

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18050

研究課題名(和文) 骨新生能と生体内吸収性を有する人工骨の開発

研究課題名(英文) Development of artificial bone with ability of bone generation and biodegradation

研究代表者

馬場 一慈 (Baba, Kazuyoshi)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：20848329

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：リン酸オクタカルシウム (Octacalcium Phosphate、以下OCP) は、を人工骨として使用するためには有機物質や無機物質を担体とする必要がある。今回乳酸グリコール酸共重合体 (PLGA) を担体とするための研究を行った。ラットを用いた実験でOCPとPLGAの複合体は、吸収性も骨新生能も良好であることを示した。この結果から、OCP/PLGA複合体が有効な人工骨材料となりうることを示すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

感染や外傷による骨欠損の治療には、骨移植が必要であり、現在その需要は高まっている。骨移植には、自家骨移植、同種骨移植、人工骨移植の3種類がある。このなかで人工骨移植は、どの医療機関でも使用でき、使用量に制限はない。しかし骨欠損部を修復する能力は自家骨や同種骨移植より劣り、大量に使用すると人工骨が残存し炎症を惹起することがある。そのため高い吸収性を有し骨新生能が高い人工骨は臨床重要である。今回の研究結果から、高い吸収性を有し、高い骨新生能を有する人工骨の開発につなげることができると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Octacalcium Phosphate (hereinafter referred to as OCP) needs to be used as a carrier with an organic or inorganic substance in order to be used as an artificial bone. This time, research was conducted to use lactic acid-glycolic acid copolymer (PLGA) as a carrier. An experiment using rats showed that the complex of OCP and PLGA has good absorbability and good osteogenesis ability. From this result, it could be shown that the OCP/PLGA composite can be an effective artificial bone material.

研究分野：整形外科

キーワード：人工骨 生体吸収性 骨新生能 リン酸八カルシウム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人工骨は骨移植が必要な症例に使用されている。自家骨を上回る骨新生能や生体内吸収性を有する人工骨の開発は、今後の整形外科治療に重要である。骨移植が必要な治療対象は、外傷、腫瘍、感染や人工関節のゆるみによる骨欠損、偽関節の修復促進、関節固定や脊椎固定の骨性架橋など多岐にわたる。現在、骨移植件数は増加傾向であり今後も需要が高まると考えられる。骨移植の方法は自家骨移植、同種骨移植、人工骨移植がある。人工骨はどの施設でも使用することができ、使用量に制限がないため骨移植における重要な役割を担っている。現在臨床応用されている人工骨は、自家骨と同等の骨新生能を示していない。また移植した人工骨の一部が残存し、異物反応を惹起し感染や、周囲の骨融解の原因となることがあるため、自家骨移植が第一選択となっている。自家骨移植は患者自身から骨を採取するため肝炎などの感染や異物反応を起こす危険性がないうえに、骨形成に必要な細胞や成長因子が含まれるため、骨欠損部の修復が早期に起こる。しかし採骨部の骨折や疼痛が残存する可能性があることや、採取できる骨の量が限られるため、巨大な骨欠損の治療では自家骨移植だけでは対応できない。同種骨移植は、移植骨片の適切な採取、保存の点から使用する施設が限定的であり、感染の危険性についても懸念がある。自家骨を上回る骨新生能や生体内吸収性を有する人工骨の開発は、今後の整形外科治療に重要である。また、これらの性質を持つ人工骨を開発することで、骨癒合を促進し生体内で吸収されるインプラントの開発にもつながると考えられる。外傷や骨切り術後の固定をするために、金属製のプレートやスクリューを使用し、強固に固定することで骨癒合を促進する。しかし、骨癒合後には、骨の上にプレートやスクリューが突出することによる疼痛や、抜去の際に破損して体内に残存してしまうことがあることや、インプラント近傍に血管や神経が存在する場合は抜去の際に、血管神経損傷の危険性があるため、抜去不要で強度がある生体内吸収性インプラントも今後の整形外科治療成績の向上につながると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は骨新生能を維持しながら強度の改善のために新たに無機物質との複合体を開発することを研究の目的とした。無機物質と OCP の複合体を作製し、複合体内の至適な OCP 濃度を解明すること、骨新生能を検討し、操作性と骨新生能に優れた人工骨を開発することである。

3. 研究の方法

複合体に使用する無機物質として乳酸グリコール酸共重合体(Poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA)を使用した。

OCP/PLGA複合体の解析：OCPは粒径を53-300 μ mに調整し、PLGAと複合体を形成する。複合体内のOCP含有率を20-40%にかえたOCP/PLGA複合体を複数作製した。作製した複合体の微細構造、気孔率を電子顕微鏡を用いて評価した。

OCP/PLGA複合体の骨新生能の解析：三種混合麻酔薬(ドミツール、ミダゾラム、ブトルフェール)を腹腔内に投与したSD雄ratの大腿骨外側を5cm切開し、規格化骨欠損(直径3mmで大腿骨を貫通する骨欠損)を作製した。作製した骨欠損部にOCP/PLGA複合体を埋入し、埋入後8週、12週後に大腿骨を回収する。回収した大腿骨の μ CTを撮影し、埋入部での新生骨を評価する。その後脱灰標本を作成し、骨代謝関連細胞の評価を行った。

4. 研究成果

(1) OCP/PLGA 複合体の作製

OCP/PLGA 複合体を作製した。OCP の含有量を 0%、20%、40%の 3 種類を作製した。電子顕微鏡に

て、複合体が蜂巢体を形成していることを確認した(図1)。気孔率は3つの複合体とも約93%、気孔径60 μ mと形状に差はなかった。

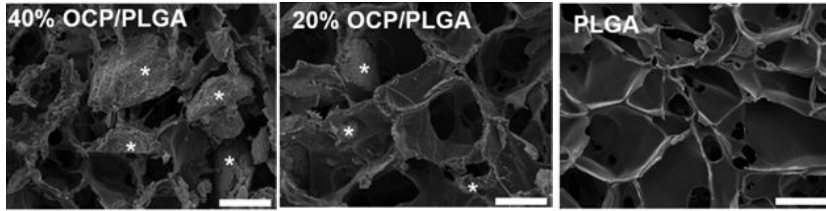


図1
OCP/PLGA 複合体の
電子顕微鏡像。
:OCP

(2) OCP/PLGA 複合体の生体内での骨新生能と吸収性

Rat 大腿骨遠位に直径 3mm の貫通した骨欠損を作製した。これまで OCP 複合体の骨新生を評価する骨欠損と比較して、骨新生には条件の悪い、大きな骨欠損となっている(図2)。作製した骨欠損に、PLGA、OCP/PLGA 複合体(OCP含有率20%、40%)をそれぞれ骨欠損に埋入し、4週後、8週後で骨欠損部にできた新生骨を組織学的に評価した。Hematoxylin-eosin (HE) 染色した組織標本をもとに新生骨の面積を評価した(図3)。複合体埋入後8週時点でOCPの残存はみられるが、4から8週かけてOCPの残数は減少した。埋入後4週から8週にかけて、有意に、全ての複合体で増加し、OCP含有40%の複合体が最も新生骨が形成された。

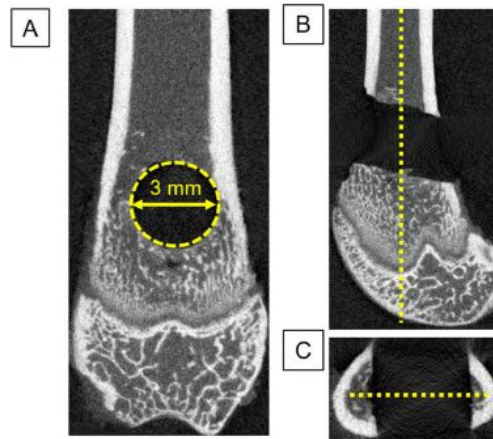


図2
Rat 大腿骨に作成
した骨欠損の
CT 像

A 冠状面
B 矢状面
C 水平面

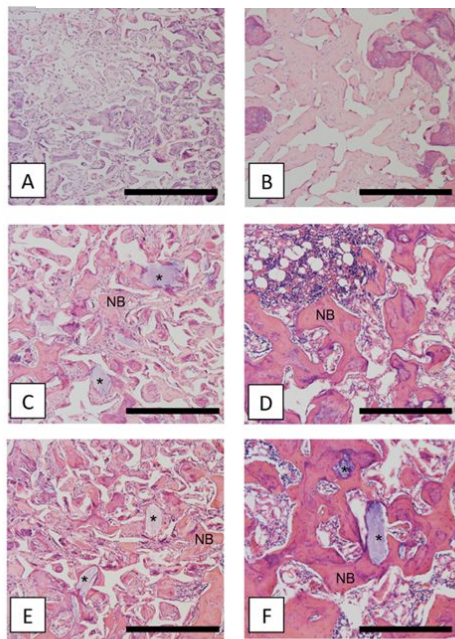
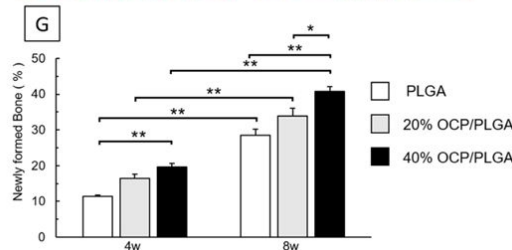


図3
骨欠損に OCP/PLGA 複合体を埋入後の新生骨の HE 染色を用いた組織学的評価
* OCP
A,B PLGA 単体のみの新生骨の HE 染色標本
C, D 20%OCP 含有の OCP/PLGA 複合体による新生骨の HE 標本
E, F 40%OCP 含有の OCP/PLGA 複合体による新生骨の HE 標本
G 複合体埋入後 4, 8 週後の関心領域内の新生骨の占める面積の割合



今回の研究結果により、OCP/PLGA 複合体は骨欠損を修復し骨新生を促進することを示すことができ、今後の人工骨の有用な材料となりうることを示すことができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Itsuki Oizumi, Ryo Hamai, Yukari Shiwaku, Yu Mori, Takahisa Anada, Kazuyoshi Baba, Naohisa Miyatake, Soshi Hamada, Kaori Tsuchiya, Shinnosuke Nishimura, Eiji Itoi, Osamu Suzuki	4. 巻 124
2. 論文標題 Impact of simultaneous hydrolysis of OCP and PLGA on bone induction of a PLGA-OCP composite scaffold in a rat femoral defect.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta. Biomater.	6. 最初と最後の頁 358 - 373
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.actbio.2021.01.048	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 -

1. 著者名 Soshi Hamada, Yu Mori, Yukari Shiwaku, Ryo Hamai, Kaori Tsuchiya, Kazuyoshi Baba, Itsuki Oizumi, Ryuichi Kanabuchi, Naohisa Miyatake, Toshimi Aizawa, Osamu Suzuki	4. 巻 480
2. 論文標題 Octacalcium Phosphate/Gelatin Composite(OCP/Gel)Enhances bone repair in a critical-size bone transcortical femoral defect rat model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clin Orthop Relat Res	6. 最初と最後の頁 2043-2055
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/CORR.0000000000002257	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大泉 樹（共同演者 馬場一慈）
2. 発表標題 ラット長管骨骨欠損モデルにおける新規骨補填材のリン酸八カルシウムと乳酸グリコール酸共重合体複合体による骨修復効果の検討
3. 学会等名 第35回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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