

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 6 年 9 月 6 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09023

研究課題名（和文）低分子ヘパリンを用いた骨DDSの開発と骨再生研究

研究課題名（英文）The Development of system for drug delivery to the bones using low molecular weight heparin to promote bone regeneration

研究代表者

野澤 聡（Nozawa, Satoshi）

岐阜大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20771679

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：今まで糖鎖を修飾することで骨Drug Delivery System に用いた報告は無かった。本研究ではヘパリンが引き起こす可能性のある抗凝固作用を危惧し、糖鎖化学者の協力の下、我々は、低分子ヘパリンに修飾を加え、骨伝達能を有する低分子ヘパリンの開発に成功した。上記修飾低分子ヘパリンをP5マウスに皮下注射すると翌日には骨特異的に運搬されていることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の開発した化合物とBMPやFGFと併用することにより、従来骨癒合の遅延がみられた部位（脊椎固定術における椎間移植骨など）の骨癒合を促進させることが期待される。これにより、患者の外固定装着期間を短縮させられる可能性があり、社会的に有益な研究である。

研究成果の概要（英文）：We successfully made special low molecular weight heparin with some conjugation. The products were purified by molecular selective column. A day after we applied the conjugates with FITC in P5 mice, it was delivered to the bone tissue specifically.

研究分野：脊椎脊髄外科

キーワード：低分子ヘパリン

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

人口の高齢化に伴い、骨欠損部再建・脊椎固定術・人工関節置換術・偽関節治療など骨移植や早期骨癒合を必要とする状況は増加の一途を辿っている。その際、自家骨・同種骨・人工骨が用いられているが、高い骨誘導能を持つ生理活性物質との併用により治療促進効果が期待されている。海外では骨形成蛋白 (bone morphogenetic protein: BMP) が認可され、DDS として Demineralized Bone Matrix (DBM)・コラーゲンスポンジやゼラチンが使用されているが、局所の薬剤徐放が速いため、高用量が必要となり高価となること・創部腫脹や創治癒遅延・異所性骨化の合併症が問題点となっている。

2. 研究の目的

低分子ヘパリンを修飾することにより、骨伝達能を有する低分子ヘパリンを開発する。

低分子ヘパリンは多くの成長因子と結合能を有していることから、骨 DDS (drug delivery system) の開発を進め、低用量の骨形成因子併用による新たな骨再生治療の開発を目指す。

3. 研究の方法

低分子ヘパリンへの修飾合成

糖鎖化学者の協力のもと、低分子ヘパリンを修飾する。化学反応は室温下にドラフトチャンバー内で遂行可能であり、精製については Amicon 3kDa カラム、Avidin カラムを用いて行う。

マウスへの投与による骨 DDS の確認

ヘパリンに FITC を標識した上で、修飾を行う。体重 g あたり 10 μ g の用量でマウスに皮下投与する。Kawamoto らによる方法 (T. Kawamoto et al, Arch Histol Cytol 2003) で非脱灰切片を作成し、蛍光顕微鏡下にヘパリン運搬状況を確認する。

骨欠損モデルへの局所投与実験

修飾低分子ヘパリンと BMP-2 を結合させたものをさらに人工骨 HA に結合させ、生体内に留置し観察することで骨形成を評価する。

4. 研究成果

FITC を標識した修飾ヘパリンを P5 マウスに皮下注すると翌日には骨特異的に運搬されることが確認された。これにより、骨特異的に低分子ヘパリンを運搬することができることが証明された。

またラットの脛骨に 3mm 大の骨孔を作成し、連通構造を有する人工骨 (アパセラム EX,

HOYA メディカル)を充填させた。連通構造を有するため、過去の報告に倣い(Tamai et al, JBMR2002)、人工骨中央部の骨形成を比較することで、投与薬剤の骨形成能を比較した。

コントロール(人工骨 HA のみ留置) (Asp)8 或いは修飾低分子ヘパリンのみ含浸させたもの BMP-2 のみ含浸させたもの 修飾低分子ヘパリンと BMP-2 を混合した上で人工骨に結合させたもの、を骨孔内へ留置した。まだ数は少ないものの、留置後、1週において上記 では に比し人工骨内に骨形成促進傾向のあることが確認された。

今後は、さらに数を増やし骨形成状態を確認していく予定である。また脊椎後側方固定(PLF)モデルも用い、修飾低分子ヘパリンと BMP-2 を混合させたものが骨癒合を促進し得るのかを確認していく。

5 . 主な発表論文等

- 〔雑誌論文〕 計0件
- 〔学会発表〕 計0件
- 〔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	秋山 治彦 (AKIYAMA HARUHIKO) (60402830)	岐阜大学・大学院医学系研究科・教授 (13701)	

	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 協 力 者	岩田 直也 (IWATA NAOYA)		
研究 協 力 者	河崎 史子 (KAWASAKI FUMIKO)		

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
---------	---------