

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2010

課題番号：19592273

研究課題名（和文） 理想的な足場材料サンゴ、その特性と新生骨形成

研究課題名（英文） Characteristics and bone formation of coral as a scaffold

研究代表者

西川 哲成 (NISHIKAWA TETSUNARI)

大阪歯科大学・歯学部・准教授

研究者番号： 70140209

研究代表者の専門分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴理工系学

キーワード：歯学、再生医学、移植再生医療、足場材料、生体機能利用

1. 研究計画の概要

高齢者あるいは歯周疾患で歯を失った場合、歯槽骨の高さや幅が減少し、義歯やインプラントなどの補綴装置の維持が困難となる。そのため、歯槽骨の再生さらには骨の増量（増生）を目的とする足場材料の開発が望まれている。

以前、われわれはイヌ大腿骨の実験的欠損部に埋入したサンゴが生体によって吸収されるとともに、その外骨格間の空隙（内腔）に新生骨が形成され、さらに骨の増生が認められる事を報告した。

今回、サンゴの特性（化学的組成、物理的強度、内腔の形態など）と、動物実験における生体吸収性および新生骨の形成を病理組織学的に解明する。

2. 研究の進捗状況

有機質を除去したユビエダハマサンゴを用いた。これらサンゴの外骨格および内腔の形態を、マイクロCT (μ CT)、走査型電子顕微鏡 (SEM) および走査プローブ顕微鏡で観察した。また、サンゴの円柱ブロックについて比重、内腔の占める割合、湿潤条件下の機械的強度（圧縮強さ、硬さ）を測定し、Wistar 系ラットの大腿骨の機械的強度と比較した。さらに、サ

ンゴの粒子とともにヒト由来の線維芽細胞および血管内皮細胞を共培養し、これらサンゴの毛細血管への分化に与える影響を免疫組織学的観察により調べた。さらに生体による足場材料の処理メカニズムを解明した。

(1)サンゴ内部構造 サンゴ内部にみられる 100 から 300 μ m の無数の腔は全て外界と連絡しており、連通性の多孔質であった。外骨格の表面は 0.2 から 1 μ m 角柱状構造物で覆われ、約 70 nm の丸みを帯びた無数の突起物が観察された。

(2) 乾燥サンゴの比重および内腔の占める割合はそれぞれ 1.28 と 45.4% であった。また、湿潤状態におけるサンゴの圧縮強さおよび硬さ (18.5 MPa, 54.1) は、ラット大腿骨 (52.9 MPa, 77.8) と比較し、圧縮強さは約 35%、硬さは約 69% であった。

(3)線維芽細胞と血管内皮細胞との共培養では、サンゴ粒子の周囲にも細胞は増殖し、毛細血管の形成が認められた。

(4) 3 種類の多孔性カルシウム粒子 (カルシウム粒子 10 μ m $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 30 μ m $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ と CaCO_3 , 60 μ m CaCO_3) を propylene glycol と混和しラット背部の皮下組織に埋入し、2, 4, 6, 8 週における皮下組織を病理組織学的に観察した。リンパ球、マクロフ

アージそして異物巨細胞の浸潤は、埋入2週から4週後まで多くの例で認められ6週より減少するが、カルシウム粒子の大きさは異物巨細胞の出現と関係し、また大きさに依存して生体吸収は遅延した。

これらサンゴの骨格構造は骨芽細胞や線維芽細胞や血管内皮細胞などの細胞が付着し、増殖するのに適した構造であると考えられる。また、骨増生のために必要な周囲組織からの圧力に対してスペースを確保できる物理的強度を保持していた。以上のことから、サンゴは骨欠損部の術後や抜歯窩における骨増生を目的とした足場材料の開発のモデルとしての応用が期待される。

3. 現在までの達成度

③やや遅れている。

4. 今後の研究の推進方策

〔骨内に埋入したサンゴの生体吸収性と新生骨形成の解明する〕ビーグル犬の上下顎の歯を抜去して実験的抜歯窩を作り、基準ドリルで穴をあけ、インプラント体とともに各種サンゴ粒子（直径100 μ m）を充填する。パラフィン切片からHE染色およびTRACP（酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ）染色し、サンゴの吸収メカニズムを組織化学的に観察する。また、サンゴを含む大腿骨の断面を共焦点レーザー走査顕微鏡（CLSM）を用いて新生骨の形成を組織学的に観察する。

5. 代表的な研究成果

（研究代表者、研究分担者には下線）

〔雑誌論文〕（計4件）

1. Nishikawa T, Masuno K, Tanaka A. et al. (8名、1番目) Biocompatibility and bioabsorption of novel porous calcium microparticles. Nano Biomedicine. 2009; 1(1): 75-82. 査読有
2. Nishikawa T, Masuno K, Tanaka A. et al. (10名、1番目) Physical characteristics and interior Structure of coral skeleton as a bone scaffold material. J Oral Tissue Engin 2009; 7(2): 121-127. 査読有
3. Okamura T, Nishikawa T, Tanaka A. et al. (3名、2番目) Calcificatio on cultured human

dental pulp cells exposed to high glucose level. Oral Med Pathol. 2009; 13: 47-53. 査読有

4. Mori M, Nishikawa T, Masuno K. et al. (6名、2番目) Statins: Candidate for Promoting Bone Formation via BMP-2. Oral Med Pathol. 2010; 14: 81-87. 査読有

〔学会発表〕（計6件）

1. 西川 哲成, 益野 一哉, 田中昭男 他. (10名、1番目) 微細構造からみた骨足場としてのサンゴの魅力. 第2回ナノ・バイオメディカル学会 2010/02/22. 大阪府吹田市.
2. 西川 哲成, 益野 一哉, 田中昭男 他. (8名、1番目) ラット背部皮下に埋入した足場材料の生体吸収性. 日本歯周病学会; 2009/10/11. 宮崎市.
3. 西川 哲成, 益野 一哉, 田中昭男 他. (9名、1番目) ラット背部皮下に埋入した多孔性カルシウム製剤の生体吸収. 第7回日本再生歯科医学会; 2009/09/12. 北九州市.
4. 富永 和也, 西川 哲成, 益野一哉, 田中 昭男 他. (6名、5番目) 骨形成を誘導する新規合成ペプチドに対するモノクローナル抗体作製. 基礎歯科医学会; 2009/09/11 72(1): 34. 新潟市
5. 岡村 友玄 西川 哲成, 益野 一哉, 田中 昭男 他. (7名、6番目) ヒト歯髄由来培養細胞における高濃度グルコースの影響. 日本臨床分子形態学会; 2009/09/05. 神戸市
6. 川中 彩子, 西川 哲成, 益野一哉, 田中 昭男 他. (7名、5番目) ヒト歯根膜線維芽細胞に対するエムドゲイン由来ペプチドの作用機序. 日本臨床分子形態学会; 2009/09/05. 神戸市

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕