

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25560234

研究課題名(和文) 血糖値センサー装着のステルス化による安全で快適な糖尿病征圧ストラテジー

研究課題名(英文) Safe and comfortable of monitoring of human blood sugar rate by using implantable glucose measuring device in the periodontal gingiva

研究代表者

石幡 浩志 (Ishihata, Hiroshi)

東北大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：40261523

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、骨増生術に使用するチタンメッシュ上に、既存の埋込型血糖値センサーを組み込むことで、歯肉下において長期間留置し、テレメトリーによるCGMを達成することを目標とする。それを達成するのに最も重要となるフレキシブル電子基板となる、純チタンマイクロ多孔板の開発に成功した。これによってGBRおよびGTRにおけるバリアメンブレンとして機能するのみならず、良好な生体親和性と血流透過性を有し、生体中の血液循環を阻害することなく、埋め込み電子回路を安定して留置することが可能となり、口腔内を利用した血糖値計測システムの実現に大きく近づいた事となる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we have represented a novel design to achieve a CGM (continuous glucose monitoring) system incorporated for the bone regenerative therapy what the electronic device of blood sugar sensor can be assembled to the thin titanium mesh for bone augmentation surgery. This method has a feasibility of the implantable CGM that the ready-made CGM telemetry device can be placed in gingival tissue and operated to measure the blood sugar rate for a long period under the gums. A flexible electronic substrate with exclusive durability and biocompatibility has become to achieve this technology. We have completed producing a precision micro-porous plate (titanium membrane) with pure titanium. This is not only provided as a barrier membrane for GBR and GTR surgery but used for the substrate for CGM telemetry device. The titanium membrane has also blood flow permeability to prevent inhibiting the blood circulation in the living tissue to stably indwelling embedded electronic circuitry.

研究分野：歯周病学

キーワード：血糖値 骨増生 チタン メンブレン 糖尿病 持続型

1. 研究開始当初の背景

①学術的背景

2012 年末, 日本糖尿病学会は全国の医療機関に向け, 歯周病を糖尿病の第 6 の合併症とし, 糖尿病患者に対し歯周疾患治療を積極的に薦めるよう提唱した. 実際に歯周病治療が HbA1c 値の有意な低下をもたらすことは, 多くの知見 (Rodrigues et al. J Periodontol 74:1361,2003, Kiran et al. J Clin Periodontol 32:266,2005) が示していた.

糖尿病治療には, 正確で即時性のある血糖値計測が求められる. しかし食事や基礎代謝量により血糖値は目まぐるしく変化するので, 採血による測定法では血糖値変動に追従できず, また, 特に糖尿病患者にとって危険な就寝中に陥る低血糖状態を知ることもできなかった. そこで, 理想的血糖コントロールを得るために, インシュリン等の至適な投与を自動化するシステムとして, 患者の皮下にセンサー針を埋め込み, 常時グルコース濃度を監視する体表設置型連続血糖値計測 (Continuous Glucose Monitoring system: CGMs)法が開発され, 我が国では 2009 年に健保収載された.

2. 研究の目的

皮下センサーで検知されるグルコース濃度値は, 血中グルコース濃度値に追従するとはいえ, 変動値にはタイムラグがあり, インシュリン投与の判断にその値を直接参照できない課題があった. また, センサーユニットは小型化されているとはいえ, 体表に装着しなければならず, 利用は 2 週間が限度であった. そこで本研究では, 血糖値センサーを小型の無線通信媒体としてモジュール化した上で, 歯周病治療や骨増生など, 歯周組織内に適用されるバリアメンブレンあるいはチタンメッシュに組み込む. これを外科的処置に併せ, 歯槽骨・顎骨骨膜下へ埋設する. 以上のようなコンセプトによる完全体内埋め込み型 CGM の実用的なデザインを行い, ヒトへの適用を可能とする構造設計および本体・周辺素材の開発を行う.

以上のように, 口腔内にテレメトリーによる血糖値計測デバイスを長期間安全に留置することで, スマートフォンに見立てた計測デバイスに対する無線制御装置で, 体内のセンサーと非接触で通信し, 顎骨骨膜下組織液血糖値を常時モニターするシステムが成立する. 通話操作がそのまま血糖値計測の機会となるため, これまでよりはるかに簡便かつ頻繁に自らの血糖値をモニターすることが可能となる.

3. 研究の方法

(1) 歯周組織下に埋設可能なテレメトリー電子デバイスのデザイン

口腔内から通信可能な無線通信媒体の一つとして, 短波帯 (HF) における IC タグの利用できる可能性ある. 我々は ISO15693 準拠

(13.56MHz/近傍型) の IC タグを小型化して口腔内に設置する方法を検討した. その結果, 数センチ程度の通信距離ながら 8x3x2mm の立方体状の小型 IC タグを製作することができた (図 1).

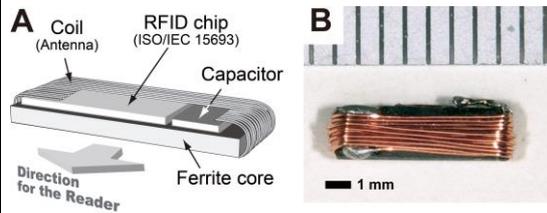


図 1: ISO15693IC チップとフェライトコアを接合しその周囲にアンテナをコイル状に形成した小型 RFID タグ. 500mW のリーダーにより, 口腔内における埋め込み部位から 3cm までの範囲で通信可能であった.

(2) 歯周組織埋設用, 薄型 CGM s センサーの開発

上記のように, HF による無線通信をしようすることで, 歯周組織下に埋設した通信機能を有する電子媒体を外部から制御することが可能と見込まれる.

現在の持続型血糖値センサーは, グルコースオキシダーゼ酵素電極, その出力を増幅するオペアンプ, 計測を制御する AD コンバーターおよび記録部, そして電源用キャパシタで構成されている. 既に 500 円硬貨大まで小型化され, 体表に装着可能となっており, ワイヤレスにて通信することも可能である. このシステムを歯周組織内部に留置できるように, 膜状に形成することを検討する一方, そのような様式の電子媒体を生体内に安全に留置するための新たな素材を検討する必要に迫られた.

膜状の無線通信媒体 (テレメトリー) は上記の各ユニットパーツを平面上に配置して接続した上で, 膜状の薄いアンテナループを配線する (図 2).

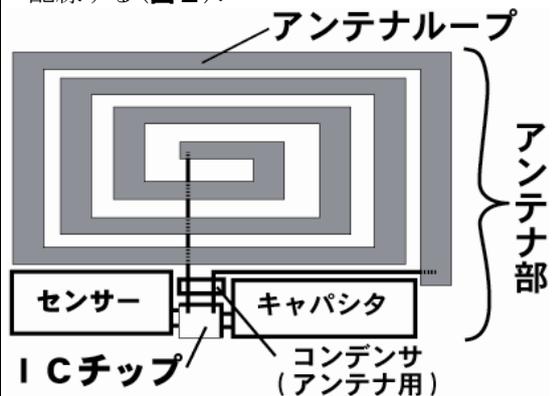


図 2: 生体計測センサーを含む埋込型テレメトリー電子媒体の概念図. 顎骨増生治療などに用いられるチタンメッシュやバリアメンブレンに併せて歯周組織内に設置する. 純チタンマイクロ多孔板を基板として膜状に成形する. 電子部材はテフロン材にてコーティングして生体親和性を確保する.

外部との読み取り機器との通信のため、アンテナループはある一定の外周サイズを確保する必要がある。従って、この薄型電子媒体を製作するには、これらの電子回路を固定でき、かつ組織内に収納できるようフレキシビリティのある基板素材が要求される事となる。

(3) テレメトリー媒体を格納する基板用、薄型純チタンメッシュの開発

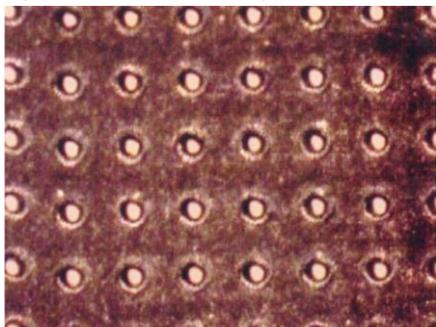


図3：超短パルスレーザー加工により、直径20 μm の貫通孔を50 μm ピッチで形成した純チタンマイクロ多孔板。貫通孔の密度は40000/cm²に達する。

製作したテレメトリーモジュールを歯周組織に埋設する基板フレームとして、本研究では専用の純チタンマイクロメッシュ薄板を開発した(図3)。これは厚さ20 μm の純チタンシートに対し、孔径 ϕ 20 μm の高密度多孔構造を施したものであり、生活組織内であっても十分な組織液透過性を確保することで、生体組織障害を回避することができる。フレーム基板に固定された電子部品と配線は生体親和性テフロンにて被覆されることで、外装は全て生体親和性材料となり、生体組織内への安全な埋め込みが可能となる。本研究では、CGM テレメトリー薄型デバイスの実現に必須となる純チタンマイクロメッシュの製造方法の確立と、試作されたメッシュの生体親和性試験を実施することとした。

(4) 試作した純チタンマイクロメッシュの生体親和性評価

生体埋め込み型無線通信媒体の基板用純チタンマイクロメッシュの安全性および生体親和性を評価するため、ヒト歯根膜由来細胞による材料状における細胞培養試験を実施した。本研究は東北大学大学院歯学研究科研究倫理委員会の承認の元で実施された。東北大学病院附属歯科医療センター口腔外科外来にて、智歯周囲炎と診断された、または矯正学的な理由により便宜抜歯となったヒト抜去歯から歯根膜組織片を採取、 α -MEM (GIBCO) +10% FBS (GIBCO) (抗生物質添加) 培地を用いて37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 雰囲気下にて培養した細胞を3~5代継代して培養歯根膜由来細胞とした。継代にはプロナーゼ (CALBIOCHEM) を使用した。

試験材料のチタンメッシュを、精製水および70%アルコールにて各々15分間超音波洗

浄を実施した後、滅菌バックに封入し、121 $^{\circ}\text{C}$ 0.23MPaにて高圧蒸気滅菌を施した後、乾燥した。細胞培養については、チタンメッシュを ϕ 35mm培養ディッシュに置き、培地2ccを滴下した後、培養されたヒト歯根膜由来細胞を2 \times 10⁴ cells / cm²濃度で調整した細胞含有培地を各基板上に500 μl 滴下し、培地の総量を2500 μm 、播種密度4 \times 10³ cells / cm²とした。培地の交換は週に2~3回、全量交換を行った。

観察試料作製については、走査型電子顕微鏡 (SEM) による形態観察を行った。すなわち、チタンメッシュ上にて培養1週間後に、細胞を1.25%グルタルアルデヒド-PBSにて固定、リン酸緩衝液 (PBS) (PBS tablets, TaKaRa) で洗浄後、10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 99.5%濃度の各エタノール溶液で置換し、さらにトブチルアルコールで置換する事で脱水操作を行い、凍結真空乾燥装置 (Freeze Dryer ES-2030, HITACHI) を用いて機械的乾燥を行った後、オスミウムコーター (HPC-1 SW, Vacuum Device) を用いてオスミウムスパッタリングしSEM試料とした。作製された試料は走査電子顕微鏡 (Miniscope TM-1000, HITACHI) で観察した。

4. 研究成果

(1) 純チタンマイクロメッシュ上における培養細胞の様相

ヒト歯根膜由来細胞は試料上において極めて旺盛な細胞増殖を示し、貫通孔を足がかりに細胞が密集する箇所が認められた(図4)。細胞はメッシュ構造の穿孔部に仮足を絡めるように伸展、増殖していた。また、貫通孔内に仮足を伸ばし、進入するものも見られた(図5)。製作試料では、微細貫通孔がアンカーとなり細胞が容易に付着できるとともに、遊走の際も足場 (スキャフォールド) としての効果を示した結果、増殖を促したものと思われる。

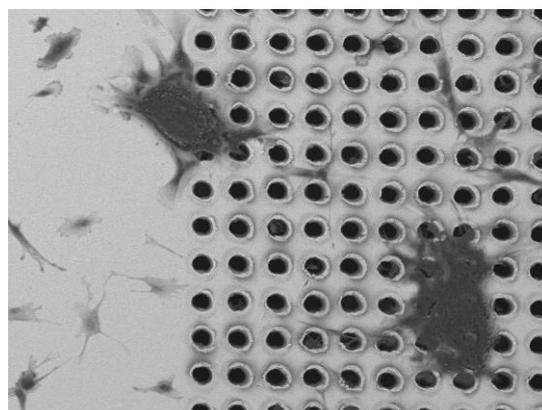


図4：純チタンマイクロ多孔板上にて、ヒト歯根膜由来細胞を一週間培養。細胞がメッシュ上を遊走し、細胞塊も認められる。良好な生体親和性が窺える。



図5：純チタンマイクロ多孔板上にて培養されたヒト歯根膜由来細胞（拡大）。細胞は貫通孔を足場に進展，増殖した。一部の細胞は貫通孔内部に進入していた。

(2) 純チタンマイクロ多孔板を基板としたCGMテレメトリーの実現性とその波及効果

これまでの研究によって開発された純チタンマイクロ多孔板はヒト由来細胞については極めて高い生体親和性を示したことから、これをベースとした薄型電子媒体は、ヒト歯周組織内に安全に格納できるものと見られる。今後はCGM電子回路をフレキシブル基板に構築したうえで、開発した純チタンマイクロ多孔板に貼付することで目標とする血糖値計測システムが達成されると考えられる。

歯周病の治療成績には局所組織内グルコース濃度が関与(Huffman, et al. *Rheumatology* 46:523,2007)する事が知られている。本来CGMsは糖尿病患者が対象であるが、実は歯周病治療でも、血糖値モニタリングは必要であった。歯周病治療にCGMsを取り入れることで、国民の大多数を対象に、血糖値を簡便で仔細にモニターできる機会が得られ、歯周病対策と同時に生活習慣病を改善するモチベーションとなる。歯周組織内におけるグルコース濃度計測は、皮下と比べ血中濃度とのタイムラグが短く精度が向上することや、利用が露見しにくい、などの利点もある。歯周治療のオプションとして誰もが利用でき、血糖値を自己管理するトレーニングが可能となれば、糖尿病治療と予防には極めて有効であろう。それは糖尿病患者のみならず、その予備群、さらには生活習慣病の人々のメタボ改善に寄与し、その結果として、急騰し続ける国民医療費の増加に歯止めをかけるかと期待される。

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4件)

- ① Boreak N, Ishihata H, Shimauchi H. "A photochemical method for in vitro evaluation of fluid flow in human

dentine." *Arch Oral Biol*. 査読有 60:193-198, 2015.

- ② Kitakami E, Aoki M, Sato C, Ishihata H, Tanaka M. "Adhesion and proliferation of human periodontal ligament cells on poly(2-methoxyethyl acrylate)" *Biomed Res Int*. 査読有 2014;2014:102648. doi: 10.1155/2014/102648. Epub 2014 Aug 6.
- ③ Dall'Orologio GD, Ishihata H, Finger WJ, Sasaki K. "In vitro and in vivo evaluation of the effectiveness of three dentin desensitizing treatment regimens." *Am J Dent*. 査読有 27, 139-144, 2014.
- ④ Shimauchi H, Nemoto E, Ishihata H, Shimomura M. "Possible functional scaffolds for periodontal regeneration" *Japanese Dental Science Review*, 査読有 49, 118-130, 2013.

[学会発表] (計3件)

- ① 石幡浩志, 遠藤直樹, 須藤瑞樹, 向坂幸彦, 小松秀裕, 丸山顕太郎, 遠藤学, 佐々木啓一, 長谷川博 "高精細多孔チタン膜による顎骨増生に関する研究" 第143回日本歯科保存学会秋季学術大会, 2015年11月12日, 文京シビックホール(東京).
- ② 石幡浩志, 須藤瑞樹, 向坂幸彦, 小松秀裕, 島内英俊 "新規開発チタンメンブレンによる顎骨増生" 第57回日本歯周病学会春季学術大会, 2014年5月23日, 長良川国際会議場(岐阜市).
- ③ 石幡浩志, 長谷川博, 島内英俊, 佐々木啓一 "純チタンのマイクロファブリケーションによる生体模倣界面の構築" 公益社団法人 砥粒加工学会 次世代固定砥粒加工プロセス専門委員会 第53回研究会, 2014年3月6日, JRサピアタワー(東京).

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称：口腔内粘膜組織の外科的手術治療の過程で歯周組織内に埋設する無線通信媒体を使った移動体通信端末の制御方

発明者：石幡浩志

権利者：株式会社吉田製作所

種類：特許

番号：特願 2014-068590

出願年月日：2014/03/28

国内外の別：国内

○取得状況 (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石幡 浩志 (ISHIHATA, HIROSHI)

東北大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号：40261523

(2) 研究分担者

島内 英俊 (SHIMAUCHI, HIDETOSHI)
東北大学・大学院歯学研究科・名誉教授
研究者番号：70187425

小林 洋子 (KOBAYASHI, YOKO)
東北大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号：50261524

(3) 連携研究者

なし