

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26870177

研究課題名(和文) RGDナノゲルメンブレンを併用した骨移植を必要としない上顎洞底拳上術の有効性

研究課題名(英文) Effective of graftless sinus augmentation technique with RGD nanogel membrane

研究代表者

小林 裕史 (KOBAYASHI, HIROSHI)

東京医科歯科大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：10570814

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)：破骨細胞による骨芽細胞分化誘導シグナル経路が報告されていることから、破骨細胞分化(機能)を制御することで骨芽細胞分化誘導を促進できる可能性が示唆されている。そこで、骨粗鬆症治療に効果的なシグナル分子であるビスフォスネート化合物、クロドロネートによる骨再生促進効果について研究を行った。その結果、クロドロネートの短期投与によって骨芽細胞分化が促進される可能性が示唆された。今後はこれらのin vitroの結果をもとに、in vivoの実験を行う予定である。

研究成果の概要(英文)：It has been suggested that regulation of osteoclastogenesis (function) may have the possibility to induce osteogenic differentiation of stem cells. In this study, we analyzed the effect of Clodronate, a bisphosphonate which is an effective signal molecules of osteoporosis treatment on bone marrow cells. The result suggested that short term exposure of Clodronate may enhance the osteogenic differentiation of bone marrow cells. Based on the present in vitro study, an in vivo examination will be planned in the next study.

研究分野：インプラント

キーワード：ドラッグデリバリーシステム 骨増生 クロドロネート

1. 研究開始当初の背景

近年、歯牙欠損部に対する治療法として、咀嚼機能および審美性の回復を図るインプラント治療は歯牙欠損補綴の有効な一手段となっている。しかしながら、インプラント埋入予定部位における歯槽骨の高さや幅の不足は、インプラントの予後、咬合再構成および審美的回復のすべてを損ねる因子となる。現在、歯槽骨の高さや幅の不足した顎堤に対するアプローチとして guided bone regeneration (以下 GBR と略す)法が必須である。また、上顎臼歯部において上顎洞の解剖学的形態による骨高径の不足に伴い上顎洞底挙上術(サイナスリフト)を必要とすることが多々ある。しかしながら、骨移植材料としてインプラント治療を目的とした人工骨の使用は厚生労働省で認可されているものはなく、自家骨移植が必要となる。問題点として骨採取量が限られる点、外科的侵襲が大きい患者への負担などが挙げられる。また、移植骨の2次感染や上顎洞炎の併発などの合併症の問題も数多く報告されている。近年、Lundgren らがヒトに対して骨移植材を用いずに上顎洞粘膜下にスペースを作るだけで、骨形成が行われることを報告した。しかし、スペースメイキングとしてインプラント同時埋入が必要であることから、(1)初期固定を獲得するための骨量が不十分な場合は適応外になること(2)インプラント体の底部が洞粘膜と直接接触するので、術後の洞粘膜の炎症の惹起や上顎洞粘膜の穿孔の可能性が危惧されること(3)インプラントのメタルアーチファクトにより新生骨の放射線学的評価が困難であることが問題点として挙げられる。

疎水性の多糖からなるナノゲルは表面、その内部にさまざまな物質やタンパク質

などの高分子を取り込める3次元空間を利用できる点が大きな特徴であり、新しいタンパク質キャリアーとして注目されており、ナノゲルはDDS機能をもつ新規人工細胞外マトリックスとして再生医療で有力な次世代バイオマテリアルの創出が期待されている。すでにナノゲルを併用した創傷治癒、骨形成・骨再生を目的とした研究を行ってきており、ラット全層開放層欠損モデルにおけるコレステロール置換型ナノゲルプルランの創傷治癒に対する有効性について報告してきている(Journal of Biomedical Materials Research Part B 91(1):55-60,2009)。

また、平成22~23年度の若手研究(B)において遅延型吸収性ナノゲルメンブレンを新規開発し、ラット頭蓋骨欠損モデルでGBR用メンブレンとしての有効性を報告した。本研究ではナノゲルのGBR用メンブレンとしての臨床応用を最終目標として、骨移植を必要としない新しい骨再生医療を開拓する。

2. 研究の目的

ドラッグデリバリーシステム(DDS)を備えた遅延型吸収性ナノゲルを新規開発すると同時に、骨移植を必要としない骨増生、例えば上顎洞底粘膜挙上術による新しい骨再生医療を追求することである。骨増生を含む骨再生に関与する細胞には、骨芽細胞のみならず破骨細胞がある。最近、破骨細胞による骨芽細胞分化誘導シグナル経路が報告されていることから、破骨細胞(機能)を制御することで骨芽細胞分化誘導を促進できる可能性が示唆されている。既に臨床適用されている化合物を使用することは、特定の効果を期待するDDSの開発において近道となると考え、骨粗鬆症治

療に効果的なシグナル分子であるビスフォスネート化合物、クロドロネートの短期投与による骨・軟骨再生促進効果の可能性について研究を行った。

3. 研究の方法

8週齢 ICR マウス大腿骨髄細胞を培養し、クロドロネートを添加し、骨芽細胞分化能を検討した。また、8週齢 ICR マウス大腿骨髄内にクロドロネート化合物を注入して一定時間飼育後、大腿骨組織切片を作製し、単球・マクロファージの枯渇を免疫染色によって確認した。さらに、骨髄細胞の遺伝子発現、骨芽細胞分化誘導能を解析した。

4. 研究成果

骨移植せずに骨増生を獲得するためには、シグナル分子による細胞活性化が必要になる。そこで、骨粗鬆症治療に効果的なシグナル分子であるビスフォスネート化合物、クロドロネートの骨芽細胞分化誘導作用について研究を行った。

クロドロネート添加で TRAP 陽性細胞および ALP 陽性細胞が増加した。濃度依存的にいずれも減少した。また、骨分化マーカー遺伝子 BMP2R、Runx2、Dlx5 の発現の発現は、クロドロネート投与時間によって変化した。さらに、骨髄細胞にクロドロネートを局所に作用させることにより、骨芽細胞分化が誘導される可能性が示唆された。今後はさらにクロドロネート添加の条件検討を行い、最適条件を見出したのちに、これらの in vitro の結果をもとに、in vivo の実験を行う予定である。将来の展望は、本来骨吸収抑制をもたらすビスフォスネートを新規開発する DDS によって骨への局所投与をコントロールすることで、骨増生の実験を行う。

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)

Maeda H, Kobayashi H, Miyahara T, Hashimoto Y, Akiyoshi K, Kasugai S. Effects of a polysaccharide nanogel-crosslinked membrane on wound healing. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2017 Apr;105(3):544-550.

[学会発表](計1件)

Ai Kobayashi, Shinji Kuroda, Hiroshi Kobayashi, Maiko Yamamoto, Hidemi Nakata, Motohiro Munakata, Noriko Tachikawa, and Shohei Kasugai
Clinical evaluation of risk factors related to maxillary sinus floor evaluation.
International Symposium Osteology Monaco 2016/4

[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

小林 裕史 (KOBAYASHI HIROSHI)
東京医科歯科大学歯学部 非常勤講師
研究者番号：10570814

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()