

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26463009

研究課題名(和文) 骨芽細胞-連通多孔体ハイドロキシアパタイト複合体による顎骨再建治療の確立

研究課題名(英文) Establishment of jaw bone reconstruction treatment using osteoblast/interconnected porous hydroxyapatite ceramics composite

研究代表者

武知 正晃 (masaaki, takechi)

広島大学・医歯薬保健学研究院(歯)・准教授

研究者番号：00304535

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：最適なヒト顎骨骨芽細胞の三次元培養法を確立することができました。また、CT画像データからビーグル犬の顎骨形態を付与したネオボーンを作成し、顎骨区域切除後に細胞との複合体を移植した結果、実験群において良好な骨形成がコントロール群と比較して認められました。さらにチタンインプラントを埋入後、FGF-2とメラトニンを投与した群において、優れた骨形成およびosseointegrationの状態が得られました。

研究成果の概要(英文)：We were able to establish the three-dimensional culture method of the most suitable human jaw bone of osteoblasts. In addition, as a result of making neobone that gave the jawbone form of dogs by CT image data, and having transplanted the complex with the cell after jaw bone area excision, good bone formation was observed in an experimental group in comparison with control group. Furthermostate, after implant placement, excellent osseointegration was provided in FGF-2 and the melatonin group.

研究分野：口腔外科学

キーワード：bone hydroxyapatite

## 1. 研究開始当初の背景

当病院にて顎骨欠損部の補填に対する連通多孔体ハイドロキシアパタイト(ネオボーン)の臨床治験を行い良好な結果を得て、2010年1月に国内で唯一のインプラント埋入時を含む歯科領域の骨補填材として厚生労働省から承認を得ました。また当科では口腔外科領域における顎骨再建材料としての有用性の検討を目的として、ラットおよびヒト骨芽細胞を用いたネオボーンの骨形成評価と小動物による組織学的に実験を行ってきました。その結果、ラットおよびヒト骨芽細胞を用いたネオボーンの骨形成評価では、ネオボーンにおける骨芽細胞の増殖能、分化能および石灰化能が確認され、またネオボーンと骨芽細胞の複合体をラット脛骨に埋入した *in vivo* 実験での結果、早期に新生骨が形成され、経時的に骨量が増加しました。さらに、ウサギの大腿骨にネオボーン顆粒補填後インプラント埋入およびネオボーンブロックとインプラント複合体を埋入した結果、良好な骨形成と経時的なインプラント安定度指数 (ISQ値)の上昇がみられ、*osseointegration* が機能的・組織学的に得られたことが分かりました。骨芽細胞を用いる理由として、腸骨から採取する間葉系幹細胞より、手術の際、比較的容易に、低侵襲で顎骨から採取しやすいためであります。さらにネオボーンの適応拡大 (インプラント治療における骨増生) を目的に、ベニアグラフト、スプリットクレスト、上顎洞底挙上術 (ラテラルアプローチ) など種々の顎骨増生術にネオボーンを臨床応用しています。そして、これまでに当科で行ったインプラント治療を目的としたネオボーンによる顎骨増生を行った結果、良好な骨形成と *osseointegration* を得ています。

以上の結果から、ネオボーンは、欠損部の

骨形成やインプラント体との *osseointegration* の両面で有用であることが示されました。これはネオボーンが他材料にはない独自の3次元連通気孔構造と細胞が内部に進入しやすい気孔径をもち、人の海綿骨と同等以上の強い圧縮強度を有しているためと思われます。さらにわれわれは骨芽細胞の増殖促進作用をもつ FGF-2 と骨芽細胞の分化促進に関与するといわれている松果体より分泌される脳内ホルモンのメラトニンに注目しました。そして、ラットの脛骨内へのインプラント埋入実験の結果、FGF-2+メラトニン投与群は、投与なし、FGF-2 単独、メラトニン単独群と比較して組織学的に多くの新生骨がインプラント界面に認められました。また、FGF-2+メラトニン投与群は、骨接触率においても有意に高い値を示しました。(Takechi, M et.al: J. Mater. Sci: Mater. Med. 19(8), 2008.)そのため、顎骨形態を再現した連通多孔体ハイドロキシアパタイトを担体として患者由来顎骨骨芽細胞を三次元培養し、高機能性材料の細胞-連通多孔体ハイドロキシアパタイト複合体を移植後、FGF-2 とメラトニンのもつ骨芽細胞における相乗効果 (増殖と分化促進) による早期の *osseointegration* 獲得ができるインプラントによる咬合再建を行う顎骨再建治療の確立ができるのではないかと着想致しました。

## 2. 研究の目的

顎骨再生のゴールは、失われた顎骨形態の回復と咬合・咀嚼機能の再建であります。失われた咬合の再建には現状ではインプラント治療が最も有利であるため、この目的の達成には、良好な生体親和性をもち、CAD/CAM技術により患者固有の顎骨形態が付与され、その形態の長期的な維持ができ、さらに周囲骨と一体化した後にはインプラント体と良好な *osseointegration* が獲得・維持できる

連通多孔性構造の生体材料が最適であると考えられます。本研究は、顎骨形態を再現した連通多孔体ハイドロキシアパタイトを担体として患者由来顎骨骨芽細胞を三次元培養し、高機能性材料の細胞-連通多孔体ハイドロキシアパタイト複合体を移植後、骨芽細胞の分化および増殖に関する FGF-2、メラトニンを導入したインプラントによる咬合再建を行う顎骨再建治療の確立を目的とします。

### 3 . 研究の方法

まず三次元的にネオボーン多孔体内部における細胞の増殖、分化を検討し、ネオボーンを用いたヒト顎骨骨芽細胞の三次元培養法の確立を行います。次にビーグル犬顎骨のCT画像データから、CAD/CAMにより骨形態を再現したネオボーンを製作後、ビーグル犬の顎骨から骨片を採取し骨芽細胞を骨分化培地で培養します。骨分化マーカー遺伝子の発現などにより骨芽細胞の同定を行います。ビーグル犬顎骨骨芽細胞-ネオボーン複合体の作製とコラーゲン合成能、オステオカルシン産生能などの骨分化能の評価をします。その後、イヌ顎骨離断モデルにおけるビーグル犬顎骨骨芽細胞-ネオボーン複合体の移植と組織学的評価を行います。最終的には、FGF-2、メラトニンを導入したビーグル犬顎骨骨芽細胞-ネオボーン複合体移植部へのインプラント植立実験と組織学的評価を行います。

### 4 . 研究成果

既にわれわれが分離培養を行っているヒト正常顎骨骨芽細胞を、ネオボーン内部で三次元培養を行い、単層培養をコントロールとして、種々の骨形成マーカー遺伝子の発現、各種酵素活性の測定、形態学的検討を行った結果、最適なヒト顎骨骨芽細胞の三次元培養法を確立することができました。また、CT画像データからビーグル犬の顎骨形態を付与したネオボーンを作成し、顎骨区域切除後

に細胞との複合体を移植した結果、実験群において良好な骨形成がコントロール群と比較して認められました。さらにチタンインプラントを埋入後、FGF-2 とメラトニンを投与した群において、優れた骨形成および osseointegration の状態が得られました。

### 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 3 件)

1. Shigeishi, H., Rahman, MZ., Ohta, K., Ono, S., Sugiyama, M., Takechi, M. : Professional oral health care reduces the duration of hospital stay in patients undergoing orthognathic surgery. Biomed Res. 査読有 Jan:4(1):55-58, 2016.
2. Takechi, M., Ninomiya, Y., Ohta, K., Tada, M., Sasaki, K., Rahman, MZ., Ota, A., Tsuru, K., Ishikawa, K. : Effects of apatite cement containing atelocollagen on attachment to and proliferation and differentiation of MC3T3-E1 osteoblastic cells. Materials. 査読有 9(4):283, 2016.
3. Rahman, MZ., Shigeishi, H., Sasaki, K., Ota, A., Ohta, K., Takechi, M. : Combined effects of melatonin and FGF-2 on mouse preosteoblast behavior within interconnected porous hydroxyapatite ceramics -in vitro analysis. J Appl Oral Sci. 査読有 Apr:24(2):153-161, 2016.

[学会発表](計 9 件)

1. 二宮嘉昭, 石田扶美, 太田耕司, 多田美里, 武知正晃, エナメル上皮腫摘出後にインプラント埋入と同時にNEOBONE®顆粒を使用したGBRの1例:第61回日本口腔外科学会・学術大会, 2016.11.25~27, 千葉・幕張
2. 室積 博, 二宮嘉昭, 佐々木和起, 石岡康希, 水田邦子, 石田扶美, 多田美里, 中川貴之, 太田耕司, 武知正晃, インプラント予後不良症例の臨床的検討:第61回日本口腔外科学会・学術大会, 2016.11.25~27, 千葉・幕張
3. 佐々木和起, 二宮嘉昭, 室積 博, 石田扶美, 水田邦子, 小野重弘, 太田耕司, 武知正晃, インプラント治療を目的とした

- チタンメッシュによる前歯部での GBR の臨床的検討：第 46 回公益社団法人日本口腔インプラント学会学術大会，2016.9.17，愛知・名古屋
4. 佐々木和起，武知正晃，二宮嘉昭，小野重弘，多田美里，室積 博，太田耕司，都留寛治，石川邦夫抗菌薬含有アパタイトセメント/ -リン酸三カルシウム複合体に関する基礎的研究：日本バイオマテリアル学会 シンポジウム 2016，2016.11.21，福岡・博多
  5. 二宮嘉昭，武知正晃，太田耕司，小野重弘，中川貴之．連通多孔体ハイドロキシアパタイトを用いた上顎洞底挙上術症例の臨床統計的検討：第45回（公社）日本口腔インプラント学会学術大会，2015.9.21，岡山・岡山市
  6. 石田扶美，二宮嘉昭，多田美里，中川貴之，武知正晃．連通多孔体ハイドロキシアパタイト骨補填材を使用した上顎洞底挙上術における組織学的検討：第45回（公社）日本口腔インプラント学会学術大会，2015.9.21，岡山・岡山市
  7. 二宮嘉昭，武知正晃，高本 愛，太田耕司，中川貴之，多田美里．NEOBONE®と吸収性メッシュを顎堤萎縮症例に使用した骨造成の1例：第60回（公社）日本口腔外科学会総会・学術大会，2015.10.16，愛知・名古屋
  8. 多田美里，二宮嘉昭，太田耕司，中川貴之，小野重弘，武知正晃．連通多孔体ハイドロキシアパタイトを用いた骨造成に関する臨床的検討：第19回日本顎顔面インプラント学会総会・学術大会，2015.11.28，神奈川・横須賀
  9. 二宮嘉昭，小野重弘，多田美里，中川貴之，武知正晃．連通多孔体（HA）を使用した上顎洞底挙上術における組織学的検討：第19回日本顎顔面インプラント学会総会・学術大会，2015.11.28，神奈川・横須賀

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 出願年月日：  
 国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 取得年月日：  
 国内外の別：

〔その他〕  
 ホームページ等

6. 研究組織
- (1)研究代表者  
武知 正晃 (TAKECHI MASAOKI)  
 広島大学・大学院医歯薬保健学研究院  
 (歯)・准教授  
 研究者番号：00304535
  - (2)研究分担者  
太田 耕司 (OTA KOUJI)  
 広島大学・病院(歯)・助教  
 研究者番号：20335681  
中川 貴之 (NAKAGAWA TAKAYUKI)  
 広島大学・病院(歯)・病院助教  
 研究者番号：30456230  
小野 重弘 (ONO SHIGEHIRO)  
 広島大学・大学院医歯薬保健学研究院  
 (歯)・助教  
 研究者番号：70379882

(3)連携研究者 ( )

研究者番号：

(4)研究協力者 ( )