

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17H01604

研究課題名(和文) 遺伝子搭載自己組織化ナノデバイスを用いた新規骨再生基質の開発

研究課題名(英文) Gene activated-matrix comprised of self-assemble and multi-functional nano-devise facilitates the bone engineering

研究代表者

朝比奈 泉 (Asahina, Izumi)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・教授

研究者番号：30221039

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では蛋白質ではなく、蛋白質発現遺伝子を移植基質に組み込み、それを効率よく移植組織中の細胞に取り込ませることによって、生理活性を発揮する蛋白質の発現を誘導し、骨再生を促進させることを企図した。期間中の成果として、骨形成因子BMP4をコードするプラスミドDNAを搭載するアニオン性Nanoballを0.001～0.01mgの用量でアテロコラーゲン基質やOCP/コラーゲンに組み込み製造した遺伝子活性化基質が、ラット頭蓋骨欠損における骨誘導に有効性が高いことを見出した。そのため、この条件で作製した遺伝子活性化基質の有効性をイヌの歯槽骨欠損モデルで評価する非臨床研究開発を計画しているところである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新規遺伝子送達体としてのNanoballを遺伝子活性化基質(gene-activated matrix; GAM)に応用する取り組みは、本研究チーム独自の技術を発展させた従来にない独創的・集約的な研究である。Nanoballは、生体内で早期に分解されることなく、凍結保存により長期保存も可能である。そのため、骨再生局所でその機能を効果的に発揮させる技術を開発できれば、従来の人工骨や成長因子などを応用した代替治療製品にない、廉価で安定供給が見込める汎用性の高い骨再生医療製品を創出できる。

研究成果の概要(英文)：This study investigated whether a gene-activated matrix (GAM) composed of nanoballs containing pDNAs encoding BMP4 (pBMP4) could promote bone augmentation. We prepared nanoballs (BMP4-nanoballs) constructed with pBMP4 and dendrigraft poly-L-lysine (a cationic polymer) coated by  $\gamma$ -polyglutamic acid (an anionic polymer) and determined their biological functions in vitro and in vivo. Next, GAMs were manufactured by mixing nanoballs with 2% atelocollagen and  $\beta$ -TCP granules and lyophilizing for bone augmentation. GAMs were then transplanted to rat cranial bone surfaces under periosteum. As results, bone augmentation was clearly recognized for up to 8 weeks in transplanted GAMs containing BMP4-nanoballs. Notably, only 0.001mg of BMP4-nanoballs induced a sufficient volume of new bone, while 1mg of naked pDNAs were required to induce the same level of bone augmentation. These data suggest that applying this anionic vector to appropriate matrices can facilitate GAM-based bone engineering.

研究分野：口腔外科学・再生医学

キーワード：骨再生 遺伝子 ベクター 人工骨基質

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 顎骨・歯槽骨の再生: 顎骨・歯槽骨の再生治療は、現在でも新鮮自家骨移植が gold standard であるが、自家骨の採取は侵襲が大きく、採取量にも限界がある。そのため、われわれは人工骨基質に成長因子の添加や間葉系幹細胞 (MSC) の応用などを進めてきた。しかしながら、例えば BMP 蛋白質は高用量使用時の副作用発現、幹細胞の応用には個人差や培養の不安定さといった課題があり、実際の臨床において自家骨移植以上に standard となり得る有効な骨再生法は開発されていない。

(2) 骨誘導型 GAM の開発: われわれは、蛋白と比較して大量精製が容易で、生体に対する応用に安全性が高いと考えられる plasmid DNA (pDNA) を搭載した骨誘導型 GAM の開発を実施している。骨誘導型 GAM は、PTH 遺伝子を組み込んだコラーゲン基質が最初の報告であるが、現在その遺伝子導入効率の低さを補うため、ウィルスベクターや遺伝子導入試薬の応用が盛んに試されている。しかしながら、これらのベクターや試薬は人体への為害作用から臨床応用が困難である。そのため、われわれは臨床応用が容易な GAM を開発することを目的に、siRNA 等のデリバリーに有効な atelocollagen 基質に BMP4 をコードする pDNA を直接組み込んで移植したところ、直径 9mm のラット頭蓋骨欠損に対して、0.5 ~ 1mg の pDNA 量で一定の骨誘導効果が確認された。しかしながら、ウィルスベクターや導入試薬応用時の pDNA 量 (0.02 ~ 0.1mg) と比較すると、依然として pDNA は高用量である。そのため、人体への応用が容易な遺伝子送達の新規技術を開発・応用することで、少量の DNA による高機能な GAM を開発する必要がある。

(3) 非ウィルスベクターの送達デバイス: 近年、pDNA や siRNA に代表される核酸医薬に大きな期待が寄せられているものの、標的とする生体細胞の細胞質や核へ核酸を安全、効率的に送達する手法は確立されていない。その一手段として、非ウィルスベクターの送達デバイスに、polyethylenimine (PEI) といったカチオン性高分子などの応用が盛んに研究されている。これらは、アニオン性の遺伝子に対し、表面がカチオン性に帯電したナノサイズの微粒子を形成する。このようなカチオン性微粒子はアニオン性に帯電した細胞膜と静電的に強く結合し、高い遺伝子送達効果を示す。しかしながら、カチオン性デバイスは、その表面電位に比例して細胞障害性や生体成分との凝集が増大するため、医薬品としての応用が非常に困難である。

(4) 遺伝子搭載自己組織化ナノデバイス (Nanoball): そこで、研究分担者である長崎大学の佐々木らは、 $\gamma$ -polyglutamic acid ( $\gamma$ -PGA) といったある種の生体適合性のアニオン性高分子を用いて、カチオン性微粒子の表面を静電的に被膜することによって、核酸を安全かつ効果的に生体内の細胞へ送達する画期的な新規デバイス“Nanoball”を開発した。Nanoball はアニオン性を示し、細胞膜と静電的に反発するにも関わらず、高い細胞内取り込みを示すばかりか、構成する高分子の種類を変えることで肝臓や肺といった臓器への指向性を付与することができる。さらに、生体分解型の新規カチオン性高分子である dendrigraft poly-L-lysine (DGL) にて pDNA-DGL- $\gamma$ PGA 複合体を構築すると、生体内での脾臓マクロファージに高い遺伝子取り込みが確認される (*in vitro* では naked pDNA の 50 倍以上)。

(5) 骨誘導型 Nanoball の開発: そのため、研究代表者らは、DGL- $\gamma$ PGA といった成分からなる Nanoball を GAM に搭載できれば、移植局所に集積するマクロファージや MSC を積極的にターゲットとして、それらの細胞から骨形成に寄与する分泌蛋白質を局所で効果的に徐放させることができると考えた。Nanoball は、構成するカチオン性やアニオン性高分子の材料や配分比に変化を与えることで、局所環境特異的にその性質を変えることが可能である。さらに、Nanoball は、pH と表面電荷の調整によりエンドサイトーシスによる細胞内取り込みを容易にでき、内部のカチオン性物質によるエンドソームからの脱出能も付与できるため、核内に取り込まれやすく設計できる。そのため、骨再生局所で最も遺伝子送達効果の影響が期待できる Nanoball の開発が可能であると考えている。

(6) Nanoball 搭載基質: 一方、骨再生基質の開発について、近年ナノサイズ化したカチオン性ポリマーや  $\beta$ -TCP などについて有効性が示唆されている。このうち、リン酸カルシウム系の無機材料は pDNA と静電的に結合するため、ナノサイズ化された粒子は、細胞膜上の  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルを通したエンドサイトーシスによる DNA の細胞内取り込みを起こしやすい。さらに、 $\beta$ -TCP ナノサイズ顆粒をマクロファージに投与すると、直径が  $10\mu\text{m}$  以上の顆粒と比較して、炎

症性サイトカインの産生が抑制される。他方で、研究分担者である東北大学の鎌倉らは、優れた骨再生能を発揮するリン酸オクタカルシウム(OCP)顆粒と atelocollagen(Col)の複合体(OCP/Col)を開発している。アパタイト前駆物質である OCP は生体内で HA に転換することで石灰化を促進させ、さらに骨芽細胞やその前駆細胞の成熟や分化を直接促す。われわれは、OCP のナノサイズ化粒子による有用性も明らかにしており、このようなリン酸カルシウム系ナノサイズ粒子は、静電的結合をした Nanoball の機能発揮に有用である可能性は高い。さらに、atelocollagen の GAM 基質としての有用性もわれわれは知見を得ており、有機材料とリン酸カルシウム系ナノサイズ微粒子の複合化などを含めて、Nanoball の機能を発揮させる上で有用と考えられる基質材料の多面的な開発が可能である。

(7) Nanoball 搭載遺伝子：次に、骨再生局所に送達する遺伝子について、われわれは MSC の骨芽細胞分化に直接寄与する BMP4 遺伝子を GAM に搭載することで骨再生が顕著に促進されることを見出している。そのため、骨再生局所へ MSC の集積を誘導する SDF-1 や、骨芽細胞分化に関与する複数の遺伝子群を制御し得る micro(mi) RNA を BMP2/4 遺伝子と共に搭載することで、より少量の pDNA で GAM の骨誘導能を高められる可能性がある。実際に、MSC において PPAR $\gamma$  などの脂肪分化に関わる因子の発現を抑制し、BMP2 の発現を促進する miR20a などが報告されている。一方で、研究分担者である長崎大学の小守らが見出した Runx2 といった転写因子についても、SDF-1 などの発現によって MSC 集積の誘導が可能となれば、効率的に骨芽細胞分化に機能させることができる。Nanoball はマクロファージへの遺伝子送達も高効率であることから、分泌蛋白質の異所性発現によるパラクライン的な骨誘導が期待できる遺伝子の探索が有効と考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、遺伝子搭載自己組織化ナノデバイス(Nanoball)を応用することで、強い骨誘導性を発揮する新規遺伝子活性化基質(*gene-activated matrix*; GAM)を開発することにある。Nanoball は、核酸キャリアとしての高分子ナノ材料にアニオン性高分子を配した新しい生体適合型デバイスであり、従来のカチオン性デバイスと比較して、低毒性・高効率に生体内の細胞へ遺伝子を送達できる。そのため、本研究では *in vivo* での導入を高効率に成し得る Nanoball の機能を、顎骨・歯槽骨の骨再生局所で発揮させる技術を開発する。即ち、Nanoball の GAM への応用について、われわれがこれまで見出ししてきた GAM を構成する基質材料や搭載遺伝子及びそのベクターに関する知見を集約し、それを発展的に深化させることで Nanoball の搭載技術を開発し、高機能骨誘導型 GAM による新規骨再生医療を創出する。

## 3. 研究の方法

### (1) 骨再生局所で機能する Nanoball の開発：

目標細胞への遺伝子送達の可能性の検討； 本研究では、顎骨・歯槽骨の欠損部や萎縮部で Nanoball の適用を企図しているため、GAM 移植部に集積する骨髄由来の MSC およびマクロファージを遺伝子送達のターゲットとし、作製した Nanoball の取り込み効率を評価した。MSC にはそれ自身の骨芽細胞分化、および周辺細胞への骨形成性蛋白の産生・分泌を期待した。一方で、移植された GAM 基質に最初に集積する骨髄マクロファージについても、骨形成性に機能する蛋白質の分泌を誘導することが可能かを検証した。

Nanoball； BMP4 をコードする pDNA (pAcGFP-BMP4) を使用し、脾臓マクロファージの取り込みに有利であった pDNA-DGL- $\gamma$ PGA 複合体を本評価に応用した。Nanoball の細胞取り込みと遺伝子発現を可視化するために、pDNA には GFP を用いて蛍光標識して Nanoball の作製を行った。

細胞； 野生型ラットの大腿骨から採取した骨髄細胞から接着培養により、MSC とマクロファージ (M-CSF 添加刺激) をそれぞれ得て実験に供与した。MSC (positive; CD29, Sca-1 / negative; CD11b, 45) とマクロファージ (positive; CD68) の表現型を Flow cytometry にて解析した。

各細胞への細胞毒性と遺伝子導入の評価； Nanoball による transfection は、MSC およびマクロファージ各々の培地に Nanoball を添加し、短期培養(2~4時間)にて行った。その後、培地を交換して 24, 48, 72 時間で、細胞毒性を WST-1 assay にて、細胞への取り込みは pDNA に搭載されている GFP の発現にて検出した。

導入遺伝子の機能解析； 上記の培養にて 24, 48, 72, 120 時間後の BMP4 の蛋白発現を

Western blot や培養上清の ELISA にて確認を行った。発現が確認できた後には、それぞれの上清を使用して新たに MSC の培養を行ない、骨芽細胞分化に関わる遺伝子や蛋白の発現状態を確認することで、産生された BMP4 の機能を評価した。

#### ( 2 ) Nanoball を搭載する GAM 基質の構成成分の検討 :

われわれが、pDNA を基質に直接組み込んだ方法と同様に、Nanoball をリン酸カルシウムに吸着させて、アテロコラーゲンと混和し凍結乾燥することを基質作製の基本形とした。既に共同研究者らは、 $\beta$ -TCP 顆粒 ( 径 150-500 $\mu$ m ) や OCP 顆粒 ( 径 300-500 $\mu$ m ) からなる TCP/Col および OCP/Col を作製していたことから、それに Nanoball 搭載やナノサイズ化  $\beta$ -TCP 粒子および OCP 粒子の応用といった改変を試みた。ナノサイズ粒子については、 $\beta$ -TCP は 250-1000nm 径 ( ArrowBone- $\beta$ <sup>®</sup> )、OCP 粒子は約 500nm 径について評価することとした。

Nanoball : pDNA-DGL- $\gamma$ PGA 複合体を基本形として使用した。搭載する pDNA は、われわれが現在まで骨再生への一定の有効性を確認している BMP4 をコードする pDNA を使用した。搭載する pDNA 量は、0.01mg、0.05mg、0.1mg のように条件を振って、複合体を作製した。pDNA を naked で使用した場合、直径 9mm のラット頭蓋骨欠損における明らかな骨形成に 0.5mg の pDNA 量が必要であったため、それより少量の pDNA について検討を行った。

基質作製 : 予め所定量の Nanoball を静電的に各リン酸カルシウム顆粒粒子に吸着させ、凍結乾燥したものを作製しておいた。次に、それらをブタ由来アテロコラーゲンと混合しゲル化させた後、再度凍結乾燥して TCP/Col、OCP/Col ( 重量比 77%TCP or OCP 含有 ; 直径 4mm、厚さ 1mm ) を作製した。

移植 : 野生型ラット頭蓋骨に 4mm の骨欠損を作製し、その骨欠損部に GAM の移植を行う。又、骨増生モデルとして、野生型ラット頭蓋骨上骨膜下にアテロコラーゲンと  $\beta$ TCP を混和して作製した GAM の移植も実施した。比較評価のために、pDNA ( 1mg ) を naked で直接組み込んだ試料、TCP 顆粒や OCP 顆粒を使用した試料も作製した。

評価 : 移植後 4, 8 週にて組織学的に骨形成部位の観察を行う。BMP4 をコードした Nanoball 搭載 GAM の骨形成に対する有効性を pDNA 搭載量の比較により評価を行った。さらに、移植後 1, 2 週の早期においてマクロファージや MSC による遺伝子取り込み状態や BMP4 の分泌状態について、GFP と BMP4 の蛋白発現状態を各細胞の特異的抗体と共に免疫染色などにて観察し、その同在を確認する。この評価は、上記 1 ) Nanoball の開発 “遺伝子送達目標細胞の検討” の項の実験とリンクさせた。

#### ( 3 ) Nanoball に搭載する有効な遺伝子の探索 :

BMP4 による MSC の骨芽細胞分化を促進させる遺伝子を併用することで、GAM による骨誘導効果の増幅と搭載 pDNA の少量化を図れるかを検討した。miRNA は、関連ネットワーク上の複数の遺伝子発現を同時に制御するため、次世代の核酸医薬品における有用性が示唆されている。そのため、本研究では、MSC の骨芽細胞分化に関わる miRNA を中心に探索した。

BMP4 による骨分化誘導中の miRNA 発現の網羅的解析 ; ラット骨髄 MSC を使用して 80% confluent まで増殖培地を用いて維持した後、通常の骨分化培地とリコンビナント BMP4 の添加による骨芽細胞分化条件にて培養を行う。分化誘導培地に交換する直前を Day0 として、24 時間毎の細胞から分化が成熟する Day7 までのサンプルについて、その miRNA の発現プロファイルをマイクロアレイにより網羅的に解析する。Day0 におけるプロファイルを用いて、Day1 から Day7 までの発現データを比較し、いずれかの時点で発現レベルに 3 倍以上の変動があった miRNAs を抽出する。

候補となる miRNA の導入による機能発現の評価 : 変動の大きいものから 5 種類ほど着目して、それらを MSC に導入する。導入後のフェノタイプについて、分化マーカーの発現状態やリコンビナント BMP4 による刺激への反応性を評価した。

#### 4 . 研究成果

本研究では、顎骨・歯槽骨の欠損部や萎縮部で Nanoball の適用を企図しているため、初年度は、GAM 移植部に集積する骨髄由来の MSC およびマクロファージを遺伝子送達のターゲットとし、作製した pBMP4 をコードした Nanoball の取り込み効率を評価することから実験を開始した。特に、移植された GAM に最初に集積する骨髄マクロファージについて、骨形成性に機能する蛋白質の

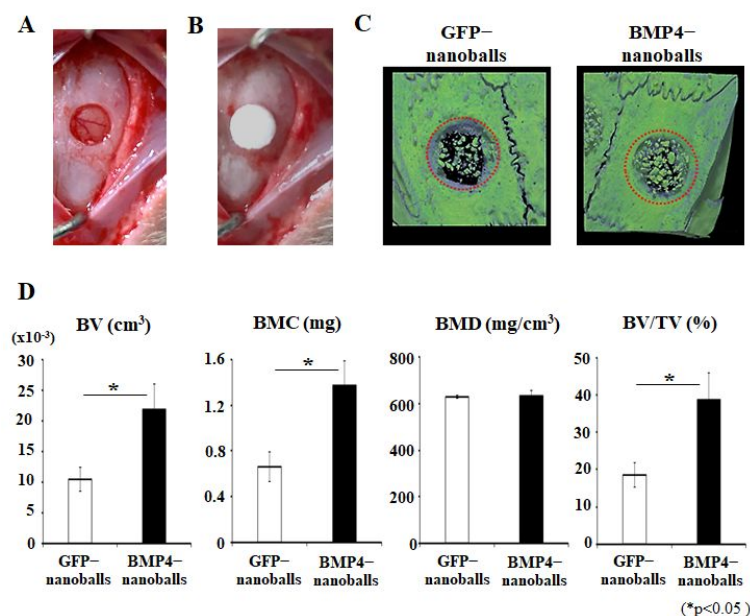
分泌を誘導することが可能であるか不明であったため、それについて検証することとした。実験は、in vitroでの評価から開始したが、作製したNanoballによって骨髄由来マクロファージへの遺伝子送達が可能であった。

GAMは、pDNAを基質に直接組み込んだ方法と同様に、Nanoballをリン酸カルシウムに吸着させて、アテロコラーゲンと混和し凍結乾燥することを基質作製の基本形とした。β-TCP顆粒（径150-500μm）を応用した際のGAMの機能評価を行うため、上記で作製したNanoballを搭載したGAMの移植を実施した。移植試料を観察したところ、骨再生局所の血管内皮細胞にも遺伝子の取り込みが認められたため、その機能変化を評価するために血管内皮細胞の免疫染色などを実施し、送達による細胞の特性変化の観察を行った。その結果、一部の血管内皮細胞においてBMP4の発現が観察され、骨再生への一定の影響が示唆された。

そのため、MSCやマクロファージ、血管内皮細胞に対する遺伝子送達が可能であることを確認後、これらの細胞に対して遺伝子導入の効率の良いNanoballを開発するため、その構成成分の検討を開始した。カチオン性とアニオン性の化合物の種類や配合比に変化を与えることで、ターゲットとする骨形成性細胞やマクロファージへの遺伝子送達能の改変を検討した。その結果、マクロファージとMSCでの効率のよい条件（DGL-γPGAの配分比）が見つかった。

次に、β-TCP顆粒（径150-500μm）をOCP顆粒（径300-500μm）に変更し、それを応用した際のGAMの機能評価を行うため、pBMP4をコードしたNanoballを搭載したGAMの移植を実施した。OCP顆粒を使用することで、遺伝子が導入された細胞の増加を一部認めたため、経時的な試料について現在詳細な観察を実施した。また、OCP顆粒にNanoballを組み込んだ場合のNanoball量などの条件を詳細に検討した。さらに、ナノサイズ化されたTCP微粒子を基質に应用する試料も作製し、アテロコラーゲンに混和させる微粒子量などの条件を振ることで、生体内で高効率に遺伝子送達を果たし、骨形成を促進させる条件も検討した。しかしながら、現在のところ、ナノサイズのTCP微粒子を積極的に用いる優位性は認めていない。そのため、基質材料としてOCP/コラーゲン以外にリフィットや綿状HAも検討に加え、最適な移植担体を選定した。リフィットについては、一部評価が終了したが、最適な条件を見出すに至っていない。最終年度では、Nanoballを応用した遺伝子活性化基質の作製条件について最適化を行った。即ち、搭載遺伝子としてBMP4やmiR20a、VEGF、そして、これらの遺伝子の組み合わせなどを検討し、Nanoballについては、アニオン性とカチオン性の高分子材料を検討した。さらに、搭載基質については、これまでで最も高い有用性が示されたOCP/コラーゲン基質以外にリフィットなども検討し、低用量のplasmid DNAにて最も骨誘導に有効性の高い遺伝子活性化基質を評価した。その結果、BMP4をコードするplasmid DNAを搭載するアニオン性Nanoballを1~10 μgの用量でOCPコラーゲン基質やTCP顆粒含有アテロコラーゲン基質に組み込む条件が、ラット頭蓋骨欠損における骨誘導に最も有効性が高いことが分かった（図1）。そのため、現在、この条件で作製した遺伝子活性化基質の有効性をイヌの歯槽骨欠損モデルで評価する非臨床研究開発を計画しているところである。

（図1）



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

|   |                           |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Shido Rena, Sumita Yoshinori, Hara Masahito, Iwatake Mayumi, Narahara Shun, Umebayashi Mayumi, Miura Kei-ichiro, Kodama Yukinobu, Asahina Izumi   | 4. 巻<br>8                 |
| 2. 論文標題<br>Gene-activated matrix harboring a miR20a-expressing plasmid promotes rat cranial bone augmentation   | 5. 発行年<br>2021年           |
| 3. 雑誌名<br>Regenerative Biomaterials   | 6. 最初と最後の頁<br>-           |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1093/rb/rbaa060   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）   | 国際共著<br>-                 |
| 1. 著者名<br>Hara Masahito, Sumita Yoshinori, Kodama Yukinobu, Iwatake Mayumi, Yamamoto Hideyuki, Shido Rena, Narahara Shun, Ogaeri Takunori, Sasaki Hitoshi, Asahina Izumi  | 4. 巻<br>14                |
| 2. 論文標題<br>Gene-Activated Matrix with Self-Assembly Anionic Nano-Device Containing Plasmid DNAs for Rat Cranial Bone Augmentation   | 5. 発行年<br>2021年           |
| 3. 雑誌名<br>Materials   | 6. 最初と最後の頁<br>7097 ~ 7097 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.3390/ma14227097   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）   | 国際共著<br>-                 |
| 1. 著者名<br>Ohba Seigo, Shido Rena, Asahina Izumi   | 4. 巻<br>63                |
| 2. 論文標題<br>Application of hydroxyapatite/collagen composite material for maxillary sinus floor augmentation   | 5. 発行年<br>2021年           |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Oral Science   | 6. 最初と最後の頁<br>295 ~ 297   |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.2334/josnusd.21-0163  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |
| 1. 著者名<br>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<br>11                |
| 2. 論文標題<br>Clinical study of octacalcium phosphate and collagen composite in oral and maxillofacial surgery   | 5. 発行年<br>2020年           |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Tissue Engineering   | 6. 最初と最後の頁<br>-           |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1177/2041731419896449   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）   | 国際共著<br>-                 |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Miura Kei ichiro, Sumita Yoshinori, Kajii Fumihiko, Tanaka Hidenori, Kamakura Shinji, Asahina Izumi  | 4. 巻<br>108             |
| 2. 論文標題<br>First clinical application of octacalcium phosphate collagen composite on bone regeneration in maxillary sinus floor augmentation: A prospective, single arm, open label clinical trial | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials  | 6. 最初と最後の頁<br>243 ~ 252 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1002/jbm.b.34384  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

〔学会発表〕 計5件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Hara M, Sumita Y, Shido R, Kodama Y, Asahina I  |
| 2. 発表標題<br>Effective gene-activated matrix with self-assembly nano-devices for bone engineering.         |
| 3. 学会等名<br>International Association for Dental Research (IADR) 97th General Session & Exhibition (国際学会) |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>原昌士, 住田吉慶, 四道玲奈, 榎原峻, 朝比奈泉                           |
| 2. 発表標題<br>新規自己組織化ナノデバイス (Nanoball) を応用した骨誘導性遺伝子活性化基質 (GAM) の開発 |
| 3. 学会等名<br>第64回日本口腔外科学会総会・学術大会                                  |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>四道玲奈, 住田吉慶, 原昌士, 榎原峻, 朝比奈泉                 |
| 2. 発表標題<br>micro RNAを応用した遺伝子活性化基質 (GAM) による新規人工骨基質の開発 |
| 3. 学会等名<br>第63回日本口腔外科学会総会・学術大会,                       |
| 4. 発表年<br>2018年                                       |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Shido R, Sumita Y, Hara M, Narahara S, Asahina I  |
| 2. 発表標題<br>Gene Activated-matrix (GAM) comprised of atelocollagen and plasmid DNA encoding microRNA promotes rat cranial bone augmentation |
| 3. 学会等名<br>The American Society for Bone and Mineral Research Annual Meeting (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>四道玲奈, 住田吉慶, 岩竹真弓, 榎原峻, 原昌士, 坂下直美, 朝比奈泉   |
| 2. 発表標題<br>機能性microRNAを搭載した遺伝子活性化基質 (GAM) による骨再生の試み |
| 3. 学会等名<br>第17回日本再生医療学会総会                           |
| 4. 発表年<br>2018年                                     |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                         | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                      | 備考 |
|-------|---|--|----|
| 研究分担者 | 住田 吉慶<br><br>(Sumita Yoshinori)<br><br>(50456654) | 長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・准教授<br><br><br>(17301) |    |
| 研究分担者 | 兒玉 幸修<br><br>(Kodama Yukinobu)<br><br>(50448510)  | 長崎大学・病院(医学系)・准教授<br><br><br>(17301)        |    |
| 研究分担者 | 佐々木 均<br><br>(Hitoshi Sasaki)<br><br>(00170689)   | 長崎大学・病院(医学系)・教授<br><br><br>(17301)         |    |



6. 研究組織（つづき）

|                   | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                         | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                         | 備考 |
|-------------------|---|---|----|
| 研究<br>分<br>担<br>者 | 鎌倉 慎治<br><br>(Kamakura Shinji)<br><br>(80224640)  | 東北大学・医工学研究科・教授<br><br><br><br>(11301)         |    |
| 研究<br>分<br>担<br>者 | 小守 壽文<br><br>(Komori Toshihisa)<br><br>(00252677) | 長崎大学・医歯薬学総合研究科（歯学系）・教授<br><br><br><br>(17301) |    |
| 研究<br>分<br>担<br>者 | 三浦 桂一郎<br><br>(Miura Keiichiro)<br><br>(10634446) | 長崎大学・医歯薬学総合研究科（歯学系）・助教<br><br><br><br>(17301) |    |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|         |         |