

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11314

研究課題名(和文)多孔質セラミックスを用いた高機能培養骨の骨形成メカニズムの解明と臨床応用への検討

研究課題名(英文) The Bone Regenerative effect of Osteoblasts on Novel Hydroxyapatite Ceramics and Study for Clinical application

研究代表者

多田 美里(平岡)(TADA, MISATO)

広島大学・病院(歯)・歯科診療医

研究者番号：40572326

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：連通気孔を有する多孔体HAセラミックス骨補填材(Interconnected Porous Calcium Hydroxyapatite；以下IP-CHA)は、骨芽細胞の足場の担体として有用であること、またIP-CHA/骨芽細胞複合体は生体親和性および骨伝導能を有し、早期の骨組織再生を促進すること、さらに、IP-CHA/骨芽細胞/TGF- β 複合体ではより早期に新生骨形成を認めることをこれまでに報告してきた。今回、IP-CHA/骨芽細胞/各種成長因子複合体による骨形成分子機構を明らかにすることで、より理想的な骨再建材料を開発し、骨再建治療における臨床応用へと発展する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Interconnected Porous Calcium Hydroxyapatite (IP-CHA) is an excellent ceramic for use in bone tissue engineering because of its fully interconnected porous structure, which allows osteoblasts dispersion and supports their osteogenic differentiation. This study provided biochemical evidence that IP-CHA/osteoblasts composite and IP-CHA/osteoblasts/growth factors composite could enhance osteogenic potential. It was strongly suggested that IP-CHA was a useful biomaterials for bone tissue regeneration.

研究分野：口腔外科学

キーワード：多孔質セラミックス 骨再建材料 骨芽細胞 ハイドロキシアパタイト

1. 研究開始当初の背景

骨欠損部の再建や骨造成において、自家骨移植が確実な方法として広く行われているが、骨採取手術の必要性、採取骨量の制限、術後の移植骨の吸収などの問題点があり、現在自家骨移植に代わる各種生体材料の開発が盛んに行われている。特にハイドロキシアパタイト (HA) などの生体活性セラミックスは、機械的強度と細胞接着性を有し、その中でも連通気孔を有する多孔体 HA セラミックス骨補填材 (Interconnected Porous Calcium Hydroxyapatite ; 以下 IP-CHA (NEOBONE®)) は、平均気孔径 150 μ m、平均連通孔径 40 μ m、平均気孔率 75%で、その連通多孔構造により気孔内深部まで細胞が速やかに侵入することができ、従来の多孔体 HA に比べ優れた骨伝導能、骨形成能を示す。また顎骨再生において、顎骨形態の回復だけでなく咬合・咀嚼機能の再建が最終目標であり、失われた咬合の獲得には現状ではインプラント治療が最も有利であるため、インプラント体と良好な osseointegration が獲得・維持できる生体材料が必要である。当病院にて顎骨欠損部の補填に対する NEOBONE® の臨床治験を行い、2010 年 1 月に国内で唯一のインプラント埋入時を含む歯科領域の骨補填材として厚生労働省から薬事承認 (医療機器承認番号 21500BZZ0031500) を得ており、さらに当科でインプラント治療を目的とした NEOBONE® 顆粒による顎骨造成を行った結果、良好な骨形成と osseointegration を得た (Shigeishi H, Takechi M et.al: Dent. Mater. J, 2012) (Ninomiya Y, Takechi M et.al: J.J.Maxillo.Fac.Impl, 2011)。

また最近では、組織再生の主要因子である scaffold や細胞ならびに成長因子を応用し、tissue engineering による培養人工骨による骨再生の研究が盛んに行われ、自家骨移植に代わる骨再生法として期待されている。申請者は、これまで IP-CHA がヒト顎骨骨芽細胞に及ぼす影響を細胞生物学的に検討し、IP-CHA の表面性状は、ヒト顎骨骨芽細胞の接着、増殖に適していること、IP-CHA の連通多孔構造は骨芽細胞の増殖、分化を支持すること、IP-CHA は骨芽細胞の足場の担体として有効に機能することを報告してきた (Hiraoka M. et.al: Arch of Asian BioCeramics Res, 2007)。また、IP-CHA と骨芽細胞による培養人工骨の臨床応用を目的として、IP-CHA とラット骨芽細胞複合体を作製し、ラット脛骨骨欠損モデルを用い IP-CHA と骨芽細胞複合体の骨形成能や骨形成過程について組織学的、細胞生物学的に検討し、IP-CHA/骨芽細胞複合体は優れた生体親和性および骨伝導性を有し、早期の骨組織再生を促進することを報告してきた (第 53

回日本口腔外科学会総会、第 29 回日本バイオマテリアル学会)。また、ラット皮下埋入実験により IP-CHA/骨芽細胞複合体の異所性骨形成能を確認し、さらに IP-CHA/骨芽細胞/TGF- β 1 (Transforming growth factor- β 1) 複合体では早期に新生骨形成を認め、TGF- β 1 などの成長因子は、ヒト顎骨骨芽細胞の培養初期の増殖・分化を促進し、*in vivo* においても培養骨芽細胞による骨形成に影響を及ぼすことを明らかにしてきた (Hiraoka M, et.al: Arch of BioCeramics Res, 2009)。

2. 研究の目的

自家骨移植に代わる骨再生法として、これまで我々は多孔質セラミックス (IP-CHA) と骨芽細胞の培養人工骨が有用であること、また培養人工骨における各種成長因子の骨形成促進作用を報告してきた。本研究では、IP-CHA/骨芽細胞/成長因子複合体による培養人工骨の骨形成メカニズムを細胞、遺伝子レベルで解明し、培養骨芽細胞のみならず既存骨内の細胞の骨形成促進制御分子やその受容体の遺伝子発現変化と骨形成への関与について検索することで、高機能性生体材料の作製と臨床応用への検討を目的とする。また、培養人工骨とチタンインプラントとの骨形成や osseointegration について、組織学的また分子生物学的に検討することで、顎骨再建だけでなく咬合・咀嚼機能の獲得を目的とした再生医療の確立と、より理想的な骨再生材料および骨再生誘導法の開発への検討を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

平成 27 年度は、IP-CHA/骨芽細胞/各種成長因子複合体におけるヒト骨芽細胞の増殖・分化マーカーの発現について検討を行い、各種成長因子により細胞内分子と細胞内シグナル伝達系がどのように普遍的、特異的な作用をきたして骨芽細胞の増殖、分化を制御しているかを検討し、より最適な複合体を作製した。

平成 28 年度以降は、動物骨欠損モデルに IP-CHA/骨芽細胞/成長因子複合体を埋入し、特異的遺伝子発現の解析、また蛋白の発現および局在を同定し、培養骨芽細胞のみならず既存骨内の細胞の骨形成促進制御分子やその受容体の遺伝子発現変化と骨形成への関与について検討した。さらに、形成された骨組織の機械的強度、周囲組織に対する親和性、また骨形成速度について組織学的、X 線学的評価を行った。

4. 研究成果

平成 27-28 年度は、IP-CHA/骨芽細胞/各種成長因子複合体におけるヒト骨芽細胞の増殖・分化マーカーの発現について検討を行い、TGF- β 1 などの成長因子は、ヒ

ト顎骨骨芽細胞の培養初期の増殖・分化を促進し、培養骨芽細胞による骨形成に影響を及ぼすことを明らかにした。また、各種成長因子により細胞内分子と細胞内シグナル伝達系がどのように普遍的、特異的な作用をきたして骨芽細胞の増殖、分化を制御しているかを検討し、より最適な複合体を作製するための検討を行った。

平成 29 年度は、作製した IP-CHA/骨芽細胞/成長因子複合体における特異的遺伝子発現の解析、また蛋白の発現および局在を同定し、培養骨芽細胞のみならず既存骨内の細胞の骨形成促進制御分子やその受容体の遺伝子発現変化と骨形成への関与について検討し、IP-CHA/骨芽細胞/成長因子複合体は、優れた生体親和性および骨伝導能を有し、早期の骨組織再生を促進することを明らかにした。

骨形成に関わるシグナル伝達系として、MAPK カスケード、Smad、Wnt シグナリングが明らかとなっており、これらの伝達系はストロークして骨形成は複雑なネットワークで制御されている。IP-CHA における培養骨の骨代謝に関する成長因子の役割の解析は、今後、骨疾患の病態解明や治療にも貢献できると考える。また本研究では、IP-CHA/骨芽細胞/成長因子複合体による培養人工骨の骨形成メカニズムを細胞、遺伝子レベルで解明し、培養骨芽細胞のみならず既存骨内の細胞の骨形成促進制御分子やその受容体の遺伝子発現変化と骨形成への関与について検索し、培養人工骨と成長因子の臨床応用に基礎的な裏付けがなされ、より効果的、理想的な骨誘導法による生体材料設計に寄与すると考えられる

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 4 件)

Ohta K, Tada M, Ninomiya Y, Kato H, Ishida F, Abekura H, Tsuga K, Takechi M.

Application of interconnected porous hydroxyapatite ceramic block for onlay block bone grafting in implant treatment: A case report.

xp Ther Med. 2017 Dec;14(6):5564-5568. doi: 10.3892/etm.2017.5224. (査読有)

Rahman MZ, Shigeishi H, Sasaki K, Ota A, Ohta K, Takechi M.

Combined effects of melatonin and FGF-2 on mouse preosteoblast behavior within interconnected porous hydroxyapatite ceramics - in vitro analysis.

J Appl Oral Sci. 2016 Apr;24(2):153-61. doi: 10.1590/1678-775720150606. (査読有)

Takechi M, Ninomiya Y, Ohta K, Tada M, Sasaki K, Rahman MZ, Ohta A, Tsuru K, Ishikawa K.

Effects of Apatite Cement Containing Atelocollagen on Attachment to and Proliferation and Differentiation of MC3T3-E1 Osteoblastic Cells.

Materials (Basel). 2016 Apr 13;9(4). pii: E283. doi: 10.3390/ma9040283. (査読有)

多田美里, 二宮嘉昭, 太田耕司, 武知正晃.
顎堤高度吸収症例に連通多孔体ハイドロキシアパタイトを使用し骨造成を行った 1 例. 日本顎顔面インプラント学会誌. 14(2), 87-92, 2016. (査読有)

〔学会発表〕(計 9 件)

多田美里, 二宮嘉昭, 小野重弘, 太田耕司, 武知正晃.

連通多孔体ハイドロキシアパタイトを用いた骨造成に関する臨床的検討 第 2 報.

第 21 回日本顎顔面インプラント学会総会・学術大会 (2017 年)

室積博, 太田耕司, 二宮嘉昭, 中川貴之, 多田美里, 佐々木和起, 加藤大喜, 武知正晃.

口腔顎顔面外傷患者のインプラント治療に関して連通多孔体ハイドロキシアパタイトを用いた骨造成の臨床的検討.

第 36 回日本口腔インプラント学会中国・四国支部学術大会 (2016 年).

二宮嘉昭, 石田扶美, 太田耕司, 多田美里, 武知正晃.

エナメル上皮腫摘出後にインプラント埋入と同時に NEOBONE 顆粒を使用した GBR の 1 例.

第 61 回日本口腔外科学会総会・学術大会 (2016 年).

二宮嘉昭, 小野重弘, 太田耕司, 中川貴之, 多田美里, 石田扶美, 武知正晃.

エナメル上皮腫摘出後の患者に対して GBR を用いてインプラント治療を行った 1 例.

第 20 回日本顎顔面インプラント学会総会・学術大会 (2016 年).

二宮嘉昭, 小野重弘, 多田美里, 中川貴之, 武知正晃.

連通多孔体 (HA) を使用した上顎洞底挙上術における組織学的検討.

第 19 回日本顎顔面インプラント学会総会・学術大会 (2015 年).

多田美里, 二宮嘉昭, 太田耕司, 中川貴之, 小野重弘, 武知正晃.

連通多孔体ハイドロキシアパタイトを用いた骨造成に関する臨床的検討.

第 19 回日本顎顔面インプラント学会総会・学術大会 (2015 年).

中川貴之, 太田耕司, 二宮嘉昭, 多田美里, 石田扶美, 小野重弘, 武知正晃.

当科においてインプラント治療のために連通多孔体ハイドロキシアパタイト骨補填材を用いた骨造成法についての臨床的検討.

第 45 回日本口腔インプラント学会学術大会

(2015年).

石田扶美, 二宮嘉昭, 多田美里, 中川貴之,
武知正晃.
連通多孔体ハイドロキシアパタイト骨補填
材を使用した上顎洞底挙上術における組織
学的検討.

第45回日本口腔インプラント学会学術大会
(2015年).

二宮嘉昭, 武知正晃, 高本愛, 太田耕司,
中川貴之, 多田美里.

NEOBONE と吸収性メッシュを顎堤萎縮症
例に使用した骨造成の1例.

第60回日本口腔外科学会総会・学術大会
(2015年).

〔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

多田 美里 (TADA MISATO)
広島大学・病院(歯)・歯科診療医
研究者番号: 40572326

(2) 研究分担者

武知 正晃 (TAKECHI MASA AKI)
広島大学・医歯薬保健学研究科(歯)
・准教授
研究者番号: 00304535

(3) 研究分担者

二宮 嘉昭 (NINOMIYA YOSHI AKI)
広島大学・病院(歯)・助教
研究者番号: 60335685

(4) 研究分担者

重石英生 (SHIGEISHI HIDEO)
広島大学・医歯薬保健学研究科(歯)
・講師
研究者番号: 90397943