

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23300163

研究課題名(和文) 適応的リモデリングの制御による生体組織の再建

研究課題名(英文) Tissue Reconstruction Based on Adaptive Remodeling

研究代表者

高久田 和夫 (Takakuda, Kazuo)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号：70108223

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,100,000円、(間接経費) 3,330,000円

研究成果の概要(和文)：加齢にともなう支持組織の変性疾患の増加に対処するために、これら支持組織の再建，特に(1)軟組織と接合する人工歯根，(2)骨表面での骨増生技術，(3)支持組織を栄養する血管の吻合デバイスを研究した。そして以下の結果を得た。(1)人工歯根表面にメッシュ状構造を付与することで治癒に伴って生じるコラーゲン線維が自発的にアンカリングし強固な結合が実現された。(2)骨膜下に増殖のための空間を作りアパタイトコラーゲンを適用する方法による骨の増生促進効果が見出された。(3)1mm程度の細い栄養血管であっても適切な構造のデバイスを適用することで自己治癒的な血管吻合が可能であることが示された。

研究成果の概要(英文)：Number of patients suffering degenerative disorder of connective tissues is increasing as the aging of populations. For the treatment of such disorders, regenerative medicines of connective tissues were investigated in this project. They were (1) dental implant connecting to surrounding soft tissues (mimics of Sharpey fibers), (2) bone generation on the surface of bone tissue (artificially induced periosteal bone growth), and (3) anastomosing devices for small feeding vessels (technology for autogenous bone grafting). Achievement for respective theme are; (1) autologous anchorage of collagen fibers onto the mesh structures placed on the surface of implants were confirmed and firm fixation of soft tissues were realized, (2) bone generation in the artificially created space under the periosteum was realized with the combined usages of hydroxiapatite/collagen nano-composites, and (3) the miniature devices developed successfully anastomose vessels as small as 1 mm diameter.

研究分野：1301

科研費の分科・細目：A

キーワード：バイオメカニクス 人工臓器工学 生体物性

1. 研究開始当初の背景

医療への社会的な要請の高まりにより、組織再生の研究に期待が高まっている。中でも超高齢社会となった我が国では、加齢にともなう支持組織の変性疾患が増加していることから、これら支持組織の再建が重要となってきた。しかし、これまでの研究では、支持組織の再建については良好な研究成果が得られていない。支持組織は生体内において力学的な機能を担っていることから、力学的環境に自発的に適応するリモデリング機能を有している。したがって、これまでの組織工学の研究対象であった細胞、スcaffoldsそしてサイトカインのみを研究したのでは、十分な強度を有する支持組織を再建する技術を開発するには不十分であり、生体力学的な知見を総合する必要がある。

これに対して適応的リモデリングなどの生体反応を適切に制御し、生体材料によるデバイスに組み合わせれば、生体支持組織の再建を行える可能性がある。このような研究背景のもとで、本申請では生体力学的な因子を総合したデバイス設計の基礎概念を確立することを目指して研究を開始した。

2. 研究の目的

高齢化にともない、歯牙と骨の疾患に対する社会的なニーズは極めて高い。そこで、本申請ではこれらのうちで次の3つについて重点的に研究する。

(1) 軟組織と接合する人工歯根。

まず歯牙であるが、臨床応用されている人工歯根は骨に固着するものの軟組織とは接合しない。これがインプラント周囲炎の原因となってインプラント治療の失敗につながっている。そこで軟組織に接合する人工歯根を開発する。経皮的な埋植実験を行い、表皮の伸縮による応力の作用によるコラーゲン線維の成熟を評価し、軟組織接合能の有効性を実証する。

(2) 骨表面での骨増生技術。

次に骨であるが、運動などの力学的刺激により骨表面で骨細胞が増生し骨が太くなるなどの現象は良く知られているものの、必要な箇所に必要なだけの骨を作るような方法はまだない。そこで骨膜反応と生体材料を組み合わせることで骨表面における骨増生を可能とする技術の可能性を示す。

(3) 組織を栄養する血管の吻合デバイス。

骨大欠損の治療のための生体骨移植では栄養血管の血管柄つきで自家骨の移植が必要になる。このような手術では細い血管の吻合を行うが、マイクロサージェリーの技術が必要となり難易度が高い。そこで組織の自己治癒機能を応用して顕微鏡下での縫合なしで吻合を行うことのできるデバイスの基礎概念を確立する。

3. 研究の方法

(1) 軟組織と接合する人工歯根。

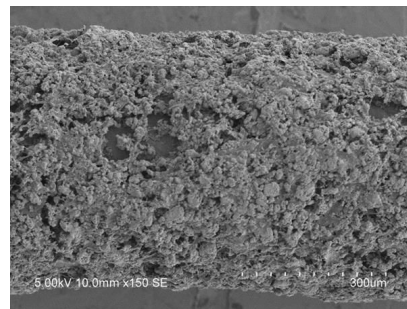


チタンを素材として上図に示すような試験片を作製した。図の左は対照群試料であり、側試料の側面は平滑となっている。一方、図の右に示すものは実験群試料であって、側面に周を一周する溝を掘り、更にその上をチタンのメッシュで覆ったものである。直径は6mm、高さは下部構造が3mmで上部構造が2mm、メッシュの開き目は0.2mmである。

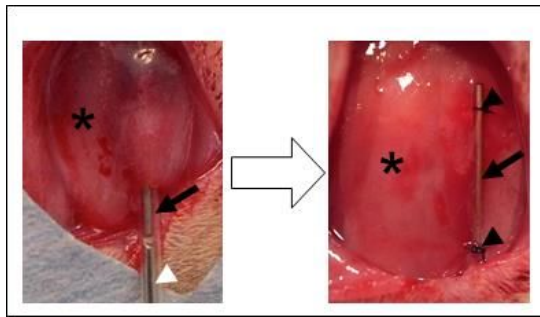


動物実験を行って、周囲軟組織と試料の間の接合状況について調べた。実験動物には15週齢のSD系ラットを用い、移植部位は頭蓋骨上に皮膚を貫通するように設置した。まず下部構造を埋植して3週間おき、その後上部構造を上図のように皮膚を貫通させて設置させて装着させた。その後2週間において周囲軟組織とともに試料を摘出し、結合強度試験および組織形態学的な観察を行った。

(2) 骨表面での骨増生技術。

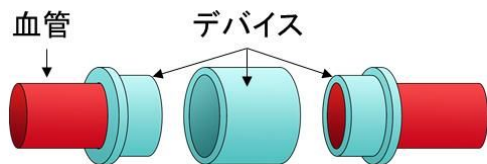


移植材料としては、直径0.5mm、長さ12mmのチタンロッドを用いた。表面処理としては、処理なしでチタンのままのもの、アパタイトコーティングのもの、そしてアパタイトコラーゲンをディッピング処理によりコーティングしたものの3種類を実験した。上図にアパタイトコーティングされたチタンロッドのSEM写真を示す。これらの試料について動物実験を行った。

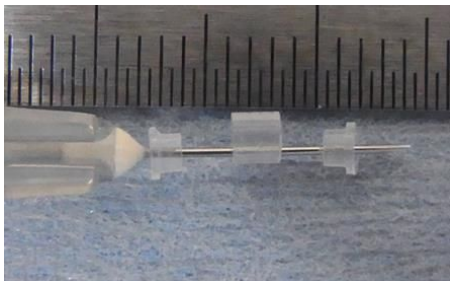


実験動物は 12 週齢の SD 系ラットとして上図に示すように頭蓋骨の骨膜を剥離してポケットを形成し，ポケット内に設置した．そして 4 週後に試料を頭蓋骨とともに採取して接合強度試験および組織形態学的観察を行った．

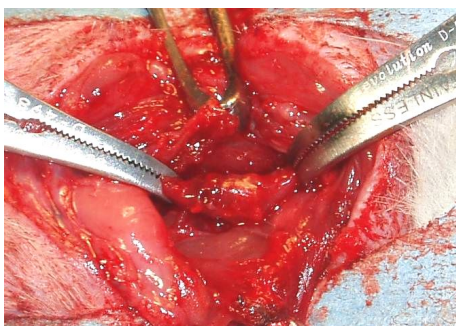
(3) 組織を栄養する血管の吻合デバイス．



吻合方法のコンセプトを上図に示す．血管の断端を上図左右のようなキャップに挿入し，更にこのキャップを上図中央の外套に挿入することにより吻合を実現する．



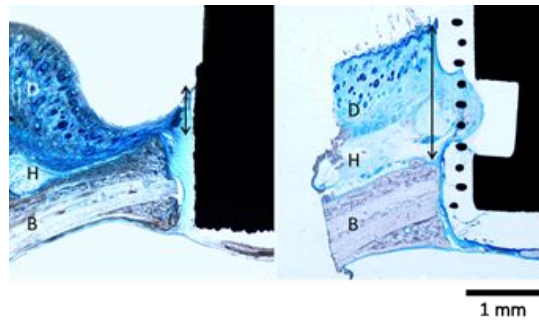
ポリメチルメタクリレートを材料として血管吻合デバイスを試作した．外径 2.3mm，内径 1.2mm であり，長さは外套が 2mm，キャップが 1.3mm である．



動物実験では 12 週齢の SD 系ラットを用いた．総頸動脈を離断し，直ちに試作したデバイスを用いて吻合を行った．そして 2 週後に血管の拍動の有無を目視で確認したのちに採材し組織学的評価を行った．

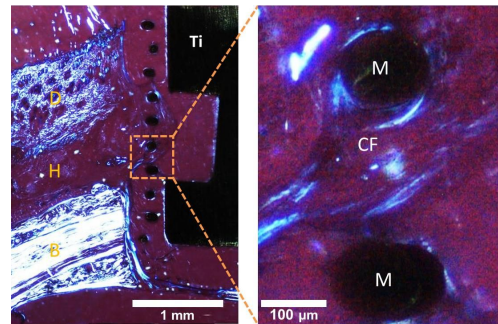
4．研究成果

(1) 軟組織と接合する人工歯根．

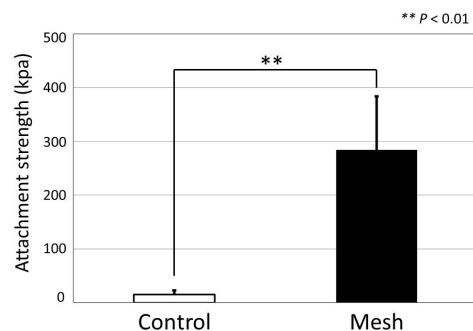


採取試料のトルイジンブルー染色組織標本像を上図に示す．図の左は平滑な表面の対照群，右がメッシュを設けた実験群である．黒い部分がチタン金属，B が頭蓋骨，そして D が皮膚組織で H が皮下組織となっている．またメッシュはこの断面では黒い丸の並びで観察されている

対照群では皮膚が材料に対して沈下していく顕著なダウングロースが観察された．これに対して実験群ではダウングロースは観察されなかった．また実験群では全ての試料で，メッシュとチタン試験片本体との間に設けた幅 1 mm，深さ 0.5 mm の間に，結合組織が侵入していた．



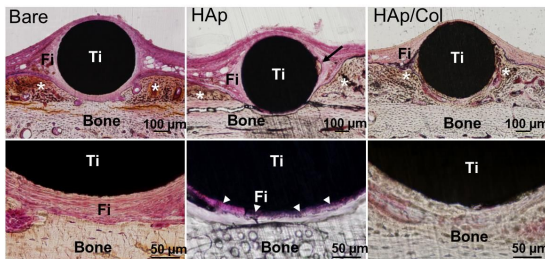
コラーゲン線維を観察するために偏光による観察を行った結果を上図に示す．この観察ではコラーゲン線維が明るく光って見えるが，図に示すようにチタン製メッシュを貫通して，メッシュ内側の間に侵入するコラーゲン線維が確認された．



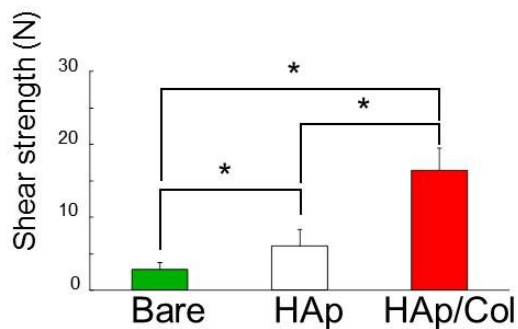
上図は接合強度の評価結果である．メッシュを設けた実験群(黒色)は平滑な対照群(白色)に比べて遥かに大きな結合力を示した．このようにコラーゲン線維がアンカリン

グすることの出来る構造を設ければ、自己治癒反応により線維が形成され、更に皮膚内に作用する引張応力によりコラーゲン線維が配向して強固な結合を自発的に形成することが分かった。

(2) 骨表面での骨増生技術.



頭蓋骨表面における骨形成状況を上図に示す。黒い部分がチタン、図の下側が骨組織である。チタンロッドにより骨膜が持ち上げられた結果として生じる空間に周囲組織から細胞が遊走して組織が再生するが、このときコーティングによって異なる再生像が観察された。すなわち左のチタン表面では材料は厚い線維性組織で被覆されカプセル化されたのに対し、中央のアパタイトコーティング表面では薄くはなったもののやはり線維性組織でカプセル化された。これに対して右のアパタイトコラーゲンコーティング表面では、材料は骨に直接的に接し周囲には顕著な骨の増生が観察された。

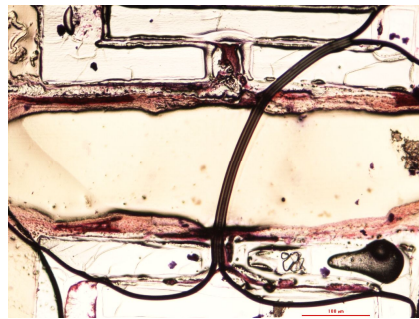


チタンロッドと頭蓋骨の接合強度を測定した結果を上図に示す。骨形成状況と対応してチタン、アパタイトコーティング、アパタイトコラーゲンコーティングの順に強度が増加していた。

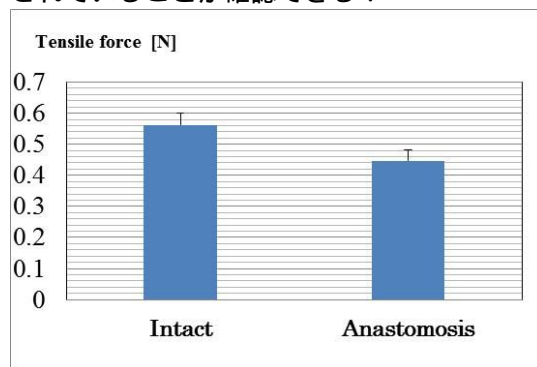
オープンスペースの存在により自己治癒機能が発動され組織が増生するが、このとき材料表面での炎症性細胞の出現により再生組織の分化が影響を受けてこのような差異が生じるものと考えられる。

(3) 組織を栄養する血管の吻合デバイス.

完全ではないもののラット頸動脈のように直径1mm程度の細い血管の吻合が可能になった。



上図に吻合の成功例の組織像を示す。中央部が血管の内腔、透明な部分がポリメチルメタクリレート製の吻合デバイスである。材料の間隙を内膜が覆って、血管断端がブリッジされていることが確認できる。



吻合部の引張り強度試験結果を上図に示す。左側の正常血管の強度と比較して右側の吻合部の強度は有意差がなく同等であり、十分な吻合強度が達成されていることが確認された。

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 5 件)

Nagaoka Y, Yamada H, Kimura T, Kishida A, Fujisato T, Takakuda K. Reconstruction of small diameter arteries using decellularized vascular scaffolds. J Med Dent Sci. 査読有, 2014;61(1):33-40. http://lib.tmd.ac.jp/jmd/6101/05_Nagaoka.pdf

Mita A, Yagihara A, Wang W, Takakuda K. Development of oral and extra-oral endosseous craniofacial implants by using a mesh structure for connective tissue attachment. J Med Dent Sci. 査読有, 2014;61(1):23-31. http://lib.tmd.ac.jp/jmd/6101/04_Mita.pdf
 Rodotheou P, Wang W, Itoh S, Okazaki M, Takakuda K. Laser-Perforated Porous Nonwoven Chitosan Nerve Conduit. Journal of Biomechanical Science and Engineering. 査読有, 2013; 8(2): 139-151. DOI: 10.1299/jbse.8.139

Uezono M, Takakuda K, Kikuchi M, Suzuki S, Moriyama K. Hydroxyapatite/collagen nanocomposite-coated titanium rod for achieving rapid osseointegration onto bone surface. J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater. 査読有, 2013 Aug;101(6):1031-1038. DOI: 10.1002/jbm.b.32913
Asoda S, Arita T, Takakuda K. Mechanical attachment of soft tissue to dental and maxillofacial implants with mesh structures: an experiment in percutaneous model. J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater. 査読有, 2013 May;101(4):553-559. DOI: 10.1002/jbm.b.32855

〔学会発表〕(計 6 件)

高久田和夫. 人工歯根への軟組織付着の試み. 第 21 回顎顔面バイオメカニクス学会. 2013 年 11 月 17 日. 東京
Wang W, Itoh S, Takakuda K. Decellularized Nerve for Peripheral Nerve Repairing. TERMS-AP 2013 Annual Conference. 25 Oct 2013. Shanghai.
Uezono M, Takakuda K, Suzuki S, Moriyama K. Optimum Thickness of Hydroxyapatite/Collagen Nano Composite Coating for Subperiosteal Devices. The 7th International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics. 21 Jun 2013. Yokohama.
Uezono M, Takakuda K, Suzuki S, Moriyama K. The Coating for Enhanced Osseointegration of Subperiosteal Anchorage Device. The 6th International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics. 28 Jun 2012. Yokohama.
三田敦, 八木原淳史, 王魏, 高久田和夫. メッシュ構造による結合組織性付着を可能にしたデンタルインプラントの開発. 日本機械学会第 24 回バイオエンジニアリング講演会. 2012 年 1 月 8 日. 大阪.
Uezono M, Takakuda K, Suzuki S, Moriyama K. Bone Forming Capability Around Novel Subperiosteal Anchorage Device for Orthodontic Treatment. The 5th International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics. 24 Jun 2011. Yokohama.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 2 件)

名称: 歯科用アバットメント及び製造方法
発明者: 松本貴志、高久田和夫

権利者: 同上
種類: 特許
番号: 特許願 2014-121477 号
出願年月日: 26 年 6 月 12 日
国内外の別: 国内

名称: HAp/CoI 複合体によって被膜された生体材料
発明者: 高久田和夫、森山啓司、菊池正紀
権利者: 同上
種類: 特許
番号: 特許願 2012-096056 号
出願年月日: 24 年 4 月 19 日
国内外の別: 国内

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.tmd.ac.jp/dtic/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高久田 和夫 (TAKAKUDA, Kazuo)
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授
研究者番号: 70108223

(2) 研究分担者

王魏 (WANG, Wei)
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・助教
研究者番号: 60451944

(3) 連携研究者

()
研究者番号: