

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09659

研究課題名(和文) 予知性の高い垂直的骨造成に向けた外側性欠損における骨代謝機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of bone metabolism for predictable extra-vertical bone augmentation

研究代表者

萱島 浩輝 (Kayashima, Hiroki)

大阪大学・歯学研究科・招へい教員

研究者番号：50632121

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：CAD/CAMにて作られたチタンドームと -TCP, BBM, 炭酸アパタイト(CO3Ap)を用いることで、外側性に垂直的骨造成が可能であることが明らかとなった。複屈折顕微鏡観察の結果、BBM群およびCO3Ap群では造成骨に規則的なコラーゲン配向を認めなかった。同様に、-TCP群の造成骨内部及び造成骨頂点は規則的なコラーゲン配向を認めなかったが、それ以外の造成骨表層はドーム接線に近似した角度で、かつ母床骨と連続したコラーゲン配向を持つことが明らかとなった。SEM画像観察の結果、BBM群およびCO3Ap群は水平断においても顆粒が多く残存していたが、-TCP群は顆粒がほとんど認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年のデジタルデンティストリーの進展により、造成体積を正確に規定したCAD/CAMチタンモールドを使用することで、経時的な造成骨の評価を行うことが可能となり、外側性の造成骨における体積維持に関するこれまでにない新たな知見が得られたと考えられる。さらに、骨質評価法を確立することは、将来の再生歯科に求められる新たな骨補填材の開発へ向けた応用が期待できるだけでなく、骨組織の再生過程、機能の回復過程、骨疾患の形成過程や疾患程度の判定、創薬支援から材料設計に至るまでの幅広い領域にわたって発展する創造性を秘めている。

研究成果の概要(英文)：This study revealed that extra-vertical bone formation was possible by using CAD/CAM titanium molds with -TCP, BBM, and carbonate apatite (CO3Ap). As a result of birefringence microscopy, no regular collagen orientation was observed in the BBM and CO3Ap groups. In the -TCP group, no regular collagen orientation was observed in the interior and the apex of the augmented bone, but the other surface layers of the augmented bone has a result of SEM image observation, BBM group and CO3Ap group showed a lot of granules in horizontal section, while -TCP group showed almost no granules. ad collagen orientation at an angle similar to the dome tangent and continuous with the original bone.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：骨代謝 再生医療

### 1. 研究開始当初の背景

失われた歯槽骨を再生する歯槽骨造成術は、審美的かつ機能的な補綴歯科治療において有用な術式である。歯槽骨造成術の特徴である、母床骨の外側に造成を行う外側性垂直的骨造成は、粘膜からの応力や術後の感染などが原因で、長期安定性を得るのが困難であり、確実な骨造成術の確立が求められている。造成骨の評価は、組織学的解析やエックス線解析が一般的に用いられているが、近年、骨の評価方法として、骨の強度に關与する因子として骨質に注目が集まっている。骨質は、骨の基質的解析、すなわちコラーゲン/アパタイトの優先配向で表され、骨密度とともに骨の力学的強度に深く關与していると報告されている。骨質を評価することで、これまでの造成骨の評価方法である組織学的評価およびエックス線学的評価とは異なる新たな知見が得られることが期待されている。

また、これまでの垂直的骨造成の評価は、周囲を自家骨に覆われた内側性の骨造成モデルで行われており、外側性の骨造成モデルによる評価はほとんど報告されていない。そのため、規格化された外側性垂直的骨造成評価モデルを製作し、さらにはこのモデルを用いて力学的強度や生物学的強度を含めた多面的な解析を行うことで、骨再生分野に新たな知見が得られると考えられる。

そこで、本研究で研究代表者は、規格化された外側性垂直的骨造成解析モデルを確立し、外側性垂直的骨造成の多面的な解析を行うことで、造成骨の骨代謝をターゲットとした垂直的骨造成術の開発へ向けた新技術を創出できると考えた。

### 2. 研究の目的

本研究では、外側性の垂直的な骨欠損に対して、骨代謝機構の観点から造成骨を多面的に解析することで、新たな指標基準を探索するための基盤を確立し、これらを歯槽骨造成法の確立につなげていくことを目的としている。

### 3. 研究の方法

(1) これまでに研究代表者が試作・検討しているチタンドーム型造成モールドを用いて、細胞移植

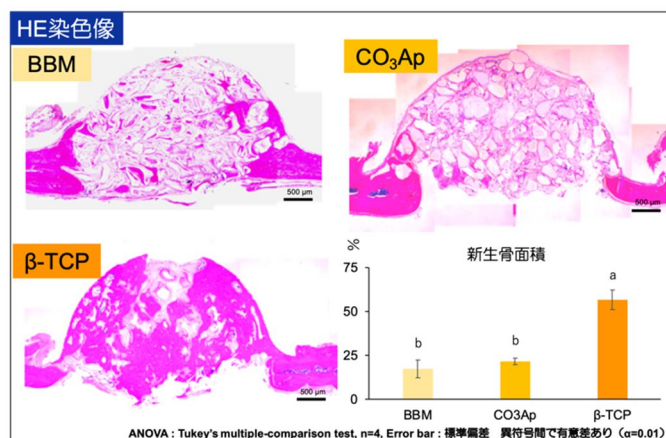
植実験用ラットの頭蓋骨欠損に対する垂直的骨形成モデルを確立するために、創部裂開を引き起こさずに造成可能なチタンドームのモールドサイズを検討し、この検討と併せて、 $\beta$ -TCP, BBM (Bio-Oss), 炭酸アパタイト (Co3Ap) を用いて垂直的骨造成を行い、造成骨の多面的な解析をマイクロCT解析および組織学的評価 (H-E 染色) を用いて行った。

(2)  $\beta$ -TCP, BBM (Bio-Oss), 炭酸アパタイトの各種骨補填材を用いて、垂直的骨造成を行い、造成骨の組織学的評価を複屈折顕微鏡解析にて行い、また造成部の水平断を SEM にて観察した。

### 4. 研究成果

$\mu$ CT による画像解析の結果、各材料の 16 週時点における、造成骨の高さ、骨塩量、骨体積、骨密度に有意な差を認めなかった。HE 染色の結果、BBM 群と CO3Ap 群は母床骨付近にのみ新生骨を形成し、広範囲で顆粒が残存していたのに対し、 $\beta$ -TCP 群は補填材のほとんどが骨に置換し、母床骨に対し、外側性かつ垂直的に顕著に新生骨が形成していた。また、造成部における新生骨の面積は  $\beta$ -TCP 群が他材料群と比べ、有意に高かった ( $P < 0.01$ ) (図 1)。

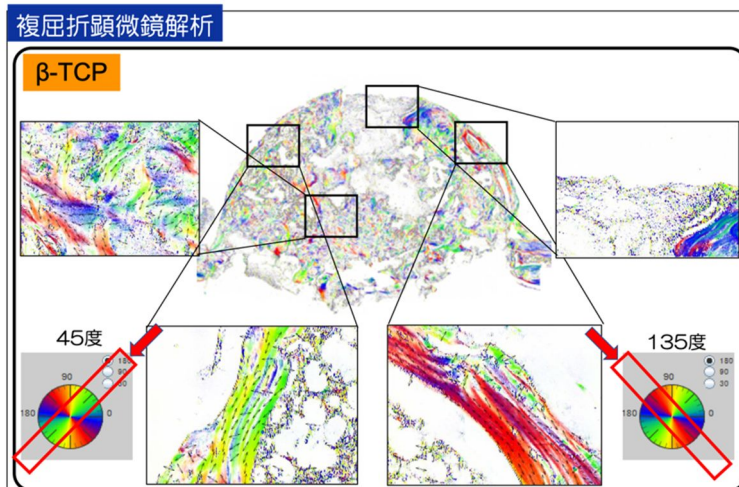
図 1



BBM 群および CO3Ap 群では造成骨に規則的なコラーゲン配向を認めなかった。同様に、 $\beta$ -TCP 群の造成骨内部及び造成骨頂点は規則的なコラーゲン配向を認めなかったが、それ以外の造成骨表面はドーム接線に近似した角度で、かつ母床骨と連続したコラーゲン配向を持つことが明

らかとなった(図2)。

図2



SEM 画像観察の結果，BBM 群および CO<sub>3</sub>Ap 群は水平断においても顆粒が多く残存していた。一方， $\beta$ -TCP 群は顆粒がほとんど認められず，また，造成骨内部では疎な組織が，造成骨表層では密な組織が観察された(図3)。

図3

造成骨水平断面 (bar: 50  $\mu$ m)

SEM観察像 ×1200倍	顆粒	造成骨内部	造成骨表層
BBM			
CO <sub>3</sub> Ap			
$\beta$ -TCP			

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Sugiyama K, Miura J, Shimizu M, Takashima A, Nagashima T, Kayashima H, Okamoto M.
2. 発表標題 Multianalysis of AGEs associated with calcification in cultured RDPCs
3. 学会等名 97th IADR/PER General Session (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 巽 秀人, 萱島浩輝, 畔堂佑樹, 江草 宏, 三浦治郎, 矢谷博文
2. 発表標題 サイズ制御を行って作製したマウスiPS細胞スフェロイドの多面的評価
3. 学会等名 第128回大阪大学歯学会例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 畔堂佑樹, 萱島浩輝, 巽 秀人, 中南友里, 石本拓也, 中野貴由, 江草 宏, 矢谷博文
2. 発表標題 外側性の垂直的骨造成モデルを用いた造成骨における新生骨の多面的評価
3. 学会等名 第128回大阪大学歯学会例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 巽 秀人, 萱島浩輝, 畔堂佑樹, 江草 宏, 矢谷博文
2. 発表標題 サイズ制御したマウスiPS細胞スフェロイドの分化誘導能の検討
3. 学会等名 第41回バイオマテリアル学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 畔堂佑樹、萱島浩輝、石本卓也、中野貴由、江草宏、矢谷博文
2. 発表標題 外側性に行った垂直的造成骨の骨補填材間における骨質解析の比較
3. 学会等名 第41回バイオマテリアル学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松岡秀、萱島浩輝、江草 宏、矢谷博文
2. 発表標題 プロテインキナーゼC阻害剤を用いた新規骨再生医療技術の開発
3. 学会等名 第127回 日本補綴学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Y. Bando, H. Kayashima, S. Matsuoka, H. Tatsumi, H. Egusa, H. Yatan
2. 発表標題 Development of A New Evaluation Model for Extra-Vertical Bone Augmentation
3. 学会等名 96th IADR (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 畔堂佑樹、萱島浩輝、石本卓也、中野貴由、江草宏、矢谷博文
2. 発表標題 外側性の垂直的骨造成モデルを用いた新生骨の多面的評価
3. 学会等名 第40回 バイオマテリアル学会
4. 発表年 2018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	江草 宏  (Egusa Hiroshi)  (30379078)	東北大学・歯学研究科・教授   (11301)	
研究 分担者	矢谷 博文  (Yatani Hirofumi)  (80174530)	大阪大学・歯学研究科・招へい教員   (14401)	

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