

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 18 日現在

機関番号：32650

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592932

研究課題名(和文) コラーゲン/型リン酸三カルシウム複合体の骨伝導性と生体内崩壊性の評価

研究課題名(英文) Evaluation of osteoconductivity and biodegradation properties of collagen/beta-tricalcium phosphate composite

研究代表者

櫻井 薫 (Sakurai, Kaoru)

東京歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：20153950

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、ウシ真皮由来吸収性コラーゲンスポンジと多孔性型リン酸三カルシウム(-TCP)小顆粒の複合体は既存の臨床的無機物/コラーゲン複合体材料よりも優れた骨伝導能と生体内崩壊性を示すかどうかを検証することである。-TCP/コラーゲン複合体を埋入したラット頭蓋冠臨界サイズ骨欠損は、限定的な未成熟骨梁と多量の材料残渣をみた既存の複合体材料埋入欠損と大きく異なり、移植材料のほぼ完全な置換を伴う密で連続性のある成熟した骨組織で被覆された。-TCP/コラーゲン複合体は、骨芽細胞の石灰化能を亢進することにより、既存の複合体材料よりも優れた骨伝導能と生体内崩壊性を示すことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to determine whether the beta-tricalcium phosphate (-TCP)-collagen composite consisting of bovine dermis-derived soluble collagen sponge and porous -TCP particles exerts excellent osteoconductive and biodegradation properties better than the existing inorganic/collagen composite for clinical use. Rat calvarial critical-sized bone defects implanted with the -TCP-collagen composite covered with dense, continuous and mature bone tissue with nearly complete replacement of the graft material in contrast with limited amounts of immature trabecular bone and abundant remnant materials in the defects filled with the existing clinical composite material. The -TCP-collagen composite exerted greater osteoconductivity and better biodegradation properties by enhancement of osteoblastic mineralization capability than the existing composite material.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：alloplast bio-absorption bone regeneration bone substitute socket preservation ridge augmentation

1. 研究開始当初の背景

(1) 上顎洞底挙上術などの骨増生術はインプラントの術前処置としてしばしば必要となる。骨生体材料の具備すべき特性として、骨欠損へ充填できる良好な付形性、十分な機械的強度、優れた生体親和性および生体内崩壊性材料が挙げられる。しかし、それら全ての特性を具備した材料は未だ無い。

(2) ベータ型リン酸三カルシウム(β -TCP)はリン酸三カルシウムの一型で、良好な機械的強度と生体内崩壊性を有する人工合成の骨補填材料として臨床応用されている。また、コラーゲンスポンジは優れた操作性を示す上、柔軟性に富むため複雑な形態を持つ内側性骨欠損へも充填可能である。

(3) 今回、我々はコラーゲンスポンジと β -TCP 顆粒を組み合わせた複合体に着目し、両材料の長所を相殺せず、欠点を互いに補い合い、良好な付形性と高い機械的強度の両者を具備した材料であることが予測される。

2. 研究の目的

(1) 細胞培養実験と動物実験モデルを用いて、 β -TCP/コラーゲン複合体の組織学的、細胞生物学的性質を示すことである。

(2) ウシ真皮由来の生体吸収性コラーゲンスポンジと β -TCP 小顆粒からなる複合体の骨伝導能および生体内崩壊性を、ラット頭蓋冠臨界サイズ骨欠損モデルを用いて、市販の動物由来ハイドロキシアパタイト(HA)顆粒/コラーゲン複合体である Bio-Oss Collagen® (Osteohealth, Shirley, NY, USA) と比較することである。

3. 研究の方法

(1) 細胞培養試験として、ラット大腿骨骨髓由来骨芽細胞様細胞をポリスチレン培養皿上で物理的接触が無いように β -TCP/コラーゲン複合体もしくは対照コラーゲンスポンジとともに共培養した。一定期間培養後、培養中のアルカリフォスファターゼ(ALP)活性、細胞内カルシウム濃度および von Kossa 染色面積の定量を行った。動物実験として、 β -TCP/コラーゲン複合体もしくは対照のコラーゲンスポンジを直径 5.0 mm のラット頭蓋骨欠損へ埋入した。術後 2、4 および 8 週屠殺し、骨欠損の中央部を中心に、脱灰組織切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色後、組織学的観察および骨形態計測評価を行った。

(2) ラット頭蓋骨に直径 5.0mm のクリティカルサイズ骨欠損を 2 つ形成し、一方に直径 5.0mm、厚さ 2.0mm のコラーゲン/ β -TCP 複合体と、他方に対照として同寸法のコラーゲンスポンジを充填し、術後 6 および 10 週にヘマトキシリン-エオジン染色による組織学的観察および骨形態計測評価を行った。

4. 研究成果

(1) 細胞培養実験において、 β -TCP/コラーゲン複合体は、対照コラーゲンスポンジよりも、共培養した骨芽細胞様細胞のアルカリフォスファターゼ活性と細胞内カルシウムレベルを上昇させた(図 1A と B)。

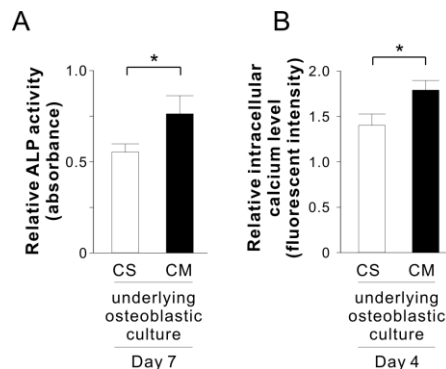


図 1 細胞培養中の ALP 活性(A)と細胞内カルシウム濃度レベル(B)の比較

(2) 細胞培養実験において、 β -TCP/コラーゲン複合体は、対照コラーゲンスポンジよりも、共培養した骨芽細胞様細胞の石灰化基質産生量を増加させた。

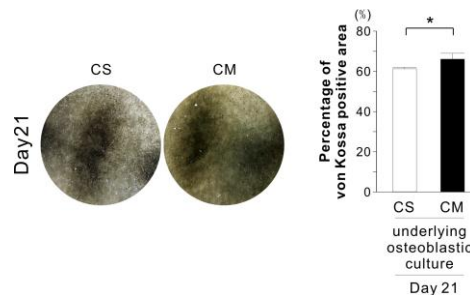


図 2 細胞培養の von Kossa 石灰化基質染色写真(左)と染色面積率(右)の比較

(3) β -TCP/コラーゲン複合体は、治癒初期に

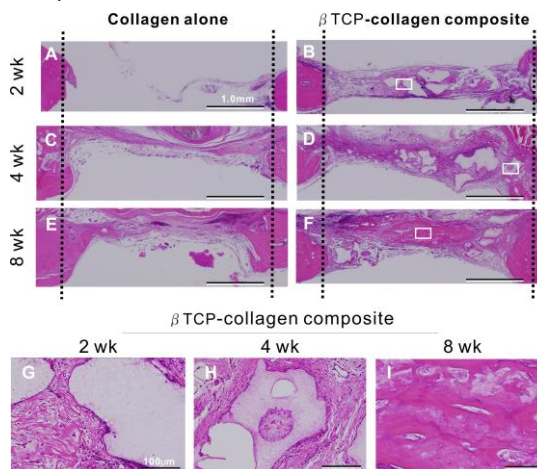


図 3 コラーゲンスポンジ(A、C、E)もしくは β -TCP/コラーゲン複合体(B、D、F)を埋入したラット頭蓋骨臨界サイズ骨欠損の術後 2、4 および 8 週における弱拡組織像および β -TCP/コラーゲン複合体(B、D、F)埋入骨欠損の強拡組織像(G-I)

生体内崩壊とともに、材料内外から骨芽細胞と結合組織様組織の侵入を受けた。最終的に、 β -TCP/コラーゲン複合体は埋入部位の体積を減少させずに緻密で厚い成熟骨組織に置換された。一方、対照コラーゲンスポンジを埋入した骨欠損内では、薄い線維様組織のみ観察された。

(4) 術後6週にて、Bio-Oss Collagenを填入した骨欠損内で線維性組織は豊富だが骨梁構造が確認できないのとは異なり、 β -TCP/コラーゲン複合体を填入した骨欠損は密な結合組織を伴う未熟な骨組織を含んでいた。術後10週にて、 β -TCP/コラーゲン複合体を填入した骨欠損は最終的に密で、連続性のある、成熟した骨組織で覆われ、填入した複合体は完全に骨組織に置換された。しかしながら、Bio-Oss Collagenを填入した骨欠損では、わずかな量の未熟な骨梁構造と多量の残存Bio-Oss 顆粒を含む密な結合組織のみ確認された。

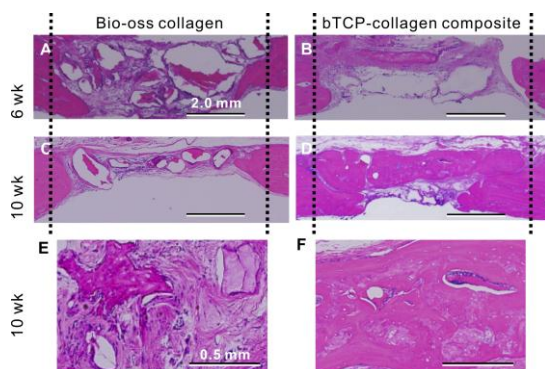


図4 コラーゲンスポンジ(A, C, E)もしくは β -TCP/コラーゲン複合体(B, D, F)を填入したラット頭蓋骨臨界サイズ骨欠損の術後6および8週における弱拡組織像および β -TCP/コラーゲン複合体(B, D, F)填入骨欠損の強拡組織像(G-I)

以上のことから、 β -TCP/コラーゲン複合体は骨芽細胞の細胞内カルシウム濃度を増加させることで骨芽細胞のALP活性を向上させ、自身の内部から骨再生を積極的に促進させる材料であるとともに、臨床的な既存材料であるBio-Oss Collagenよりも骨形成と骨リモデリングを促す、優れた骨伝導能と良好な生体内崩壊性を示すことが判明した。

<引用文献>

- ① Yamada M. et al. Histological and histomorphometrical comparative study of the degradation and osteoconductive characteristics of alpha- and beta-tricalcium phosphate in block grafts. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 82, 2007, 139-148.
- ② Kamitakahara M., et al. Review paper: behavior of ceramic biomaterials derived from tricalcium phosphate in physiological condition. *J Biomater Appl* 23, 2008, 197-212.

③Koide M, et al. A new type of biomaterial for artificial skin: dehydrothermally cross-linked composites of fibrillar and denatured collagens. *J Biomed Mater Res* 27, 1993, 79-87.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 40 件)

①Kato E, Yamada M, Sakurai K. Activation of Osteoblastic Differentiation through Calcium Supplementation by Beta-Tricalcium Phosphate Collagen Composite Leading to Initial Inner Bone Formation. *Japanese Society of Oral Implantology*. 26, 2013, 405-417.
<http://ci.nii.ac.jp/naid/130004631892>

②Kato E, Lemler J, Sakurai K, Yamada M. Biodegradation property of beta-tricalcium phosphate-collagen composite in accordance with bone formation: a comparative study with Bio-Oss Collagen® in a rat critical-size defect model. *Clin Implant Dent Relat Res*. 16, 2014, 202-11.
doi: 10.1111/j.1708-8208.2012.00467.x.

③Yamada M, Ueno T, Minamikawa H, Ikeda T, Nakagawa K, Ogawa T. Early-stage osseointegration capability of a submicrofeatured titanium surface created by microroughening and anodic oxidation. *Clin Oral Implants Res*. 24, 2013, 991-1001.
doi: 10.1111/j.1600-0501.2012.02507.x.

[学会発表] (計 116 件)

①Kato E, Lemler J, R, Yamada M, Sakurai K. Osteoconductivity and biodegradation property of β TCP-collagen in calvarial defect. 98th Annual Meeting American Academy of Periodontology in collaboration with the Japanese Society of Periodontology, September 29th, 2012, Los Angeles, USA

②Kato E, Lemler J, R, Yamada M, Sakurai K. A Development of the Most Suitable Titanium Topography for the Transmucosal Abutment Module and the Real Soft Tissue Integration. Academy of Osseointegration 28th Annual Meeting, March 7th, 2013, Florida, USA

③ Yamada M, Kato E, Sakurai K. Alkali-heat-treated Titanium Surface Enhances Collagen Deposition and Binding Strength 91st General Session & Exhibition of the IADR, March 20th, 2013, Seattle, USA

④ Yamada M, Kato E, Sakurai K. Strong Dermal Collagen Binding Capability of Alkali-Heat-Treated Titanium Surface with Substantial Nano-Tuft-Like Structure. 15th Biennial Meeting of the International College of Prosthodontists, September 19th, 2013, Turin,

Italy

⑤ Kato E, Yamada M, Sakurai K. Establishment of Connective Tissue Integration with Alkali-heat Treated Titanium Surface. 29th Annual Meeting of the Academy of Osseointegration, March 6th, 2014, Seattle, USA

⑥ Yamada M, Kato E, Sakurai K. Cytofunctional Preconditioning for Auto-cell Transplantation to Enhance Bone Regeneration Using Antioxidant Amino Acid Derivative. 29th Annual Meeting of the Academy of Osseointegration, March 6th, 2014, Seattle, USA

〔図書〕(計 3件)

①口腔科学 stomatology 4章 口腔疾患治療学総論 4.14 理学療法:406-409
朝倉書店,東京,2013
ISBN978-4-254-35001-2

②口腔科学 stomatology 5章 口腔疾患各論 5.2 歯の欠損と機能障害に対する治療 3 全部床義歯による歯科欠損治療 (3)全部床義歯の製作, (4)メンテナンス:493-497
朝倉書店,東京,2013
ISBN978-4-254-35001-2

③櫻井 薫(監修) PDN VE セミナー 摂食嚥下機能評価 研修会テキスト NPO 法人 PEG ドクターズネットワーク,東京,2014

〔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:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.tdc.ac.jp/dept/rpg/>

6. 研究組織
(1)研究代表者

櫻井 薫 (SAKURAI, Kaoru)
東京歯科大学老年歯科補綴学講座・教授
研究者番号: 20153950

(2)研究分担者

山田 将博 (YAMADA, Masahiro)
東北大学 大学院歯学研究科 分子・再生
歯科補綴学分野・講師
研究者番号: 90549982

(3)連携研究者 該当なし
()

研究者番号: