

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：34408

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K09647

研究課題名（和文）ウロココラーゲンの骨増生における生体足場材料としての効果

研究課題名（英文）Effects of fish scale collagen as biomaterial scaffold for bone augmentation

研究代表者

戸田 伊紀（TODA, Isumi）

大阪歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：20197891

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）：ウロココラーゲンの骨欠損への応用による効果について、マイクロCT画像を基に、新生骨量などを計測し、比較としてウシコラーゲンや対照との検討を行った。

術後4週では全群に新生骨形成が認められ、その骨量はいずれの群間においても有意差は認められなかった。術後8週になると、ウロココラーゲンもウシコラーゲンもそれぞれ有意に増加していたが、対照群には増加がみられなかった。

したがって、ウロココラーゲンは、ウシコラーゲンよりは若干劣るものの、骨形成に効果があり操作性も良いことから、足場材料として有用であると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、魚のつろこから精製されたウロココラーゲンは、骨形成に関して現在市販されているウシ由来のコラーゲンとほぼ似たような効果があることが示唆された。今後研究が進み骨形成を促進するような表面処理などを行うことで、将来的に人獣共通感染のリスクを負うことなく、骨再生の優れた足場材料として臨床現場で応用されることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：The effect of fish scale collagen applied to bone defects was examined based on micro-CT images, measurement of new bone volume and other parameters, and comparison with bovine collagen and controls.

At 4 weeks postoperatively, new bone formation was observed in all groups, with no significant differences in bone volume between any of the groups. At 8 weeks postoperatively, both fish scale collagen and bovine collagen were significantly increased in each group, but not in the control group.

Therefore, it is expected that fish scale collagen will be useful as a scaffold material, as it is more effective in bone formation and easier to manipulate, although slightly less so than bovine collagen.

研究分野：解剖学

キーワード：ウロココラーゲン 骨形成

## 1. 研究開始当初の背景

歯科臨床において、腫瘍などによる大きな顎骨欠損や歯周疾患による著しい歯槽骨吸収に対して、咀嚼機能を回復させるために補綴治療やインプラント治療を施す場合、骨増生が必要となることがある。しかし骨増生を行う場合、その治癒の期間は治療が進まなくなるため、できるだけ骨増生の治癒を早めることで、最終的な咀嚼機能の回復が早まる。骨増生に用いる材料として、自家骨等種々のものが使用されるが、中でも骨中の有機質であるコラーゲンが注目され、現在使用されているのはウシ由来コラーゲンであることから、抗原性やウイルスやプリオンなどの病原体を含むことが否定できないことが問題となる。一方、魚類の鱗から精製されたウロココラーゲンはタイプⅠコラーゲンであり、線維化能や細胞増殖能に優れている<sup>1,2)</sup>とされることから、骨増生に使用すれば細胞の増殖が進むと予想され、臨床での治癒期間の短縮にも貢献できると考えられる。

## 2. 研究の目的

ウロココラーゲンは線維化能や細胞増殖能に優れている<sup>1,2)</sup>とされ、研究面では細胞培養に利用され、また食品としても応用されている。しかしながら、ウロココラーゲンを骨欠損などに生体応用した報告は少ない。また、骨修復の際には必ず血管の新生が行われ、その後骨形成が進むことから、血管形成や骨形成に関わる幹細胞の増殖が進む足場材料であれば、臨床の現場で治癒期間を短縮でき、臨床的にも有効であると考えられる。そこで、細胞増殖能に優れることを活用し、ウシコラーゲンに代わる新たな足場材料として骨欠損への応用の可能性を探ることとした。

## 3. 研究の方法

### (1) 実験1：ウロココラーゲンの効果

実験動物には8週齢のラットを用いた。また実験材料としてウロココラーゲンスポンジ(ウロコスポンジ)を用いた。

実験動物に全身麻酔を施した後、頭頂部に局所麻酔を行って頭皮を切開し、さらに骨膜を剥離した。脳硬膜に達する直径8ミリの骨欠損を形成した。直ちに実験群にはウロコスポンジを、対照群には何も充填せず、それぞれ骨膜および頭皮の縫合を行って外科処置を終えた。術後4、8週で実験動物を安楽死させ、灌流固定後に実験部位を摘出して標本とした。標本のマイクロCT撮影を行い、撮影画像データをもとに、3次元画像解析ソフトを用いて新生骨量などの新生骨形成のパラメータを計測して対照群と比較解析を行った。

また同様の方法で外科処置を行い、術後4、8週に安楽死後アクリル樹脂の血管注入を行った。樹脂硬化後に実験部位を摘出して軟組織処理を行い、骨・微細血管鋳型標本を作製した。この標本を操作電子顕微鏡にて観察を行った。

### (2) 実験2：ウロココラーゲンとウシコラーゲンとの比較

実験動物には8週齢のラットを用いた。また実験材料として実験1と同様のウロコスポンジを用い、比較として市販のウシコラーゲンスポンジ(ウシスポンジ)を用いた。

実験動物に全身麻酔を施した後、頭頂部に局所麻酔を行って頭皮を切開し、さらに骨膜を剥離した。その後、脳硬膜に達する直径7ミリの骨欠損を形成した。直ちに実験群にはウロコスポンジを充填、比較群にはウシスポンジを充填、対照群には何も充填しないものとした。それぞれ骨膜および頭皮の縫合を行って外科処置を終えた。術後4、8週で実験動物を安楽死させ、灌流固定後に実験部位を摘出して標本とした。標本のマイクロCT撮影を行い、撮影画像データをもとに、3次元画像解析ソフトを用いて新生骨形成のパラメータについて解析を行った。さらに各群間の比較を行うため一元配置分散分析を行って有意差判定を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 実験1：ウロココラーゲンの効果

#### ウロコスポンジの操作性

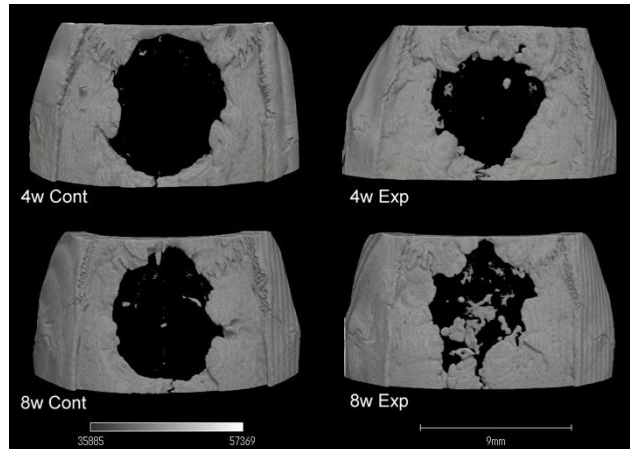
ウロコスポンジは血液に接しても形状は維持されていた。また湿潤状態、乾燥状態に関わらず操作性は良く、骨欠損部への適合も容易であった。

#### 新生骨形成のパラメータ

術後4週の新生骨量は、実験群の方がやや多い傾向を示したが、有意差はなかった。また術後8週でも実験群の方が多い傾向を示していたが、有意差はなかった。さらに、術後4週から術後8週を経時的にみると、その増加量は実験群の方が大きくなっていった。

#### 微細血管鋳型標本の観察

実験群および対照群における頭蓋骨骨欠損部の微細血管鋳型標本を作製し、走査型電子顕微鏡による観察を行い、血管新生の検索を試みたが、脳硬膜に分布する毛細血管と頭蓋骨の骨膜ないしは骨髄からの毛細血管との判別が困難となり、骨欠損部における血管新生と骨形成の実態解明には至らなかった。



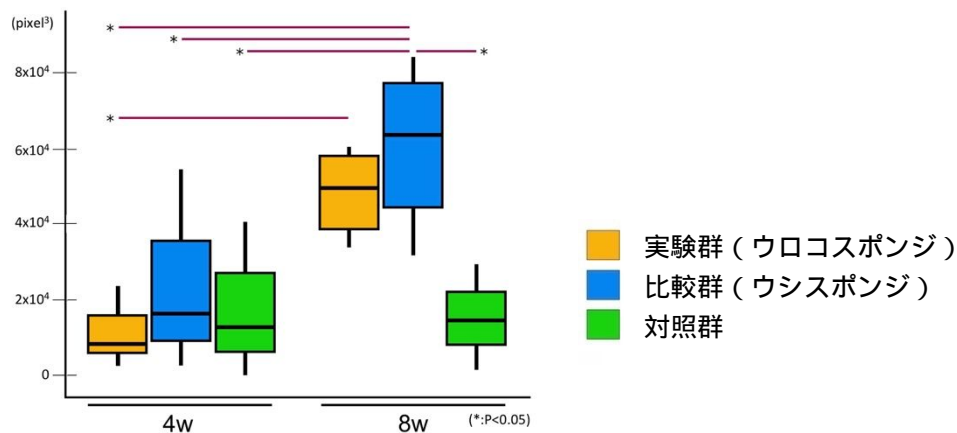
マイクロCT 3次元再構築画像<sup>3)</sup>  
 (上段：術後4週、下段：術後8週、左列：対照群、右列：実験群)

(2) 実験2： ウロコラーゲンとウシコラーゲンとの比較  
 コラーゲンスポンジの操作性の比較

ウロコスポンジは血液に接しても形状は維持され、操作性も良く骨欠損部への適合も容易であった。しかしながら、市販のウシスポンジは血液等の液体に接すると、スポンジの形状が崩れて原型を留めず、取扱が難しくなり、骨欠損への適応が困難であった。

新生骨形成のパラメータ

新生骨量は、術後4週では、全例で骨形成が認められたが、その骨量に有意差は認めなかった。術後8週では、ウシスポンジが最も多く、次いでウロコスポンジで、対照群が最も少なくなっていた。また経時的には、その増加量はウシスポンジが最も多く、次いでウロコスポンジであった。



骨欠損部での新生骨量 (3次元画像解析の画素数による比較)

(3) まとめ

ラットにおける実験的骨欠損に、魚鱗由来のウロコラーゲンスポンジを応用したところ、無填入の対照群よりも骨形成がやや促進され、骨形成に効果があることが示唆された。しかしながら現在市販されているウシコラーゲンスポンジと比較すると、同等もしくはやや劣る事も判明した。ただ、ウロコラーゲンスポンジの方が操作性も良く、湿潤状態であってもスポンジを操作でき、臨床の場面でも使用しやすく、足場材料としてはウシコラーゲンスポンジよりも優れていると思われる。

したがって、ウロコラーゲンスポンジの操作性は良いものの、ウシコラーゲンと同等の骨形成能を有する所までには至っていないと思われ、今後、表面処理等の加工を加えることで骨形成の効果を高められれば、将来的にウロコラーゲンスポンジが従来の哺乳動物由来コラーゲンの代用になる可能性は有すると考える。

引用文献

- 1) 今泉由美恵 他. マテリアルインテグレーション 2010; 23: 27-31.
- 2) Matsumoto R, et al. J Biomed Mater Res Part A 2015; 103A: 2531-2539.
- 3) 中西 功 他. 日口インプラント誌 2019 32 148-155

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 中西 功, 戸田伊紀, 竹村明道	4. 巻 32
2. 論文標題 ラット骨欠損の治癒過程におけるウロココラーゲンの効果	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本口腔インプラント学会誌	6. 最初と最後の頁 148-155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11237/jsoi.32.148	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中西 功, 戸田伊紀, 竹村明道
2. 発表標題 ラット骨欠損の治癒過程におけるウロココラーゲンの効果
3. 学会等名 第48回日本口腔インプラント学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Isumi TODA, Ko NAKANISHI, Mamoru UEMURA and Wataru KAWASHIMA
2. 発表標題 Effects of fish-scale collagen on bone defect healing process
3. 学会等名 4th Meeting of the International Association for Dental Research Asia Pacific Region 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 戸田伊紀、吉川雅朗、角 陽一、上村 守
2. 発表標題 ラット骨欠損の骨再生における魚コラーゲンの効果
3. 学会等名 第48回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2023年

〔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	上村 守 (UEMURA mamoru) (30351472)	大阪歯科大学・歯学部・教授  (34408)	
研究分担者	川島 渉 (KAWASHIMA Wataru) (60749240)	大阪歯科大学・歯学部・助教  (34408)	

	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	中西 功 (NAKANISHI Ko)		
研究協力者	竹村 明道 (TAKEMURA Akimichi)		
研究協力者	吉川 雅朗 (YOSHIKAWA Masaaki)		
研究協力者	角 陽一 (SUMI Yoichi)		

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