Osaka University Knowledge Archive

Title	組織再生誘導能を備えたFGF－2 担持ポリマー粒子配合レジンセメントの開発
Author(s)	壷井, 莉理子; 北川, 晴朗; 今里, 聡
Citation	大阪大学歯学雑誌. 2019, 64(1), p. 9-12
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/77396
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

阪大歯学誌　64(1)：9～12，2019

組織再生誘導能を備えたFGF-2担持ポリマー粒子配合レジンセメントの開発

壷井　莉理子[1)]，北川　晴朗[2)]，今里　聡[1,2)]

（令和元年8月23日受付）

本総説の一部内容は，令和元年7月25日に開催された大阪大学歯学会第128回例会において，平成30年度優秀研究奨励賞受賞講演（対象論文：Tsuboi R, Sasaki JI, Kitagawa H, Yoshimoto I, Takeshige F, Imazato S.（2018）: Development of a novel dental resin cement incorporating FGF-2-loaded polymer particles with the ability to promote tissue regeneration. *Dent Mater*, **34**, 641-648.）として発表した。

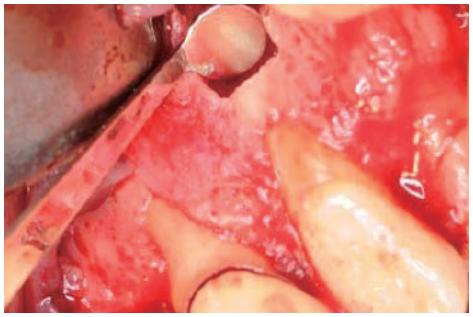

図1　接着性レジンによる逆根管充填

はじめに

接着性レジンは，そのすぐれた歯質接着能に基づいて高い封鎖性が得られる点から，近年，破折歯根の接着や逆根管充填など，歯周組織と接触するような状況においても臨床使用されるようになってきた（図1）[1,2)]。しかし，レジン系材料は，生体組織の治癒を促進する作用を元来備えていないため，適用したレジンと再生組織との結合が不十分となったり，本来の組織とは異なる形態の治癒が引き起こされる場合があること等が問題視されている[3,4)]。したがって，前述のような治療の成績を向上させるためには，接着性レジンに成長因子の徐放能を付与し，接着封鎖と同時に組織再生誘導を促す機能を持たせることが有益であると考えられる。

バイオマテリアルの分野においては，組織再生を目的とした成長因子の徐放用担体として，これまでにゼラチンや多糖などが開発され[5,6)]，その一部はすでに医科領域で臨床応用されている。しかしながら，これらの担体は生体分解性であり，薬剤の溶出とともにそれ自体が分解するため，接着性レジンと組み合わせると経時的な物性の低下を招き，接着材としての本来の基本的物性が損なわれることが懸念される。そこで，我々の研究グループは，歯科用レジンへの適用を念頭においた非生体分解性のポリマー粒子を開発し（図2），これをFGF-2徐放用キャリアとして応用する研究に取り組んできた。そして，polyHEMA/TMPTからなるポリマー粒子の開発に成功し[7,8)]，この粒子に成長因子であるFGF-2を担持させると，粒子からのFGF-2徐放によって骨芽細胞様細胞の増殖が促進されることを明らかにしてきた[9)]。

この結果を受け，次なるステップとして，FGF-2担持polyHEMA/TMPT粒子を市販の接着性レジンに配合し，組織再生誘導効果を *in vitro* および *in vivo* において評価したところ，本試作レジンの有効性が確認さ

1）大阪大学大学院歯学研究科　先端機能性材料学共同研究講座
2）大阪大学大学院歯学研究科　顎口腔機能再建学講座（歯科理工学教室）

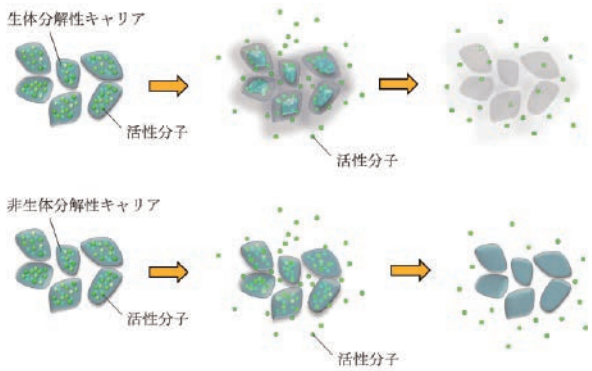

図 2　薬剤徐放のための生体分解性または非生体分解性キャリア（模式図）

図 3　PolyHEMA/TMPT 粒子（光学顕微鏡像）

れた。本稿では，新規に開発した FGF-2 徐放能を発現する接着性レジンの概要とこれまでの研究成果について解説する。

FGF-2 担持粒子のレジンへの添加と *in vitro* での評価

4-META/MMA 系レジンであるスーパーボンド（サンメディカル）は，生体内で安定した親和性を示すことが知られている[10]。また，歯質への浸透性にすぐれ，他のレジンセメントとは異なり，湿潤環境下でも比較的高い重合率が得られるという特徴を有している[11]。そこで，FGF-2 担持粒子を添加するレジンとしてスーパーボンドを選択し，FGF-2 担持粒子を添加して，その FGF-2 溶出性および細胞増殖促進効果を *in vitro* にて評価した。

ポリマー粒子には平均粒径が約 590 μm の poly-HEMA/TMPT 粒子（図 3）を使用し，Takeda らの方法[9]に準じて，500 μg/mL の FGF-2 溶液に 24 時間浸漬後，滅菌蒸留水で洗浄して FGF-2 を担持させた。その後，スーパーボンドと組み合わせるために，得られた FGF-2 担持粒子に凍結乾燥処理を施した。そして，直径 5 mm，厚さ 0.5 mm のモールド内に粒子 8 mg を填入し，その上から混和したスーパーボンドを流し込んで硬化させ，FGF-2 担持 polyHEMA/TMPT 粒子を添加した試作接着性レジンを得た。

まず，試作レジンからの FGF-2 溶出性を評価するため，レジン硬化体を滅菌蒸留水に浸漬し，一定時間ごとに溶出液を回収して BCA protein assay kit で測定したところ，FGF-2 の溶出が 2 週間維持されることが分かった。また，試作レジンからの溶出液あるいはレジン硬化体そのものの存在下で骨芽細胞様細胞である MC3T3-E1 細胞を培養すると，FGF-2 非担持のコントロール粒子を添加したレジンの場合と比較して，細胞増殖が有意に促進された。したがって，スーパーボンドと組み合わせても，ポリマー粒子に担持された FGF-2 の活性が維持され，骨芽細胞様細胞の増殖を促進させる持続的な FGF-2 の徐放が生じることが確認された。

FGF-2 担持粒子添加レジンの *in vivo* における評価

続いて，試作レジンの *in vivo* における組織再生誘導効果を評価するために，ラット頭蓋骨骨欠損モデルを用いた検討を行った。すなわち，前述と同様の方法で FGF-2 担持粒子添加レジン硬化体（直径 3 mm，厚さ 0.5 mm）を作製し，これをラット頭蓋骨に形成した直径 5 mm の欠損部に埋め込んで固定した。4 週間後に頭蓋骨を摘出し，マイクロ CT 観察を行った結果，FGF-2 非担持のコントロール粒子を添加したレジンに比べて，広範囲に新生骨の形成が認められ，3D 画像での骨量計測においても新生骨量の割合が試作レジンで有意に多いことが明らかとなった（図 4）。また，HE 染色による組織学的観察では，いずれの被験試料においても骨欠損辺縁部から中央に向かって埋入したレジンと接する形での新生骨形成が確認されたが，試作レジンの下部にはコントロール粒子添加レジンと比較して，より広範囲に新生骨の形成が認められた。これらの結果より，FGF-2 担持粒子添加レジンからの FGF-2 の徐放は，*in vivo* において組織再生を誘導するための条件を満たしていることが確認された。

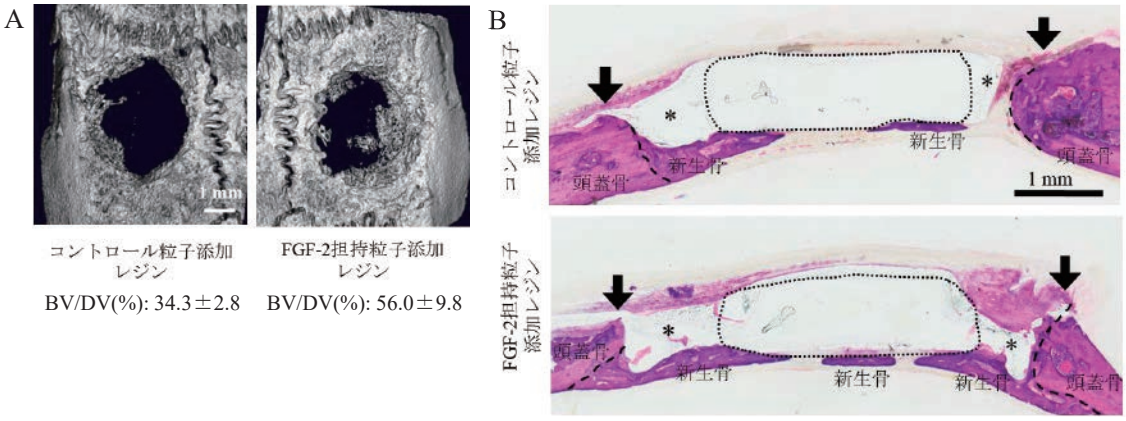

図4　Micro CT観察と新生骨量分析およびSEM観察と病理組織学的評価の結果

A: ラット頭蓋骨のmicro CT画像

BV/DV（%）＝新生骨の体積（BV）/骨欠損領域の体積（DV）×100

B: 骨欠損中央部付近の薄切切片のHE染色像

矢印：骨欠損辺縁、破線：頭蓋骨と新生骨の境界、点線：レジン硬化体試料、*: 固定用スーパーボンド

おわりに

本稿で述べた研究成果から，FGF-2担持ポリマー粒子を添加した4-META/MMA系レジンが組織再生誘導能を有し，周囲組織の治癒を促進する接着性レジンとして有用であることが示された。実際に臨床使用するにあたっては590 μmの粒子では大きすぎるため，現在，平均粒径が約8 μmのFGF-2担持粒子を新たに作製し，この粒子を添加した試作レジンの組織再生誘導効果を確認するとともに，ポリマー粒子をレジンへ添加した場合の物性に与える影響を評価している。これら一連の成果をもとに，組織再生誘導能を備えた接着性レジンの実用化に成功すれば，破折歯根の接着や逆根管充填などの治療成績を向上させることに役立つものと期待できる。さらに，FGF-2に限らず，さまざまな薬剤のキャリアとしてpolyHEMA/TMPT粒子を応用することで，非生体分解性ドラッグデリバリーシステムを医科歯科領域の種々の分野に応用展開できるのではないかと考えている。

謝辞

本研究の遂行にあたり，多大なる御協力と御助言を頂いた大阪大学大学院歯学研究科歯科理工学教室の教室員各位に厚く御礼申し上げます。

文献

1）Maeda H, Hashiguchi I, Nakamuta H, Toriya Y, Wada N, Akamine A.（1999）: Histological study of periapical tissue healing in the rat molar after retrofilling with various materials. *J Endod*, **25**, 38-42.

2）Hayashi M, Kinomoto Y, Takeshige F, Ebisu S.（2004）: Prognosis of intentional replantation of vertically fractured roots reconstructed with dentin-bonded resin. *J Endod*, **30**, 145-8.

3）Oztürk M, Unal GC.（2008）: A successful treatment of vertical root fracture: a case report and 4-year follow-up. *Dent Traumatol*, **24**, e56-60.

4）Dua D, Dua A.（2015）: Reconstruction and intentional replantation of a maxillary central incisor with a complete vertical root fracture: A rare case report with three years follow up. *J Clin Diagn Res*, **9**, 6-9.

5）Ogino S, Morimoto N, Sakamoto M, Jinno C, Sakamoto Y, Taira T, Suzuki S.（2018）: Efficacy of the dual controlled release of HGF and bFGF impregnated with a collagen/gelatin scaffold. *J Surg Res*, **221**, 173-82.

6）Moreno M, Pow PY, Tabitha TST, Nirmal S, Larsson A, Radhakrishnan K, Nirmal J, Quah ST, Geifman Shochat S, Agrawal R, Venkatraman S.（2017）: Modulating release of ranibizumab and aflibercept from thiolated chitosan-based hydrogels for potential treatment of ocular neovascularization. *Expert Opin Drug Deliv*, **14**, 913-25.

7）Kitagawa H, Takeda K, Kitagawa R, Izutani N, Miki S, Hirose N, Hayashi M, Imazato S.（2014）: Development of sustained antimicrobial-release systems using poly（2-hydroxyethyl methacrylate）/trimethylolpropane

trimethacrylate hydrogels. *Acta Biomater*, **10**, 4285-95.

8) Imazato S, Kitagawa H, Tsuboi R, Kitagawa R, Thongthai P, Sasaki JI. (2017): Non-biodegradable polymer particles for drug delivery: a new technology for "bio-active" restorative materials. *Dent Mater J*, **36**, 524-32.

9) Takeda K, Kitagawa H, Tsuboi R, Kiba W, Sasaki JI, Hayashi M, Imazato S. (2015): Effectiveness of non-biodegradable poly (2-hydroxyethyl methacrylate) -based hydrogel particles as a fibroblast growth factor-2 releasing carrier. *Dent Mater*, **31**, 1406-14.

10) Inoue T, Miyakoshi S, Shimono M. The *in vitro* and *in vivo* influence of 4-META/MMA-TBB resin components on dental pulp tissues. (2001): *Adv Dent Res,* **15**, 101-4.

11) Tsuchiya Y, Muramatsu T, Masaoka T, Hashimoto S, Shimono M. Effect of the dental adhesive, 4-META/MMA-TBB resin, on adhesion and keratinization of regenerating oral epithelium. (2009): *J Periodontal Res,* **44**, 496-502.