

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：34408

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24792162

研究課題名(和文)インプラント支持型新規スキャホールドの開発

研究課題名(英文)The development of novel scaffold with dental implant

研究代表者

上村 直也 (UEMURA, Naoya)

大阪歯科大学・歯学部附属病院・助教

研究者番号：50610309

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：新規に開発した骨補填材料である  $\alpha$ -型リン酸三カルシウム、人工コラーゲンそしてポリ乳酸を、口腔インプラント体と同時に抜歯窩へ即時埋入し、最終的に臨床応用できる骨再生医療のトランスセクショナルリサーチとなるように、骨再生能を評価することを目的とした。

24年度において、小型動物であるラット頭蓋骨欠損モデルでの新規材料自体の骨再生能を確認した(学会発表および論文発表済み)。25年度において、大型動物に移行し、イヌ下顎骨欠損モデルでの口腔インプラント体を新規骨補填材料と同時に抜歯即時埋入を行った。現在、経過途中であり、学会発表および論文作成の準備中である。

研究成果の概要(英文)： The aim of this study is to evaluate the bone regeneration ability, as it can become the Trans Sectional Research eventually in bone regeneration medicine for clinical application, which the novel product of the bone substitute material ( $\alpha$ -TCP and synthetic collagen and poly lactic acid) was put in the fresh socket with immediate implant after teeth extraction.

In the 24 year, we confirmed that the bone regeneration ability of the novel bone substitute material itself in the rat calvarial defect model. (Already presentation and paper published) In the 25 year, we put the novel bone substitute material in the fresh socket with immediate implant after teeth extraction in the dog mandible defect model to close to the clinical situation. Presently, in the middle of this process, we prepare for conference presentation and publish paper.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯科医用工学・再生歯学

キーワード：再生医療

## 1. 研究開始当初の背景

国内外を通じて、狭義の幹細胞及び幹細胞からの分化誘導により分化形質を獲得した細胞の機能発現に適した足場を用いた再生医療の臨床はまだ存在しない。それに加え、移植部位に要求される力学的特性を充足した足場に関しては、基礎研究においてもほとんど報告が無いというのが現状である。特に歯槽骨量が不足した上顎サイナスリフトを必要とした患者のインプラント体に負荷される咬合力にも対応できる骨再生細胞治療の開発には国内・国外ともに報告されていない。

我々は、合成高分子であるポリ L 乳酸 (PLLA) からなる三次元構造を持った織物のスキャホールドを開発した。編み構造のため空隙率が高く、容易に形状を変えられ、インプラント孔を持つスキャホールドの作製を可能にした。PLLA はセラミックと比較して可撓性があり、機械的にも強いという利点はあるが、生体親和性に乏しく細胞接着性、増殖性もたない。さらにポリ乳酸表面は疎水性であり、スキャホールドとして細胞と組み合わせる場合、細胞接着性、増殖性は持っておらず、そのために細胞の播種性が悪い。そこで、PLLA の表面に優れた細胞適合性を示すアパタイト (以下 HAp) をレーザーアブレーション法 (PLD 法) を用いてコーティングすることで上記の問題を本課題で解決することを考えた。我々は、PLLA フィルム上に PLD 法を用いて HAp の薄膜をコーティングした。さらに、マウス骨芽細胞を培養したところ、薄膜形成前のサンプルと比較して細胞が増殖することを確認した。まずは既に開発した吸収性足場に均一に HAp をコーティングする方法を探索し、その後、幹細胞を均一に播種する方法についても探索した。

最終的に、動物にインプラント支持型新規スキャホールドを埋入し様々な条件下で咬合負荷を与え、その様相を調査する。再生医療で得られた骨の長期経過や実際の臨床に移植部位に要求される力学的特性を充足した足場であるか、実際の再生骨にインプラントフィクスチャーを埋入後の咬合支持に耐えるだけのオッセオインテグレーションを獲得したかどうかについて調べる必要がある。

## 2. 研究の目的

-TCP、人工コラーゲンそしてポリ乳酸などの新規骨置換材料をインプラント体と同時に抜歯即時埋入し、最終的に臨床応用できる骨再生医療のトランスセクショナルリサーチとなるよう、骨再生能を評価することを目的としている。

## 3. 研究の方法

24 年度において、6 週齢 SD ラット頭蓋骨欠損モデルに、新規骨補填材料の一つである -TCP とコラーゲンの複合体材料を作製し、-TCP とアテロコラーゲンの複合体 (-TCP/CS 群) ならびにアテロコラーゲン単独 (CS 群) の 2 群を実験群、欠損のみの群を対照群とし頭蓋骨欠損部に移植した。移植後 4 週、6 週で頭蓋冠を摘出し  $\mu$ CT と骨質計測システムによる X 線学的評価、およびヘマトキシリンエオジン染色による病理組織学的評価を行った。

25 年度において、新規である小型インプラントを製作し、ビーグル成犬雄 2 歳を用いて下顎小臼歯抜歯後、ポリ乳酸とインプラント体を一体化した支持型新規スキャホールドの抜歯即時埋入を行った。コントロール群をインプラントのみとした。

## 4. 研究成果

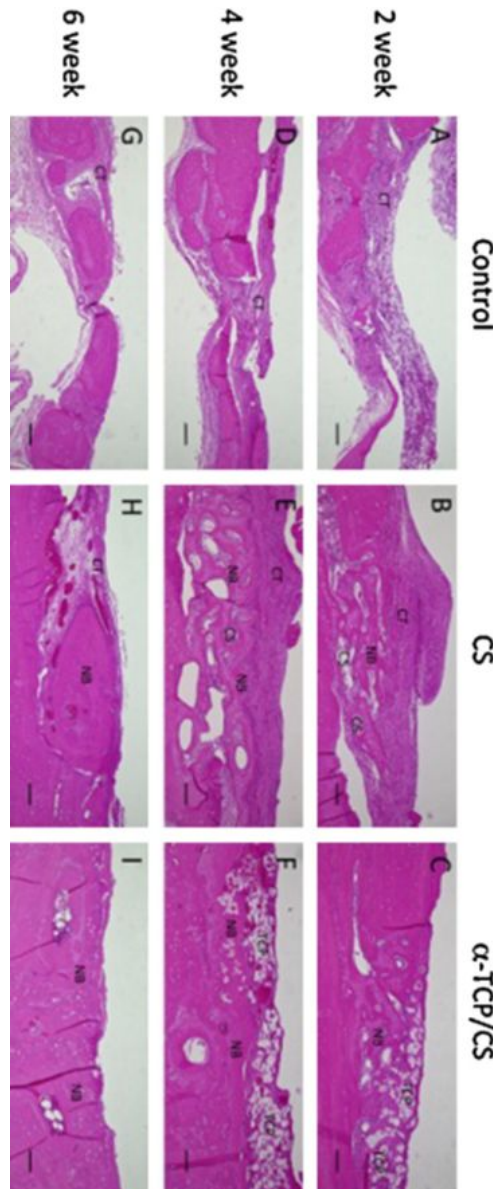
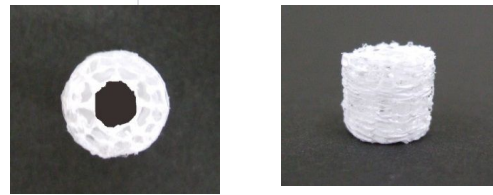
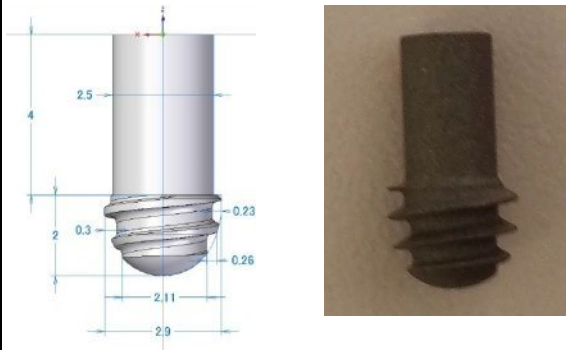
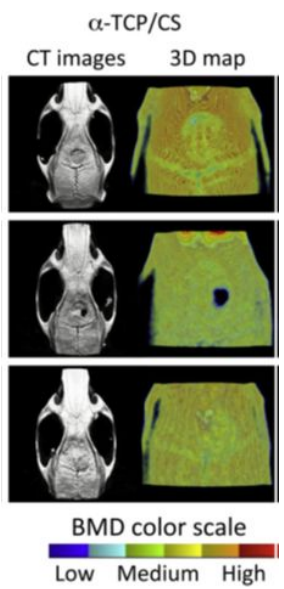
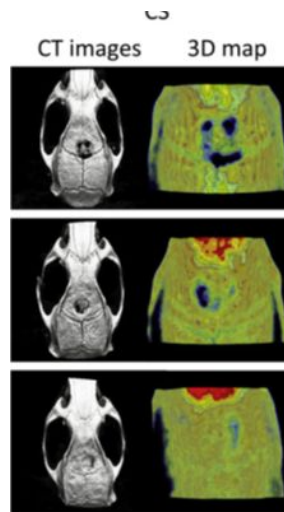
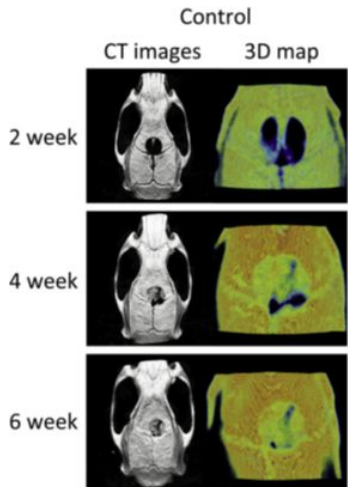
SEM 所見から複合体の内部構造は -TCP と三次元の多孔構造を有していた。XRD 回折では、-TCP/CS は -TCP と本質的に同じ回折パターンを示すが -TCP/CS では結晶性が低下していた。

移植後 2 週で対照群と CS 群で Low 値を示す Bone mineral density (BMD) 分布像を観察した。-TCP/CS 群で Low-to-Medium 値を示す BMD 分布像を観察した。マイクロ CT 像では窩洞を埋める少量の硬組織像を観察した。移植後 4 週では対照群と CS 群で Low 値を示す BMD 分布像を観察した。-TCP-TCP/CS 群で Medium 値を示す BMD 分布像を観察した。マイクロ CT 像では窩洞を埋める多くの硬組織像を観察した。骨体積率、骨塩量では -TCP/CS 群が最も高い値を示した。しかし、骨密度のみ 3 群間内に定量的有意差は認められなかった。移植後 6 週では、対照群と CS 群で Low 値を示す BMD 分布像を観察した。マイクロ CT 像で対照群と CS 群は窩洞を埋める少量の硬組織像を観察した。一方、-TCP/CS 群では部分的に High 値を示す BMD 分布像を観察した。マイクロ CT 像では窩洞を完全に満たしている硬組織像を観察した。また CS 群、対照群に対して骨体積率、骨塩量、骨密度とも有意に高い値を示した。

病理組織学的評価は移植後 2 週で、-TCP/CS 群で窩洞を埋める -TCP 顆粒が観察された。移植後 4 週では対照群でまばらな結合組織が観察され、CS 群では厚い結合組織が見られた。-TCP/CS 群で -TCP 顆粒を囲む新生骨が観察できた。移植後 6 週では、対照群でわずかな新生骨が観察できた。CS 群では既存骨と連続性がない新生骨が観察された。-TCP/CS 群では -TCP 顆粒は吸収され伝導性骨に置換し、既存骨と自然移行している様相が観察された。

以上の結果から、アテロコラーゲンと -TCP を複合化することで骨再生能が高くなることが明らかとなり、顎裂部の骨再生に

有用であることが示唆された。



## 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 2件)

Evaluation of Bone Regeneration by Porous Alpha-tricalciumphosphate / Atelocollagen Sponge Composite in Rat Calvarial Defects: Arima Y, Uemura N, Hashimoto Y, Baba S, Matsumoto N: Orthodontic Waves: 72:23-29 : 2012 (査読有)

②Evaluation of Bone Regeneration using Platelet-rich or Platelet-poor Plasma Combined with Autologous Mesenchymal Stem Cells: Yasui K, Arima Y, Lee P, Tokuda T, Azumi E, Nishiura A, Ito T, Hashimoto Y, Uemura N, Baba S, Matsumoto N: Journal of Oral Tissue Engineering: 11(1):57-66 : 2012 (査読有)

〔学会発表〕(計 6件)

Bone Regeneration by Porous Alpha—Tricalciumphosphate/Synthesized Collagen Composite: Uemura N, Hieda A, Hirose T, Kaida K, Ito T, Hashimoto Y, Baba S: 92th General & Exhibition of IADR, 2014.6.26, Cape Town, South Africa

②Alpha-tricalcium phosphate/atelocollagen sponge composite versus autogenous bone for repair of calvarial defects in rat models : Lee P, Arima Y, Tokuda T, Ryao T, Nishiura A, Hashimoto Y, Uemura N, Baba S. 日本矯正歯科学会. 2013.10.7. 松本市.

臨床応用に向けた合成高分子材料による歯槽骨再生について: 上村 直也, 橋本典也, 有馬 良幸, 安井 憲一郎, 馬場 俊輔, 川添 堯彬: 第 22 回日本歯科医学会総会 2012.11.9.大阪.

Evaluation of Bone Formation of Combining  $\alpha$ -TCP and Atelocollagen by 3D Image Construction Arima Y, Yasui K, Sakamoto F, Uemura N, Hashimoto Y, Baba S, Matsumoto N: 100th FDI Annual World Dental Congress. 2012.8.29. Hong Kong, China.

Evaluation of Bone Regeneration of Combining PolyPHG and  $\alpha$ -TCP: Uemura N, Arima Y, Yasui K, Hashimoto Y, Baba S, Kawazoe T : 90th General Session & Exhibition of the IADR. 2012.6.21. Iguacu Fall, Brazil.

The 3D Image of Bone Formation of Combining Synthesize Collagen Polypeptide and  $\alpha$ -TCP : Uemura N, Arima Y, Yasui K, Hashimoto Y, Baba S, Kawazoe T : 2012 Sino-Japan Dental Conference, 2012.4.26. Chengdu China.

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

上村 直也 (UEMURA, Naoya)

大阪歯科大学・歯学部附属病院・助教

研究者番号 : 5 1 6 1 0 3 0 9

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし