

令和 6 年 4 月 2 8 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18602

研究課題名（和文）光重合型架橋性ビニルエステルの分子量と多孔型吸収性骨補填材の骨形成率との関係

研究課題名（英文）Relationship between molecular weight of photopolymerizable crosslinkable vinyl ester and bone formation rate of porous absorbable bone grafting material

研究代表者

山田 知枝（Yamada, Chie）

岡山大学・歯学部・博士研究員

研究者番号：60838001

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：光重合法ではモノマー重合時の発熱を抑制できる。骨形成タンパク質を含むモノマーを光重合した骨補填材が分解すれば骨形成能が期待できる。本研究では重合触媒量を変えて骨形成蛋白含有の骨補填材の分解速度と骨形成量を観察した。重合触媒量を減らすと早期骨形成量は減少するが、骨補填材の吸収速度は早くなった。重合触媒量の変化することで、骨補填材の吸収速度を調整することが可能であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で用いたジビニルエステルは、重合によって架橋構造を与えて強度を示すとともに生分解性を有し、光重合が可能である。骨形成蛋白は熱変性するため、光重合することで薬効を維持したまま重合体に含有することができる。本研究では重合触媒量を調整することで、重合体の分解速度を調整することが示されたので、長期間の薬効を期待することが可能となる。

研究成果の概要（英文）：The photopolymerization method can suppress heat generation during monomer polymerization. The osteogenic ability can be expected if a bone substitute made by photopolymerizing a monomer containing bone morphogenetic protein is decomposed. In this study, we observed the decomposition rate and amount of bone formation of bone substitute containing bone morphogenetic proteins by varying the amount of polymerization catalyst. Reducing the amount of polymerization catalyst decreased the amount of early bone formation, but the absorption rate of the bone substitute increased. It was indicated that it is possible to adjust the absorption rate of the bone substitute by changing the amount of polymerization catalyst.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：骨補填材 吸収性 光重合 ビニルエステル アジピン酸ジビニル BMP 2

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨欠損が生じた場合の骨補填材として自家骨が移植されてきた。しかし、自家骨の採取には外科的侵襲や採取量の限界があることから、人工骨補填材の開発が研究されている。アジピン酸ジビニル (DVA) の重合体 (PDVA) はエステル結合に基づいた架橋構造であり、生体内のエステラーゼにより加水分解される。加熱重合型 PDVA は生分解性を有し、骨補填材として有用であることが確認されている。Bone Morphogenetic Protein-2 (BMP2) は骨誘導能を有する骨形成タンパク質であり、臨床応用に向けて有用な担体の開発が進められているが、高温処理によって生物学的活性が低下する。申請者らは多孔性コラーゲンスポンジに骨形成タンパク質を溶解した DVA を光重合によって表面処理することで、架橋型ポリマーの生分解によって骨形成タンパク質徐放性を有する新規多孔型吸収性骨補填材を開発した。このような背景の基、骨形成タンパク質を生体内で適切な速度で持続的に放出する人工骨補填材の開発が必要と考えられた。

2. 研究の目的

本研究では光触媒量を変化させた DVA によってコラーゲンスポンジを補強した吸収性骨補填材の分解速度を比較することを目的とした。

3. 研究の方法

表 1 光重合触媒量

	A 群	B 群	C 群
カンファーキノン(w/v)	1.2	0.6	0.3
第 3 級アミン(w/v)	4.8	2.4	1.2

試料の基材としてコラーゲンスポンジ(テルプラグ, オリンパステルモバイオマテリアル)を用い、φ8mm 厚さ 2mm にトリミングした。

DVA の光重合触媒量 (カンファーキノン: 第

3 級アミン) は表 1 に示すように、A, B, C 群の 3 群を設定した。rhBMP2 (10μg/30μl DVA, PEPROTECH) を含有させた DVA をコラーゲンスポンジに滴下し、DVA/コラーゲンスポンジ質量比が 13/2 となるまで遠心分離した。嫌気条件下でペンキュアー (モリタ) を用いて 180 秒間光照射し重合させた (図 1)。



図 1 埋入試料

8 週齢の Wistar 系雄性ラット 15 匹を 5 匹ずつの 3 群に分け、麻酔下で A, B, C 群の試料を頭蓋骨上正中に位置付けて骨膜と皮膚を縫合した。術後 1, 2, 4 および 9 ヶ月後に X 線 μCT 装置 (Latheta LCT200, 日立アロカ) を用いて対象部位の観察を行った。頭蓋骨表面の三次元構築を行い表面の観察を行った。

その後、深麻酔下で動物を屠殺して頭蓋骨ごと試料を採取し、試料の中央で前後に 2 等分した。前方部は脱灰後にパラフィン包埋して、ヘマトキシリン・エオジン(H-E)染色を行い、病理組織学的観察を行った。後方部は Villanueva 骨染色後に MMA 包埋して、Exact 社製の研磨標本作製システム(BS3000, MG4000)を用いて、厚さ約 100μm の非脱灰研磨標本作製した。全組織量(TV)、骨組織量(BV)を計測し、BV/TV を算出した。また、残存する PDVA 量ならびに試料高さを計測した。群間比較は一元配置分散分析の後 Tukey 法で行った ($p < 0.05$)。

4. 研究成果

μCT では 1 か月後にはいずれの実験群でも骨組織の形成が見られたが、A 群に比べると B, C 群の形成骨量は少なかった。いずれの実験群においても 9 か月後まで形成骨の形態はほぼ維持された (図 2,3)。

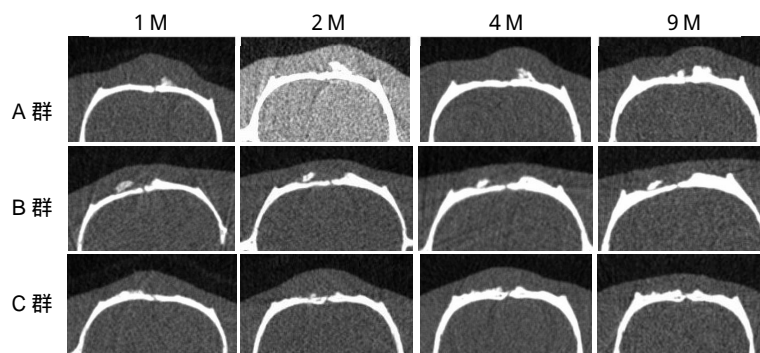


図 2 CT 像の経時的変化

病理組織学的には試料内に線維性組織が侵入して、既存骨表面から試料内に新生骨の部分的形成が認められた。PDVA 表面には多核細胞が少数存在したが、炎症性細胞浸潤は認められなかった(図 4,5)。また、組織所見で白く見える部位は残存 PDVA であった。

BV/TV は A 群では B, C 群に比べて有意に多い新生骨が見られた。A 群の残存 PDVA 量は B, C 群よりも有意に多く、試料高は C 群よりも高かった(図 6)。

歯科用光重合レジンにも利用されているカンファーキノンや 4-ジメチルアミノ安息香酸エチルなどの重合促進剤は、重合前には細胞毒性を示すが、光照射時間の延長に伴い毒性が減弱することが知られている。本研究の A 群と同じ触媒量を添加して光照射時間を変えて細胞毒性を検討した結果、光照射時間が 2 分を超えると細胞生存率は試料曝露がない場合と同様であった。本研究では可及的に細胞毒性を減少させるために 3 分間の照射時間とした。

本研究では μ CT を用いて同じ動物を経時的に観察できたため、骨量の経時的变化は μ CT の所見でしか観察できなかったが、特徴的な形態は観察期間を通じて保持されていたことは PDVA の強度によって骨量が維持されたためと推察される。

コラーゲンスポンジの表面全体を DVA で薄く覆うため遠心分離したが、コラーゲンスポンジの表面張力によって残存 PDVA が試料中に多く存在した。細胞群が補填材中の細部まで進入するためには多孔構造が必要であり、残存 PDVA を減少させることは今後の検討が必要である。

経時的な骨量増加が明瞭でなかったことは残存 PDVA の分解速度が遅いことが影響していると思われる。PDVA の強度を低下すれば PDVA の分解は進むと考えられるが、皮膚からの張力で骨補填剤自体の変形が生じて形成骨量が減少する可能性があるため、補填剤強度についても今後検討が必要と考えられる。

以上の結果から、光重合触媒量を変化することによってコラーゲンスポンジの表面を PDVA 処理した、吸収性骨補填材の吸収速度を調整できることが示唆された。

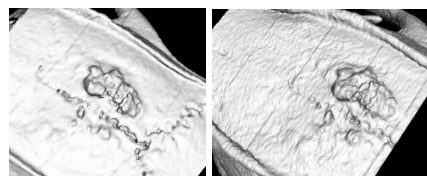


図 3 A 群の形成骨
(3D 像, 左: 1M, 右: 9M)

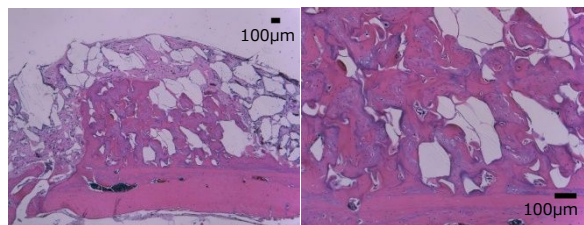


図 4 組織学的所見 (H-E 染色)

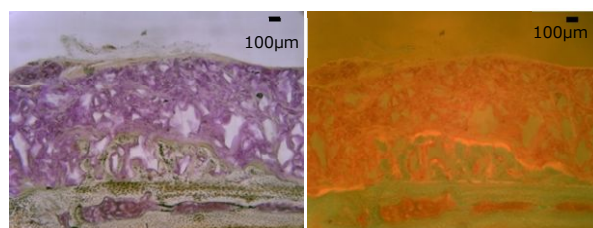


図 5 組織学的所見 (Villanueva 骨)

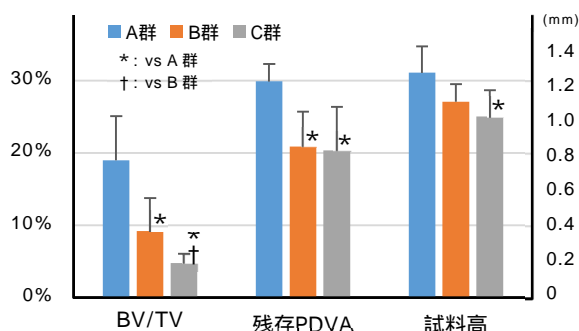


図 6 組織計測

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 0件）

1. 著者名 Hiroaki Nagatsuka	4. 巻 -
2. 論文標題 Newly designed flat surface artificial tongue system for speech improvement in glossectomy patient: A preliminary study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Prosthodontic Research	6. 最初と最後の頁 -
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 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 Asuka Murakami	4. 巻 -
2. 論文標題 Lack of occlusal support did not impact amyloid deposition in APP knock-in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Prosthodontic Research	6. 最初と最後の頁 -
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 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 -

〔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 窪田（山田）知枝
2. 発表標題 BMP 2 含有光重合型PDVA骨補填材における触媒量と骨置換効果
3. 学会等名 日本補綴歯科学会第132回学術大会
4. 発表年 2023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
---------	---------