

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12625

研究課題名(和文) 微細加工技術を用いた血管ネットワーク付人工骨の開発

研究課題名(英文) Development of prevascularized scaffold using microfabrication technique

研究代表者

河井 利之 (Kawai, Toshiyuki)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：80806828

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ビーグル犬の大腿骨に3cmの骨欠損を作成し、ポリカプロラクトンで作成した多孔体を挿入し、ポリエーテルエーテルケトンプレートで大腿骨を固定した。多孔体を挿入した多孔体群、欠損部をそのままにしたempty群、多孔体にBone Morphogenetic Protein 2を添付したBMP2群の3群を比較した。8週の段階で多孔体群はempty群よりも多くの血管量を有していた。BMP2群では多孔体群よりもさらに多くの血管量となっていた。8週後の骨形成量は、empty群よりも多孔体群、BMP2群で多い傾向があったが、有意な差ではなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

critical-sizeの巨大骨欠損部に吸収性の多孔体をscaffoldとして留置することで血管新生を促進することが示された。そこにさらにBone Morphogenetic Protein 2を添付することで血流がさらに増加するというデータが得られ、現在臨床で問題となっている巨大な骨欠損の再建の際の深部の血流・栄養不足の問題に対処する際の有効な手立てへと繋がる可能性がある。今回は骨形成量が充分得られなかったが、周囲からの血流を誘導するための人工血管構造を作成し、動脈と吻合することで深部への更なる血流改善、骨形成誘導が得られる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：A 3 cm bone defect was created in the femur of a beagle dog, a porous body made of polycaprolactone was inserted, and the femur was fixed with a polyetheretherketone plate. At 8 weeks, the porous group had more blood vessels than the empty group, and the BMP2 group had even more blood vessels than the porous group. The BMP2 group had even more blood vessels than the porous group. Bone formation at 8 weeks tended to be greater in the porosity and BMP2 groups than in the empty group, but the difference was not significant.

Translated with DeepL.com (free version)

研究分野：整形外科学

キーワード：Bone formation Angiogenesis polycaprolactone

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

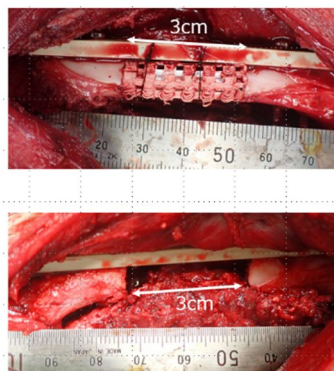
頭蓋顔面骨・四肢骨の骨欠損は、骨折・変性・先天性形成異常・腫瘍切除の結果生じ、治療には多くの場合骨補填(骨再生)を要する。このような患者に対しては本邦では自家骨移植が選択される事が多いが、採骨可能な部位・量が限られる上、採骨部の疼痛・機能低下といった問題があった。欠損部のサイズや部位によっては自家骨移植単独では十分な血流が得られず、血管柄付自家骨移植が必要になる場合もある。近年採骨を行わず、組織工学的手法により、細胞・Scaffold・成長因子などを組み合わせて硬組織再生を行う試みがなされているが、血管柄付自家骨移植に匹敵するような、骨再生の手法はいまだ確立されてこなかった。

2. 研究の目的

Microfabrication を用いて微細血管ネットワーク構造を持つ人工骨を作成し、生体内でインプラントを還流する栄養路の構築を目指す。これにより骨欠損に対してサイズの制約を受けない骨再生医療を実現することを目的とした。

3. 研究の方法

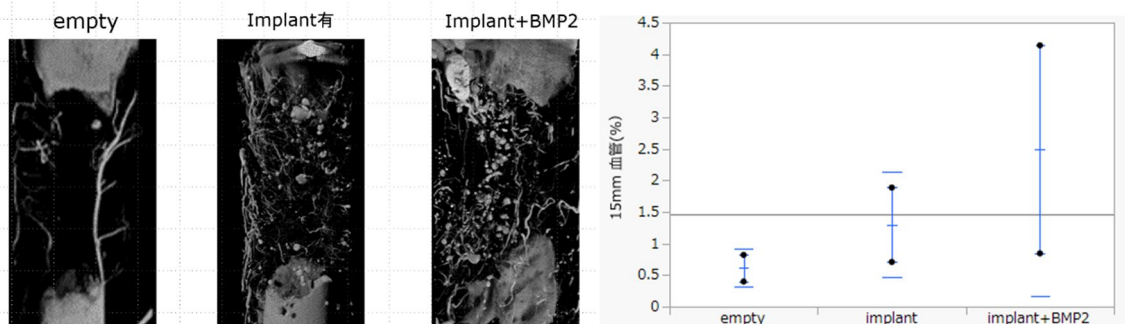
(1) ビーグル犬の大腿骨に 3cm の骨欠損を作成し、三次元印刷技術で作成したポリカプロラクトン多孔体を挿入し(右図) ポリエーテルエーテルケトンプレートで大腿骨を固定した。多孔体を挿入した多孔体群、欠損部をそのままにした empty 群、多孔体に Bone Morphogenetic Protein 2 を添付した BMP2 群の 3 群を比較した。8 週間後に腹部大動脈から血管造影剤 Microfil を注入したのち安楽死させ、大腿骨を採取して μ CT 撮影を行い欠損部の血管の量、骨形成量を評価した。そののち取り出した大腿骨を樹脂包埋し、切り出した後に 50 μ m まで研磨し Van Gieson 染色、Stevenel's blue 染色し組織学的な評価を行った。



(2) 様々な吸収速度を持ったポリカプロラクトンインプラントを作成するため、ポリカプロラクトンとハイドロゲルの配合比率をさまざま割り振った 5 種類の複合体 (h PCL, PG10, PG20, PG30, PGT712) をラットの背部皮下組織に挿入し、12 週、24 週で周囲組織ごとに取り出し μ CT 撮影を行い生体内での体積の変化率を評価した。

4. 研究成果

(1) 8 週で採取した大腿骨組織を μ CT で観察したところ、欠損のままとした empty 群と比較してポリカプロラクトン scaffold を留置した implant 群の方が血流が豊富であることが示された。また、ポリカプロラクトンに BMP2 を添付した implant+BMP2 群では implant 群よりもさらに血流が増加している結果となった(下図、下グラフ)



骨形成量は X 線検査と μ CT 撮影による体積計算により評価を行った。

Implant + BMP2 群では 8 週までに骨量が増加していったものの、骨癒合に至ったケースは無かった。今回添付した BMP2 は低用量であり、血流を促進する効果は得られていたものの critical-sized の骨欠損を補うだけの骨形成効果は得られていないことが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Honda S, Fujibayashi S, Shimizu T, Yamaguchi S, Okuzu Y, Takaoka Y, Masuda S, Takemoto M, Kawai T, Otsuki B, Goto K, Matsuda S.	4. 巻 112
2. 論文標題 Strontium-loaded 3D intramedullary nail titanium implant for critical-sized femoral defect in rabbits.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 J Biomed Mater Res B Appl Biomater.	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） 10.1002/jbm.b.3539	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 Takaoka Y, Fujibayashi S, Onoe H, Goto K, Otsuki B, Kawai T, Okuzu Y, Shimizu T, Ikeda N, Orita K, Honda S, Ikezaki T, Yabutsuka T, Matsuda S.	4. 巻 15
2. 論文標題 Bone ingrowth into a porous structure is achieved by preceding fibrogenesis and vascularization	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Acta Biomater	6. 最初と最後の頁 243-252
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.actbio.2024.02.016.	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 Makoto Hayashi, Takayoshi Shimizu, Masashi Imamura, Shunsuke Fujibayashi, Seiji Yamaguchi, Koji Goto, Bungo Otsuki, Toshiyuki Kawai, Yaichiro Okuzu, Shuichi Matsuda	4. 巻 11
2. 論文標題 Optimizing the layer thickness of sol-gel-derived TiO ₂ coating on polyetheretherketone	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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） 10.1038/s41598-021-95572-9	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 Toshiyuki Kawai, Chi-Chun Pan, Yaichiro Okuzu, Takayoshi Shimizu, Alexander M Stahl, Shuich Matsuda, William J Maloney, Yunzhi P Yang	4. 巻 27
2. 論文標題 Combining a Vascular Bundle and 3D Printed Scaffold with BMP-2 Improves Bone Repair and Angiogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tissue Engineering PartA	6. 最初と最後の頁 1517-1525
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/ten.TEA.2021.0049	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 Kazuaki Morizane, Koji Goto, Toshiyuki Kawai, Shunsuke Fujibayashi, Bungo Otsuki, Takayoshi Shimizu, Shuichi Matsuda	4. 巻 14
2. 論文標題 Bone Coverage around Hydroxyapatite/Poly(L-Lactide) Composite Is Determined According to Depth from Cortical Bone Surface in Rabbits	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Materials	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) 10.3390/ma14061458	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 Tomotoshi Kawata, Koji Goto, Masashi Imamura, Yaichiro Okuzu, Toshiyuki Kawai, Yutaka Kuroda, Shuichi Matsuda	4. 巻 14
2. 論文標題 Titania-Containing Bone Cement Shows Excellent Osteoconductivity in a Synovial Fluid Environment and Bone-Bonding Strength in Osteoporosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Materials	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) 10.3390/ma14051110	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 Yaichiro Okuzu, Shunsuke Fujibayashi, Seiji Yamaguchi, Kazutaka Masamoto, Bungo Otsuki, Koji Goto, Toshiyuki Kawai, Takayoshi Shimizu, Kazuaki Morizane, Tomotoshi Kawata, Yu Shimizu, Makoto Hayashi, Shuichi Matsuda	4. 巻 35
2. 論文標題 In vitro study of antibacterial and osteogenic activity of titanium metal releasing strontium and silver ions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Biomater Appl	6. 最初と最後の頁 670-680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0885328220959584	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0件

〔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
---------	---------