

## 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25年3月31日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890196

研究課題名（和文） アパタイトコートヒアルロン酸の骨誘導能について

研究課題名（英文） Apatite-coated hyaluronan for bone regeneration

研究代表者 田中 謙光（Tanaka Kenko）

東北大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：00610049

研究成果の概要（和文）：アパタイトコートヒアルロン酸（ACH）の骨誘導能について、アテロコラーゲン（AS）と *in vitro* および *in vivo* において比較検討した。その結果 *in vitro* でALP活性、骨関連遺伝子の発現の増加が認められた。また *in vivo* でもACH群は他群より高い新生骨形成を示し、osteopontin免疫染色にて新生骨周囲に骨芽細胞が確認された。本材料は高い新生骨形成能を持つ事が示唆された。

研究成果の概要（英文）：ALP activity and the expression of bone-related molecules increased on ACH. At 3 weeks, ACH showed bone formation the most, and were observed newly bone surrounding osteopontin immunostained osteoblasts. ACH promoted greater differentiation of osteoblast-like cells compared to AS *in vitro*, and showed an excellent newly bone formation *in vivo*.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野：再生医学

科研費の分科・細目：歯科医用工学、再生歯学

キーワード：ヒアルロン酸、アパタイト、骨芽細胞、骨造成

## 1. 研究開始当初の背景

顎顔面領域において、腫瘍切除後や口唇口蓋裂の骨欠損、インプラント前の骨造成には、自家骨移植が広く行われてきた。近年、自家骨移植に代わる方法として、種々の骨補填剤が応用されている。現在、骨補填材に用いられる材料として挙げられるのは、同種骨、他

家骨、人工合成骨であり、同種骨、他家骨は病原性、抗原性に対する安全性について問題がある。人工合成骨は骨誘導能、骨置換期間の点で他の材料と比較して劣るという報告がなされている。そこで、申請者が注目したのがヒアルロン酸である。ヒアルロン酸は潤滑性や生物学的親和性に優れており関節軟

骨の保護や治癒にも臨床使用されている素材である。ヒアルロン酸は組織工学や再生医療のスキヤホールドとして注目おり、ヒアルロン酸の骨形成能についての研究も良好な成績が報告されている<sup>1), 2)</sup>。しかしながら、ヒアルロン酸はゲル状であるために操作性、整形性が悪いために、ヒアルロン酸を凍結乾燥することで固体化し、操作性、整形性を改良した。

また、我々は新たにバイオミメティック法を用いてヒアルロン酸表面にアパタイトをコートする方法を開発した。バイオミメティック法とは、ヒトの血漿とほぼ等しい無機イオン濃度を持った擬似体液中で材料表面にアパタイトを析出させる手法である。このようにしてできた**アパタイトコーティングヒアルロン酸(ACH)**は、有機高分子ヒアルロン酸と水酸アパタイト粒子を複合化し、骨と結合する生体活性と骨に近い機械的特性を併せ持った新素材として期待された。そこで、申請者は、ACHを従来より使われているアテロコラーゲン製材(AS)と比較し、検討を行ってきた。現在までの申請者の研究において、ASと比較し、骨芽細胞様細胞の増殖が促進された事が示唆された。ASと比較し、ACH上にて、ALP酵素活性、骨関連遺伝子マーカー発現の増強が認められた事により、骨芽細胞様細胞の分化が促進された事が示唆された。また、ラット頭蓋骨埋入後3週におけるACH群の新生骨は、AS、Sham群間と比較し、新生骨量の増加が認められた事により新生骨形成能が促進された事が示唆された。

## 2. 研究の目的

ヒアルロン酸は優れた保湿効果のみならず骨形成促進能もあることが最近明らかになったが、通常はゲル状のためそのまま使うのは困難であった。ヒアルロン酸は凍結乾燥により固相化することができるが、我々はさら

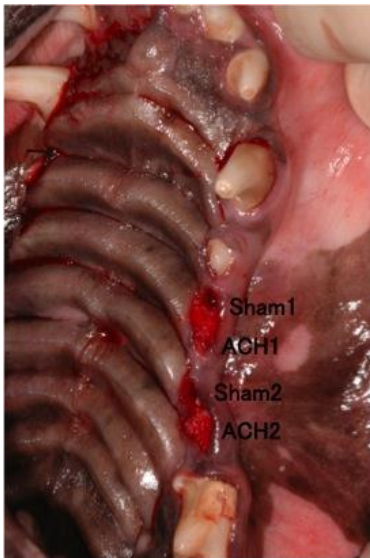
に骨親和性の向上と形状の保持のために固相化したヒアルロン酸の周囲にアパタイトを析出する技術を開発した。さらに、この我々が開発した『アパタイトコートヒアルロン酸』は優れた骨誘導能を持つ骨補填材であることを今まで培養骨芽細胞やラット骨欠損モデルを使って証明してきた。そこで本研究ではアパタイトコートヒアルロン酸が歯科診療に応用できるかどうか調べるために、主に犬を使って歯科臨床と同じように、抜歯窩、歯槽骨、顎骨骨欠損の3つのモデルでその骨補填材としての効果を検証することを目的とする

## 3. 研究の方法

本研究はビーグル犬を用い、抜歯窩、骨欠損、歯周組織骨欠損の3つのモデルについてsham群、AS群、ACH群をマイクロフォーカスX線CTと組織標本で評価する。

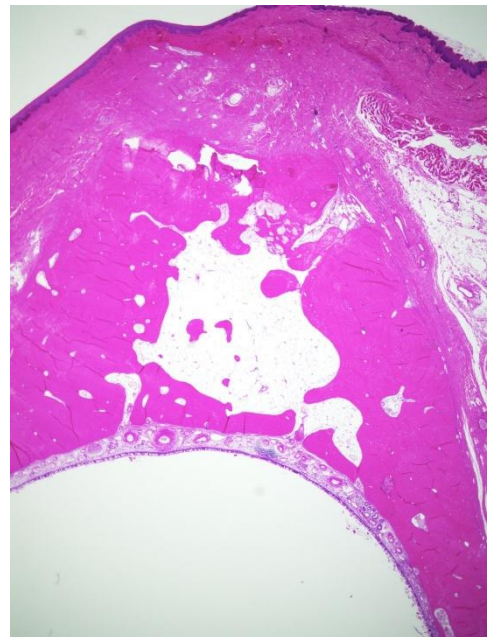
平成23年度は、まず最初に抜歯窩モデルを用いて評価を行い、平成24年度にかけて骨欠損モデルおよび歯周組織骨欠損モデルと、順に実験を行っていく。これらの結果を元にして、ACHが歯科臨床の補填剤として用いられるために改善を行っていく。



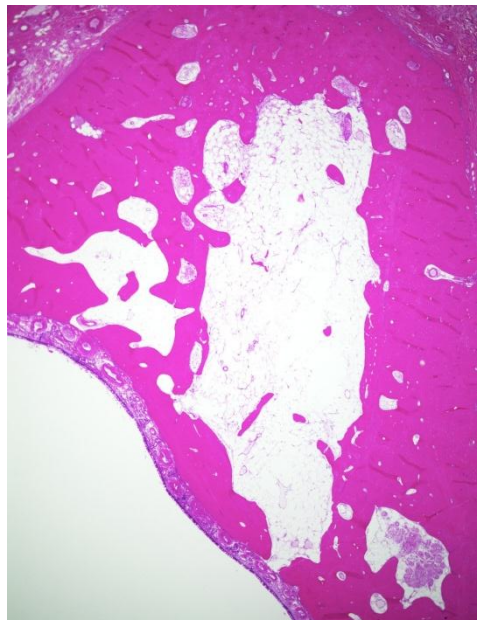


#### 4. 研究成果

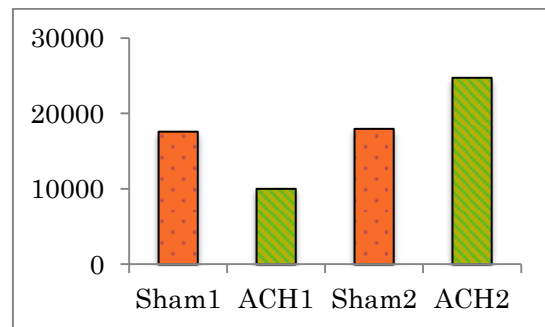
$\mu$  CT、HE染色にて骨形成状態の評価を行い、新生骨の誘導を証明することができた。しかしながら、優位差が認められず、今後の検討課題としてあげられた。今回のアパタイトコートヒアルロン酸の抜歯窩の新生骨の検討を行ったため、窩洞に対する新生骨の定量化が不明であり、今後は 実験の規格化を行えるように、歯槽骨、顎骨骨欠損のモデルでその骨補填材としての効果を検証することを目的とし、骨欠損部分を調整し、効率的な新生骨の定量化獲得に向けた要件を検討する。より臨床的意義の持つ研究に位置づけていく予定である。本研究が臨床的に注目される内容であることが示唆された。



ACH群



Control群



$\mu$  CT における骨形成面積

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1件)

1. Yamauchi K, Takahashi T, Tanaka K, Nogami S, Kaneuji T, Kanetaka H, Miyazaki T, Lethaus B, Kessler P. Self-activated mesh device using shape memory alloy for periosteal expansion osteogenesis. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2013. doi: 10.1002/jbm.b.32876. 査読あり

[学会発表] (計7件)

1. 平山聞一、田中謙光、武田裕利、後藤哲哉、宮本郁也、小林 繁、西原達次：グロー放電処理と紫外線照射処理とのチタン表面への初期細胞接着への影響の比較。第72回九州歯科学会総会。2012年5月19日、北九州
2. 野上晋之介、吉賀大午、山本哲彰、山内健介、金氏 毅、田中謙光、宮本郁也、高橋 哲：粘膜組織欠損部修復におけるポリグリコールさんフェルトおよびフィブリン糊スプレー併用法の有用性について。第72回九州歯科学会総会。2012年5月19日、北九州
3. 高橋 哲、田中謙光：生体活性型ヒアルロン酸-アパタイトハイブリッドによる骨誘導能をもつ注入型骨補填材の開発。第72回九州歯科学会総会。2012年5月19日、北九州
4. 桜井拓真、吉賀大午、田中謙光、石川文隆、宮本郁也、山本哲彰、野上晋之介、金氏 毅、高橋 哲：上顎洞および鼻腔に解放した巨大な濾胞性歯嚢胞の1例。第72回九州歯科学会総会。2012年5月19日、北九州
5. 田中謙光、宮本郁也、野上晋之介、金氏

毅、山本哲彰、山内健介、山下善弘、高橋 哲：グロー放電処理と紫外線照射を行ったチタン表面への骨芽細胞の初期接着について 第56回日本口腔外科学会 2011.10.22 大阪

6. 田中謙光、後藤哲哉、宮崎敏樹、宮本郁也、高橋 哲：グロー放電処理を行ったチタン表面への初期細胞接着：紫外線照射を行ったチタン表面との比較 第41回日本口腔インプラント学会 2011.09.18 名古屋
7. 平山 聞一、田中 謙光、森 竜文、田島 伸也、高橋 哲：当科におけるインプラント脱落、除去症例の検討 第29回 日本口腔インプラント学会 九州支部学術大会 2012.01.25 宮崎

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○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

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田中 謙光 (Kenko Tanaka)

東北大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：00610049

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：