

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：31602

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390435

研究課題名(和文) バイオプロセッシングを用いる機能性インテリジェント複合インプラントの新開発

研究課題名(英文) Development of implant/interconnected porous hydroxyapatite complex with adsorbed bFGF and poly-phosphate

研究代表者

赤川 安正 (Akagawa, Yasumasa)

奥羽大学・歯学部・教授

研究者番号：00127599

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：骨形成およびインプラント支持を達成する新規生体材料の開発を目指した。in vitroにおいてbFGFおよびポリリン酸の骨形成促進効果を検討した。またこの担体へインプラントを組み入れた複合インプラントの骨形成およびインプラント支持能を検討した。bFGFおよびポリリン酸を併用することで骨芽細胞の分化誘導を顕著に促進した。また、複合インプラントは良好な骨形成およびインプラント支持を獲得していた。これらより、骨形成を促進しインプラント支持も同時に達成する新規生体材料の開発に有益な知見を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：We designed novel complex biomaterial to simultaneously restore bone and place implant. This complex was incorporated implant into interconnected porous calcium hydroxyapatite (IP-CHA) with adsorbed bFGF and polyphosphate. We then tested this complex and evaluated its effect on subsequent boneregeneration and implant stability. The results indicate that placed complex could achieve osteoconduction of newly formed bone and osseointegration at the implant interface. We concluded that the Implant/IP-CHA complex could be expected to achieve bone reconstruction and implant stability.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：複合体 ポリリン酸 bFGF 連通多孔性ハイドロキシアパタイト

1. 研究開始当初の背景

顎堤の吸収が進んだ無歯顎堤や大規模な骨欠損などでは、人工骨による骨増生を行った後、インプラント埋入などが必要となるが、この場合、確実な骨再生およびインプラント支持は困難となる。そこで、埋入部の骨再生とインプラントのオッセオインテグレーションを同時に達成できるまったく新しいコンセプトの『機能性インテリジェント複合インプラント』を着想した。この革新的なインプラントの開発を実現するため、まず連通多孔性アパタイト(IP-CHA)にインプラント体を組み入れた複合体を着想した(図1)。

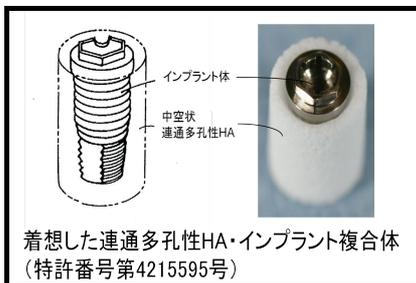


図1 ; 連通多孔性 HA・インプラント複合体

しかしながら担体として用いる IP-CHA は骨伝導や生体親和性にすぐれるものの、それ自体に骨形成促進効果は有していない。成長因子で骨芽細胞を増殖させる basic fibroblast growth factor (bFGF) を、骨再生能を向上させるポリリン酸とともにバイオプロセッシングして表面に重層結合させた IP-CHA を作製、これに陽極酸化インプラント体を複合化させることで、bFGF とポリリン酸の相互作用により卓越した骨再生促進能を持つ『機能性インテリジェント複合インプラント』を創製できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

bFGF とポリリン酸を重層結合させることで迅速・確実な骨再生能を持たせた連通多孔性アパタイトに陽極酸化チタンインプラント体を組み入れる bFGF・アパタイト・インプラント複合体を製作

し、次いで、その骨再生能、オッセオインテグレーションの様相ならびにインプラント支持能を検証する。これらの結果を総括して、骨再生とインプラント機能を同時に、迅速に、確実に達成できる「機能性インテリジェント複合インプラントの開発」を目指す。

3. 研究の方法

1) *in vitro* における骨分化促進能

マウス骨芽細胞様細胞を用いて、bFGFおよびポリリン酸による骨分化誘導作用の検討を行った。bFGFと各鎖長ポリリン酸を添加した培養液中でMC3T3-E1細胞の培養実験を行い、細胞増殖および骨分化誘導を評価した。培養条件を

bFGF

bFGF+poly(P-15)

bFGF+poly(P-65)

bFGF+poly(P-130) とした。

これらの培養条件にて MC3T3-E1 細胞を播種し、骨分化誘導促進についての検討を行った。

2) *in vivo* における骨再生促進能

bFGFおよびポリリン酸を吸着させた人工骨による骨形成促進作用の検討を行った。人工骨の条件を

bFGF +IP-CHA

bFGF+poly(P-15) +IP-CHA

bFGF+poly(P-65) +IP-CHA

bFGF+poly(P-130) +IP-CHA とした。

これらをニュージーランドホワイトラビットの大腿骨に埋入した。埋入から4週後、組織ブロックを採取、評価法として組織学的観察および組織形態計測学的評価法として骨再生骨面積を測定した。

3) 複合インプラントによる骨再生およびインプラント支持能

IP-CHAにインプラントを組み入れた複合イ

ンプラントを製作しビーグル・ラブラドル犬の大腿骨へ 複合インプラント, およびインプラントのみ, を埋入し 2, 3 および 6 カ月において評価した. 評価法として組織学的観察および組織形態計測学的評価法として骨・インプラント接触率の測定を行った. インプラント支持能の評価としては共振周波振動測定によるインプラント安定係数 (ISQ) を算定した.

4. 研究成果

bFGF とポリリン酸の相互作用試験では 鎖長 65 のポリリン酸を bFGF と併用することで MC3T3 E1 細胞の骨分化誘導を促進していた (図 2).

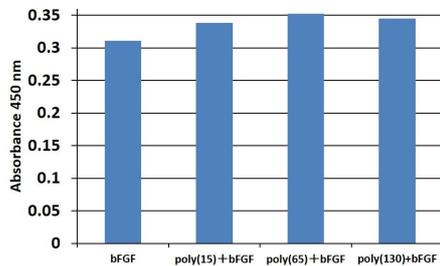


図 2 ; オステオカルシン活性発現測定

bFGF・ポリリン (鎖長 65) を吸着させた人工骨は他の条件群に対して内部への骨形成を促進していた (図 3). また骨再生面積も有意に高かった (図 4).

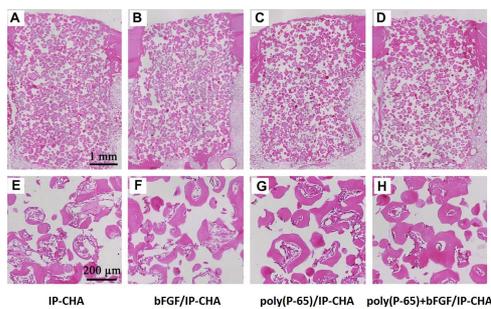


図 3 ; ラビット大腿骨組織像

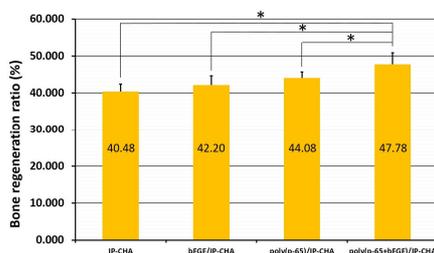
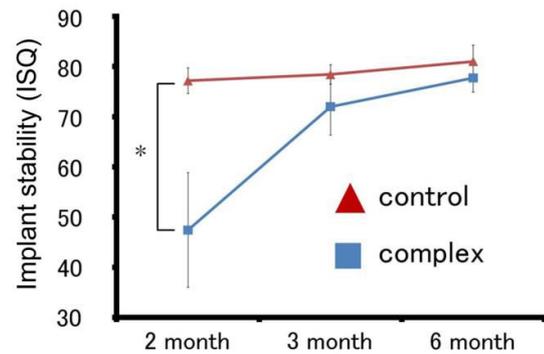


図 4 ; 骨面積率

複合インプラントは, 埋入 3 および 6 カ月においてオッセオインテグレーションが観察された. また, 埋入 2 カ月では ISQ 値はコントロールに対して有意に低かったものの, 3 および 6 カ月において有意差はみとめられず良好にインプラントを支持していた.



これらの結果よりポリリン酸と bFGF を併用することにより骨形成が促進されることを *in vitro* および *in vivo* の実験結果より明らかとした. また IP-CHA にインプラントを組み入れた複合インプラントは骨形成およびインプラント支持を獲得しており, 骨欠損部へのインプラント治療に用いる生体材料として有用であることが示唆された.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

1. Influence of implant surface topography on primary stability in a standardized osteoporosis rabbit model study. Oue H, Doi K, Oki Y, Makihara Y, Kubo T, Perrotti V, Piattelli A, Akagawa Y, Tsuga K. J Funct Biomater. (査読有) 18:143-52.2015, doi: 10.3390/jfb6010143.

2. Inorganic polyphosphate adsorbed onto hydroxyapatite for guided bone regeneration: an animal study. Doi K, Kubo T, Takeshita R, Kajihara S, Kato S, Kawazoe Y, Shiba T, Akagawa Y. Dent Mater

J. (査読有) 33:179-186. 2014,
<http://doi.org/10.4012/dmj.2013-275>

3. ポリリン酸吸着人工骨の開発：土井一矢：
日本補綴歯科学会誌，(査読有) 5，
417-419，2013

4. Development of
implant/interconnected porous
hydroxyapatite complex as new concept
graft material. Doi K, Oue H, Morita K,
Kajihara S, Kubo T, Koretake K, Perrotti
V, Iezzi G, Piattelli A, Akagawa Y. PLoS
ONE (査読有), 7:e49051, 2012. doi:
10.1371/journal.pone.0049051.

〔学会発表〕(計 6 件)

1. Kajihara S, Doi K, Kubo T, Oue H,
Makihara Y, Morita K, Kato K, Akagawa Y.
Evaluation of implant stability in
implant/interconnected porous
hydroxyapatite complex, The 23rd
European Association for
Osseointegration, 2014.9.25-27. Rome
(Italy)

2. Doi K, Kubo T, Makihara Y, Oue H, Kato
K, Oki Y, Akagawa Y, Tsuga K, Effect of
intermittent parathyroid hormone
administration on primary stability in
rabbit osteoporosis model. The 9th
Scientific Meeting of the Asian Academy
of Osseointegration, 2014.7.9. Sapporo
(Japan)

3. Makihara Y, Doi K, Kubo T, Oue H,
Kajihara S, Morita K, Akagawa Y, Tsuga
K. Evaluation of implant stability in
novel implant/interconnected porous
calcium hydroxyapatite complex, The 9th

Scientific Meeting of the Asian Academy
of Osseointegration, 2014.7.9. Sapporo
(Japan)

4. Makihara Y, Doi K, Morita K, Kajihara
S, Kubo T, Akagawa Y. Histological and
mechanical evaluation of the implants
placed in the reconstructed bone by
interconnected porous calcium
hydroxyapatite. International college
of Prosthodontists, 2013.9.18-21.
Torino (Italy)

5. 牧原勇介，連通多孔性ハイドロキシアパ
タイトによる骨再建部に対するインプラ
ント埋入：組織学および力学的評価，第 43
回口腔インプラント学会 2013年9月11日，
福岡国際会議場（福岡）

6. 土井一矢，補綴治療の向上に貢献する十
分に検証された既存の技術をハイブリッド
させたバイオマテリアルの創生，第 122 回補
綴歯科学会学術大会，2013年5月18日，福
岡国際会議場（福岡）

6. 研究組織

(1)研究代表者

赤川 安正 (AKAGAWA, Yasumasa)
奥羽大学・歯学部・教授
研究者番号：00127599

(2)研究分担者

久保 隆靖 (KUBO, Takayasu)
広島大学・病院・講師
研究者番号：60240876

是竹 克紀 (KORETAKE, Katsunori)
広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・
助教
研究者番号：50346508

土井 一矢 (DOI, Kazuya)

広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・

助教

研究者番号 : 80444686

森田 晃司 (MORITA, Koji)

広島大学・病院・助教

研究者番号 : 30555149