野におけるメッシュ・スクリューを含めた創部被覆の困難さ、術後感染などの問題点が挙げられ良好な結果が得られなかった。ハイブリッド型硬組織再建材料の開発に向けて顎骨欠損を作製し再度メッシュ・スクリューを併用した骨造成モデルを今後検討する予定である。

軟骨が足場素材、骨代替材料のどちらにもなりうることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----