

機関番号：12602  
 研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2008～2010  
 課題番号：20592297  
 研究課題名（和文） 生分解性ポリマーステントを利用した口腔軟組織再建  
 研究課題名（英文） Oral soft tissue reconstruction using bioresorbable polymer stent  
 研究代表者  
 立川 敬子（TACHIKAWA NORIKO）  
 東京医科歯科大学・歯学部附属病院・講師  
 研究者番号：70236537

研究成果の概要（和文）：硬組織再生に用いられる材料は多いが、軟組織再建のための材料はほとんど開発されていない。本研究では、生分解性多孔性ポリ乳酸ブロックをラットのカルバリア上に埋入し、組織学的に検討した。さらに、細胞の接着性および増殖性を評価するために、ポリ乳酸ブロック上で NIH 3T3 マウス胎児線維芽細胞を培養した。その結果、生分解性多孔性ポリ乳酸ブロックは、軟組織再建にきわめて有用な材料であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Little has been developed in the field of biomaterials for soft tissue reconstruction, and most of the materials available are used in the regeneration of hard tissues. In this study, bioresorbable porous poly-dl-lactide (PdlLA) blocks were implanted on rat calvaria, and were assessed by histologic examination. NIH 3T3 mouse embryo fibroblast cells were cultured on the PdlLA blocks to evaluate initial cell adhesion, cell proliferation. It might be suggested that bioresorbable porous PdlLA block is extremely effective materials used for soft tissue regeneration.

#### 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：口腔インプラント学

科研費の分科・細目：歯科・歯科医用工学・再生歯学

キーワード：生分解性ポリマー、ポリ乳酸、軟組織再建、歯科インプラント

#### 1. 研究開始当初の背景

歯周治療およびインプラント治療において、理想的な審美性および機能性を獲得するために、さまざまな試みがおこなわれている。骨の造成のためには、GBR法、自家骨移植、各種生体材料による骨補填、

さらには成長因子等を応用した組織工学的的手法など、多くの方法が開発されている。しかし、軟組織造成法については、口腔内からのわずかな遊離あるいは有茎組織移植以外ほとんど研究されていない。

幅の広い付着歯肉と広範囲にわたる厚い結合組織を持つ歯肉は、概して退縮しにくく、また粘膜下の金属体の色を遮断しやすいため、満足できる審美的結果を達成しやすい。また、十分な量の軟組織は造成された骨組織の長期の安定性に対しても明らかに有利に働く。

以前、われわれはポリ-L-乳酸(PLLA)を基材とした生分解性骨接合材の実用化に取り組んでおり、これは整形外科領域とともに歯科口腔外科領域でも現在広く用いられている。しかし、同接合材を用いた局所で生じた異物肉芽種の報告が散見されている。われわれの抱える長期症例でも局所に硬結を触れるものがあり、線維性結合組織が形成されていることが確認された。そこで今回、PLLAの線維性結合組織の誘導性を逆に利用して、結合組織造成のためのステントとして利用することを検討することにした。

## 2. 研究の目的

近年、医療・環境などの分野で生分解性高分子が注目されている。特に医療分野では薬剤放出デバイスや縫合糸、体内での止血・接着・癒着防止材料、再生工学材料等、目的達成後生体内で分解し代謝吸収される生体内分解吸収性高分子であることが望まれる用途は多い。

今回の研究では、天然歯およびインプラント周囲に審美的な形状と十分な厚みのある線維性結合組織を誘導するために生分解性高分子材料を利用することを目的とした。このためには、あらかじめ理想的な最終形態を付与した生分解性高分子のステントを作製し、その分解ともなう周囲組織の反応を観察する。線維性結合組織の形成には、ステントが分解される速度と分解産物の量および分子量が大きく影響

すると考えている。また、材料表面および内部への細胞接着性の向上および細胞増殖の促進を検討する必要がある。

将来的には必要に応じてbFGFをはじめとする成長因子やコラーゲン、ヒアルロン酸等のタンパクを結合させる、あるいはこれをscaffoldとしてin vitroで線維芽細胞を培養し生体に移植するなどの展開も可能である。

## 3. 研究の方法

本研究の目標は、生分解性高分子材料が完全に吸収された後に、適当な厚みの線維性結合組織が形成されており、これが長期間にわたって安定した状態で維持されることである。そのために、生体内での分解動態と周囲組織の反応の違いを観察しながら、使用部位および使用目的に即したポリ乳酸ステントの素材および形状を検討する。

### (1) 多孔性ポリ乳酸ブロックの組織内変化の観察

- 1) 厚さ2mm、直径10mmの多孔性ポリ乳酸ブロックを調整する。
- 2) ラット頭部皮膚に切開を加え、頭蓋骨膜上に延伸成形ポリ乳酸シートを移植する。
- 3) 観察期間を実験後1,2,4,8,12,24,48週とし、病理組織学的検討をおこなう。さらに、分解産物の形状、残留量および分子量の分析をおこなう。

### (2) ポリ乳酸ディスク表面および多孔性ポリ乳酸ブロック内部での細胞接着性および増殖性の検討

#### ① ポリ乳酸ディスク上での細胞接着および細胞増殖の検討

- 1) 表面性状の異なる直径13mmのポリ乳酸ディスクを準備。
- 2) 24穴培養プレート中で、ディスク1

枚あたり  $1 \times 10^4$  個の NIH3T3 細胞を播種。

- 3) 3 時間後、ディスク上に接着している細胞数を計測した。
- 4) ディスクに接着した細胞はそのまま培養を続け、1, 2, 3, 7 日後に細胞数を計測した。

② ポリ乳酸多孔性ブロック上での細胞接着および細胞増殖の検討

- 1) 直径 5mm、厚さ 2mm のポリ乳酸多孔性ブロックを準備。
- 2) 実験 1 と同様に細胞接着性および細胞増殖を検討した。

4. 研究成果

(1) 多孔性ポリ乳酸ブロックの組織内変化の観察

ポリ乳酸ディスクの表面は粗な結合組織で覆われ、ラット頭蓋骨膜に重ねられた部位は厚い線維性癒痕で連結しており、スムーズに移行していた。組織学所見では術後 8 週の標本でポリ乳酸ディスクの中空内部に新生血管と線維組織の浸潤を認め、骨膜とポリ乳酸ディスクとの間の癒痕による結合が観察された。術後 12 週・24 週の標本でポリ乳酸ディスク内の線維組織増生はさらに進み、骨膜とポリ乳酸ディスクとの間の結合は密になった。

また、暗視野像の観察ではポリ乳酸ディスクの融解像は認めなかったが、偏光像では 32 週標本でポリ乳酸ディスクに劣化が認められた。

(2) ポリ乳酸ディスク表面および多孔性ポリ乳酸ブロック内部での細胞接着性および増殖性の検討

① 多孔性ポリ乳酸ブロック表面および内部での細胞接着性および増殖性の検討

滑面ディスクに接着した細胞数は平均  $5.5 \times 10^3$  個、粗面ディスクに接着した細胞数は平均  $9.0 \times 10^3$  個であり、細胞接着性は表面性状による有意差が認められた。

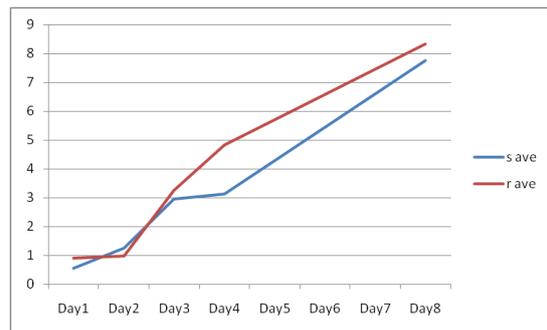
Day1(3h 後)の接着細胞数

s1	0.60	r1	0.82
s2	0.55	r2	0.81
s3	0.52	r3	0.94
s4	0.53	r4	1.02
滑面平均細胞数	0.55	粗面平均細胞数	0.90

$\times 10^4$  個

その後 1,2,3,7 日の細胞増殖能には有意差が認められなかった。

増殖細胞数



$\times 10^4$  個

② ポリ乳酸多孔性ブロック上での細胞接着および細胞増殖の検討

培養開始後 3 日目までは、細胞は増殖傾向にあったが、その後はプラトーに達したとみられた。

引き続き、緑色蛍光蛋白 (monomeric Azami-Green1) の遺伝子導入によって蛍光顕微鏡にて観察可能な NIH3T3 細胞を製し、これを用いることによってポリ乳酸多孔性ブロック内部への細胞導入方法の検討を行っている。

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 件)

[学会発表] (計 1 件)

Norio Akino akino.irm, Noriko Tachikawa,  
Kaori Takaya, Shohei Kasugai. Effect of  
porous composite uncalcined  
hydroxyapatite / poly-DL-lactide for  
vertical ridge augmentation. 20th Annual  
Scientific Meeting of European  
Association of Osseointegration (EAO),  
October 12-15, 2011, Athens (Greece).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

立川 敬子 (TACHIKAWA NORIKO)  
東京医科歯科大学・歯学部附属病院・講師  
研究者番号：70236537

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：