

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：12602
研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2012～2014
課題番号：24592954
研究課題名(和文) 微小電流刺激と骨形成因子を応用したインプラント周囲骨増生法の開発

研究課題名(英文) Implant

研究代表者
原田 清 (Harada, Kiyoshi)
東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：30228639
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、微小電流刺激による骨形成能の活性化と、その骨形成能をさらに上昇させる目的で、骨形成因子などの生理活性物質の応用を試みた。

ビーグル犬を用いた *in vivo* の実験を平成25年度より開始したが、実験動物施設の改修工事が始まったため、実験系を *in vitro* へ移行した。平成26年度では本研究課題でもう1つの開発の柱としていた骨形成能を有し骨膜下に挿入する骨増生シートの調製を行った。基材としてポリロタキサンという高分子に着目し、これに硫酸基を付与して骨形成性 cell line である MC3T3E1 細胞に投与したところ、その細胞の骨形成活性を有意に上昇させることが判明した。

研究成果の概要(英文)：I tried the application of the bioactive substances such as bone morphogenetic factors for the purpose of raising activation of the bone formation activity by the microcurrent stimulation and the bone formation activity in this study more. I started the *in vivo* experiment using the beagle from 2013, but shifted to *in vitro* in experiment system because the repair work of laboratory animal facilities began. I prepared the bone regenerating seat to have the subperiosteal bone formation activity that another development focused in this research theme from the beginning of 2014. After paying its attention to a macromolecule called polyrotaxane as matrix, and giving the sulfate group to this, and giving it to the MC3T3E1 cell which was bone forming cell line, it became clear to significantly raise the bone formation activity of the cell.

研究分野：外科系歯学、口腔外科

キーワード：デンタルインプラント 微小電流刺激 骨形成因子 骨増生シート ポリロタキサン

1. 研究開始当初の背景

近年、咬合や咀嚼機能回復のために、デンタルインプラントが普及しつつあるが、このインプラントを理想的に顎骨に埋入するためには、十分なボリュームの歯槽骨の存在が不可欠である。歯槽骨のボリュームが不足している場合には、従来骨移植による歯槽骨増生が行われてきたが、移植骨採取のための手術が別途に必要になり、侵襲は強くなる。近年では侵襲を可及的に軽減するために、口腔内、つまり顎骨からの移植骨採取が行われてはいるが、移植骨の採取量に限界があり、口腔内とはいえ手術による創傷が増加することは否めない。また、歯槽骨のボリュームが足りないケースでは、埋入初期固定が得られないことからそのままではデンタルインプラントの埋入は困難で、何らかの方法で歯槽骨の増生処置を施した上で二期的にインプラントの埋入を行うのが原則である。骨移植に代わる手段として、人工骨、成長因子、あるいはその両者を応用した研究や微小電流刺激による骨再生の研究は散見されるが、いずれもインプラント埋入の前処置として、つまり二期的手術を前提としている研究であって、条件の悪い歯槽骨にインプラントを一期的かつ骨移植を排除して生着させる成果には至っていない。

2. 研究の目的

本研究では、微小電流刺激による骨形成能の活性化に着目し、インプラントを電極とする微小電流刺激実験を計画した。また、微小電流刺激による骨形成能をさらに活性化する目的で、骨形成因子等の生理活性物質をイ

ンプラント埋入部位に応用することも視野に入れ、最終的には人体応用への実用化を目指している。本法が実用化されれば、インプラント植立のために他部位から移植骨を採取する必要性は排除され、かつ一回の手術のみでインプラント周囲に骨増生がなされることから、患者の身体的負担をより軽減したインプラント埋入が可能となる。

3. 研究の方法

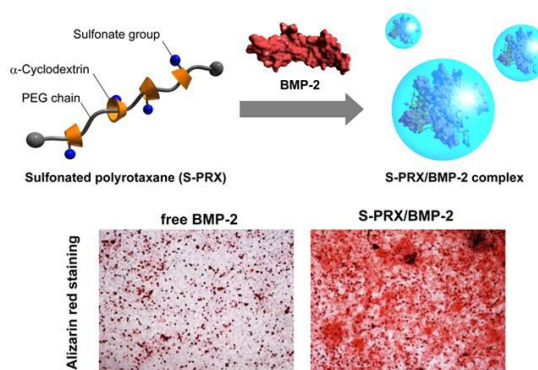
平成 24 年度の前半ではイヌの下顎骨に対するインプラント埋入実験系を確立し、年度内にイヌにおける至適微小電流刺激の条件を確立。平成 24 年度後半ではインプラント埋入部骨膜下に導入するための骨形成因子含有コラーゲンもしくはポリ乳酸のシートの試作を開始し、その骨増生効果を同じくイヌの下顎骨でインプラント埋入とは別の実験系として観察する予定であった。さらに、平成 25 年度以降では、平成 24 年度の研究成果を踏まえ、イヌを使用した至適微小電流刺激実験と骨膜下骨形成因子含有シート導入実験を融合し、両者を同時施行した場合の骨増生効果を観察する方向性で研究を予定した。しかし、研究代表者の異動により本研究の申請書を提出した時点と研究施設が変わったため、実験動物施設利用講習や実験に関する倫理審査を改めて受け、かつ、実験実施のための学内各種手続きや許可を経なければ実験が行えなかったため、実験の開始が平成 25 年度に入ってからになってしまった。加えて、平成 25 年 7 月末より動物実験施設の改修工事が始まり、平成 25 年度内に実施できた動物実験は 2 頭のビーグル犬のみで、

実験系を in vivo ではなく、in vitro へ移行せざるを得なくなった。そこで、平成 26 年度では本研究課題でもう 1 つの開発の柱としていた骨形成能を有し骨膜下に挿入する骨増生シートの作成実験を行った。基材としては、骨形成因子の担体として適切で、かつ骨形成因子の放出時期を調節可能な、つまり骨形成因子の徐放の程度を調節可能なポリロタキサンという高分子に着目した。さらに、これに硫酸基を付与して骨形成性 cell line である MC3T3E1 細胞に投与した。

4 . 研究成果

骨形成因子をはじめ、様々な結合分子の徐放の時期や程度を調節可能なポリロタキサンという高分子に着目し、これに硫酸基を付与して骨形成性 cell line である MC3T3E1 細胞に投与したところ、MC3T3E1 細胞の骨形成活性を有意に上昇させることが判明した。

本研究成果はすでに 2015 年の Macromolecular Bioscience という学術雑誌に論文掲載が予定されているほか、国内では第 65 回日本歯科理工学会と第 69 回日本口腔科学会、国外では台湾で開催されたアジアバイオマテリアル学会で発表し、さらに 2015 年 10 月に予定されている国際口腔学顔面外科学会（オーストラリア、メルボルンにて開催）での発表演題が受理されている。



上段左はポリロタキサンの分子構造図、上段右は硫酸化ポリロタキサンが BMP-2 と複合体を形成した場合の模式図、下段左は BMP-2 単独で MC3T3E1 細胞を培養した場合のアリザリンレッド染色結果、下段右は硫酸化ポリロタキサン - BMP-2 複合体を作用させて MC3T3E1 細胞を培養した場合のアリザリンレッド染色結果。下段左と比較して下段右がアリザリンレッドに濃染、つまり石灰化が亢進していることが明らかである。

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 1 件)

Masahiko Terauchi, Go Ikeda, Kei Nishida, Atsushi Tamura, Satoshi Yamaguchi, Kiyoshi Harada, Nobuhiko Yui.: Supramolecular Polyelectrolyte Complex of Bone Morphogenetic Protein with Sulfonated Polyrotaxanes to Induce Enhanced Osteogenic Differentiation. Macromolecular Bioscience 査読有 2015 (in press) .

〔学会発表〕(計 3 件)

寺内正彦、山口 聡、原田 清：新規高分子構造を有する硫酸化ポリロタキサ

ンを用いた BMP-2 複合体の調製と骨分化能評価 . 第 69 回日本口腔科学会学術集会 2015 年 5 月 13 ~ 15 日 大阪(大阪国際会議場)

Masahiko Terauchi, Go Ikeda, Kei Nishida, Atsushi Tamura, Satoshi Yamaguchi, Kiyoshi Harada, Nobuhiko Yui.: Enhanced bone morphogenetic protein 2-induced osteogenic differentiation by supramolecular polyelectrolyte complexation with sulfonated polyrotaxanes. The 5th Asian Biomaterials Congress, 6-9, May, 2015, Taipei (Taiwan).

寺内正彦、田村篤志、原田 清、由井伸彦 : 硫酸化ポリロタキサンを用いた骨形成因子複合体の調製と機能評価 . 第 6 5 回日本歯科理工学会学術講演会 2015 年 4 月 11 ~ 12 日 仙台市 (仙台市情報・産業プラザ)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称 : 骨形成因子安定保持剤、骨形成因子活性化剤、骨形成因子の安定保持方法、及び骨形成因子の活性化方法

発明者 : 寺内正彦、池田 剛、田村篤志、山口 聡、原田 清、由井伸彦

権利者 : 同上

種類 : 特許

番号 : 特願 2014 - 224265

出願年月日 : 2014 年 11 月 4 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 :

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

なし

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

原田 清 (HARADA, Kiyoshi)

東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号 : 30228639

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号 :