

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26893075

研究課題名(和文) 垂直的骨造成を目的とした骨形成促進因子含有立体形状型骨再生システムの確立

研究課題名(英文) Establishment of bone regeneration unit increased by factors affecting bone formation for vertical bone augmentation

研究代表者

秋野 徳雄 (Akino, Norio)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：10736002

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：広範囲に及ぶ水平的な骨吸収や高度に萎縮あるいは欠損した顎骨の骨造成にはブロック状の自家骨移植(オンレーグラフト法)が一般的に行われている。この自家骨ブロックに代わる材料として、申請者らはこれまで、非焼成ハイドロキシアパタイト粒子(U-HA)と非結晶性ポリマーであるポリ-DL-乳酸(PDLLA)からなる多孔性U-HA/PDLLAを開発し検討してきた。

本研究では、多孔性U-HA/PDLLAの組成および微細構造を再検討するとともに、積極的に骨形成を促進するためにコラーゲンをこれに応用し、垂直的骨造成を目的とした複合体材料骨再生システムの確立を目指す。

研究成果の概要(英文)：Various augmentation techniques can be used to provide sufficient bone volume for reliable placement of dental implants in the severely resorbed alveolar ridge. Autogenous bone grafting has been shown to provide predictable increases in bone volume for maxillary and mandibular alveolar augmentation. The benefits of autografts are restricted because of limited donor sources and associated morbidity. As a result, it would be desirable to use a readily available, safe, and effective substitute for autografts.

The Use of Porous Composite Uncalcined Hydroxyapatite / poly-DL-lactide for Vertical Ridge Augmentation. We ascertained these combine blocks were appropriate the biodegradable and appropriate bone formation to been a useful material for vertical ridge augmentation. The purpose of this study was to assess the effect of vertical ridge augmentation using the HA/PDLLA block with Type 1・3 Collagen

研究分野：再生医療

キーワード：非焼成ハイドロキシアパタイト粒子(U-HA) ポリ-DL-乳酸(PDLLA) 非結晶性ポリマー 垂直的骨造成 型・型コラーゲン 骨補填材 オンレーグラフト法 細胞凝集

## 1. 研究開始当初の背景

歯の喪失によって歯槽骨は吸収され、審美的、機能的な障害を惹起する。このような症例においては、補綴修復によって口腔機能、顔貌の改善が必要となり、歯科インプラントもその選択肢のひとつである。歯槽骨高径、骨幅の不十分な症例において、長期的に予知性の高いインプラント治療を行うためには骨造成を必要とする場合も少なくない。骨造成の方法としては、骨移植術、GBR法 (guided bone regeneration)、仮骨延長術などがあげられる。骨移植術の一つであるオンレーグラフ法は、1) 機能的な補綴物を支持するには歯槽骨高径、骨幅が不十分な場合、2) 歯科インプラントを植立するうえで機能的、審美的に良好な長期予後が見込めない骨欠損形態、3) 審美障害を生じる部分的歯槽骨欠損において適応されている。一方、これに用いる骨補填材料としては、自家骨、他家骨、異種骨のほか、各種人工骨が開発されているが、自家骨は骨形成能、骨誘導能、骨伝導能による新生骨を形成する能力を有し、さらに予知性と安全性が高いことから骨造成の主流として使用されてきた。しかしながら骨採取にあたって、移植骨供給部の制限、移植骨供給部位の侵襲が大きいこと、術後の合併症といった問題がある。そのため、外側性の骨欠損症例に対応可能な立体形状型人工骨補填材の開発が望まれている。

## 2. 研究の目的

インプラント埋入部位の骨量不足には、骨造成が必要となることが多い。それにより様々な骨造成テクニック (術式) が開発され臨床応用されている。それらの術式を施行するにあたり、長年自家骨が用いられてきたが、移植骨供給部の制限や合併症の発生を回避し、また手術法を簡便化するために、近年自家骨の代替材としてさまざまな種類の骨補填材料が開発され使用されている。しかし、垂直的・水平的骨造成ではいまだブロック形

状の自家骨移植による術式が主流である。

垂直的骨造成に適するデザインを決定するために、非焼成ハイドロキシアパタイト粒子 (U-HA) とポリ-DL-乳酸 (PDLLA) の比率と気孔率を調整し、数パターン多孔性 U-HA/PDLLA を作成した。その他に非焼成ハイドロキシアパタイト粒子の代わりに  $\beta$ -TCP 粒子、炭酸ハイドロキシアパタイト粒子等、新たな候補の検討及び評価を行っている。これらの候補はすべて吸収性材料でありその中で、以下の条件を満たす材料を選択した。

(1) 垂直的骨造成に最適な海綿骨と同程度 (10Mpa) の圧縮強度をもつ。

(2) 骨欠損部の立体的形状に合わせて、手術中に簡単に裁断 (トリミング) または熱変形で母床骨との適合性をはかれる。

かつ一度形状変形させた形態を維持することも重要であり、複合材料の比率・孔率を調整する。

(3) 炎症性細胞を遊走および凝集させない生体親和性を有し、骨の再生をはかり、できるだけ短期間に吸収し消失する。

(4) 一度形状変形させた形態を維持、操作性がしやすいことは製品化開発では非常に重要であり、これらも考慮しながら複合材料の比率・孔率を調整し材料の選定を行った。しかし、ポリ-DL-乳酸 (PDLLA) の特性として立体形状の維持や生体親和性に優れているが、*in vitro* レベルではポリ-DL-乳酸 (PDLLA) が疎水性の為、細胞が凝集しづらといった改善点がある。そのため細胞凝集・浸潤が促進化を目的とするための親水化を図るため、I型・III型コラーゲンを添加することで本材料の親水化をはかり、垂直的骨造成特化した骨補填材料の選定した。

本研究ではI型・III型コラーゲンを添加することで本材料の親水化をはかり、垂直的骨造成モデルにてより優れた骨補填材料としての可能性を比較検討した。

### 3. 研究の方法

材料は実験群として実験群 (HA/PDLLA +Type 1・3 collagen) ; 多孔性ハイドロキシアパタイト/ポリ-DL-乳酸 / I 型・III 型コラーゲン. 組成は非焼成ハイドロキシアパタイト粒子 ( HA ) : 7 0 w t % , 直径 0.3~20  $\mu$  m ポリ-DL-乳酸 ( PDLLA ) : 3 0 w t % , I 型・III 型コラーゲン (Type I・III collagen) : 1~3wt%. 対照群 (HA/PDLLA) ; 多孔性ハイドロキシアパタイト/ポリ-DL-乳酸, 非焼成ハイドロキシアパタイト粒子 ( HA ) : 7 0 w t % , 直径 0.3~20  $\mu$  m , ポリ-DL-乳酸 ( PDLLA ) : 3 0 w t % を使用した. サンプル形態は直径 8 mm × 高さ 2 mm のディスク状ブロックとした. 全身麻酔下において, 6 羽のウサギ (日本白色種) 頭蓋骨の骨膜を剥離し, 1 羽につき 2 カ所トレフィンバーとダイヤモンドバーを用いて皮質骨を除去し, 中央にサンプル固定のため, スクリューホール (直径 1.3mm) を作成し, ディスク状の複合材料は生体内吸収性骨接合材料で固定した. 骨膜は 6-0 ナイロン, 表皮は 4-0 ナイロンで縫合を行い, 術後 1 か月にて摘出後, 組織学的検討・組織形態計測を行った.

本材料の特性として, 圧縮強度: 4.1 Mpa (海綿骨と同程度), 気孔率 70%, 気孔径 40~480  $\mu$  m を有している. サンプルは複合材料固定ピン; 非焼成ハイドロキシアパタイト粒子: 3 0 w t % , ポリ-L-乳酸: 7 0 w t % からなる複合材料を使用した.

#### 脱灰切片による組織学的検討及び, 組織形態計測:

組織形態計測項目は新生骨量を測定し (Image J), Student t-test を用いて統計学的処理をした.

### 4. 研究成果

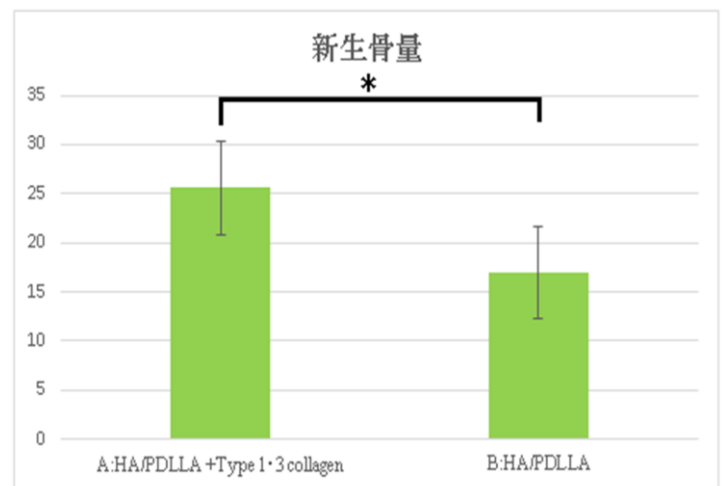
組織学的観察にて母床骨と新生骨が直接結合しているのを確認した. 強拡大像にて, 多孔性ハイドロキシアパタイト/ポリ-DL-乳酸

/ I 型・III 型コラーゲン (実験群) 及び多孔性ハイドロキシアパタイト/ポリ-DL-乳酸

(対象群) 共に新生骨, 骨芽細胞, 骨髄細胞, 異物巨細胞が確認された.

骨形成量 (%) は対象群 (HA/PDLLA ; 17.0  $\pm$  4.7%) と比較すると実験群 (HA/PDLLA +Type 1・3 collagen ; 25.6  $\pm$  4.8) が高い数値を示した.

垂直的骨増生モデルにおいて, HA/PDLLA +Type 1・3 collagen は HA/PDLLA と比較すると, 骨形成能が高まることが示された. 親水化を目的とした本研究において, I 型・III 型コラーゲンを添加することにより, 細胞浸潤・増殖の促進化が示唆された.



### 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 0 件)

[学会発表] (計 3 件)

(1)

Effect of porous composite uncalcined hydroxyapatite / poly-DL-lactide / collagen types I and III for vertical ridge augmentation. Akino, Norio; Tachikawa, Noriko ; Yukawa, Ken; Kasugai, Shohei Academy of Osseointegration Annual Meeting, February 17-20, 2016, San Diego, CA

(2)

多孔性ハイドロキシアパタイト/ポリ-DL-乳酸/Ⅰ型・Ⅲ型コラーゲン複合体材料を用いた垂直的骨増生 Comparative examination of porous composite uncalcined hydroxyapatite / poly-DL-lactide/ Type I・Ⅲ collagen for vertical ridge augmentation.

秋野徳雄, 立川敬子, 湯川健, 春日井昇平 関東甲信越日本口腔インプラント学会, 2016年2月13-14日, 新宿

(3)

β-リン酸三カルシウムブロックを用いた垂直的骨造成 Effect of beta-tricalcium phosphate block for vertical ridge augmentation.

秋野徳雄, 立川敬子, 春日井昇平 日本顎顔面インプラント学会, 2014年11月29-30日, 出雲

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0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 0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 秋野徳雄 (Norio Akino)  
東京医科歯科大学, 歯学部附属病院, 医員  
研究者番号: 10736002

(2)研究分担者 春日井昇平 (Shohei Kasugai)  
東京医科歯科大学, 大学院医歯学総合研究科, 教授  
研究者番号: 70161049

(3)連携研究者

( )

研究者番号: