

## 2-2 機能タンパク応用系代替埋入材料の開発と応用研究グループ

### 2-2-11 歯根再建医療用人工細胞外マトリックス代替材の開発

#### <研究概要>

インプラント療法を考えたとき、インプラント植入後の周囲骨組織のオッセオインテグレーション促進は重要な課題である。なかでもインプラント周囲の骨系幹細胞の定着、分化促進は重要である。間葉系骨髄細胞に骨形成誘導培地を用いて骨芽細胞に分化するかを検証し、分化能をもつ細胞を骨芽細胞の機能発現に深く関与するフィブロネクチン上で培養し、細胞接着が向上するかを検索した。骨形成誘導培地での間葉系骨髄細胞の培養は石灰化能をもつ骨芽細胞に分化し、遺伝子発現の検証からもアルカリホスファターゼ、CbFa-1 の mRNA レベルが増大することを明らかにした。フィブロネクチン付加人工細胞外マトリックスは、骨芽細胞に分化能を有するヒト骨髄間葉系骨髄細胞の初期定着促進させることに有用であることが明らかとなった。機能的インプラントの臨床的実用化を考えた時、骨芽細胞に分化する骨髄間葉系幹細胞がいち早くインプラント体に定着することが重要であるとともに、骨芽細胞に分化することを促進する因子の探索も重要である。そこで本研究プロジェクトの、「間葉系骨髄細胞、未分化細胞の細胞操作による組織再生 (1-1-2)」との連帯を考え、骨芽細胞への分化過程に関与する遺伝子を Affymetrix GeneChip システムを用いて発現遺伝子を調べた。その結果、転写因子、細胞外基質、成長因子など多数の遺伝子発現の誘導を確認した、これらの遺伝子産物は有用な機能的インプラントの開発に有用であると考えられる。コラーゲンも骨芽細胞の定着、機能発現を促進する重要な細胞マトリックス成分であることから、チタンプレートに Glow Discharge 法で NH<sub>2</sub>-基を固定し、Bis suberate またはグルタルアルデヒドで I 型コラーゲンをクロスリンクさせ、骨芽細胞の付着、細胞マトリックス成分の合成への影響について調べた。走査電顕観察コラーゲンの結合を確認し、骨芽細胞 MG63 定着実験を行った。培養短時間で、MG63 骨芽細胞は定着し、細胞周辺には自ら合成、分泌したと思われるコラーゲン線維が観察された。

#### <得られた知見>

骨髄間葉系幹細胞を含む骨芽細胞関連の培養細胞を用いた実験系でフィブロネクチンが細胞定着を促進することが証明されたことから、インプラント体へコーティングする人工細胞外マトリックスとしてフィブロネクチンが有用であることが示唆された。また、Glow Discharge 法でコラーゲンをチタンに機能的にコーティングすることに成功した。実際にコラーゲン コーティング チタン プレート上で骨芽細胞株は、早期に定着し、かつ細胞基質成分の分泌を機能的に行なうことが示唆された。骨芽細胞への分化過程に関与する遺伝子を Affymetrix GeneChip システムを用いて発現遺伝子の解析結果から、増殖因子、分化誘導因子を機能させる新たな新規代替埋入材料の開発が期待できる。また、チタンプレートへの Glow Discharge 法で I 型コラーゲンをクロスリンクさせることに成功し、骨芽細胞の定着と細胞自身の細胞外基質の合成、分泌が促進することが示唆されたことからインプラント体への人工細胞外マトリックスのコーティング技術の開発にも成功した。