

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09617

研究課題名（和文）形状記憶樹脂メンブレンによるDynamic GBR法の開発

研究課題名（英文）Development of Dynamic GBR using shape memorial membrane

研究代表者

山内 健介（Yamauchi, Kensuke）

東北大学・歯学研究科・准教授

研究者番号：10364150

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）：本研究は形状記憶樹脂メンブレンが有する形態回復力を応用して、骨-骨膜間にメンブレンを挿入・設置し、一定の待機期間後に、骨から緩徐な力で骨膜を外方へ伸展し、新たな空隙を形成・骨再生を図る手法である。動物実験により、骨側からの新生骨を確認することができたことから、生体自らが有する生体治癒能力を応用することで、新生骨を誘導することができた。安定した骨再生を目指す上で、形状記憶樹脂メンブレンの材料特性をさらに検証し、臨床応用に向けて更なる研究を進める必要があると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Dynamic GBR法の研究により、骨移植法ではない、生体自らが有する再生治癒能力を応用した骨再生を確認することができた。従来の自家骨移植法による採骨に関連するドナーサイト侵襲の回避を図ることができるとともに、各種人工骨の使用を回避することにも繋がる新たな骨造成法を実証する結果となった。本法は細胞培養を中心とする再生医療とは異なる手法であるものの、異種反応や免疫拒絶反応を誘発しない手法であることから臨床応用までの行程が短く、より実現可能が再生誘導療法であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We observed new bone in the gap between the polyethylene terephthalate membrane and original bone. We did not use a bone substitute. The polyethylene terephthalate is biocompatible and easy to use. We induced a natural osteogenic response, as does periosteal distraction osteogenesis. Our method is a promising clinical alternative for bone augmentation.

研究分野：口腔外科学、歯科インプラント

キーワード：骨移植 骨再生 骨延長 形状記憶材料

1. 研究開始当初の背景

歯槽骨および顎骨に対する再建治療は、さまざまな研究や臨床応用がなされているものの骨移植に代わりうる治療法は少ないのが現状である。培養技術を応用した組織再生による方法も研究されているが、外的応力がかからず、細菌にも曝露されにくい内臓組織とは異なり、口腔内細菌に触れ、咬合・摂食嚥下などの機能応力が働く口腔環境での応用は克服すべき課題が山積している。移植治療を適応せずに、上記環境下でも骨再生できる方法として骨延長法が報告され、約 20 年間臨床応用もされてきた。骨延長法は骨造成量に制限がなく、周囲軟組織も同時に増生される優れた方法ではあるものの、延長するためには移動骨片の形成が必要であり、骨切り操作と断続的な延長操作を必要とし、治療期間の長期化、複数回手術の必要性の問題点も挙げられるようになった。その後、骨延長の欠点とされる移動骨片の形成を回避した骨膜延長法という方法が発表され、その有用性が報告されている。骨膜伸展装置では従来の骨延長器のような粘膜貫通型では装置の露出という問題が挙げられるため、完全被覆が可能で装置自体に伸展力のあるものが求められている。SMA での実績は既にあるものの、Ni 含有の問題を克服するため、本研究課題は人工血管などで実績のある形状記憶特性のある樹脂を用いた骨膜伸展を行うことで、生体安全性があり臨床応用の可能性が高い手法であると考えている

2. 研究の目的

形状記憶樹脂メンブレンを作製し、骨膜伸展骨形成法を応用した Dynamic GBR (動的骨再生誘導療法)を開発し、顎骨の硬—軟組織同時増生を達成する。

3. 研究の方法

形状記憶樹脂メンブレン作製：ポリエチレンテレフタレート(以下 PET)を基材とし、厚さ 75 μm 、100 μm 及び 125 μm の PET 板を作製し、5mm x 30mm に成形する。最終形状については、後の動物実験で使用するラビット頭蓋骨・イヌ下顎骨での垂直的伸長量(3mm)、水平的伸長量(3mm)となる形状をコンピューターにより設計する。

裏面リン酸カルシウムコーティング処理：PET は疎水性材料であり、骨膜伸展に伴う骨新生は母骨側から認めることから、PET 裏面(母骨側)は骨新生を促進させる目的でゼラチンとリン酸カルシウムコーティング処理を施し、母骨側から誘導される細胞成分の生着を促す。

厚みの異なるメンブレンの3点曲げ試験を行い、繰り返し荷重による弾性変化及び表面性状変化について検証し、裏面コーティング処理の骨誘導表面形成の最適条件を見出すとともに、至適形態回復力を生み出すメンブレンの厚みと表面形状を決定する。

試料表面に形成した薄膜の同定；元素分析(EDSによる定性及び定量分析、マッピング像による元素分布、薄膜X線回折による組成の同定と構造解析)

頭蓋骨骨膜伸展骨形成

ラビット頭頂骨の骨膜下に、厚みの異なる PET メンブレンを挿入して、骨面に圧着させチタンスクリュー(直径 1.7x4mm)で固定。骨膜縫合、皮膚縫合をして終了。埋入後 2 週間で固定スクリューを除去して、PET メンブレンの形態回復力を作動させる。作動開始 3 および 5 週目(術後 5 および 8 週目)でのデバイス周囲の骨新生を評価した。

下顎骨骨膜伸展骨形成法

ラビット下顎骨骨膜下に 125 μm 厚の PET メンブレンを埋入し、舌側骨面に直径 1.4mm、長さ 4mm のチタンスクリューで圧着固定し、下顎骨下縁に沿うように屈曲させ、頬側骨面に圧着させる。頬側からは直径 2.0mm、長さ 4mm のチタンスクリューで同様に固定し、PET メンブレンで下顎骨骨面を頬舌的に被覆させる。骨膜および筋組織を PET メンブレン上で縫合し、さらに皮膚縫合し手術終了。埋入後 2 週間で頬側の固定スクリューを除去し、伸展刺激を作動させる。なお、反対側は頬側の固定を行わず、埋入時に既に頬側への伸展を行う静的刺激(Static)群として、実験側を動的刺激(Dynamic)群とした。作動開始 3 および 5 週目(術後 5 および 8 週目)でのデバイス周囲の骨新生を評価した。

4. 研究成果

PET 材料へのリン酸カルシウムコーティング(PET/gel/CaP)については、ゼラチン水溶液に、水酸化カルシウム $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 懸濁液にリン酸 H_3PO_4 水溶液を加えて作製したアパタイト粉末を加えたものを PET 表面に塗布・乾燥させて作製した。PET の形状は凸状のドーム

型とし、基底面から 3mm 離れるようなカーブを付与したものであり、PET メンブレンの寸法は 10X25mm とし厚さは 75, 100, 125 μ m で調整した。ドーム状のメンブレンを机上に置き、中央部を徒手的に下方へ押すことを 10 回ずつ行うも、PET/gel/Cap の形態変形に伴うコーティング剥離や脱離は認めなかった

日本白色ウサギの頭頂部では、骨膜下に PET メンブレンを挿入し、骨面に密着するようにスクリューを用いて圧着固定し、骨膜および皮膚軟組織で被覆した。一定の待機期間の後に固定スクリューを除去し、形状記憶メンブレンの自ら持つ形態回復力で骨膜伸展刺激を開始し、刺激後 2 週、4 週に試料採取を行った。全ての個体で二次感染などの術後合併症は認めず、材料に対する拒絶反応もなく経過できた。採取試料をマイクロ CT 撮影し、硬組織評価を行ったところ、メンブレンと母骨間の伸展間隙の一部には骨新生を認めた。刺激後 2 週と 4 週の試料を比較すると、その時間経過に伴い、新生骨量の増加と CT での不透過像の亢進を認めており、骨形成過程の進行が確認できた。また、メンブレン上部の骨膜側には新生骨を認めず、従来の骨膜伸展骨形成法と同等の結果が得られている。今回使用した材料は、これまで使用した金属製(NiTi)の形状記憶材料ではないため、アレルギー起因物質を含んでおらず、各個体の造成部位に応じた形態調整も容易であることが確認できた。

日本白色ウサギ下顎骨では、下顎骨下縁に沿うように形態付与されたメンブレンを用意した。下顎正中皮膚切開により下顎骨下縁を明示し、メンブレンを下顎骨骨膜下に設置し、内外側の両方を固定して、外側を待機期間後に解除して伸展刺激を作用させる Dynamic 群、固定を内側のみで、外側を伸展した状態とした Static 群の 2 群に分けて骨形成状態を評価した。全例で異物反応を認めず、資料採取を行い、 μ CT 撮影、組織学的評価を行った。両群でメンブレンによる伸展された全域に新生骨を確認した。static 群と比較し、dynamic 群ではより多くの新生骨を獲得している所見ではあったが、統計学的な有意差は認めなかった。組織学的評価では、母骨から連続する形で骨新生を認め、骨新生部の周囲には洞様血管を多数認めており、皮質骨穿孔された部位からの微小循環および血液供給が骨新生に寄与していることが示唆された。

- Imoto K, Yamauchi K, Odashima K, Shimizu Y, Lethaus B, Kessler P, Unuma H, Takahashi T. Periosteal expansion osteogenesis using an innovative shape-memory polyethylene terephthalate (PET) membrane: An experimental study in rabbits. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, in press, 2021.
- Kashiwada H, Shimizu Y, Sano Y, Yamauchi K, Guang H, Kumamoto H, Unuma H, Zhu Y. In vivo behaviors of highly flexible paper consisting of ultralong hydroxyapatite nanowires. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, in press, 2021.
- Nogami S, Yamauchi K, Odashima K, Ito K, Iikubo M, Kumasaka A, Martines de la Cruz G, Gaggli A, Kumamoto H, Takahashi T. Influence of oestrogen deficiency and excessive mechanical stress on condylar head of mandible. *Oral Disease*.
- Martinez-de la Cruz G, Yamauchi K, Odajima K, Nogami S, Takahashi T. Histologic and histomorphometric evaluation of the bone regeneration following cortical bone repositioning in a rabbit mandible. *Clin Implant Dent Relat Res*, 35:194-198, 2019
- Lie N, Yamauchi K, Wiltfang J, Merten HA, Kessler P. Pre-implantological bone formation in the floor of the maxillary sinus in a self-supporting space. *Journal of Craniomaxillofacial Surgery*. 47(3):454-460, 2019
- Yamauchi K, Nogami S, Kataoka Y, Koyama S, Lethaus B, Takahashi T. Cortical bone repositioning for horizontal alveolar bone augmentation; A case series. *International Journal of Periodontal & Restorative Dentistry* 38:691-697, 2018.

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 3件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Martinez-de la Cruz G, Yamauchi K, Odajima K, Kataoka Y, Nogami S, Takahashi T | 4. 巻 21(4) |
| 2. 論文標題 Histologic and histomorphometric evaluation of the bone regeneration following cortical bone repositioning in a rabbit mandible. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Clinical Implant Dentistry and Related Research | 6. 最初と最後の頁 613-620 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cid.12777 | 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 Lie N, Merten HA, Yamauchi K, Wiltfang J, Kessler P | 4. 巻 47(3) |
| 2. 論文標題 Pre-implantological bone formation in the floor of the maxillary sinus in a self-supporting space | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Craniomaxillofacial Surgery | 6. 最初と最後の頁 454-460 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jcms.2019.01.003 | 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 該当する |
| 1. 著者名 Koper D, Ter Laak-Poort M, Lethaus B, Yamauchi K, Moroni L, Habibovic P, Kessler P | 4. 巻 47(5) |
| 2. 論文標題 Cranioplasty with patient-specific implants in repeatedly reconstructed cases | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Craniomaxillofacial Surgery | 6. 最初と最後の頁 709-714 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jcms.2019.01.034. | 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 該当する |
| 1. 著者名 Lie N, Merten HA, Yamauchi K, Wiltfang J, Kessler P | 4. 巻 47 |
| 2. 論文標題 Pre-implantological bone formation in the floor of the maxillary sinus in a self-supporting space | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Craniomaxillofacial Surgery | 6. 最初と最後の頁 454-460 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jcms.2019.01.003 | 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 該当する |

| | |
|--|-------------------|
| 1. 著者名 Martinez-de la Cruz G, Yamauchi K, Odajima K, Kataoka Y, Nogami S, Takahashi T | 4. 巻 印刷中 |
| 2. 論文標題 Histologic and histomorphometric evaluation of the bone regeneration following cortical bone repositioning in a rabbit mandible | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Clinical Implant Dentistry and Related Research | 6. 最初と最後の頁 印刷中 |
| 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0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

| | | |
|---------------------------------|---------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称 骨再生及び/又は骨増量用メンブレン | 発明者 山内健介、清水良 央、鵜沼英郎 | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-044341 | 出願年 2020年 | 国内・外国の別 国内 |

〔取得〕 計0件

〔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 | 鵜沼 英郎 (Unuma Hidero) (30273303) | 山形大学・大学院理工学研究科・教授 (11501) | |
| 研究 分 担 者 | 清水 良央 (Yoshinaka Shimizu) (30302152) | 東北大学・歯学研究科・助教 (11301) | |

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 |
|---------|---------|