

[最近のトピックス]

生体模倣傾斜機能アパタイト／rhBMP-2複合体を用いた硬組織誘導

日野 純, 村田 勝, 有末 眞

北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系顎顔面口腔外科学分野

口腔顎顔面領域における疾患に起因する骨欠損部の骨再建方法として従来自家骨移植が広く用いられてきたが、近年の再生医療の進歩に伴い生体材料を用いた骨再生療法も行われるようになってきた。骨の再生医療の基本要素は骨を造る細胞（骨芽細胞／幹細胞）、骨が形成される足場：担体（バイオマテリアル）、骨芽細胞の増殖と分化を誘導する細胞増殖因子、そして体液供給とメカニカルストレスの5つからなり、それらが適正に組み合わせられることが必要である（久保木, 2003）。

担体としてはコラーゲンやハイドロキシアパタイト（HAp）などが応用されており、HApは組織親和性に優れ骨伝導能を有することから骨補填剤として広く用いられてきた。しかし非吸収性であることから生体のリモデリングシステムに組み込まれることはなく、生涯異物として生体内に残存することが指摘されている。そこで著者らのグループでは、天然の海綿骨構造を保持し、表面積の増大と吸収性を高めるため硝酸エッチングによりマイクロオーダーの人工気孔を形成し、更に溶解析出条件の選定により材料表面にナノオーダーの針状結晶とマイクロオーダーの球状結晶を有する吸収性アパタイトを考案した。そしてこのアパタイトが、表面から内部に向けて結晶性と化学組成が連続的に変化することより傾斜機能アパタイト（functionally graded HAp：fg-HAp）と命名した（特許番号第3718723号；Akazawa et al., 2005）（図1）。

細胞増殖因子としては、骨形成タンパク質（bone morphogenetic protein：BMP）、線維芽細胞増殖因子（fibroblast growth factor：FGF）などがある。BMPは現在までにGDF（growth and differentiation factor）ファミリーも入れて約20種類のファミリー分子が同定されており（山口, 2005）、それらはTGF- β （transforming growth factor- β ）スーパーファミリーに属し、そのうちBMP-2, 4, 6, 7に骨誘導能があることが認められている（木下, 横矢, 2003）。米国では2007年3月リコンビナントヒトBMP-2を含有するコラーゲンスポンジ（Infuse Bone Graft[®], Medtronic社）が口腔顎顔面領域の骨再生

法としてFDAの承認を受けた。同製品は整形外科領域の腰椎固定術および脛骨骨折の治療用として2002年に承認され米国で販売（欧州でもInductOS[®]の名で2005年より販売）されており、適用が歯科に拡大したことになる。今後このような複合材料が本邦においても歯科・整形外科領域に適用されることが期待されている。

著者らのグループではこれまでにfg-HApとBMP-2を複合化したものをラット背部皮下へ埋入し、骨誘導およびfg-HApの吸収がアパタイトの表面のみならず内部細孔からも進行し、8週間にはfg-HApの割合は25%に減少し72%が骨および骨髄で占められているのを確認し、周囲の骨芽細胞への増殖と骨形成に伴い、破骨細胞と多核巨細胞に対する情報伝達が活発になり、骨改造とfg-HApの吸収が促進されたと考察した（佐々木ら, 2005）。更に3×3×3 mm（27mm³）のブロック体に0.3 μ g（0.01 μ g/mm³）という微量のBMP-2添加量でも骨誘導を確認し、fg-HApがBMP-2の保持・徐放特性に優れた材料であることを示唆した（田崎ら, 2007）。

臨床において骨再生による骨の再建を必要とする場が細胞成分や小血管の豊富な条件の良い環境であればよいが、悪性腫瘍の摘出後など直接の骨造成が難しい場へは骨移植が想定されることが多いと考えられる。その際に、“bone reserver”として他部位の骨膜上（異所性）に誘導した新生骨を摘出し、目的の場所へ自家移植できる治療技術の開発が必要となる。そこでfg-HApブロック（3×3×3 mm）とBMP-2（5 μ g）を複合化したものをWistar系ラット（雄性、4週齢）頭部骨膜上へ埋入し、硬組織誘導能とfg-HApの吸収性を組織学的に観察した。埋入1週間後骨膜側の周囲肉芽組織内に骨形成が生じ、2週間後骨膜側辺縁部で梁状の骨形成を認め、4週間になるとfg-HApを包み込み中心部まで全体に骨が形成され（図2）、8週間後中心部は脂肪髄となった。いずれも新生骨と既存骨間は骨膜を含む軟組織が介在しており骨架橋を認めなかった。fg-HApは骨格内部へ体液が浸透し、また自己崩壊と巨細胞による吸収で断片化した。一方、rhBMP-2非添加群では骨形成はみられず、fg-

HApの断片化により埋入物の高さが劇的に低下した(図3)。なお両群とも8週後までfg-HApが残存していたものの吸収は進んでいた。これらの結果から、fg-HApは体液浸透性であることが確認され(Murata et al., 2006), BMP-2添加により優れた骨誘導特性を示す吸収性セラミックスであり、新生骨と既存骨間には骨膜を含む軟組織を介在し、骨膜上へのfg-HAp/BMP-2の埋入は優れた骨貯蔵システムとなる可能性が示唆された。

現在我々のグループでは臨床応用の早期実現を目指し、生体模倣傾斜機能アパタイト/rhBMP-2複合体をそれぞれ環境の異なった部位に埋入し、場と骨誘導との関連を動物実験で検討し、その特性を更に明らかにしているところである。

参考文献

赤澤敏之, 村田 勝, 有末 眞, 菅野 亨, 小林正義:
生体由来吸収性リン酸カルシウム傾斜機能複合材料とその作製法; 特許第3718723号, 2005.

Akazawa T, Murata M, Sasaki T, Tazaki J, Kobayashi M, Kannno T, Nakamura K and Arisue M. Biodegradation and bioabsorption innovation of the functionally graded bovine bone-originated apatite with blood permeability. *J Biomed Mater Res* 76A: 44-51, 2005.

木下鞆彦, 横矢重俊: 骨の再生医療. ドラッグデリバリーシステムDDS技術の新たな展開とその活用法, メディカルドゥ: 2003, 140-145.

久保木芳徳: 歯と歯周組織の再生療法: 3次元人工ECM幾何学が拓くもの. ドラッグデリバリーシステムDDS技術の新たな展開とその活用法, メディカルドゥ: 2003, 178-184.

佐々木智也, 村田 勝, 赤澤敏之, 入江一元, 有末 眞. 生体模倣傾斜機能アパタイトの開発-rhBMP-2による骨誘導-. *日口腔インプラント誌* 18: 540-548, 2005.

田崎純一, 村田 勝, 赤澤敏之, 日野 純, 有末 眞. 生体模倣傾斜機能アパタイトの生体内崩壊特性とBone Morphogenetic Protein-2用量依存性骨誘導実験. *日口腔インプラント誌* 20: 423-432, 2007.

Murata M, Akazawa T, Tazaki J, Itoh K, Sasaki T, Yamamoto M, Tabata Y and Arisue M. Blood permeability of a novel ceramics scaffold for BMP-2. *J Biomed Mater Res* 81B: 469-476, 2006.

山口 朗. BMPs 基礎研究の進展 BMPの構造, 体内分布, 機能. *日本臨床* 63: 394-398, 2005.

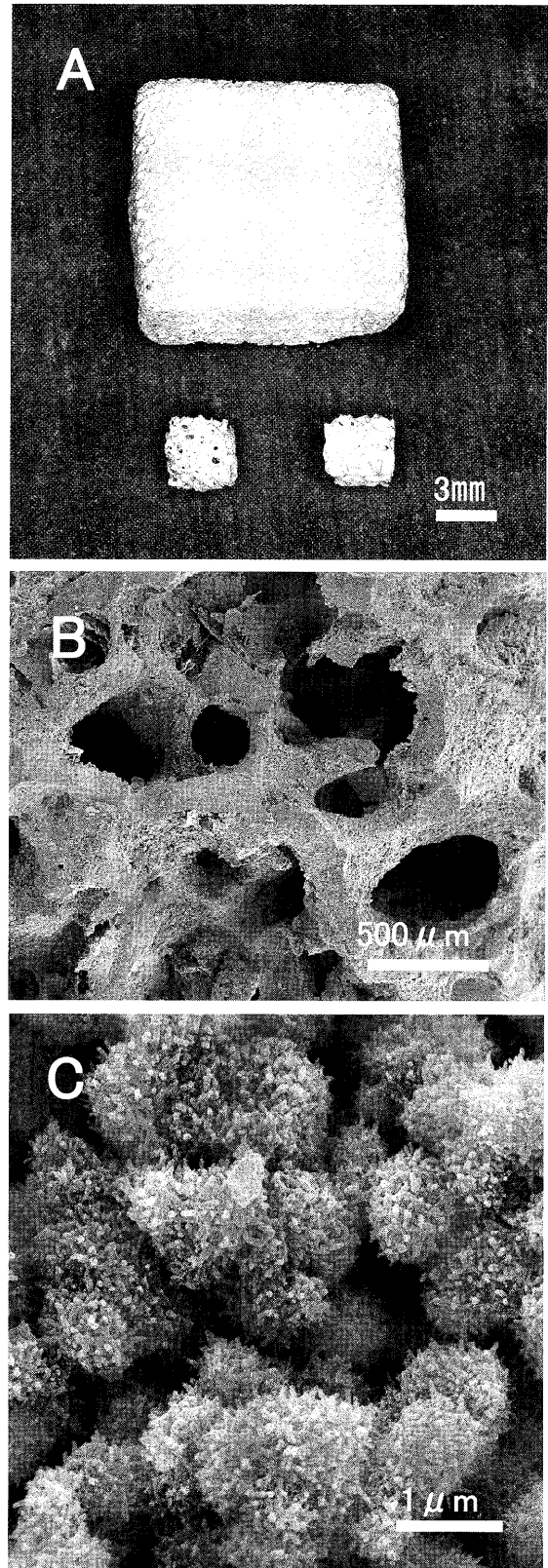


図1 fg-HAp

A: 肉眼像

白色多孔体のウシ海綿骨由来HApで、気孔径100~600 μ m、気孔率70~80%、圧縮強度1.57MPaである。

B: SEM像(低倍率)

直径約100~600 μ mの連続気孔が観察された。

C: SEM像(高倍率)

表面には約1 μ mの球状グレインに約10nmの針状微細結晶が多数析出している組織が観察された。

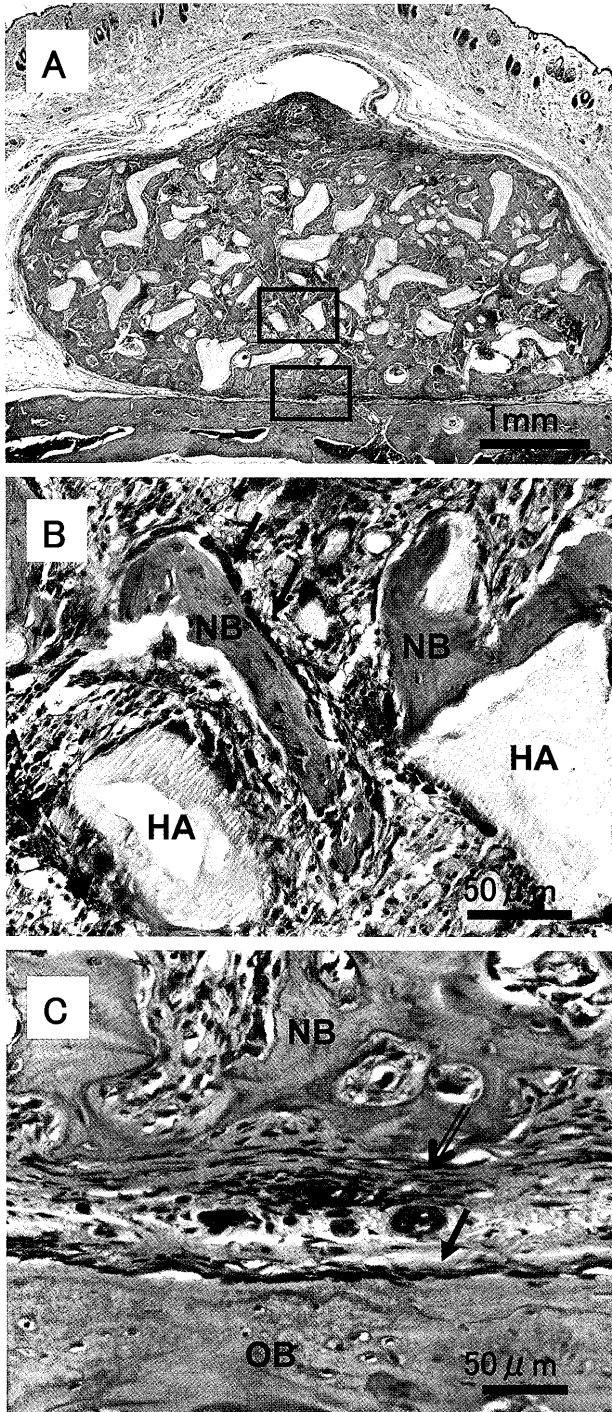


図2 fg-HAp/BMP-2群：頭部骨膜上埋入4週後

A：全体像

断片化したfg-HApを包み込みながら埋入物中心部まで骨形成を認めた。

B：中心部拡大像（Aの上枠の拡大像）

fg-HAp (HA) の周囲には貪食している巨細胞 (▶) が存在し、新生骨 (NB) の周囲には骨芽細胞 (←) が沿って並んでいた。

C：骨膜側部拡大像（Aの下枠の拡大像）

新生骨 (NB) と既存骨 (OB) とは連続しておらず、中央の小血管を挟み既存骨側の骨膜 (◀) と同様の組織が新生骨側にも存在していた (⇐)。

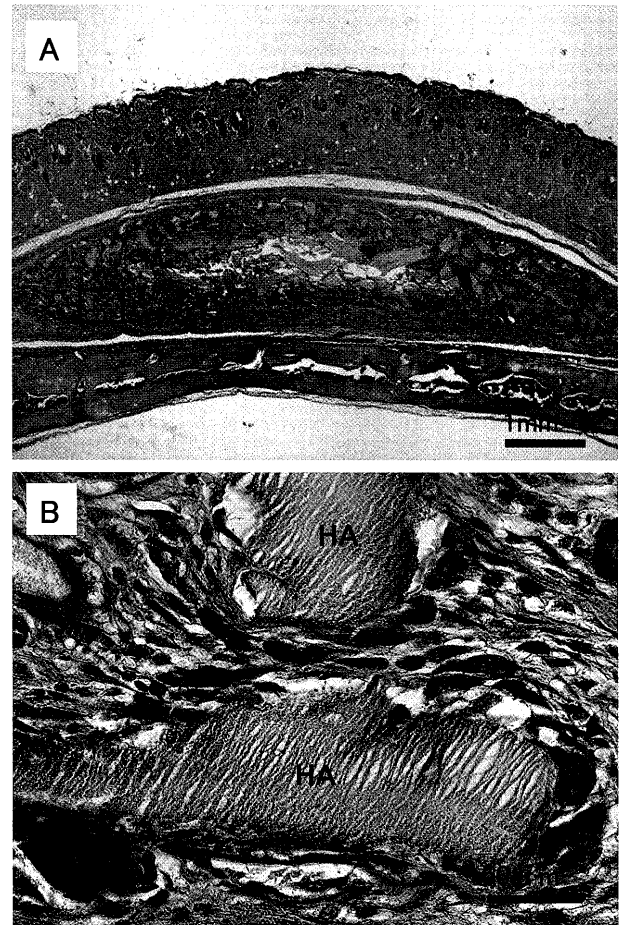


図3 fg-HAp単独群：頭部骨膜上埋入4週後

A：全体像

骨形成がみられず、fg-HApは断片化して膨隆度が劇的に低くなっていた。

B：辺縁部拡大像（Aの枠の拡大像）

fg-HAp (HA) 骨格内部への体液の浸透を認め、周囲には貪食している巨細胞 (▶) が存在した。