

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 10 日現在

機関番号：22701
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23792366
 研究課題名（和文） 骨組織誘導能を賦与したチタンファイバー綿製顎骨再建材料の開発

研究課題名（英文） Development of jaw bone reconstruction material made of osteoconductive titanium fiber mesh scaffold.

研究代表者

廣田 誠 (HIROTA MAKOTO)
 横浜市立大学・医学部・准教授
 研究者番号：20347305

研究成果の概要（和文）：

チタンファイバーを不織布状にした多孔質体であるチタンファイバースキャホールドによる顎骨再建材料を作製した。スキャホールドをハイドロキシアパタイト薄膜でコーティングしたところ、骨芽細胞の活動性の上昇が認められ、ウサギを用いた下顎骨再建の実験では、アパタイトコーティングした群では新生骨が材料に沿って進展し、下顎骨の連続性が回復した。これらより、ハイドロキシアパタイト薄膜コーティングチタンファイバースキャホールドによって顎骨再建材料として十分な役割を果たすものと考えられた。

研究成果の概要（英文）：

The aim of this study was evaluation of the bone regeneration properties of titanium fiber scaffold (TFS) that had been coated with a thin hydroxyapatite (HA) layer. Human osteoblasts culture suggested that the HA coated TFS accelerated osteoblast activity. Reconstructive surgery for rabbit mandibular segmental bone defect using titanium fiber block was performed. The discontinuity of the mandibular bone was completely regenerated by newly formed bone in and on the HA/TFS, suggesting TFS is the materials to reconstruct the jaw bone defects.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：口腔顎顔面再建外科学， 顎骨再建， チタンファイバースキャホールド

1. 研究開始当初の背景

顔面外傷や口腔腫瘍切除後に生じる広範囲の顎骨欠損に対する再建治療は今日でも自家骨移植が最も確実性の高い方法である。しかし、自家骨移植では採骨手術による身体的負担も強く、自家骨移植に変わる様々な手術方法や骨組織再生のための3次元スキャホールドが開発されてきた。

顎骨形態を再現する手術として、チタン性

あるいは吸収性のトレーに海綿骨髄を充填して移植する方法があるが、やはり自家骨採取のリスクが残される。ティッシュエンジニアリングに基づいた顎骨再生も近年試みられているが、確立された治療技術は出現していないのが現状である。

申請者はこれまで顎骨腫瘍切除後の骨再建治療に関する報告をしてきた。一方で、吸

収性骨補填材料が骨形成能を有する細胞との併用で、より効果的な骨伝導能を示す実験的研究や、臨床における生理活性物質と骨補填材料を併用した骨再建治療の検討を報告してきたが、広範囲の顎骨の形態的再建には、非吸収性スキャホールドが望ましいと考え、その候補としてチタンファイバー綿に着目した。骨補填材料候補としても、近年、小動物を用いた研究報告がなされている。

チタンファイバー綿で作成した3次元スキャホールド内を分子プレカーサー法にてハイドロキシアパタイトを均一にコーティングすると、骨伝導能の向上が認められる。この方法はこれまでの主流である物理的蒸着法ではなく溶液法であるため、コーティングされる物質の形状に制限がない。こうして得られた3次元スキャホールド内での骨伝導能の向上は、顎骨の機能再建に有力となる歯科インプラントの再建骨での実施に有効となる。即ち、インプラントが念頭における骨再建・再生用3次元スキャホールドとするために、分子プレカーサー法によるチタンファイバー表面のアパタイト薄膜コーティングがスキャホールド内部への骨伝導能向上と細胞誘導性の賦与を獲得する手段として有用であると考え、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究では複雑な3次元形態に簡便で正確なコーティングが可能である分子プレカーサー法によって、チタンファイバーに均一で密着性に優れたアパタイト薄膜コーティングとトレシルクロリド法による細胞誘導のための生理活性物質の固定化を行う。この技術を応用し、自由に成形でき、十分な強度も有するチタンファイバー綿を用いた、細胞誘導性を賦与した顎骨再建用3次元スキャホールドを開発するための基礎的条件を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) チタンファイバー綿性3次元スキャホールドの作製とプレカーサー法によるハイドロキシアパタイト薄膜コーティング

(2) アパタイト薄膜コーティングチタンファイバーの生体材料としての応用を探るため、疑似体液中でのアパタイト薄膜の溶解性や石灰化物形成挙動について検討した。

(3) サンプル評価。試料は高性能実体顕微鏡で観察後、MMA包埋し、マイクロカッティングマシン（ゼーゲトーム）にて25 μ m程度に薄切し、塩基性フクシン・メチレンブルー重染色かトルイジンブルー染色を行う。スキャホールド内部の骨組織の形成率をNIHイメージにて評価し、各群間で比較検討した。

(4) 同様にチタンファイバー単体、アパタイト薄膜コーティングチタンファイバーそれぞれを培養基材とし、骨芽細胞の培養を行なった。培養は3、7、14、21日間実施し、それぞれの培養期間における細胞増殖能の評価と骨芽細胞の成熟度の評価、すなわち、骨芽細胞マーカーであるI型コラーゲン、アルカリフォスファターゼ、オステオカルシンの発現を観察した。培養後の各チタンファイバーを観察し、石灰化物の有無を実体顕微鏡にて観察した。

(5) 動物実験による評価1

ラット頭蓋骨欠損モデルを作製し、同材料による再建実験を行った。ラットはwister rat、♂、12週齢とした。直径6mmの欠損を作製し、それに合わせたチタンファイバーをスキャホールドとして欠損部位の再建に使用した。①チタンファイバー単体②アパタイト薄膜コーティングチタンファイバーとして、2

週後、4週後にサンプルを評価した。

(6) 動物実験による評価2

ウサギ下顎骨欠損モデルを作製し、同材料にて再建した。ウサギは日本羽兎、♂、21週齢とした。左下顎骨に長さ10mmの区域欠損を形成し、下顎骨の連続性を完全に喪失させたのち、長さ10mm、幅5mmのチタンファイバブロックと、下顎骨再建用プレートおよびスクリーにて同欠損を再建した。①チタンファイバー単体②アパタイト薄膜コーティングチタンファイバーとして、9週後、21週後にサンプルを評価した。

4. 研究成果

(1) プレカーサ法によるハイドロキシアパタイト薄膜コーティングでは、複雑なチタンファイバーの3次元構造を損なうことなく均一なハイドロキシアパタイト薄膜コーティングが行なえることが観察できた。



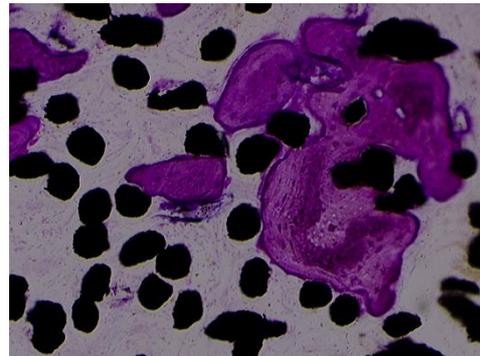
ハイドロキシアパタイト薄膜コーティング後の電子顕微鏡では、材料の3次元構造にはまったく変化は認めなかった。

(2) 疑似体液中における石灰化挙動試験では、ハイドロキシアパタイト薄膜コーティング群において早い時期での石灰化物の析出が観察できた。

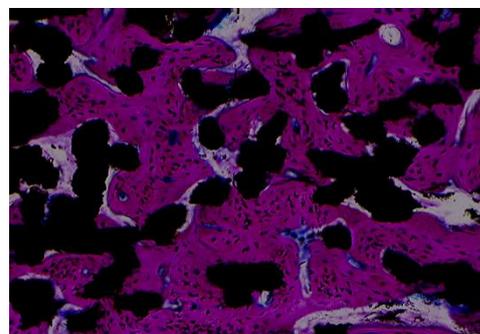
(3) チタンファイバーウェブ上での骨芽細胞培養では、チタンファイバー単体と比較し

てハイドロキシアパタイト薄膜コーティングチタンファイバー上における骨芽細胞の増殖能が有意に低かった。また、骨芽細胞マーカーの観察では、ハイドロキシアパタイト薄膜コーティング群において骨芽細胞がカルシウム分泌を行なう時期のみに認めるオステオカルシンの濃度が、培養3日目から有意に高く認められた。また、培養早期より骨芽細胞による石灰化物の析出が認められた。

(4) ラット頭蓋骨動物実験では、非コーティング群では埋入後4週でもチタンファイバーウェブ内の約50%程度しか新生骨が認められなかったのに対し、ハイドロキシアパタイト薄膜コーティング群では埋入2週で約30%、4週では約80%と、非コーティングよりも著しく有意に早い新生骨形成が認められた。



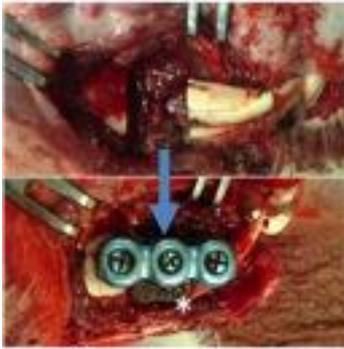
非コーティング群の埋入後4週の組織像



コーティング群の埋入後4週の組織像

(5) ウサギ下顎骨動物実験では、非コーテ

ィング群では約50%の確率で再建材料が固定されておらず、十分な骨形成が得られていなかったのに対し、コーティング材料では約90%が再建に成功した。コーティング材料では、新生骨がチタンファイバースケルトの内外に認められ、21週後では下顎骨の連続性が完全に回復したのも認められた。



上図の通り、ウサギ左下顎骨に10mmの長さの区域欠損を形成し、チタンファイバースケルトと再建プレートにて再建した。



21週後の状態（左）とCT像（右）

下顎骨の連続性が新生骨によって再現されていることが認められる。

(6) 上記の結果より、分子プレカーサー法によってチタンファイバースケルトの3次元構造に全く影響を与えずにハイドロキシアパタイト薄膜コーティングが可能となり、さらに骨芽細胞の成熟が有意に促進され、骨組織誘導能も促進されることが実証された。下顎骨再建モデルにおいては、ハイドロキシアパタイト薄膜コーティングによっ

てチタンファイバースケルトと残存骨の骨結合は促進され、かつ連続性を喪失した欠損においても、連続性を回復させることが可能であった。今後は骨結合後の機能、特に咀嚼運動に対する耐久性の評価が求められるが、組織親和性、特に骨組織親和性に関しては顎骨再建材料として十分な生体材料に成り得ると考えられる。

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1件)

① Hirota M, Hayakawa T, Ozawa T 他3名: Hydroxyapatite coating for titanium fibre mesh scaffold enhances osteoblast activity and bone tissue formation. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 査読有, 41, 1304-1309, 2012.

[学会発表] (計2件)

① Hirota M: Development of mandibular reconstruction device made of titanium fiber scaffold. Society for Biomaterials 2013 annual meeting and exposition, Boston, MA, USA, 2013, 4, 11

② Hirota M: Development of mandibular reconstruction device made of titanium fiber scaffold. 3rd TERMIS World Congress 2012, Vienna, Austria, 2012, 9, 7

6. 研究組織

(1) 研究代表者

廣田 誠 (HIROTA MAKOTO)
横浜市立大学・医学部・准教授
研究者番号: 20347305

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし