

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：32667

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09644

研究課題名(和文) 骨誘導能を発揮する二相性ハイブリット骨補填材料の開発

研究課題名(英文) Development of an osteoinductive biphasic hybrid bone substitute

研究代表者

松野 智宣 (Matsuno, Tomonori)

日本歯科大学・生命歯学部・教授

研究者番号：80199827

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)：本研究は骨再生を促進させる骨補填材料を開発することを目的に、5種の医療用輸液を混合して合成骨補填材顆粒の表面に低結晶ハイドロキシアパタイト(HA)析出させた二相性骨補填材を開発し、細胞実験と動物実験で評価した。医療用輸液混合による析出物は低結晶HAで、細胞増殖と骨分化を促進した。また、HA顆粒に低結晶HAを析出させた二相性HA骨補填材は骨密度、新生骨体積率、新生骨面積率が有意に高値を示したことから骨再生を促進させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢者のインプラント治療には骨造成の必要性が高い。しかし、高齢者の多くは骨代謝能が低下しているため、従来の骨補填材のみでは十分な骨造成を得ることが困難であった。そこで、新生骨形成を促進させる骨補填材顆粒の開発を目的に、5種類の医療用輸液を混合して析出する低結晶ハイドロキシアパタイト(HA)を骨補填材顆粒と複合化させた二相性骨補填材を開発し、評価した。その結果、HA顆粒に比べて二相性HA顆粒は骨密度、新生骨体積率、新生骨面積率が有意に高値を示した。

以上より、二相性HA顆粒は効率よく骨再生を促進し、高齢者や高度に委縮した歯槽骨の骨造成に有用であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to develop a substitute bone that promotes bone regeneration. Five types of medical infusions were mixed to prepare biphasic bone substitute granules in which low-crystal hydroxyapatite (HA) was precipitated on the surface of synthetic bone substitute granules, which were evaluated in vitro and in vivo experiments. The precipitate from the medical infusion mixture was low crystalline HA, which promoted cell proliferation and bone differentiation. In addition, the biphasic HA bone substitute granules had significantly higher bone mineral density, new bone volume ratio, and new bone area ratio, and promoted bone regeneration.

研究分野：口腔外科学

キーワード：骨再生の促進 医療用輸液 低結晶ハイドロキシアパタイト 新生骨形成 二相性骨補填材

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 超高齢社会におけるインプラント治療では、萎縮した歯槽突起へインプラント体を埋入するためにさまざまな骨補填材料を用いた骨造成が行われている。しかし、ウシなどの異種焼成骨やハイドロキシアパタイト(HA)などの合成アパタイトには骨形成能のみならず骨誘導能もなく、周囲の既存骨から骨伝導能のみの骨再生に頼らざるを得ない。したがって、骨代謝が低下した高齢者や萎縮が進んだ歯槽突起への骨造成に対しては、骨形成能と骨誘導能を併せ持つ自家骨移植や自家骨と骨補填材料を混合した骨造成が行われている。

(2) 一方、骨移植材料のゴールドスタンダードである自家骨には骨形成を担う細胞とその細胞の誘導因子、さらに細胞増殖・分化の足場となるスキャホードの三因子が含まれる。しかし、自家骨移植には採取に必要な手術侵襲や疼痛、腫脹、採取量の制限や移植後の骨吸収などさまざまな問題点がある。そこで、これまでさまざまな骨補填材料が開発され、臨床応用されてきた。しかし、骨補填材料には骨形成能、骨誘導能がないため三次元的に大きな骨造成を要する場合や骨代謝の低下した部位、あるいは高齢者などでは十分な骨再生が得られないのが現状である。

### 2. 研究の目的

(1) ウシ焼成骨や合成アパタイト系の骨補填材料には、骨誘導能がないため、萎縮の進んだ歯槽突起などへの骨造成に対しては少なからず自家骨移植が併用されてきた。そこで、自家骨を用いることなく、骨補填材料のみで速やかに骨を誘導して、新生骨の形成を促進させる低結晶性HAを複合化した二相性骨補填材料を開発した。

(2) 本研究では医療用輸液を混合して過飽和リン酸カルシウム溶液を作製し、骨補填材顆粒表面に低結晶性HAを効率よく析出させ、低結晶性HAの分析、*in vitro*で細胞毒性や骨分化、*in vivo*で新生骨の形成状態を評価した。

### 3. 研究の方法

(1) 過飽和リン酸カルシウム溶液は5種類の医療用輸液をCa/P比1.6、37°CでpH7.8となるよう混合して作製した<sup>1)</sup>。その後、過飽和リン酸カルシウム溶液上清中のCa濃度とP濃度を吸光度測定した。次に、沈殿した析出物をエックス線回折(XRD)とフーリエ変換赤外分光光度計(FT-IR)で定性・同定した。

(2) 本研究に用いた骨補填材顆粒はウシ焼成骨、 $\beta$ -TCP、HA、炭酸アパタイトで、それぞれを過飽和リン酸カルシウム溶液に24、48、72時間浸漬し、37°Cのインキュベーター中で静置して二相性骨補填材顆粒を作製して、細胞毒性試験、骨分化試験を行った。

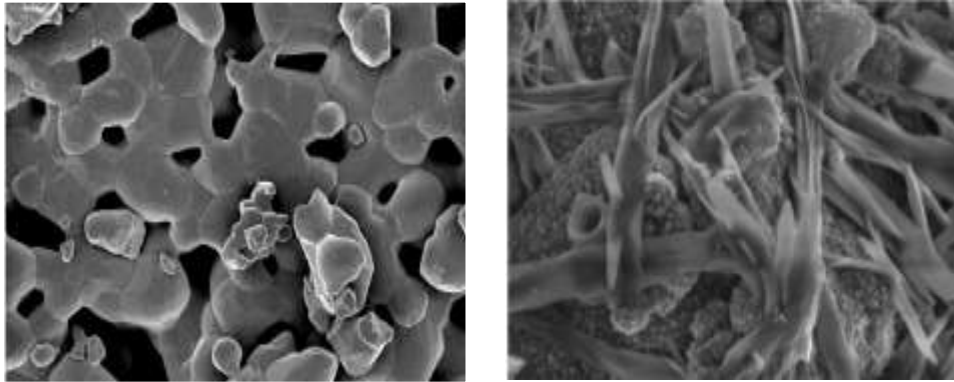
(3) 動物実験はウサギ頭蓋骨に直径6mmの全層骨欠損を作製し、HA顆粒と二相性HA顆粒を填塞し、4週後のマイクロCTとVillanueva bone染色で新生骨の形成状態を評価した。

### 4. 研究成果

(1) 過飽和リン酸カルシウム溶液の上清中のCa、P濃度は共に混和48時間後まで減少したが、それ以降の変化は認められなかったため、CaとPがCa/Pクラスターとなり析出物として沈殿したと考えられ、XRDとFT-IR分析から低結晶HAであることがわかった。

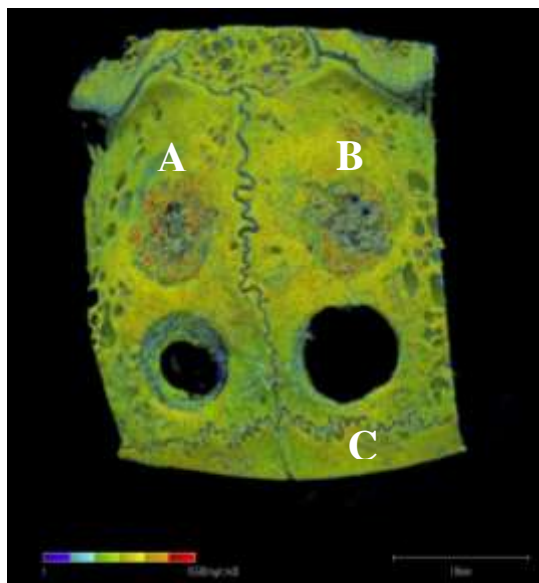
(2) 各種二相性骨補填材顆粒はそれぞれのコントロールに比べ、有意な細胞増殖能を示し、

細胞毒性がなく、骨分化を有意に促進した。特に、二相性 HA 顆粒は低結晶 HA が針状に成長し、細胞増殖能・分化能が最も高かった。



HA 顆粒 (左) と二相性 HA 顆粒 (右) の SEM 像

(3) 動物実験の結果、二相性 HA 群の骨密度は HA 群に対して有意に高値を示した。一方、HA と新生骨、および新生骨のみの体積量は二相性 HA 群と HA 群で有意差が認められなかったが、新生骨体積率では二相性 HA 群は HA 群に対して有意に高値を示した。また、Villanueva bone 染色像での新生骨面積率は、二相性 HA 群は HA 群と比較して顆粒周囲に新生骨形成が多く、有意差を認めた。



骨密度表示マイクロ CT 像 (A: 二相性 HA, B: HA, C: 骨欠損)

(4) 5 種類の医療用輸液の混合により析出する低結晶 HA を HA 顆粒と複合化した二相性 HA 顆粒は、新生骨の形成を促進し、インプラント治療の骨造成に有用な骨補填材料であると示唆された。

#### 〈引用文献〉

- 1) Mutsuzaki H, Ito A, et.al. Calcium phosphate coating formed in infusion fluid mixture to enhance fixation strength of titanium screws. J Mater Sci. 2007, 18, 1799-1808.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>山口友輔, 橋本典也, 三木貴仁, 小柳昌央, 松野智宣 |
| 2. 発表標題<br>骨誘導能を発揮する二相性骨補填材の開発          |
| 3. 学会等名<br>第49回日本口腔インプラント学会             |
| 4. 発表年<br>2019年                         |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>松野智宣, 山口友輔, 宮澤敦子, 米山勇哉, 橋本典也, 里見貴史  |
| 2. 発表標題<br>過飽和リン酸カルシウム溶液浸漬により作製したハイブリッド骨補填材の評価 |
| 3. 学会等名<br>第17回日本再生歯科医学会                       |
| 4. 発表年<br>2019年                                |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>松野智宣, 山口友輔, 稲田 諒, 宮澤敦子, 米山勇哉, 里見貴史    |
| 2. 発表標題<br>医療用輸液の混合により析出する低結晶HAを用いたハイブリッド骨補填材の開発 |
| 3. 学会等名<br>第23回日本顎顔面インプラント学会                     |
| 4. 発表年<br>2019年                                  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>山口友輔, 浅野一成, 三木貴仁, 三橋扶佐子, 松野智宣 |
| 2. 発表標題<br>擬似体液浸漬による各種骨補填材のアパタイト結晶析出の評価  |
| 3. 学会等名<br>第8回バイオインテグレーション学会             |
| 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<br>分担<br>者 | 橋本 典也<br><br>(Hashimoto Yoshiya)<br><br>(20228430) | 大阪歯科大学・歯学部・教授<br><br><br><br>(34408) |    |

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