

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791886

研究課題名（和文）rh-BMP・インテリジェントゲル複合体を用いるインプラント用骨増生法の開発

研究課題名（英文）Development of New Implant Augmentation Drug Delivery System Using a rh-BMP-2 - Gelatin Hydrogel Complex

研究代表者

林 和彦（HAYASHI KAZUHIKO）

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：90444687

研究成果の概要（和文）：

ラビット頭頂骨の骨欠損モデルを用いゼラチン・rh-BMP-2 複合体の rh-BMP-2 の至適量を明らかにした。ハイブリッド犬の下顎インプラント周囲の骨欠損モデルに複合体を移植した。観察期間後に組織ブロックを採取し標本を作製し、組織学的に観察した。骨欠損内部に再生された骨組織が観察され、rh-BMP-2 量が大きくなるに連れて骨面積率は大きくなった。

研究成果の概要（英文）：

Optimum dose of rh-BMP-2 in gelatin complex was clarified using the bone deficit model of the rabbit parietal bone. The complex was transplanted to the bone deficit model of a hybrid dog. After the observation period, the organization block was extracted, and the specimen was produced and was observed histologically. The bone tissue reproduced inside the bone deficit was observed. When rh-BMP-2 quantity became large, the rate of bone area became large.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴系歯学

キーワード：歯科補綴学一般

1. 研究開始当初の背景

歯科インプラント治療は、優れた機能性と審美性の回復が可能なることから臨床での応用が加速している。インプラントの成功には、インプラントが顎骨内の三次元的に理想的な位置に埋入される必要があるが、実際の臨床では骨量が垂直的にも水平的にも不足している場合が多く、インプラント周囲に骨増生を必要とする症例が極めて多い。このための骨増生はもっぱら自家骨移植が用いられ

るが、骨採取の外科的侵襲や供給量の問題から限界がある。先進国では牛骨由来脱灰乾燥骨（Bio Oss®）が標準的に用いられているが、我が国では薬事が未承認であるため使用できない。それゆえ、安全で安心して用いられるインプラントの新しい骨増生法が強く望まれている。

近年、成長因子や薬物の必要量を持続的に局所に供給できるドラッグデリバリーシステム（以下 DDS）の骨増生への応用が進み、

安全・確実で外科的侵襲の少ない方法として注目されている。申請者は bFGF とゼラチンゲルを組み合わせた DDS による新しいインプラント用骨増生法に成功し、それを報告した (Hayashi et al., Dent Mater J, 2007)。しかしながら、bFGF は骨芽細胞の分化を抑制することから確実性の点で十分とはいえず、より強い骨増生能をもつ新しい材料が望まれる。そこで、強い骨誘導能を持つ recombinant human bone morphogenetic protein 2 (rh-BMP-2) に着目した。しかし、rh-BMP-2 は生体内で短時間で分解されることから骨形成を得るには大量に投与する必要があり、費用が高額となる。これらの問題は局所に作用を発現することのできる DDS を用いることで解決できる可能性がある。しかし、rh-BMP-2 をインプラント周囲で徐放させる骨増生法を検討した研究はまったくない。

申請者は、生体内で緩やかな分解に伴って物質を徐放できるインテリジェントゼラチンゲルに BMP-2 を含有させた新しい DDS システムを開発することで、必要な BMP-2 量を骨増生に必要な部位に必要な期間だけ確実に作用させることができるのではないかと着想した。

2. 研究の目的

ゼラチンと rh-BMP2 を組み合わせた DDS 法を用いて、安全で安心して用いることのできるインプラントの新しい骨増生法を開発する。

3. 研究の方法

研究 1 : 異なる rh-BMP-2 量を持つ rh-BMP-2・ゼラチン複合体を填入、その骨再生の状態を観察し、rh-BMP-2 の至適量を決定する。

実験動物 :

ニュージーランドホワイトラビット 6 頭

実験材料 :

ゼラチンゲル : 含水率 95% 等電点 (IEP) 5.0 (新田ゼラチン社製)

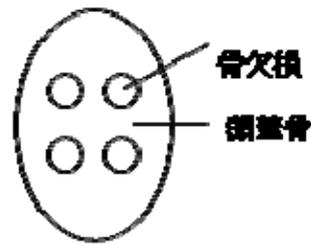
rh-BMP : ヒトリコンビナント BMP2 IEP 8.5 (フナコシ社製)

rh-BMP-2 (0、2、4、8 μ g) を生理食塩水に溶解した後、それぞれをゼラチンゲル (縦 3 mm、横 3 mm、厚さ 2 mm) に含有させ rh-BMP-2・ゼラチン複合体を製作する。



製作する rh-BMP-2・ゼラチン複合体

動物の頭蓋骨に直径 3 mm、深さ 3 mm の骨欠損を 5 mm 間隔で 4 個形成し、各複合体を填入する。この際、各動物で複合体の埋入位置が同じにならないようランダム配置にする。



骨欠損上方面観の模式図

3 週間後、動物を屠殺、骨組織ブロックを採取する。脱灰薄切標本を作製し、H-E 染色を施して組織学的に観察するとともに、組織形態計測 (増生骨面積率) を行い、皮質骨欠損内における新生骨の割合を算出する。これらのことより、各複合体の骨再生能を検討し、最適な BMP-2 量を決定する。

研究 2 : 研究 1 で明らかにした rh-BMP-2 の至適量を含有したゼラチン・rh-BMP-2 複合体をインプラント埋入時のスクリー露出を想定した骨欠損に同材料を填入してインプラント周囲の骨増生を組織学的、組織形態計測学的に観察する。

実験動物 :

ハイブリッド犬 (ビーグル・レトリバー) 4 頭

実験材料 :

ゼラチンゲル : 含水率 95% 等電点 (IEP) 5.0 (新田ゼラチン社製)

rh-BMP : ヒトリコンビナント BMP2 IEP 8.5 (フナコシ社製)

インプラント : 陽極酸化処理インプラント (Brånemark® MkIII TiU, 直径 : 3.3 mm, 長さ : 10 mm, ノーベルバイオケアジャパン, 東京)

動物の下顎両側小臼歯および第一大臼歯を抜歯し 3 カ月の治癒期間を設けて無歯顎部を準備する。



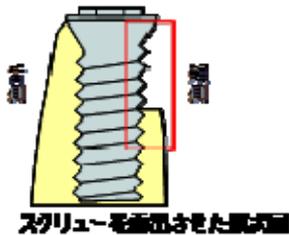
研究 1 で得られた rh-BMP-2 の至適量とその前後の量を含有した複合体を準備する。左側無歯顎部に縦 5 mm、横 3 mm の骨欠損を 3 カ所形成し、頬側にスクリーが 4 本露出するようインプラントを埋入する。



準備していた各複合体でスクリーを被覆する。左側の埋入から4週後、右側にも同様の埋入を行う。



左側の埋入から8週後に動物を屠殺し、インプラントを含む骨組織ブロックを採取する。超薄切非脱灰研磨標本を作製、組織学的に観察する。さらに、組織形態計測学的観察（増生骨面積率）も行い、rh-BMP-2・ゼラチン複合体のインプラント周囲の骨増生能を客観的に評価する。



スクリューを被覆させた脱灰骨

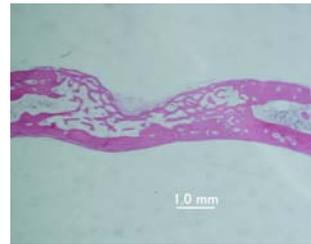


再生骨の骨増生

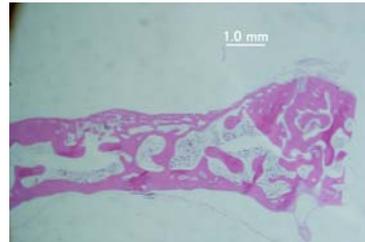
以上の研究を総括して BMP-2・ゼラチン複合体を用いた新しいインプラント用骨増生法を確立する。

4. 研究成果

研究1：動物より採取した組織ブロックより脱灰薄切標本を作製し、H-E染色を施して光学顕微鏡を用いて組織学的に観察するとともに、組織形態計測（増生骨面積率）を行い、皮質骨欠損内における新生骨の割合を算出した。それにより、h-BMP-2・ゼラチン複合体を用いたドラッグデリバリーシステムにおける骨形成に必要な rh-BMP-2 の至適量を明らかにした。



BMP-2 0 μg



BMP-2 8 μg

研究2：作製した超薄切非脱灰研磨標本の組織学的観察では移植したゼラチン・rh-BMP-2複合体およびインプラント周囲に明らかな炎症症状は認められず、骨欠損内部に再生された骨組織が観察された。組織形態計測学的観察では rh-BMP-2 量が大きくなるに連れて増生骨面積率は大きくなった。

以上の結果から、顎骨に応用する rh-BMP-2 の至適量を持つ rh-BMP-2・ゼラチン複合体は生体親和性があり、これを用いることにより安全で確実な新しいインプラント用骨増生法が確立出来たと考えられる。

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0件）

〔学会発表〕（計3件）

1. H. Oue, K. Doi, T. Kubo, K. Koretake, K. Hayashi, S. Kajihara, K. Imura and Y. Akagawa, Development of implant/interconnected porous calcium hydroxyapatite complex, 4th Hiroshima Conference on Education and Science in Dentistry, October 9-10, 2011, Hiroshima
2. Oue, H., Doi, K., Kubo, T., Koretake, K., Hayashi, K., Kajihara, S., Imura, K., Akagawa, Y., Development of Implant/Interconnected Porous Calcium Hydroxyapatite Complex, 14th Meeting of the International College of

Prosthodontists, September 8-12, 2011,
Hawaii, USA

3. 林 和彦, 日浅 恭, 阿部泰彦, 久保隆
靖, 赤川安正, インターナルジョイント型イ
ンプラントを用いた臨床予後, 第 30 回日本
口腔インプラント学会中国・四国支部総会学
術大会, 2010 年 11 月 14 日, 松江市

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 和彦 (HAYASHI KAZUHIKO)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・助
教

研究者番号 : 90444687

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :