

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11741

研究課題名(和文) 骨形成促進薬併用によるリン酸オクタカルシウム・コラーゲン複合体の骨再生能増強効果

研究課題名(英文) Bone regenerative enhancement effect of octacalcium phosphate collagen composite combined with bone formation promoter

研究代表者

松井 桂子 (MATSUI, KEIKO)

東北大学・歯学研究科・助教

研究者番号：00302159

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：骨再生材料OCP/Collagen 複合体(OCPCoI)の骨再生能増強化のため、骨粗鬆症治療薬の合成副甲状腺ホルモン(テリパラチド)を併用し、骨再生状態を検討した。ビーグル犬5頭の下顎骨を自然治癒不可能な15mm幅で離断、作製した骨欠損部にテリパラチド併用OCPCoIを埋入し6か月間経過観察した。同顎骨離断部に1～2か月でX線不透過像を確認、6か月でX線学的に充分量の骨架橋が形成され、全個体で顎骨離断部位の連続性が回復した。また顎骨離断相当部の口腔内は術前同様の顎堤が維持された。今回、OCPCoIのテリパラチド併用による確実な骨再生が確認でき、臨床応用の一助になり得ることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔外科領域の顎骨再建では腸骨や腓骨等自家骨が移植されるが、骨採取の二次的的外科侵襲の回避、採骨量の制限解除を目標として材料単独使用による顎骨再建が希求される。OCP/Collagen複合体(OCPCoI)は、厚生労働省より製品化承認済であり、その骨再生能は各種人工的骨欠損モデルによって検証してきたが、イヌ下顎骨離断部位へのOCPCoI単独埋入において、顎骨の連続性回復状態が不安定であった。今回、骨粗鬆症治療薬のテリパラチド併用により100%の確率で骨再生が確認できたことは、骨再生材料と薬剤併用という簡便な方法での顎骨再建の可能性を実証したものであり、ヒト臨床応用上の利益となり意義がある。

研究成果の概要(英文)：A synthetic parathyroid hormone (Teriparatide), which is a therapeutic drug for osteoporosis, was used to enhance the bone regenerative ability of the bone substitute material OCP/Collagen composite (OCPCoI) and to evaluate the bone regeneration status. The mandibular bones of five Beagle dogs were resected with a width of 15 mm, a size that would not be able to heal naturally. OCPCoI disks combined with Teriparatide were implanted into the prepared bone defects and observed for 6 months. Radiopaque regions were confirmed radiographically in the mandibular dissection after 1 to 2 months, and sufficient amount of bone bridges were formed in 6 months. The continuity of the resected mandibular bone was restored in all cases. In the oral cavity, the jaw ridges of the resected regions were restored to the pre-operative status. Therefore, we confirmed that bone regeneration using OCPCoI in combination with Teriparatide could be helpful for clinically.

研究分野：外科系歯学

キーワード：リン酸カルシウム系生体材料、リン酸オクタカルシウム(OCP) OCP/collagen 複合体 骨再生材料 骨形成促進薬 テリパラチド ビーグル犬 下顎骨離断

1. 研究開始当初の背景

東北大学で開発された骨再生材料リン酸オクタカルシウム ($(Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O)$: octacalcium phosphate ; OCP) とブタ皮膚由来アテロコラーゲンとの複合体, OCP/Collagen複合体 (OCPCoI) を用いてビーグル犬の各種人工的骨欠損モデルにおいて優秀な骨再生能を検証してきた。

平成16～19年度科学研究費補助金(課題番号: 16591979)によって, ビーグル犬頭蓋冠上直径20mmの臨界骨欠損への埋入実験を行い, 埋入後6か月で骨再生されることを確認した¹⁾。また, 同一犬で上顎右側第3切歯拡大抜歯窩への埋入実験を行い3か月後に材料を埋入しないコントロール側に比べて顎堤形態が良好に保持されることを確認した²⁾。さらに二期的な人工的顎裂部への埋入実験では, 4か月で十分な骨架橋が形成され口腔内も良好な顎堤が形成されることを確認した³⁾。その後平成21～23年度(課題番号: 21592568)には, 未萌出永久歯を有する乳歯列期のビーグル幼犬で, 早期に下顎乳臼歯を抜去した抜歯窩へOCPCoIを埋入し, 抜歯窩に新生された骨組織内へ後続永久歯が自然萌出することを確認した⁴⁾。継続して平成24～27年度(課題番号: 24593045)では, 口腔外科の臨床上最も多く行われる普通抜歯処置を想定し, ビーグル犬下顎臼歯の抜歯窩にOCPCoIを応用し止血効果を確認するとともに, OCPCoIを埋入した抜歯窩を開放創または閉鎖創としても抜歯窩の治癒状態には影響なく使用可能であることを確認した。

このように OCPCoI は優秀な骨再生材料であり, ヒト臨床応用のための企業主導治験が終了し, 2019年5月, 厚生労働省から歯科口腔外科領域における骨欠損部への適用, 製品化が承認されている。

ところで, 本研究グループで作製した人工的骨欠損モデルのなかで, 最難関となる骨欠損形態である下顎骨の区域切除を行った実験系において, 顎骨離断部位に OCPCoI を単独応用した場合の骨再生状態, 骨片同士の連続性回復率が50%であった(参考図)。実験時の不具合もあったが, 臨床応用するには安定した成績とは言えず, 骨形成のため改善の余地があると考えた。

現在整形外科領域において骨粗鬆症の治療薬として臨床応用されている, ヒト副甲状腺ホルモンの1～34アミノ酸に相当する遺伝子組み換えペプチド, すなわちテリパラチドは, 骨形成促進効果が確認されている。そこで, OCPCoI 単独では充分かつ確実な骨再生が不安定と思われる人工的顎骨離断の骨欠損モデルにおいて, 採血や細胞培養など煩雑な事前準備を必要としない, 既存の薬剤テリパラチドを骨形成促進因子として併用することにより, OCPCoI の骨再生能が増強化され得るかを検証するために本研究を立案した。

参考文献)

- 1) Tadashi Kawai, Keiko Matsui, et.al.: Reconstruction of critical-sized bone defect in dog skull by octacalcium phosphate combined with collagen. Clin Implant Dent and Relat Res.13(2): 112-123 2011.
- 2) Shinya Iibuchi, Keiko Matsui, et.al.: Octacalcium phosphate (OCP) collagen composites enhance bone healing in a dog tooth extraction socket model. Int J Oral Maxillofac Surg.39:161-168 2010.
- 3) Keiko Matsui, Aritsune Matsui, et.al.: Bone regeneration by Octacalcium phosphate (OCP) collagen composites in a dog alveolar cleft model. Int J Oral Maxillofac Surg.39:1218-1225 2010.
- 4) Naofumi Kanda, Keiko Matsui, et.al.: Implantation of octacalcium phosphate phosphate collagen composites (OCP/Col) after extraction of canine deciduous teeth achieved undisturbed permanent tooth eruption. Archives of Oral Biology.72:179-186 2016.

2. 研究の目的

口腔外科の臨床上, 顎骨欠損はさまざまな疾患により発症し多様な形状, 病態を呈する。大小喪失した骨を固有の解剖学的形態まで還元し, 機能的および審美的に回復させることができず疾患の治療は完全に成功したといえる。

そこで本研究の目的は, 従来第一選択的に自家腸骨移植により再建してきた, 口腔外科領域において大きな骨欠損形態である顎骨離断による骨欠損部へ, 骨再生材料として OCP/Collagen複合体 (OCPCoI) を応用し, 身体への二次的外科侵襲を回避し, 骨再生材料単独使用による確実に顎骨の連続性と解剖学的形態を回復するため, 骨再生促進因子として既存の薬剤併用による OCPCoI の骨再生能増強効果を検討することである。

3. 研究の方法

埋入材料 (図1)

・OCPCoI 複合体 (OCPCoI): 人工合成した OCP を 120 で 2 時間滅菌後, 顆粒径 300~500 μm に調整し, プタ皮膚由来コラーゲン凍結乾燥粉末 (NMP コラーゲン PS; 日本ハム(株)) を溶解した濃縮液に OCP 顆粒を添加・混練したのち, 凍結乾燥して OCPCoI を作製, 熱架橋処理を加え 9mm 径 \times 1.5mm 厚 (OCP:Collagen 重量比 = 77:23) のディスク状に成型, 電子線照射 (22kGy) 滅菌し埋入材料とした。

・テリパラチド [TPTD: 副甲状腺ホルモン parathyroid hormone: PTH(1-34)] : 56.5 μg のテリボン® を 1ml の生理食

塩水に溶解し, 注射シリンジから OCPCoI ディスク 30 枚に均等に滴下して浸潤させ埋入材料とした。

実験動物

・成犬 (Narc ビーグル: , 平均 18 か月齢, 体重 12.3kg), 5 頭使用。



図1 OCPCoI 複合体

【実験方法】

静脈麻酔下に下顎左側第 1~第 4 前臼歯 (P1~4) を 4 本抜去し, 3 か月の治癒期間経過後, 二期的に同部の下顎骨体に対して自然治癒不可能な骨欠損として, 近遠心径 15mm 幅で下顎骨を離断し区域切除の骨欠損を作製した (図 2)。

同骨欠損内部に TPTD 播種した OCPCoI を 30 枚埋入。埋入後から 1 か月毎に 6 か月まで, 口腔内経過観察および口内 X 線写真撮影を行い, 経過観察終了後に摘出した下顎骨標本の軟 X 線写真および μ -CT 撮影し, X 線学的に骨再生を評価した。

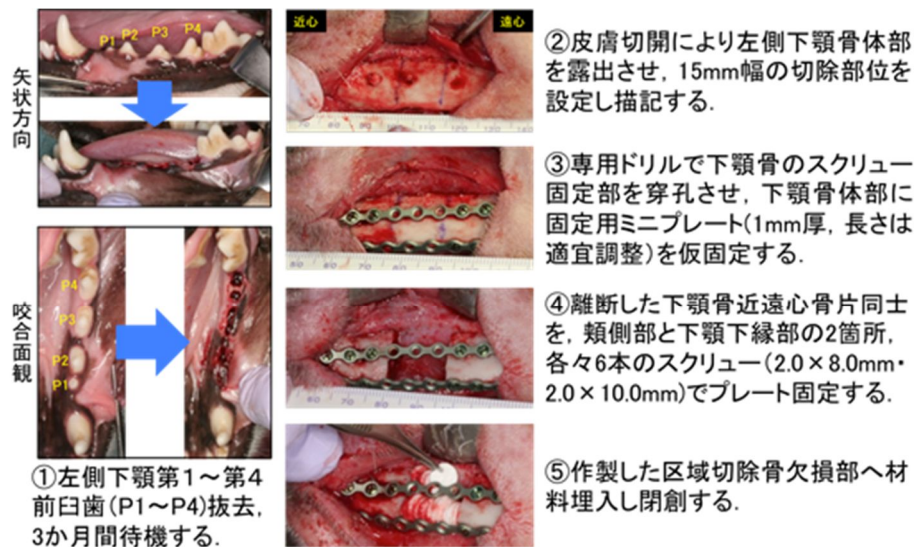


図2 OCPCoIの下顎骨区域切除部への埋入実験概要

口内 X 線写真: PORT-X (MORITA): 60kv, 2mA, 0.08sec~2.00sec。

インスタントフィルム (D 感度: 標準・咬合; (株) 阪神技術研究所) で撮影後, 所定の現像処理。

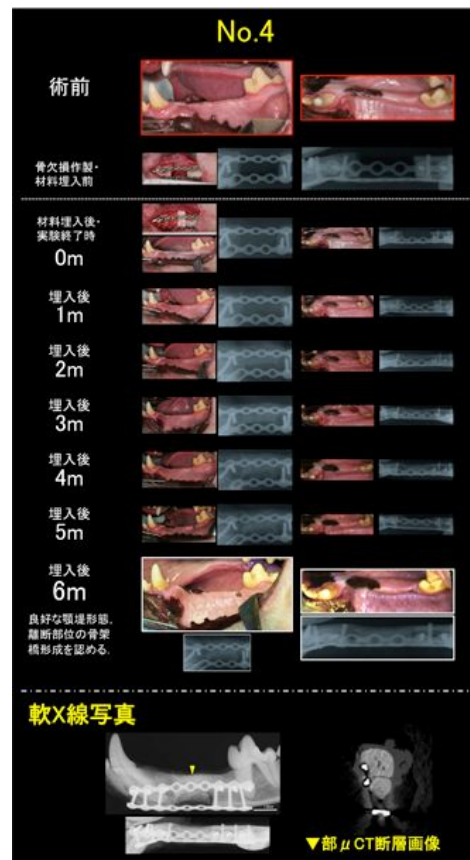
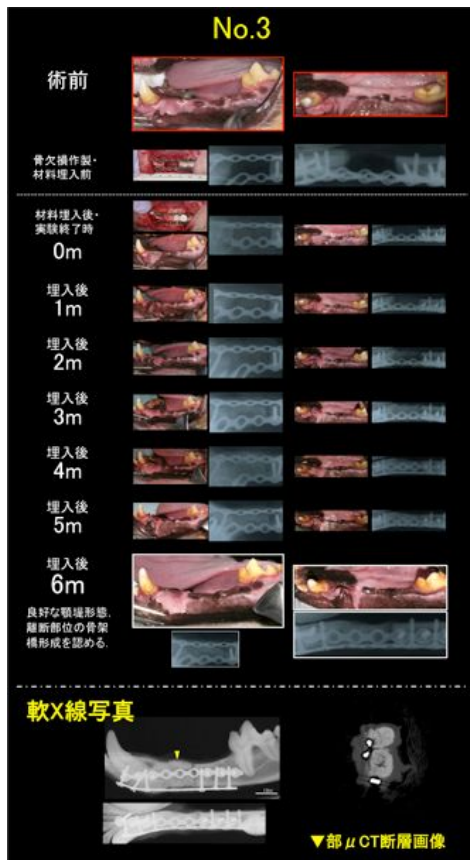
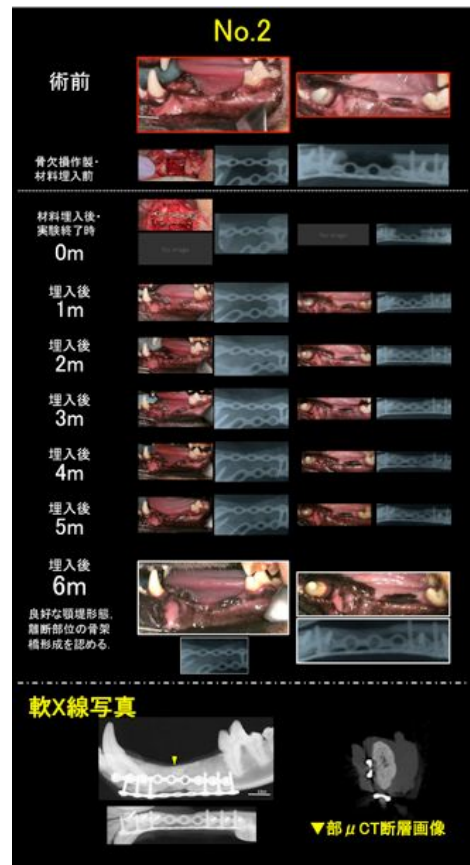
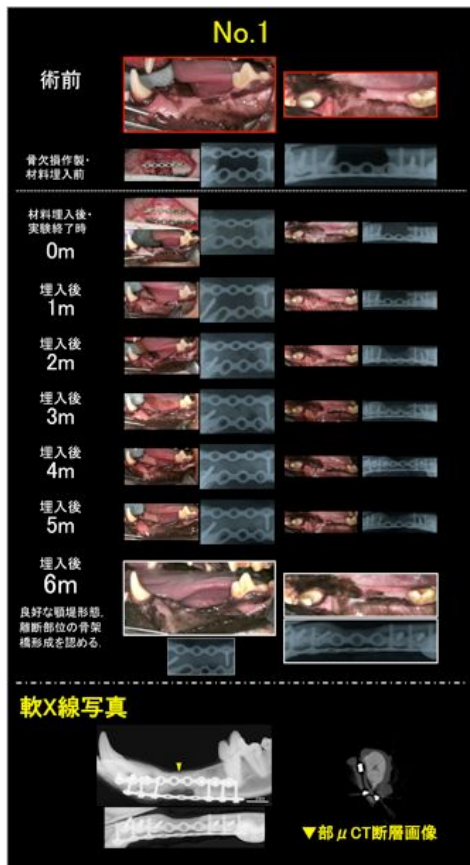
軟 X 線写真: Softex M 60 (Softex Co., Ltd. Ebina, Kanagawa, Japan): 60kV, 1.5mA, 120sec。

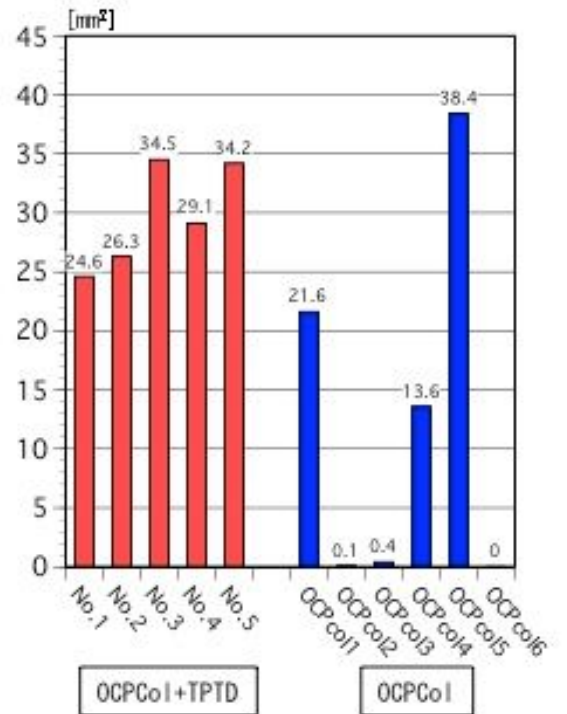
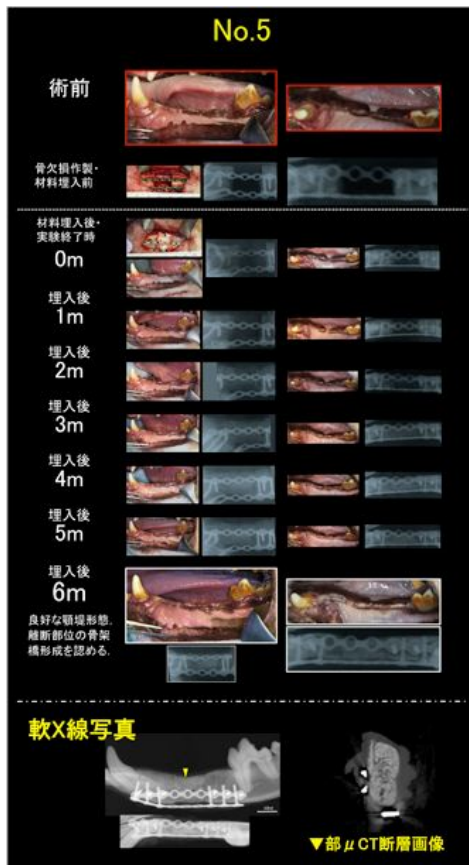
μ -CT: in vivo micro CT system (Latheta LCT 200; Hitachi Aloka Medical, Tokyo, Japan)。

50kVp. 500 μA . 3.6ms, スライス幅: 240 μm , スライス厚: 240 μm , ピクセルサイズ: 120 μm 。

4. 研究成果

経時的口腔内写真・X線写真(矢状・頬舌方向/咬合面観・軸位)・軟X線写真・μ-CT画像





参考図：中央付近断層画像 骨架橋面積

【結論・まとめ】

ビーグル犬の下顎骨を離断して自然治癒不可能な 15mm 幅の区域切除骨欠損を作製し、骨粗鬆治療薬として化学合成されたテリパラチドを併用した OCPCoI を埋入、6 か月間経過観察し、X 線学的に評価した。

1. 離断した下顎骨欠損部に 1 ないし 2 か月で X 線不透過像が確認され、6 か月時には X 線学的に充分量の骨架橋形成により、全個体で顎骨離断部位の連続性が回復した。
2. μ -CT 断層画像において、顎骨離断部の中央付近において充分な骨再生がみられた。参考図に同部の面積を示した（OCPCoI 単独埋入では骨架橋形成されない個体があった）。
3. 下顎骨離断相当部の口腔内においては、術前に劣らぬ良好な顎堤が形成された。

以上より、OCPCoI に既存の骨形成促進薬であるテリパラチドを併用することで、確実に、かつ充分量の骨が再生することを確認した。

本研究結果は、今後 OCPCoI 臨床応用上の一助になり得ることを示唆するものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kajii Fumihiko, Iwai Atsushi, Tanaka Hidenori, Matsui Keiko, Kawai Tadashi, Kamakura Shinji	4. 巻 106(5)
2. 論文標題 Shingle-dose local administration of teriparatide with a octacalcium phosphate collagen composit enhances bone regeneration in a rodent critical-sized calvarial defect.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Biomed Mater Res B Appl Biomater	6. 最初と最後の頁 1851-1857
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Atsushi Iwai, Fumihiko Kajii, Hidenori Tanaka, Kazuo Sasaki, Keiko Matsui, Tadashi Kawai, Shinji Kamakura	4. 巻 24
2. 論文標題 Bone regeneration by freeze-dried composite of octacalcium phosphate collagen and teriparatide	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oral Dis	6. 最初と最後の頁 1514-1521
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kouketsu A, Matsui K, Kawai T, Ezoe Y, Yanagisawa T, Yasuda A, Takahashi T, Kamakura S.	4. 巻 14(1)
2. 論文標題 Octacalcium phosphate collagen composite stimulates the expression and activity of osteogenic factors to promote bone regeneration.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Tissue Eng Regen Med	6. 最初と最後の頁 99-107
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawai Tadashi, Kamakura Shinji, Matsui Keiko, Fukuda Masayuki, Takano Hiroshi, Iino Mitsuyoshi, Ishikawa Shigeo, Kawana Hiromasa, Soma Tomoya, Imamura Eisaku, Kizu Hideki, Michibata Aya, Asahina Izumi, Miura Keiichiro, Nakamura Norifumi, Kibe Toshiro, Suzuki Osamu, Takahashi Tetsu	4. 巻 11
2. 論文標題 Clinical study of octacalcium phosphate and collagen composite in oral and maxillofacial surgery	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Tissue Engineer	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鎌倉慎治, 梶井文彦, 岩井敦史, 田中秀典, 川井 忠, 松井桂子
2. 発表標題 リン酸オクタカルシム・コラーゲン複合体への副甲状腺ホルモン局所単回投与による骨再生能向上.
3. 学会等名 第16回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Fumihiko Kajii, Atsushi Iwai, Hidenori Tanaka, Keiko Matsui, Tadashi Kawai, Shinji Kamakura
2. 発表標題 Single-dose local administration of parathyroid hormone (1-34) with octacalcium phosphate collagen composites enhances bone regeneration in rodent critical-sized calvarial defect.
3. 学会等名 2017 TERMIS-EU
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shinji Kamakura, Fumihiko Kajii, Atsushi Iwai, Hidenori Tanaka, Keiko Matsui, Tadashi Kawai
2. 発表標題 Single-dose local administration of teriparatide with a octacalcium phosphate collagen composite enhances bone regeneration in a rodent critical-sized calvarial defect.
3. 学会等名 bone-tec 2017 (International Bone-Tissue-Engineering Congress)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鎌倉慎治, 岩井敦史, 梶井文彦, 田中秀典, 川井 忠, 松井桂子
2. 発表標題 リン酸オクタカルシウム・コラーゲン・テリパラチド複合体による骨欠損修復.
3. 学会等名 第17回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinji Kamakura, Atsushi Iwai, Fumihiko Kajii, Hidenori Tanaka, Kazuo Sasaki, Keiko Matsui, Tadashi Kawai
2. 発表標題 New Freeze-Dried Bone Regenerative Material consisting of Octacalcium Phosphate Collagen and Teriparatide .
3. 学会等名 2018 TERMIS World Congress
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 A. Iwai, F. Kajii, H. Tanaka, K. Sasaki, K. Matsui, T. Kawai, S. Kamakura
2. 発表標題 New freeze-dried bone regenerative material consisting of octacalcium phosphate collagen composite and teriparatide .
3. 学会等名 24th Congress of the European Association for Cranio Maxillo Facial Surgery
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松井桂子, 鎌倉慎治, 川井 忠, 江副祐史, 柳沢俊樹, 高橋 哲
2. 発表標題 骨形成促進薬併用によるリン酸オクタカルシウム・コラーゲン複合体の骨再生能増強効果
3. 学会等名 第63回(公社)日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松井桂子, 鎌倉慎治, 川井 忠, 江副祐史, 柳沢俊樹, 安田彩人, 高橋 哲
2. 発表標題 テリパラチドを局所併用した各種骨再生材料によるイヌ下顎骨離断部の骨再生
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 瀧澤 衆, 松井桂子, 川井 忠, 江副祐史, 柳沢俊樹, 安田彩人, 高橋 哲, 鎌倉慎治
2. 発表標題 ラット頭蓋骨欠損に埋入されたリン酸オクタカルシウム/ Collagen複合体の骨再生能に関する免疫組織学的評価
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keiko Matsui, Tadashi Kawai, Yushi Ezoe, Toshiki Tanagisawa, Ayato Yasuda, Tetsu Takahashi, Shinji Kamakura
2. 発表標題 Single-Dose Local Administration of Teriparatide with Octacalcium Phosphate Collagen Composites Achieved Bony Reconstruction after Canine Mandibular Amputation.
3. 学会等名 ECTS 2019, the 46th annual meeting of the European Calcified Tissue Society
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鎌倉慎治, 松井桂子, 川井 忠, 江副祐史, 柳沢俊樹, 安田彩人, 高橋 哲
2. 発表標題 Teriparatide局所併用OCP/Collagenによるイヌ下顎骨離断部の骨再生.
3. 学会等名 第41回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	鎌倉 慎治 (KAMAKURA Shinji) (80224640)	東北大学・医工学研究科・教授 (11301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	高橋 哲 (TAKAHASHI Tetsu) (60226850)	東北大学・歯学研究科・教授 (11301)	
研究 分担者	川井 忠 (KAWAI Tadashi) (50547263)	岩手医科大学・歯学部・講師 (31201)	
研究 協力者	江副祐史 (EZOE Yushi)		