

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20791041
 研究課題名（和文）
 自己重合ペプチドスキャフォールドと人工骨骨格による理想的な骨充填材の開発
 研究課題名（英文） Novel hybrid bone filling material of self-assembling peptide scaffold and artificial framework
 研究代表者
 三澤 治夫（MISAWA HARUO）
 岡山大学・岡山大学病院・医員
 研究者番号：60448222

研究成果の概要（和文）：

骨充填剤に求められる特性として、骨としての強度と骨伝導性の二点が挙げられる。これらの特性は、両立が難しく、単一素材でバランスをとることが難しい。本研究では、2つの素材を組み合わせることで、それぞれの利点を生かした骨充填剤の作成を目標としたものである。強度と加工性の点で、PEEK(ポリエーテルエーテルケトン樹脂)を使用し、その内部に骨伝導性の良い、PuraMatrix™を使用し、ラットの大腿骨骨欠損部における骨新生を評価した。これらの素材を組み合わせることで良好な骨形成を認めた。

研究成果の概要（英文）：

Bone filling materials should have enough strength for weight bearing and adequate osteoconductive property. But these properties are incompatible. In this study, we used hybrid materials of Self-assembling Peptide PuraMatrix and Polyetheretherketone Cage. PuraMatrix has good osteoconductive property and Polyetheretherketone Cage has enough strength for bone filing material. We showed that these hybrid materials were useful for repairing the bone defects in Rat' s femurs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2009年度	1,094,240	328,272	1,422,512
年度			
年度			
年度			
総計	3,294,240	988,272	4,282,512

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：四肢機能再建学、骨再生

1. 研究開始当初の背景

骨欠損に対する充填材としてハイドロキシアパタイトや β -TCPなどの人工骨が使用されることが多い。これらの素材は骨組織と結合することが可能であり、特性も骨に類似しているため骨充填剤として広く使用されている。人工骨の問題点として骨の進入が表面にしか起こらず、内部まで再生が起こりにくい点が挙げられる。この点を改良すべく、気孔率の大きな製品が開発されているが、強度を強くするためには気孔率を下げる必要がある、気孔率が下がると骨伝導性が低下する。また、気孔率を高めると強度が維持できなくなるため、強度と骨伝導性、リモデリングを両立させる事は困難である。

強度と骨伝導性を両立するため、気孔率の調整や気孔同士の連通性が注目され研究がおこなわれているが、人工骨としての研究であり、再生の中心となる細胞に立脚した研究はあまりなされていない。実際に広く使用されている人工骨の気孔の大きさは、細胞に対してあまりにも大きすぎ、骨再生細胞にとって良好な環境を与えることで骨再生を試みるという視点での骨再生研究は少ない。

われわれは再生の主体となる細胞の機能に注目し、良好な再生環境を構築することで骨再生を促進する研究を行っており、骨欠損部に対し細胞の足場として機能すると考えられる SAPS (Self-Assembling Peptide Scaffold) を使用し、良好な骨修復を報告した。しかし、SAPS はゲルであり、充填は容易なもの、骨としての強度は持っていない。われわれは、強度と骨伝導性を両立させるためには単一素材での解決は難しいと考え、強度を持たないが骨伝導性良好な SAPS と必要

な強度を持つ人工骨格となる素材を組み合わせることで理想的な骨充填剤を開発できないかと考え本研究を行った。

2. 研究の目的

本研究の目的は、強度を担当する素材と骨伝導を担当する素材を組み合わせることで、それぞれの素材の特性を生かした骨充填剤を開発するという方法の有用性を証明することである。素材の組み合わせでより理想的な特性を持たせることができるという考え方が正しいのであれば、これまでとても骨充填剤としては使用されてこなかった素材も、組み合わせ次第で非常に有用な素材になりうる。このような方法では、これまでありえなかったような画期的な骨充填剤の開発につながるものとする。

3. 研究の方法

本研究の目的は、実際の骨としての強度を必要とする部位の骨欠損部に対して、人工骨格と SAPS を組み合わせた素材を移植し、骨としての強度および骨再生促進効果を証明することにある。

①長管骨における骨欠損モデルの作成

ラットの大腿骨に 5mm の骨欠損を作成し、近位と遠位の骨を創外固定で固定する。骨欠損の修復の状況を見て骨欠損の大きさを調整する。

②人工骨骨格の作製

SAPS の特性を考え人工骨の素材を検討する。また、①の実験で作成した骨欠損に納まる人工骨格の作成を外注で行う。実際に骨欠損部へ移植実験を行い、形状など見なおす。

③人工骨骨格の強度測定

作成した骨格の強度を強度試験を行い検討する。

④骨欠損部への移植実験

人工骨骨格に SAPS を注入し、ラットの骨欠損部に移植を行う。経時的な変化を軟 X 線撮影や組織学的に評価する。また、骨欠損部での遺伝子発現の検討も行う。

4. 研究成果

ラットの骨欠損モデルは、文献の通り 5mm で十分であることが分かった。また、以前行った骨延長の実験のごとく、創外固定を用い固定することで骨欠損モデルとして、安定した結果が得られた。

次に、この骨欠損部に充填する人工骨幹部の作成を行った。SAPS が保存状態で強酸性であること、軟 X 線や組織的な評価の簡便さ、加工性、生体安全性などを考慮し、PEEK を選定し、外注で人工骨幹部を作成した。当初 PEEK 剤の円柱を作成し実験を行った。この場合、骨幹の端の部分には問題なく骨形成が認められたが、骨幹部の中央には骨伝導が認められなかった。この結果の原因として骨幹部の循環環流の問題と考え、最終的には何か所か側面に開窓した円筒を使用した。

SAPS を充填した人工骨幹部を移植した動物実験では、SAPS と PEEK を組み合わせたもので非常に良好な骨形成が観察された。PEEK のみとの比較でも有意に骨欠損の中央まで骨形成が認められ、SAPS は PEEK の円筒の内部でも良好な骨伝導性を示すことが証明された。また PEEK の骨格の強度は、開窓したのも、正常の骨組織に匹敵する強度を有していた。また移植実験においても PEEK の骨格の強度にまつわるトラブルは皆無であり、人工骨幹部として十分な働きを示した。つまりこの 2 つの素材を組み合わせることでそれぞれの欠点を補った骨充填剤を作成すること

に成功したといえる。

これらの結果は、骨再生領域において複合素材を用いることの有用性を示した一例である。従来人工骨を主体とした形態的な工夫で再生力を高めるべく研究がなされているが、さまざまな素材を複合することでその長所を生かし、短所を補うことが可能である。再生医療の領域では、さまざまな素材が使用されている。骨はその特殊性から使用可能な素材が限られると考えられてきたが、それぞれの長所を生かすような組み合わせを検討することで、画期的な素材の開発の第一歩となるべき成果である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Hiroyuki Nakahara, Haruo Misawa, Takayuki Hayashi, Masato Tanaka, Aki Yoshida, Noriaki Tanaka, Toshifumi Ozaki, Naoya Kobayashi, Bone Repair Using a Hybrid Scaffold of Self-assembling Peptide PuraMatrix and Polyetheretherketone Cage in Rats. Cell Transplantation 査読あり 掲載予定
- ② Hiroyuki Nakahara, Haruo Misawa, Takayuki Hayashi et al. Bone repair by transplantation of hTERT-immortalized human mesenchymal stem cells in mice. Transplantation. 査読あり 15;88(3)、2009, pp, 346-53.

[学会発表] (計 2 件)

- ① 中原啓行、三澤治夫、林隆宏ほか：自己重合ペプチドスキャホールドに人工骨格を併用した骨充填剤によるラット大腿骨

欠損の再生、第 24 回日本整形外科学会基礎学術集会、平成 21 年 11 月 5 日、横浜

- ② 中原啓行、三澤治夫、林隆宏ほか：自己重合ペプチドスキャホールドに人工骨格を併用した骨充填剤によるラット大腿骨欠損の再生、第 35 回日本臓器保存生物医学学会定期学術集会、平成 20 年 11 月 23 日、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三澤 治夫 (MISAWA HARUO)

岡山大学・岡山大学病院・医員

研究者番号：60448222