

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K17061

研究課題名(和文) ナノ・マイクロ構造を応用した新規骨補填材の開発

研究課題名(英文) Nano and micro-structured biomaterials for bone regeneration

研究代表者

井川 貴博 (IKAWA, TAKAHIRO)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：20780290

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：歯周組織再生治療・インプラント治療において骨補填材は欠かせない材料である。近年では骨への完全な置換を期待し、再生に関わる因子を活かすための骨補填材、という新しい視点からのアプローチが必要である。本研究では補填材の構造を調整することで理想的な時期に骨への置換を誘導するか検討した。マクロ構造を応用(孔径300 μ m)した骨補填材料の長期使用による効果では安定して骨への置換が観察できた。また成長因子(エナメルマトリックスデリバティブ)を補填材と併用した際にインプラント表面の骨形成において付加的な効果があることが組織学的に観察できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題にて、マイクロ・マクロ構造を検討することで従来の顆粒と比較して骨への置換時期の違いが起こることが示唆された。これにより術後感染や再生障害の原因しない骨補填材の改良への応用が期待される。また成長因子を併用することで、インプラント表面の骨形成に有効なことが示唆された。つまり、治療期間が短縮されることで、より低侵襲な外科手術あるいは局所の炎症を抑えることが可能となり、高齢者を含めた患者のQOLを高めることに大きく貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Bone grafted materials are indispensable for periodontal regeneration tissue and treatment. In anticipation of complete replacement with bone, it is required that a new perspective of a bone grafting material that utilizes the factors involved in regeneration. In this study, it was researched that bone replacement time by adjusting the structure of the biomaterial. New bone formation was observed in the long-term (6months) using bone grafting material with a macrostructure (pore size of 300 μ m). It was observed that an additional bone formation on the implant surface using biomaterials(Anorganic bovine bone) combined with a growth factor (enamel matrix derivative).

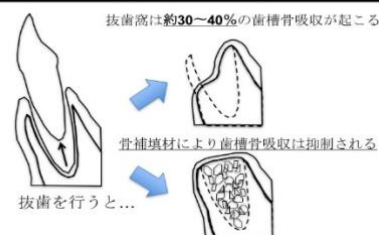
研究分野：歯周病

キーワード：生体材料 骨補填材 歯周病 インプラント 歯周組織再生 成長因子

1. 研究開始当初の背景

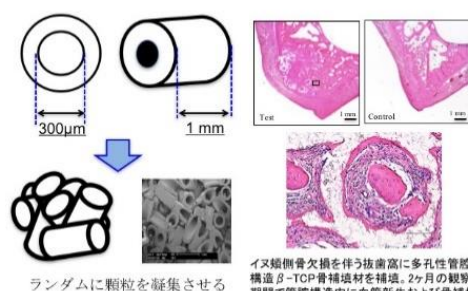
拔牙後の生理的骨吸収は顎堤を吸収させ、インプラント治療に影響を及ぼすことが知られている。特に歯周疾患を伴う歯の拔牙の際は歯槽骨の吸収が著しく、影響が大きい。拔牙後の歯槽骨吸収は拔牙窩に何も移植しない場合、高さ・幅で著しく起こる一方、骨補填材を移植した場合、骨吸収を抑制することが報告されている(図1)。骨補填材のゴールドスタンダードは未だに自家骨である。しかし自家骨移植には二次的な手術が必要でありドナー側の合併症が多いなどの課題があるため、人工骨が自家骨移植の代替となるための更なる改良が求められている。しかし、従来の顆粒では長期に残存している報告があり、術後感染や再生阻害の原因となりうる可能性が懸念されている。そのため、適切な期間で骨へ完全に置換されるための構造を有する骨補填材の開発が必要とされている。

図1: 拔牙後歯槽骨の変化と骨補填材の効果



多孔性管腔構造骨補填材は血管新生を促進するとされる孔径 300 μ m のトンネル状の構造を有する1mmの顆粒を凝集したものである(図2左)。これまで β -TCPの形状を従来の顆粒構造から多孔性管腔構造にすることで、早期に骨へ置換され、拔牙後の顎堤の吸収が抑制されること(図2右)、また歯周組織再生に有効であることを報告している。

図2: トンネル型管腔構造 β -TCP顆粒



この顆粒がランダムに配置されることで周囲からの血管新生および走行を促すことが分かっているが、構造内への骨形成を促すためには、顆粒のより細部のナノ構造を検討する必要があると考えられる。これらの問題を解決するにはナノテクノロジーによる生体に適したナノ構造の構築が必要である。

我々の研究グループは β -TCP/ゼラチン複合体を骨補填材として線維芽細胞増殖因子-2 (FGF-2)と併用することにより、成熟な顎骨の再生を報告している。ナノ構造を持つ管腔構造の特徴を活かし、成長因子を併用することで骨補填材の吸収速度を変化させ理想的な骨再生が可能になると考えられる。これまで、エナメルマトリックスデリバティブ(EMD)による歯周炎によって喪失した歯周組織再生への有効性は多数報告されており、長期的な報告では歯周組織再生誘導法と同等の効果を示したとの報告がある。しかし近年では、このEMDを液状にすることで骨補填材に浸透しやすくなり、骨再生に特化した細胞増殖因子として期待が高い。

また成長因子だけではなく薬物を補填材に浸潤させ、補填材から徐放することが可能となれば、これまでの外科手術に比べ、より低侵襲な外科手術あるいは手術なしで局所の炎症を抑えることによる歯周組織再生が可能となり、高齢者を含めた患者のQOLを高めることに大きく貢献すると考えられる。

2. 研究の目的

これまで β -TCPの顆粒構造をトンネル状の顆粒に変化させ、ランダムに配列することで歯槽骨再生に有効であることが分かっているが、すべての骨補填材が骨への置換には至っていない。またEMDはこれまでの歯周組織再生の研究で良好な成績が報告されている細胞増殖因子であり、液体状に改良することで、骨形成に特化した成長因子として今後臨床応用が期待されている。本研究により、成長因子を併用することで骨補填材の置換が促進され、本来の骨へ再生できると考える。また、骨組織はコラーゲンなどの有機物とハイドロキシアパタイトの無機物が部位特異的な配列を伴って形成されているため、この部位特異的な配列方向を再現し、機能性を備えた骨形成を可能とする骨補填材の開発が必要である。さらに、細胞増殖因子を効果的に作用させ、理想的な骨形成を促す構造・配列が明確になれば、本来の骨組織構造を取り戻す真の再生が期待でき、医学の分野でも応用できると考えられる。本研究は骨再生に有効な形状の骨補填材の開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 骨再生の長期経過

大型実験動物の上顎第一小臼歯部に骨欠損を作成し、ビーグル犬6頭使用し観察期間は24週とした。組織学的評価はIkawaらのモデルで使用した評価項目を用いて、関心領域内の新生骨形成量、残存骨補填材量、骨髓腔の割合を計測した。

(2) 新規担体と成長因子の応用

近年、骨補填剤としてウシ脱灰異種骨が主に使用されている。しかし、長期使用において残存することが報告されている。ウシ脱灰異種骨の焼結温度の異なる材料を使用し、エナメルマトリックスデリバティブを液状にした成長因子を併用した際のインプラント治療に対する効果を大型実験動物にて、組織学的に評価し、関心領域内のインプラント骨接触率、インプラント骨接触高さ、骨形成量、残存骨補填材料の割合を計測した。

(3) 形状による骨再生の比較

大型実験動物の下顎臼歯部に骨欠損を作成し、 β -TCP 骨補填剤の形状を変化させ、骨補填剤の形状による歯槽骨再生の違いを組織学的に評価した。ビーグル犬 4 頭使用し観察期間は 12 週とした。組織学的評価は、関心領域内の新生骨形成量、残存骨補填材量、骨髓腔の割合を計測した。

4. 研究成果

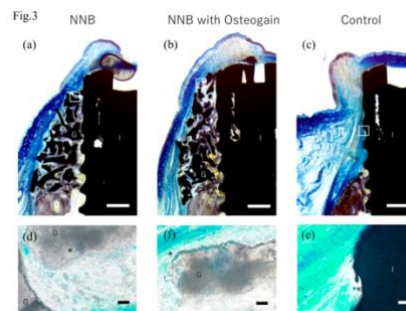
(1) マクロ構造を応用(孔径 300 μ m)した骨補填材料の長期使用による効果を大型動物実験にて組織学的に評価した。関心領域において、大部分が新生骨に置換され、約 6% 骨補填材の残存を認めた。以上から、本実験で使用した骨補填材は長期に安定して使用できる材料であること、一方で完全な骨への置換には、さらに長期の経過が必要であることが示唆された。そこでマイクロ構造を比較することが必要であると考え、①焼成温度を変更する②化学的処理を行うことで、骨補填材のマイクロ構造がどのように変化するか、また歯周組織再生で使用される細胞増殖因子を併用することで、骨への置換率がどのように変化するかを比較する実験を予定している。

TABLE 2 Change in bone formation

	Test sites (%)	Control sites (%)
Residual β -TCP	5.8 \pm 3.2	
Woven bone	57.8 \pm 11.1*	28.9 \pm 8.51
Bone marrow	15.2 \pm 12.6	28.2 \pm 8.2
BMUs	1.7 \pm 1.3	1.1 \pm 0.3
Connective tissue	19.6 \pm 9.2	41.7 \pm 6.4*

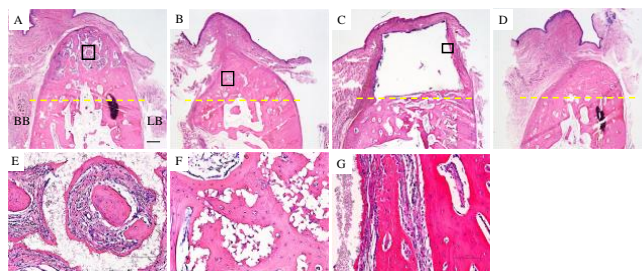
*Student's t test, $P < .05$; $n = 5$.

(2) ウシ脱灰皮質骨と歯周組織再生治療に使用されるエナメルマトリックスデリバティブを液状にした成長因子を併用することで、組織学的にインプラント周囲の骨再生、特にインプラントと骨結合に有効であること、一方で新生骨形成は単独使用の群と統計学的な有意な差を認めないことが分かった。そこで、成長因子の効果が期待できなかった理由として成長因子が入り込む構造ではないのかと考え、ウシ脱灰皮質骨のマイクロ・ナノ構造について SEM 画像解析を行っている。



(3) β -TCP の形状を比較するためにトンネル型 β -TCP 骨補填剤、顆粒状 β -TCP、緻密状 β -TCP ブロックを使用することができた。

歯槽堤増大量において、トンネル型 β -TCP は緻密状 β -TCP より少なく顆粒状 β -TCP より多い結果となった。一方で、残存 β -TCP 量は緻密状 β -TCP が多く、トンネル型 β -TCP は顆粒状 β -TCP よりやや多いが同程度の結果となった。以上から、トンネル型 β -TCP は歯槽堤増大量が多く、顆粒の残存量が少ない骨補填剤であることが示唆された。



一方で、トンネル構造を駆使した骨補填材を幾何学的に変化させることは難しく、マイクロ構造を変化させるなどの追加実験を予定している。

さいごに、本研究では、適切な期間で骨へ完全に置換されるための骨補填材と細胞増殖因子や抗菌薬などの薬物との併用ならびに骨補填材の 3 次元的構造の違いによる骨再生への有効性を明らかにすることを目的に実験を行ってきたが、適切な期間での完全な骨への置換は認められなかった。また、骨類似または薬物徐放に有効なナノ構造を有する骨補填剤の開発を行っていたが、適切な構造の発見には至らなかったため、さらなる実験が必要であると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ikawa Takahiro, Mizutani Koji, Sudo Takeaki, Kano Chihiro, Ikeda Yuichi, Akizuki Tatsuya, Kobayashi Hiroaki, Izumi Yuichi, Iwata Takanori	4. 巻 19
2. 論文標題 Clinical comparison of an electric powered ionic toothbrush and a manual toothbrush in plaque reduction: A randomized clinical trial	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Dental Hygiene	6. 最初と最後の頁 93~98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/idh.12475	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 Ogawa M, Katagiri S, Koyanagi T, Maekawa S, Shiba T, Ohsugi Y, Takeuchi Y, Ikawa T, Takeuchi S, Sekiuchi T, Arai Y, Kazama R, Wakabayashi N, Izumi Y, Iwata T.	4. 巻 4
2. 論文標題 Accuracy of cone beam computed tomography in evaluation of palatal mucosa thickness.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Clin Periodontol.	6. 最初と最後の頁 479-488
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jcpe.13254.	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 該当する

1. 著者名 Ikawa T, Akizuki T, Shujaa Addin A, Fukuba S, Stavropoulos A, Izumi Y.	4. 巻 10
2. 論文標題 Enamel matrix derivative in liquid form as adjunct to natural bovine bone grafting at buccal bone dehiscence defects at implant sites: An experimental study in beagle dogs.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clin Oral Implants Res.	6. 最初と最後の頁 989-996
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/clr.13512.	査読の有無 無
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5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Ikawa Takahiro, Tatsuya Akizuki, Ammar Shujaa Addin, FUKUBA Shunsuke, Stavropoulos Andreas, Izumi Yuichi.
2. 発表標題 Effect of natural bovine bone with and without EMD liquid (Osteogain) on implants with buccal bone defects- an experimental study in beagle dogs
3. 学会等名 European Association for Osseointegration (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩淵義之, 井川貴博, 鈴木彩, 加納千博, 須藤毅顕, 池田裕一, 水谷幸嗣, 和泉雄一
2. 発表標題 T字型歯ブラシ(T STYLE)を用いた歯垢除去に対する臨床評価
3. 学会等名 日本歯科保存学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小川実穂, 片桐さやか, 竹内康雄, 小柳達郎, 井川貴博, 竹内祥吾, 関内孝侑, 新井祐貴, 風間龍之介, 若林則幸, 和泉雄一
2. 発表標題 歯科用エックス線CT装置(CBCT)を応用した口蓋粘膜厚径の計測
3. 学会等名 日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平井亮, 井川貴博, 加納千博, 吉田直晃, 大津杏理, 池田裕一, 水谷幸嗣, 和泉雄一
2. 発表標題 高密度植毛歯ブラシを用いたプラーク除去効果の検討
3. 学会等名 日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kano C, Mizutani K, Ikawa T, Sudo T, Kobayashi H, Izumi Y.
2. 発表標題 The effect of electric-powered ionic toothbrushing on plaque removal randomized clinical trial
3. 学会等名 Europerio9
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 岩田健男、山崎長郎、和泉雄一	4. 発行年 2020年
2. 出版社 クインテッセンス出版	5. 総ページ数 184
3. 書名 PRD YEARBOOK 2020	

1. 著者名 和泉雄一、井川貴博、大津杏理	4. 発行年 2018年
2. 出版社 日本歯科評論	5. 総ページ数 906
3. 書名 高齢者に対する歯周治療	

1. 著者名 井川貴博、秋月達也、和泉雄一	4. 発行年 2018年
2. 出版社 クインテッセンス出版	5. 総ページ数 216
3. 書名 口腔外科ハンドマニュアル'18	

1. 著者名 Jr., Paul A. Levi (著), Robert J. Rudy (著), Y. Natalie Jeong (著), Daniel K. Coleman (著), 和泉雄一 (翻訳), 木下 淳博 (翻訳), 長澤 敏行 (翻訳), 青木 章 (翻訳).	4. 発行年 2018年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 240
3. 書名 非外科治療による歯周病コントロール	

1. 著者名 Marisa Roncati (著), 和泉 雄一 (監修, 翻訳)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 クインテッセンス社	5. 総ページ数 352
3. 書名 歯科衛生士の力でここまでできる 非外科的歯周治療	

〔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

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