

平成 28 年 10 月 18 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26893073

研究課題名(和文)分子シャペロン機能を備えたナノゲルによる各組織再生能力の可能性の探究

研究課題名(英文) Analysis on the possibility of various tissue regeneration with the Nanogel possessing a molecular chaperone function

研究代表者

宮原 宇将 (Miyahara, Takayuki)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：30735246

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的として、ナノゲルを利用し、(1)骨組織再生、(2)軟組織再生、(3)神経組織再生のための動物実験を行い、その再生促進効果を遺伝子学的解析法、放射線学的解析法、組織学的解析法を用いて評価することである。(1)骨組織再生として放射線学的解析法の結果、両ナノゲル群における新生骨の量が対照群、コラーゲン膜の群より多かった(統計学的有意差あり)。(2)軟組織再生の組織学的評価の結果として、シリコン膜群、コラーゲン膜群と比較し欠損部の治癒が早かった(統計学的有意差あり)。(3)神経組織再生の評価は今後行っていく予定である。今後、臨床応用を目指して行く予定である。

研究成果の概要(英文)：The purposes of this study were to analyze the gene expression, radiography and histology of nanogel for (1) bone regeneration, (2) soft tissue regeneration, and (3) nerve tissue regeneration. (1) The radiological analysis as bone regeneration revealed that the amount of newly formed bone in both nanogel groups were higher than collagen group (there were significant differences). (2) Histological evaluation of the soft tissue regeneration revealed that the healing of soft tissue in nanogel membrane group was better than that in silicon membrane and collagen one. (3) Evaluation of nerve tissue regeneration will be conducted in our future study. Clinical application will be demanded.

研究分野：インプラント 骨再生

キーワード：骨再生 GBR Nanogel membrane collagen

1. 研究開始当初の背景

近年、疎水化多糖が自己組織的に形成するナノサイズの高分子ゲル(ナノゲル)が分子シャペロン機能を有することから、ドラッグデリバリーシステム(DDS)のナノキャリアーとしての有用性が期待されており、様々な分野において、医療材料への応用を目的とした研究が進められている。

Brånemark らが Osseointegration を発見し歯科インプラントに 1965 年ヒトに応用された。その後、表面性状の改変もあり、インプラント治療の予後は良くなったが長期予後はインプラント埋入時の母床骨の状態に大きく依存する。そこで、抜歯後の骨吸収の進行を止める目的として、実際の臨床ではリッジオギュメンテーションといった頬側束板骨の保存を試みる方法も多くとられている。しかしながら、抜歯後長く放置した部位は骨吸収が進み、サイナスリフト、ソケットリフトといった骨移植を必要とすることがある。また、インプラントを埋入時、頬側の骨量が十分では無くインプラント表面が露出してしまふような場合は、Guided Bone Regeneration (GBR) といった膜を用いた骨再生を必要とすることがある。また、インプラント治療の一環として軟組織移植(CTG, FGG)が必要とされることもある。

一方、インプラントの一次手術において下顎臼歯部のドリリング時に下顎管を損傷してしまうと麻痺が生じる。いったん麻痺が生じてしまうとその侵襲の段階にもよるが、QOL は著しく低下する。

このようにインプラント治療では軟組織と硬組織のマネージメントが必要とされる。軟組織と硬組織の再生医療が時に要求される。

我々は分子シャペロン機能を備えたナノゲルを用いて膜を作製し GBR 膜として使用出来ないか動物実験を行ってきた。従来のナノゲルはウェットタイプであり、このウェットタイプのナノゲルを用いて膜を作製し、ラット頭蓋骨欠損モデルにおいて、その GBR 膜として有効であると確認し、報告した(Miyahara et al., 2012)。しかしながら、ウェットタイプの問題点として、保存期間、保存状態が問題となってくる。この難点の克服として乾燥タイプのナノゲル発明も期待されていた。

2. 研究の目的

本研究の目的として、分子シャペロン機能を備えたナノゲルを利用し、(1) 骨組織再生、(2) 軟組織再生、(3) 神経組織再生のための動物実験系の構築、及びその再生促進効果を遺伝子学的解析法、放射線学的解析法、組織学的解析法を用いて評価することである。また従来のナノゲルはウェットタイプでありこれは臨床応用を考慮した場合、長期保管が難し

いの難点であった。この難点の克服として乾燥タイプの発明も目的の1つとした。

(1) 骨組織の再生においてはラット頭蓋骨欠損モデルを用いて、改良型ドライタイプを従来型のナノゲル(ウェットタイプ)、コラーゲン膜、対照群と比較評価することである。

(2) 軟組織の再生においてはラット背部表皮に 12mm 直径の欠損モデルを作成し、その部位に対し下記3つの群、従来型ウェットタイプナノゲルをコートしたシリコンシート、コラーゲン膜をコートしたシリコンシートと対照群(シリコンシートのみ)で被覆し治療を評価した。

(3) 神経組織の再生においてはラット大腿神経断絶モデルを使用しグラフトを使用しモデル作成を考案する

3. 研究の方法

東京医科歯科大学動物実験倫理委員会の承認を得た。

(1)骨組織再生として Wistar 系雄性ラット(16w)の頭蓋骨頭頂部に左右対称に生理食塩水注水下、直径 5mm のトレフィンバーで骨欠損を作製し、コラーゲンメンブレン群、ナノゲルメンブレン群(ウェットタイプ、改良型ドライタイプ)、対照群の4つに分け観察期間を4週間とした。4週間後、放射線学的解析法、組織学的解析法を用いて評価した。

(2)軟組織再生として Wistar 系雄性ラット背部に 12mm 直径の欠損モデルを作成、そこにナノゲルでコーティングしたシリコン膜、コラーゲンでコートしたシリコン膜をおいた。観察期間を7日目、14日目として軟組織の治療を組織学的に評価した。

(3) 神経組織再生として Wistar 系雄性ラットの下肢神経を切断モデルを考案した。実験群として局所麻酔下で皮膚を切開し筋組織を鈍的に剥離し下肢神経を 6mm 切断し $\phi 1\text{mm} \times 10\text{mm}$ の中空グラフトを置き内部に神経を入れグラフトと神経を縫合した。対照群として同様に下肢神経を 6mm 切断しそのまま、表皮を縫合した。

今回は実験の方法とグラフトの作製及びナノゲルのコート方法の検討を目的とした。

4. 研究成果

(1)骨組織再生として放射線学的解析法の結果、両ナノゲル群における新生骨の量が対照群、コラーゲン膜の群より多かった(統計学的有意差あり)。また μCT の画像では新生骨の表面性状はコラーゲン膜群では粗造であ

ったがナノゲル群においてはスムーズであった。一方、組織学的解析法ではナノゲルの群の新生骨はコラーゲンのものと比較し母床骨と同等の性質が観察された。改良型ドライナノゲルメンブレン(ドライタイプ)による新生骨量及び骨質は従来型のナノゲル(ウェットタイプ)と同等であった。

上記結果より従来のウェットタイプと同等の新生骨の再生が確認できた。

(2)軟組織再生の組織学的評価の結果として、ナノゲルをコートしたシリコンシート群はコラーゲン膜をコートしたシリコンシート群及び対照群と比較し欠損部の治癒が早かった(統計学的有意差あり)。

(3)神経組織再生の評価は今後行っていく予定であるが行動観察及び組織学的評価を予定している。

各々、上記動物実験において、良好な結果が得られた後、臨床応用を目指して行く予定である。その際クリニカルハンドリングに優れている必要がある。現在臨床応用を目指し、このクリニカルハンドリングの向上のため2液をミックスすることのできるシリンジを検討中である。

このようなクリニカルハンドリングを向上させることにより臨床の現場でのチェアタイムや手術時間が短縮される。

分子シャペロン機能を備えたナノゲルを用いてインプラント治療を行うことにより治療期間が短縮し、破折あるいは歯周病などで失った歯をインプラントで回復し咀嚼効率の向上を図ることにより国民のQOL(Quality of life)は向上すると期待される。

今後はこのナノゲルの可能性をさらに広げ臨床応用を目的として研究を継続したいと考えている。

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 2 件)(すべて査読あり)

①Kusumoto Y, Tachikawa N, Munakata M, Miyahara T, Kasugai S. Lateral Bone Window Closing Technique with Poly-L-Lactic Acid (PLLA) Membrane in the Augmentation of the Maxillary Sinus without Grafting Material: Evaluation of Bone Healing in a Rabbit Model. Clin Implant Dent Relat Res. 2016 Apr;18(2):261-9. doi: 10.1111/cid.12293.

②Maeda 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. 2015 Nov 25.
doi:10.1002/jbm.b.33571.

〔学会発表〕(計 3 件)

①T. Miyahara, Dental Implant Treatment in Esthetic Region, The 36th Myanmar Dental Conference and 17th FDI-MDA Joint Educational Meeting, 26-30, Jan, 2016, Yangon, Myanmar.

②T. Miyahara, M. Fujii, T. Fujimori, J. Hamaguchi, T. Fujimori, M. Shiota, S. Kasugai, Extraction Site Management with Apatite Fiber Material : Clinical study. European Association for Osseointegration 23-26.Sep.2015. Stockholm Sweden

③T. Miyahara, M. Fujii, T. Fujimori, M. Shiota, S. Kasugai, Novel material consisted of Apatite fiber for Ridge preservation. European Association for Osseointegration 25-27.Sep.2014. Roma. Italy.

6. 研究組織

(1)研究代表者

宮原 宇将 (Takayuki MIYAHARA)
東京医科歯科大学
歯学部附属病院・医員
研究者番号：70161049

(2)研究協力者

春日井 昇平 (Shohei KASUGAI)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科
教授
研究者番号：70161049

塩田 真 (Makoto SHIOTA)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科
准教授
研究者番号：90196353

立川 敬子 (Noriko TACHIKAWA)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科
講師
研究者番号：70236537

黒田 真司 (Shinji KURODA)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科
助教
研究者番号：50323689

中田 秀美 (Hidemi NAKATA)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科
助教
研究者番号：30451967

秋吉 一成 (Kazunari AKIYOSHI)

京都大学工学研究科高分子化学専攻

教授

研究者番号：90201285

下田 麻子(Asako SHIMODA)

京都大学工学研究科高分子化学専攻

研究者番号：90712042

橋本 良秀(Yoshihide HASHIMOTO)

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所

生体機能修復研究部門 物質医工学分野

助教

研究者番号：40638384