

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12671

研究課題名（和文）新規表面修飾技術を応用した強力な骨固着高分子コーティングスクリューの開発

研究課題名（英文）Development of a powerful bone-fixing polymer-coated screw by applying a novel surface modification technology

研究代表者

牛久 智加良（Ushiku, Chikara）

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：10338874

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ポリ(2-メトキシエチルアクリレート；PMEA)修飾チタン製インプラントの骨固着性(osseointegration)促進を、in vivoで確かめた。力学試験(push-in test)と組織学的骨形態計測(丸棒-皮質骨の間隙幅、皮質骨の多孔化面積/皮質骨面積)の結果から、PMEAが骨孔周囲の骨吸収力を抑制することで、丸棒設置直後に生じる丸棒周囲の皮質骨吸収が最小限で抑えられ、同時に生じる骨形成で丸棒-皮質骨面の間隙が狭くなり、力学的な骨結合性が早期に高まったと推察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究グループが確立した中間水コンセプトに基づき開発された表面改質技術は、生体適合性を有し、簡便に低コストで種々の材料表面への修飾に応用することができる。本研究では、PMEA修飾チタン製インプラントが骨固着性(osseointegration)を促進することを、in vivoで確かめた。骨粗鬆症を背景とした骨関連手術の成功のために、骨固着性(osseointegration)を早く確実に獲得できるインプラント開発が望まれるが、PMEA修飾インプラントはその期待に応える実現性が高い技術である。

研究成果の概要（英文）：In this study, the osseointegration of the PMEA-modified titanium implant was verified in vivo. The results of mechanical tests (push-in test) and histological bone morphometry (gap width between the implant and cortical bone, cortical bone porosity area/cortical bone area) showed that PMEA suppressed bone resorption around the bone pits, minimizing cortical bone resorption around the implant immediately after placement of the implants, and that the bone formation that occurred at the same time minimized cortical bone resorption between the implant and the pits, and that the bone resorption around the implant was reduced by PMEA. The resulting bone formation narrowed the gap between the round bar and cortical bone surface, and mechanical bone connectivity was enhanced at an early stage.

研究分野：整形外科

キーワード：中間水コンセプト osseointegration 高分子 ポリ(2-メトキシエチルアクリレート；PMEA) 皮質骨 多孔化

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

本研究分担者らはこれまで、材料に形成される水和状態に着目して確立した中間水コンセプトに基づき、複数の新規モノマーおよび生体親和性高分子を合成し、医療材料への応用に成功した (Biomaterials, 2000, 21)。このコンセプトは、材料に水を吸収させた際、概して運動性の高い“自由水”と材料に強く結合する“不凍水”の間隙に“中間水”が生じる現象に基づいたものであり、水量依存的に細胞の接着能を制御できることを見出した本研究分担者らはスマートバイオマテリアルという新たなカテゴリーを確立した。医療応用への実現にあたり、細胞の接着や運動だけでなく、増殖や分化といった生存に関わる挙動の制御機能を有し、簡便かつ低コストに合成できる生体適合性の非水溶性高分子としてポリ(2-メトキシエチルアクリレート; PMEA) を同定した (特許: 6474540 (2019) 関連成果: Science Advances 2018, 4, eaau2426; ACS Appl. Bio Mater. 2019, 2, 4154; など)。生体材料として活用するためには、目的に応じて PMEA の特性を高める条件を同定する必要があったため、本研究分担者らは細胞に応じた適切な中間水量を網羅的に模索した。その結果、血液適合性に優れた条件を見出し、血漿たんぱく質との吸着が少ない特徴を活かして人工透析や人工血管、人工心肺、カテーテルといった医療機器への表面改質技術として確立され、医療の現場で実際に活用されている (Int J Artif Organs 2002, 25)。同時に、本研究グループでは、骨芽細胞の機能を促進する中間水量の条件を同定することにも成功した。適切な条件で調節済みの PMEA を修飾した基板上で間葉系幹細胞を培養したところ、骨芽細胞への分化が促進された。以上の結果より、骨形成を促進する作用を併せ持つ PMEA は、生体適合性を有しているため、整形外科や歯科治療を早める新医療機器としてより実現性の高い表面改質技術であることが示唆された。

2. 研究の目的

整形外科骨折治療手術では、骨折部の安定化を目的としてスクリューやプレートといった金属製のインプラントが広く用いられている。このような治療の成功には、インプラント表面と骨との間の骨性結合 (osseointegration) の獲得が不可欠である。本研究の目的は、PMEA 高分子を修飾したチタン製丸棒の osseointegration を骨形態計測および力学的試験により評価し、osseointegration 向上を目的としたインプラントへの PMEA 修飾の妥当性を検証することである。

3. 研究の方法

(1) 動物手術

Sprague-Dawley 種ラット (8 週齢、雄) を用い、イソフルレン吸入麻酔で導入し、三種混合麻酔薬 (メドミジン 0.15mg/kg, ミダゾラム 2mg/kg, ブトルファノール 2.5mg/kg) を皮下注射し麻酔を維持した。大腿骨遠位骨幹端部に 1mm 径の手回しドリルで骨孔を作成し、純チタン製丸棒インプラント (1mm 径 3mm 長) を挿入する設置手術を行なった。PMEA 修飾純チタン製丸棒 (PMEA 群) と、比較対象として血栓形成作用を有する高分子ポリブチルアクリレート修飾純チタン製丸棒 (PBA 群) と、修飾なし純チタン製丸棒 (cpTi 群) を用いた。尚、本実験は東京慈恵会医科大学動物実験委員会の承認 (承認計画番号 2020-019) を得て行った。

(2) 力学試験 (push in test, 図 1)

術後 2、4、8、12 週目に組織を回収し、力学試験機を用い、丸棒の長軸方向に荷重を付加 (1mm/分) し、抵抗力が消失した荷重値 (N) 平均を 3 群で比較した。

(3) 組織学的骨形態計測

設置後 2、4 週で組織を回収し、非脱灰研磨標本を作製し、Villanueva 骨染色した。皮質骨多孔化面積/皮質骨面積、丸棒 - 皮質骨骨面の間隙幅、皮質骨骨面と皮質骨多孔化表面の類骨面・侵食面の割合平均を 3 群で比較した。統計解析に ANOVA 検定を用い、 $p < 0.05$ を統計学的に有意差ありとした。



図 1: 力学試験機

4. 研究成果

(1) 結果及び考察

力学試験(push in test)

PMEA 群の力学的固定性は、2 週で PBA 群と比べ、4 週以降、12 週まで PBA 群、cpTi 群と比べ有意に高いことが示された。

組織学的骨形態計測

組織学的に皮質骨多孔化の形成、丸棒 - 皮質骨骨面の間隙幅を観察すると、いずれも PMEA 群は術後 2 週で PBA 群より少なく、術後 4 週では PBA 群、cpTi 群と比べ少なかった。PMEA 群では皮質骨多孔化、皮質骨骨面の侵食面が小さく、丸棒設置直後から骨吸収活性が低下していた一方で、類骨面が 3 群で差がなかった。すなわち PMEA 群は他 2 群と変わらない骨形成力を有しているながら、周囲の骨吸収力を抑制することが明らかになった。

(2) 研究総括と今後の展望について

本研究から抗血栓性を有する PMEA 修飾チタン製インプラントは、血栓形成作用を有する PBA 修飾と、修飾なしチタン製インプラントと比べ、高い骨結合性を有することが明らかになった。osseointegration の獲得過程は、まずインプラント周囲に破骨細胞が出現することで始まり(Ohtsu A, et al. J Periodontol. 1997)、皮質骨多孔化や、インプラント周囲と皮質骨の間に間隙を生じる。その後、骨内膜や皮質骨多孔化の表面、吸収を免れた既存骨 - インプラントの間隙に骨芽細胞の出現とともに新生骨が形成され、インプラントの骨結合性が得られる。金属表面への PMEA 修飾により、osseointegration 最初の過程における皮質骨吸収が抑制され、同時に既存骨 - インプラントの間隙に生じる骨形成が早期に生じることで、力学的な骨結合性が早期に高まったと推察された。

これまで、骨内の PMEA 修飾インプラント界面や、設置骨組織への破骨細胞出現が著しく少ないメカニズムは明らかにされていない。今後は、破骨細胞の発現、分化、機能に PMEA がどのように関わるかのメカニズム解明、そして破骨細胞機能が向上する骨粗鬆症動物モデルにおいても破骨細胞出現を抑制し、骨結合性が向上するかを検証する必要がある。今後さらに研究を進め、超高齢社会における骨吸収亢進を背景とした骨脆弱性を有する患者への骨関連手術において、osseointegration を早く確実に獲得できるインプラント開発を目指す。

5. 主な論文発表等

雑誌論文(計 0 件)

学会発表(計 7 件)

- (1) 栗原泰季, 門柚里, 穴田貴久, 田中賢. 「高分子コーティング基盤が骨芽細胞分化に与える影響の解析」第 12 回 CSJ 化学フェスタ(2022/10/20 ポスター)
- (2) 池上拓, 牛久智加良, 穴田貴久, 田中賢, 斎藤充. 「金属表面改質技術を用いた高分子修飾インプラントの骨固着性についての検討」第 41 回 整形外科バイオマテリアル研究会 (2022 年 12 月 10 日 一般口演)
- (3) 栗原泰季, 穴田貴久, 門柚里, 池上拓, 牛久智加良, 田中賢. 「生体適合性高分子コーティングが骨形成に与える影響の解析」第 22 回日本再生医療学会総会(2023/03/25 一般口演)
- (4) 栗原泰季, 穴田貴久, 門柚里, 池上拓, 牛久智加良, 田中賢. 「Poly(2-methoxyethyl acrylate)コーティングが骨形成に与える影響」第 52 回医用高分子シンポジウム(2023/07/25 ポスター発表 最優秀発表賞受賞)
- (5) 穴田貴久, 栗原泰季, 門柚里, 牛久智加良, 田中賢. 「生体適合性高分子による金属インプラント表面修飾と骨接着性への影響」第 72 回高分子討論会(2023/09/28 一般口演)
- (6) 池上拓, 牛久智加良, 穴田貴久, 森岡和仁, 田中賢, 斎藤充. 「金属表面改質技術を用いた高分子修飾インプラントの骨固着性についての検討」第 39 回 日本整形外科学会基礎学術集会 (2023 年 10 月 19 日 一般口演)
- (7) 池上拓, 牛久智加良, 穴田貴久, 白石成, 森岡和仁, 田中賢, 斎藤充. 「中間水コンセプトに基づく生体適合性高分子修飾金属製インプラントの骨結合性向上メカニズムの検討」第 42 回 整形外科バイオマテリアル研究会 (2023 年 12 月 2 日 一般口演)

6. 研究組織

(1)研究代表者

牛久智加良(USHIKU Chikara)
東京慈恵会医科大学・医学部・講師
研究者番号：10338874

(2)研究分担者

田中賢(TANAKA Masaru)
九州大学・先導物質化学研究所・教授
研究者番号：00322850

穴田貴久(ANADA Takahisa)
九州大学・先導物質化学研究所・准教授
研究者番号：30398466

(3)研究協力者

森岡和仁(MORIOKA Kazuhito)
カリフォルニア大学サンフランシスコ校・整形外科・Assistant professor

本研究は、東北大学大学院歯学研究科 口腔システム補綴学分野 白石 成 先生、
東京慈恵会医科大学 整形外科学講座 斎藤 充 先生、池上 拓 先生のご協力が進め
ることができました。心から感謝いたします。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| 1. 著者名 Hamai Ryo, Sakai Susumu, Shiwaku Yukari, Anada Takahisa, Tsuchiya Kaori, Ishimoto Takuya, Nakano Takayoshi, Suzuki Osamu | 4. 巻 26 |
| 2. 論文標題 Octacalcium phosphate crystals including a higher density dislocation improve its materials osteogenicity | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Applied Materials Today | 6. 最初と最後の頁 101279 ~ 101279 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apmt.2021.101279 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Nishida Kei, Anada Takahisa, Kobayashi Shingo, Ueda Tomoya, Tanaka Masaru | 4. 巻 134 |
| 2. 論文標題 Effect of bound water content on cell adhesion strength to water-insoluble polymers | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Acta Biomaterialia | 6. 最初と最後の頁 313 ~ 324 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actbio.2021.07.058 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Anjum Rubaiya, Nishida Kei, Matsumoto Haruka, Murakami Daiki, Kobayashi Shingo, Anada Takahisa, Tanaka Masaru | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Attachment and Growth of Fibroblast Cells on Poly (2-Methoxyethyl Acrylate) Analog Polymers as Coating Materials | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Coatings | 6. 最初と最後の頁 461 ~ 477 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/coatings11040461 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Oizumi Itsuki, Hamai Ryo, Shiwaku Yukari, Mori Yu, Anada Takahisa, Baba Kazuyoshi, Miyatake Naohisa, Hamada Soshi, Tsuchiya Kaori, Nishimura Shin-nosuke, Itoi Eiji, Suzuki Osamu | 4. 巻 124 |
| 2. 論文標題 Impact of simultaneous hydrolysis of OCP and PLGA on bone induction of a PLGA-OCP composite scaffold in a rat femoral defect | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Acta Biomaterialia | 6. 最初と最後の頁 358 ~ 373 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actbio.2021.01.048 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

| |
|-----------------------------------------|
| 1. 発表者名 栗原 泰季, 門 柚里, 穴田 貴久, 田中 賢. |
| 2. 発表標題 高分子コーティング基板が骨芽細胞分化に与える影響の解析 |
| 3. 学会等名 日本化学会秋季事業 第12回 CSJ化学フェスタ2022 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 池上 拓, 牛久智加良, 穴田貴久, 田中賢, 斎藤 充. |
| 2. 発表標題 金属表面改質技術を用いた高分子修飾インプラントの骨固着性についての検討 |
| 3. 学会等名 第41回バイオマテリアル研究会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|----------------------------------------------|
| 1. 発表者名 栗原泰季, 穴田貴久, 門柚里, 池上拓, 牛久智加良, 田中賢. |
| 2. 発表標題 生体適合性高分子コーティングが骨形成に与える影響の解析 |
| 3. 学会等名 第22回 日本再生医療学会総会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|----------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 牛久智加良, 池上 拓, 斎藤 充. |
| 2. 発表標題 長管骨骨膜上における徐放性FGF2の長管骨内osseointegration促進効果の検討 |
| 3. 学会等名 第40回バイオマテリアル研究会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 穴田貴久, 門柚里, 本田義知, 田中賢. |
| 2. 発表標題 PMEA類似体高分子コーティング基板 の骨芽細胞分化への影響 |
| 3. 学会等名 第43回日本バイオマテリアル学会/第8回アジアバイオ マテリアル学会 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 穴田貴久, 門柚里, 本田義知, 田中賢. |
| 2. 発表標題 ポリ (2-メトキシエチルアクリレー ト)類似体コーティングの骨芽細胞分化に与える影響 |
| 3. 学会等名 第21回日本再生医療学会総会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|----------------------------------------|
| 1. 発表者名 栗原泰季, 門柚里, 穴田貴久, 田中賢. |
| 2. 発表標題 高分子コーティング基盤が骨芽細胞分化に与える影響の解析 |
| 3. 学会等名 第12回CSJ化学フェスタ |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 池上拓, 牛久智加良, 穴田貴久, 田中賢, 斎藤充. |
| 2. 発表標題 金属表面改質技術を用いた高分子修飾インプラントの骨固着性についての検討 |
| 3. 学会等名 第41回 整形外科バイオマテリアル研究会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|----------------------------------------------|
| 1. 発表者名 栗原泰季, 穴田貴久, 門柚里, 池上拓, 牛久智加良, 田中賢. |
| 2. 発表標題 生体適合性高分子コーティングが骨形成に与える影響の解析 |
| 3. 学会等名 第22回日本再生医療学会総会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|----------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 栗原泰季, 穴田貴久, 門柚里, 池上拓, 牛久智加良, 田中賢. |
| 2. 発表標題 Poly(2-methoxyethyl acrylate)コーティングが骨形成に与える影響 |
| 3. 学会等名 第52回医用高分子シンポジウム |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---------------------------------------------|
| 1. 発表者名 穴田貴久, 栗原泰季, 門柚里, 牛久智加良, 田中賢. |
| 2. 発表標題 生体適合性高分子による金属インプラント表面修飾と骨接着性への影響 |
| 3. 学会等名 第72回高分子討論会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 池上拓, 牛久智加良, 穴田貴久, 森岡和仁, 田中賢, 斎藤充. |
| 2. 発表標題 金属表面改質技術を用いた高分子修飾インプラントの骨固着性についての検討 |
| 3. 学会等名 第39回 日本整形外科学会基礎学術集会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|-----------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 池上拓, 牛久智加良, 穴田貴久, 白石成, 森岡和仁, 田中賢, 齋藤充. |
| 2. 発表標題 中間水コンセプトに基づく生体適合性高分子修飾金属製インプラントの骨結合性向上メカニズムの検討 |
| 3. 学会等名 第42回 整形外科バイオマテリアル研究会 |
| 4. 発表年 2023年 |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

| | | |
|-------------------------------|-----------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称 ポリマー化合物 | 発明者 穴田貴久、門袖里、 西田慶、田中賢 | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、2022-101453 | 取得年 2024年 | 国内・外国の別 国内 |

〔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 |
|-----------|-------------------------------------------------|---------------------------------------|----|
| 研究 分担者 | 田中 賢 (Tanaka Masaru) (00322850) | 九州大学・先導物質化学研究所・教授 (17102) | |
| 研究 分担者 | 穴田 貴久 (Anada Takahisa) (30398466) | 九州大学・先導物質化学研究所・准教授 (17102) | |

| | 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 |
|-----------|---------------------------------|-------------------------------------------------|----|
| 研究 協力者 | 森岡 和仁 (Morioka Kazuhito) | カリフォルニア大学サンフランシスコ校・整形外科・ Assistant professor | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|