

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06292・19K21380

研究課題名(和文) FGF-2徐放性接着性レジンの臨床応用に向けた包括的検討

研究課題名(英文) Comprehensive study for clinical application of FGF-2-releasing adhesive resins

研究代表者

壺井 莉理子(Tsuboi, Ririko)

大阪大学・歯学研究科・特任助教(常勤)

研究者番号：20827430

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らは、これまでに、FGF-2担持ポリマー粒子を添加することで、接着性レジンへの組織再生誘導効果の付与が可能であることを報告してきた。本研究では、実際に臨床使用できるFGF-2徐放性接着性レジンの実現を目指して、種々の小粒径のFGF-2担持ポリマー粒子を作製し、それらを添加した試作レジン細胞増殖促進効果や物性、歯質接着性について検討した。その結果、平均粒径8.7 μmのFGF-2担持ポリマー粒子を添加した場合、臨床使用に適した物性や象牙質接着性を維持しつつ、骨芽細胞様細胞の増殖促進効果を付与できることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

再生医療を目的とした薬剤徐放用キャリアの多くが生体分解性材料であるのに対し、本研究で用いたポリマー粒子は、担持した薬剤の放出後も粒子形態を維持できることから、再建用材料への適用を可能にする世界初の非生体分解性の薬剤徐放用キャリアである。本研究の成果をもとに組織再生誘導能を備えた接着性レジンが実用化できれば、破折歯の接着再建の治療成績を飛躍的に向上させ、口の中で歯をより長く機能させることが可能となる。また、本研究の技術は医科領域にも応用展開が可能であり、極めて発展性が高く社会的意義が高い。

研究成果の概要(英文)：Previously, we reported that the incorporation of FGF-2-loaded polymer particles into the adhesive resin was effective to provide the ability to release FGF-2 and promote tissue regeneration. In this study, aiming at achievement of the adhesive resin acceptable for clinical use, small FGF-2-loaded polymer particles with different kinds of particle size were newly prepared and incorporated into the adhesive resin. Then, the effects of the released FGF-2 on cell proliferation, physical properties and bonding ability of experimental resins were evaluated. The results revealed that the incorporation of FGF-2-loaded particles with an average diameter of 8.7 μm promoted the proliferation of osteoblast-like cells due to the release of FGF-2 from the particles, maintaining clinically acceptable physical properties and dentin bonding ability.

研究分野：生体材料学

キーワード：接着性レジン FGF-2 非生体分解性材料 ポリマー粒子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、細胞の増殖や分化を刺激して組織欠損部の創傷治癒を向上することを目的に、特定の治療薬やタンパク質、遺伝子などの活性分子をマテリアルに組み込み、薬剤徐放用キャリアとして再生治療に応用する研究が行われている。しかしながら、これらの担体の多くは生体分解性であり、薬剤の溶出とともに材料自体が分解するため、組織再建に時間がかかる大きな欠損部や、咬合力がかかる歯根破折の接着部、穿孔部の封鎖といった、負荷がかかり、さらに高い接着性や封鎖性が求められる部位には適さない。このような背景のもと、研究代表者は、歯科用レジン系材料への適用を念頭に置いた非生体分解性の薬剤徐放用キャリアとして、polyHEMA/TMPT 粒子を開発した。そして、組織再生誘導能を備えた歯科用接着性レジンの開発を目指して、このポリマー粒子に成長因子である FGF-2 を担持させ、その粒子を配合した試作接着性レジンが FGF-2 を徐放することで *in vitro* および *in vivo* において組織再生誘導効果を示すことを確認してきた。

しかしながら、これまでに用いてきた FGF-2 担持ポリマー粒子は、根尖や歯根破折線などの適用部位に対して粒径が大きすぎたため、接着性レジンの基本特性である操作性や物性への影響について十分な配慮がなされているとは言えなかった。そこで、研究代表者は、添加する FGF-2 担持ポリマー粒子の粒径を小さくすることで実際の臨床において根尖や歯根破折部位といった微小な術部の接着封鎖が可能な組織再生誘導効果を備えた新規接着性レジンが実現できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、組織再生誘導能を備えた歯科用接着性レジンの実用化に向けて、添加する FGF-2 担持ポリマー粒子の粒径や配合率を検討することを目的として、種々の小粒径の FGF-2 担持ポリマー粒子を添加した接着性レジンを試作し、その FGF-2 徐放能、*in vitro* での細胞増殖促進効果、物性ならびに歯質接着性を評価した。

3. 研究の方法

(1) 小粒径の FGF-2 担持 polyHEMA/TMPT 粒子の作製および FGF-2 溶出性の評価

HEMA と TMPT を重量比で 90 : 10 の割合で混和し、重合した硬化体を遊星回転ボールミルで粉砕して平均粒径 270、98、および 8.7 μm の 3 種のポリマー粒子を作製した。各粒子に FGF-2 を担持させて凍結乾燥処理を施し、FGF-2 担持粒子を得た。得られた各粒子を滅菌蒸留水に浸漬して、溶出液中の FGF-2 濃度を BCA 比色法により定量し、FGF-2 溶出性を経時的に評価した。

(2) FGF-2 担持粒子の 4-META/MMA 系レジンへの添加および FGF-2 溶出性の評価

実験 1 の結果を基に、以下の実験では平均粒径 8.7 μm の粒子を使用した。FGF-2 担持粒子を市販の 4-META/MMA 系接着性レジンであるスーパーボンド(サンメディカル、以下 SB) の粉材に対して 0, 10, 30 (wt)% の割合で添加し、モノマー液、カタリストと共に混和して、直径 5 mm、厚さ 0.5 mm の硬化体を作製した。得られた硬化体から溶出する FGF-2 濃度を実験 1 と同様にして測定した。

(3) FGF-2 担持粒子添加レジンの細胞増殖促進作用の検討

各レジン硬化体存在下で骨芽細胞様細胞を培養し、細胞増殖を MTT アッセイにより評価した。

(4) ポリマー粒子の添加によるレジンの物性や接着性に与える影響の検討

平均粒径 8.7 μm のポリマー粒子を 0, 10, 30 (wt)% の割合で添加した試作レジンについて、以下の実験を行った。

(a) 三点曲げ試験

金属製モールド(25 × 2 × 2 mm)を用いて各試作レジンの硬化体を作製し、37°C にて 24 時間あるいは 7 日間水中浸漬後、万能試験機を用いてクロスヘッドスピード 1 mm/min、支点間距離 20 mm で、三点曲げ試験を行った。SB は破断しないため、押し込み時間は 4 分までとした。

(b) 歯質接着試験

ウシ抜去切歯の唇側象牙質面を露出させ、耐水研磨紙を用いて被着面を均一な面になるまで研磨した。超音波洗浄後、被着面を乾燥させ、象牙質用エッチング材(表面処理剤グリーン、サンメディカル)にて表面処理後、試作レジンを使用して直径 3 mm の金属片を接着させた。10N の圧力を 10 秒間かけ、室温下で 1 時間、その後 24 時間水中浸漬し、せん断接着強さを測定した。

(c) 硬化時間および吸水・溶解量の測定

各試作レジンを練和開始から 30 秒後に示差走査熱量測定機に填入して硬化温度を測定し、最高温度に達するまでの時間を硬化時間として決定した。

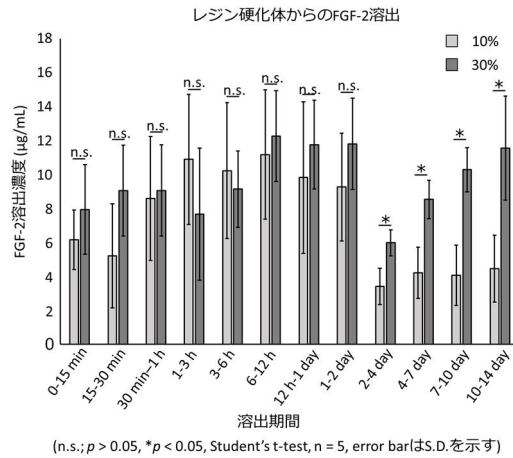
また、各試作レジン硬化体を 37°C 下で 7 日間水中浸漬し、その直後および乾燥後の試料

の重量を測定して吸水・溶解量を算出した。

4. 研究成果

(1) FGF-2 担持粒子の作製と FGF-2 溶出性

作製した各粒子に FGF-2 を担持させ、溶出液中の FGF-2 溶出濃度を測定したところ、粒径が小さいものほど FGF-2 の溶出量が多くなることが分かった。

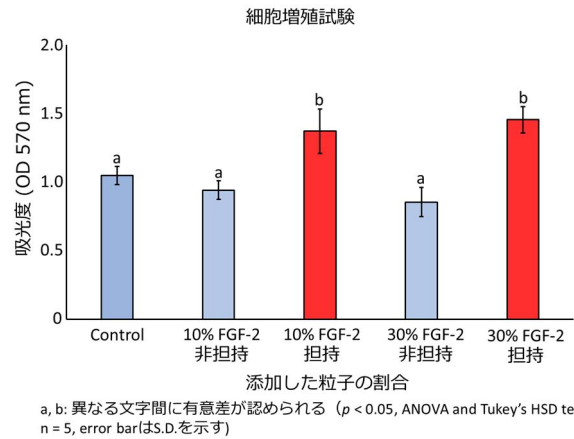


(2) FGF-2 担持粒子添加レジン硬化体からの FGF-2 溶出性

レジン硬化体から溶出する FGF-2 濃度を測定したところ、FGF-2 担持ポリマー粒子を 10 および 30 (wt)% 添加したレジン硬化体からの FGF-2 溶出は、いずれも 2 週間持続することが確認された。

(3) FGF-2 担持粒子添加レジンの細胞増殖促進作用

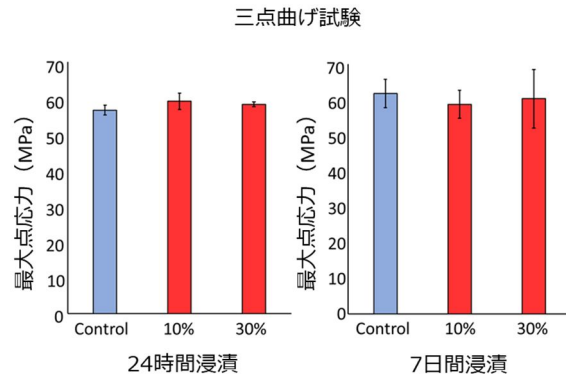
FGF-2 担持粒子を 10 および 30 (wt)% 添加したレジン硬化体存在下で骨芽細胞様細胞を培養し、細胞増殖を評価したところ、粒子を含まない SB のみのコントロールや FGF-2 非担持の粒子を添加した場合に比べて、MC3T3-E1 細胞の増殖が有意に促進されたが、粒子の添加量の違いによる細胞増殖効果の差は認められなかった。



(4) ポリマー粒子の添加によるレジンの物性や接着性に対する影響

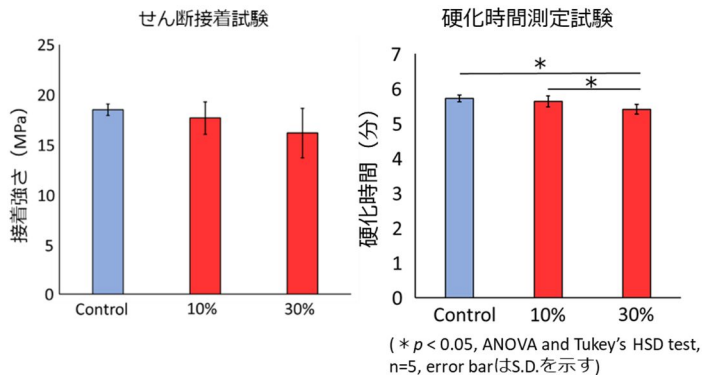
(a) 三点曲げ強度

添加する粒子の割合を変えても硬化体は破折せず、最大点応力に有意差はみられなかった。また、7 日間水中浸漬後の硬化体においても同様の結果を得た。



(b) 象牙質接着性

ウシ象牙質に対するせん断接着試験を行ったところ、SB にポリマー粒子を 10 および 30 (wt)% 添加した場合においても、粒子非添加の SB と同等の象牙質接着強さを有することが確認された。



(c) 硬化時間および吸水・溶解量

粒子の添加量が多いほど硬化時間は短縮し、さらに、吸水量、溶解量ともに粒子の添加率が高くなるにしたがって増加する傾向にあったが、試作レジンの硬化時間および吸水・溶解性は ISO に定められた歯科用接着性レジンセメントの規格に適合した。

実験 (a) ~ (c) の結果より、本 FGF-2 担持ポリマー粒子を配合した試作レジンが接着性レジンとして十分機能することを確認した。

以上より、平均粒径 8.7 μm の FGF-2 担持ポリマー粒子を 10 および 30 (wt)% 添加した試作レジンから 2 週間の持続的な FGF-2 の徐放が認められ、骨芽細胞様細胞の増殖を促進させる効果を発揮できることが確認された。さらに、小粒径のポリマー粒子の添加は、4-META/MMA 系レジンの強度や歯質接着性を低下させることなく、臨床使用に適したレジンの物性を維持できることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 壺井莉理子, 北川晴朗, 今里 聡	4. 巻 64
2. 論文標題 組織再生誘導を備えたFGF-2担持ポリマー粒子配合レジセメントの開発	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 大阪大学歯学会雑誌	6. 最初と最後の頁 9-12
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 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 -

1. 著者名 Imazato S, Kohno T, Tsuboi R, Thongthai P, Xu HH, Kitagawa H	4. 巻 39
2. 論文標題 Cutting-edge filler technologies to release bio-active components for restorative and preventive dentistry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dent Mater J	6. 最初と最後の頁 69-79
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4012/dmj.2019-350	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2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tsuboi R, Kitagawa H, Hirose N, Kitagawa R, Mine A, Imazato S
2. 発表標題 Bonding ability and mechanical properties of 4-META/MMA-based resins incorporating polyHEMA/TMPT-particles
3. 学会等名 International Association for Dental Research 97th General Session & Exhibition (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 壺井莉理子, 北川晴朗, 今里 聡
2. 発表標題 Development of a novel dental resin cement incorporating FGF-2-loaded polymer particles with the ability to promote tissue regeneration
3. 学会等名 第128回大阪大学歯学会 (招待講演)
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----