

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18592111  
 研究課題名（和文） 形態付与性を具備した OCP-コラーゲン複合体を用いた三次元的骨造成に関する検討  
 研究課題名（英文） Three-dimensional bone formation by octacalcium phosphate combined with collagen  
 研究代表者  
 川田 哲男（KAWATA TETSUO）  
 東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師  
 研究者番号：80292225

## 研究成果の概要：

病気や怪我で顎骨を失った場合や、抜歯後に歯槽骨が吸収されると、失われた歯を人工歯根（インプラント）や義歯で修復する際、歯槽骨や顎骨の再建が必要となる。必要な形態を付与しつつ早期に骨を作ることが望ましいが、現在使用されている骨再生材料では速度・量ともに十分であるとは言い難い。本研究では、骨や歯に含まれるリン酸オクタカルシウム(OCP)をコラーゲンと複合化し、骨表面に埋入し、これまで困難であった吸収顎堤の骨造成について検討した。その結果、骨のかさ上げが可能であることが判明した。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	2,300,000	0	2,300,000
2007年度	600,000	180,000	780,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	360,000	3,860,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴理工系歯学

キーワード：歯科補綴学一般

## 1. 研究開始当初の背景

インプラント補綴や有床義歯など欠損補綴処置を行うにあたり、高度な顎堤吸収に対し顎骨の必要性を痛感することが少なくなく、骨を作ること、すなわち骨造成・再建が望まれる。骨造成・再建法として、骨移植、骨補填、仮骨延長などがある。骨移植では予知性の高さから自家骨移植が行われることが多いが、自家組織採取による二次手術の必要性や骨量に限りがあり、広範囲の再建は不

向きという欠点がある。他家骨移植は免疫拒絶反応の問題がある。骨補填はハイドロキシアパタイト(HA)が代表的であるが、自家骨移植に匹敵する骨再製効果が期待できず、非吸収であるため生理的な骨再建には至らない。吸収性材料としてβ-リン酸三カルシウム(β-TCP)があるが、骨再生促進作用を有するものの、その形成速度は十分に速いとは言えない。さらに、これら骨補填材を用いて任意に形態を付与することは極めて困難であり、術後の高さは4mmまでしか維持できない

とされる。仮骨延長では三次元的に適切な形態に骨を作ることは物理的に困難である。すなわち、量的制限がなく、自家骨移植と同様に骨修復を促進し、任意に形態を賦与できる Scaffold としての骨再生材料が開発され、さらにそれをを用いた三次元的骨形態付与方法が開発されることにより理想的な顎骨ならびに顎堤形態を作ることが可能となる。

これまでに申請者らは、骨の無機ミネラルの前駆物質であるリン酸オクタカルシウム (OCP) を高純度かつ大量に合成することに成功し、骨造成へ応用している。OCP の骨再生促進作用は HA 等既存の生体材料に比較し数倍高く、骨置換は  $\beta$ -TCP より 1.5 倍以上早く、生体由来分子 (BMP-2、コラーゲン等) への吸着親和性が高い。さらに申請者らは、単体では成形が困難であった OCP をコラーゲン上に選択的に析出させる方法で無機・有機ハイブリッド材料 (OCP-コラーゲン複合体) を開発し、OCP による形態賦与性を可能にした。OCP-コラーゲン複合体は、自己修復しないサイズの骨欠損に埋入すると、OCP 単体で用いる場合よりもさらに優れた骨形成能を示す。本研究では、この OCP-コラーゲン複合体の形態賦与性、および高い骨形成能に着目した。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、形態賦与性を具備する OCP-コラーゲン複合体の吸収性、骨形成能の最適化を図り、さらに本材料を三次元的に任意の形態に整形する方法を動物実験において確立することである。これは言い換えると、吸収が少なく速やかに骨に置換するため理想形態を作ることが可能な骨再生材料を用いて、顎骨を必要な形態かつ三次元的に骨造成・再建する方法を開発することである。

## 3. 研究の方法

### (1) 試料準備

実験に用いる OCP は、Suzuki ら (Tohoku J Exp Med 164:37, 1991) の方法に基づき合成し、コラーゲンと複合化した。直径 9mm、厚さ 3mm または 1mm の円板状 OCP-コラーゲン複合体を作製した。

### (2) 試料埋入

実験には 12 週齢雄性 Wistar 系ラットを用いた。動物は骨膜下に埋入する試料の厚さにより、1mm、3mm、およびコントロールとして試料埋入のない骨膜剥離のみの 3 群に分けた。

ラット頭蓋冠骨膜下に 1mm または 3mm 厚の OCP-コラーゲン複合体を埋入した。飼育期間は 4、8、12 週とした。

### (3) 評価法

かさ上げ高さの変化は、摘出後の頭蓋骨から骨膜までの最大厚さを電子ノギスにて計測した。また、生体内における OCP-コラーゲン複合体の結晶構造の変化を観察するため、埋入 4 週後の試料を摘出し、X 線回折 (XRD) およびフーリエ変換赤外分光分析 (FTIR) を行った。

また、パラフィン薄切標本を作製し、ヘマトキシリン-エオジン (H-E) 染色により組織観察を行った。また、破骨細胞に選択的に染色する酒石酸耐性酸フォスファターゼ (TRAP) およびカテプシン K の免疫染色を行い、OCP 顆粒周辺の多核巨細胞の観察を行った。

さらに、H-E 染色を行った組織像を用い、組織形態分析として、頭蓋冠上のかさ上げ面積および試料内部の新生骨面積を計測した。

## 4. 研究成果

### (1) 埋入試料の厚さ変化

3mm 厚の試料は、4 週から 8 週にかけて大きく吸収され厚さが減少し、12 週後にはほぼ吸収されたが、1mm 厚の試料では、期間を通して厚さの変化はほとんどなく、一定に保たれた。

### (2) XRD, FTIR

埋入後 4 週までに、OCP が HA に転換されることが示唆された。

### (3) 組織学的所見

3mm 厚の試料では、4 週において試料辺縁部に OCP 顆粒を囲む多核巨細胞が多数観察されたが、試料中央部への細胞浸潤は乏しかった。新生骨はほとんど観察されず、12 週までに埋入試料はほぼ吸収された。一方、1mm 厚の試料では、多核巨細胞はほとんど観察されず、8 週、12 週において基底骨からの新生骨形成が観察された。TRAP 染色を行ったところ、この多核巨細胞は赤く染色され、またカテプシン K の免疫染色でも陽性であったことから、破骨細胞様細胞であると考えられた。TRAP 陽性多核巨細胞は、3mm 厚の試料において多数観察されたが、1mm 厚の試料では全ての期間で反応が弱かった。

### (4) 組織形態計測

3mm 厚の試料では、4 週から 8 週にかけてインプラントによるかさ上げ面積が大きく減少し、12 週ではそのほとんどが吸収された。新生骨面積は飼育期間を通じてほとんどなかった。一方、1mm 厚の試料では、4 週から 8 週にかけてのかさ上げ面積に有意差はなく、12 週でやや面積が減少したが、期間を通じてほぼ一定に保たれた。かさ上げ面積に占める

新生骨面積の割合は増加しており、1mm厚の試料では、かさ上げされた形態を保ちつつ、インプラント体が骨に置換されることが示唆された。

#### (5) 考察

厚さの異なる OCP-コラーゲン複合体を骨膜下に埋入すると、吸収または骨への置換という、異なる反応が示された。OCP-コラーゲン複合体は、骨欠損内に埋入した場合、OCP 顆粒を核として速やかに骨を形成し、やがて生体骨と置換する材料であるが、骨膜下においては 3mm 厚の試料では骨形成はみられず吸収され、1mm 厚の試料では骨への置換が起こった。これは、骨膜から加わるメカニカルストレスの影響に起因するものと考えられる。また、1mm 厚の試料では、12 週までにかさ上げ高さおよび面積を保ったまま骨形成を観察されたことから、試料の形態を必要とする骨形態にすることで、任意の三次元的骨造成の可能性が示された。骨形成と生体吸収のメカニズムは今後の検討課題であるが、OCP-コラーゲン複合体は、三次元的骨造成に有効な材料であると考えられる。

なお、本研究の一部は欧文誌へ投稿・査読中である。

#### 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 10 件)

- ① Kawata T, Kawaguchi T, Yoda N, Ogawa T, Kuriyagawa T, Sasaki K. Effects of a removable partial denture and its rest location on the forces exerted on an abutment tooth in vivo. *The International Journal of Prosthodontics* 21 (2008) 50-52、査読有
- ② Yoda N, Ogawa T, Gunji Y, Kawata T, Kuriyagawa T, Sasaki K. The Analysis of the Load Exerted on the Implants Supporting an Overdenture Based on In vivo Measurement. *Prothodont Res Pract.* 7 (2008) 258-260、査読有
- ③ Suzuki O, Imaizumi H, Kamakura S, Katagiri T. Bone regeneration by synthetic octacalcium phosphate and its role in biological mineralization. *Current Medical Chemistry* 15 (2008) 305-313、査読有
- ④ Suzuki Y, Kamakura S, Sasaki K, Kokubun S, Suzuki O et al. Osteoconductivity of Porous Titanium Having Young's Modulus Similar to Bone and Surface Modification by OCP. *Key Engineering Materials* 330-332

(2007) 951-954、査読有

- ⑤ 依田信裕、重光竜二、小川徹、久保圭、末永華子、郡司良律、川田哲男、厨川常元、佐々木啓一 オーバーデンチャー支台インプラントへの荷重解析—生体内測定に基づく 2 本支台と 4 本支台とのインプラント荷重の比較— *日口腔インプラント誌* 37 (2007) 218-218、査読無
- ⑥ Suzuki Y, Kamakura S, Hatori K, Sasaki K, Honda Y, Anada T, Sasaki K, Suzuki O. Biological Response of Octacalcium Phosphate Combined with Collagen Implanted in Subperiosteal Region. *Interface Oral Health Science* 2007 (2007) 357-358、査読有
- ⑦ Kawata T, Yoda N, Kawaguchi T, Kuriyagawa T, Sasaki K: Behaviors of three-dimensional compressive and tensile forces exerted on a tooth during function. *J Oral Rehabilitation* 34 (2007) 259-266、査読有
- ⑧ Kawaguchi T, Kawata T, Kuriyagawa T, Sasaki K: In vivo 3-dimensional measurement of the force exerted on a tooth during clenching. *J Biomechanics* 40 (2007) 244-251、査読有
- ⑨ Suzuki O, Kamakura S, Katagiri T, Nakamura M, Honda Y et al. Bone formation enhanced by implanted octacalcium phosphate involving conversion into Ca-deficient hydroxyapatite. *Biomaterials* 27 (2006) 2671-2681、査読有
- ⑩ Kamakura S, Sasaki K, Honda Y, Anada T, Suzuki O. Octacalcium phosphate combined with collagen orthotopically enhanced bone regeneration. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 79 (2006) 210-217、査読有

[学会発表] (計 4 件)

- ① 依田信裕、川田哲男、佐々木啓一 固定性上部構造支台インプラントに加わる荷重の生体内三次元解析 第 38 回日本口腔インプラント学会・学術大会 2008 年 9 月 13-14 日、東京
- ② 鈴木祐子、鎌倉慎治、羽鳥弘毅、本田義知、穴田貴久、鈴木治、佐々木啓一 リン酸オクタカルシウム/コラーゲン複合体の骨膜下インプラントによる骨造成 第 117 回日本補綴歯科学会学術大会 2008 年 6 月 6-8 日、名古屋
- ③ Suzuki Y, Kamakura S, Hatori K, Sasaki K, Honda Y, Anada T, Sasaki K, Suzuki O. Biological Response of Octacalcium Phosphate Combined with Collagen

Implanted in Subperiosteal Region.  
International Dental Materials  
Congress 2007 2007年11月21-24日、  
バンコク

- ④ Suzuki Y, Nomura N, Hanada S, Kamakura S, Anada T, Fuji T, Honda Y, Masuda T, Sasaki K, Kokubun S, Suzuki O.  
Osteoconductivity of low Young's  
modulus porous titanium combined with  
OCP. 第6回国際歯科チタンシンポジウ  
ム、2007年6月5-6日、京都

[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]

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

川田 哲男(KAWATA TETSUO)

東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤  
講師

研究者番号：80292225

### (2) 研究分担者

佐々木 啓一(SASAKI KEIICHI)

東北大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号：30178644

鈴木 治(SUZUKI OSAMU)

東北大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号：60374948

鎌倉 慎治(KAMAKURA SHINJI)

東北大学・大学院医工学研究科・教授

研究者番号：80224640

小山 重人(KOYAMA SHIGETO)

東北大学・病院・准教授

研究者番号：10225089

羽鳥 弘毅(KOHKI HATORI)

東北大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：40372320

小川 徹(OGAWA TORU)

東北大学・病院・助教

研究者番号：50372321

久保 圭(KUBO KEI)

東北大学・病院・助教

研究者番号：10431511

### (3) 連携研究者