

授与番号	甲第 368 号
------	----------

論文内容の要旨

Bone Formation on Murine Cranial Bone by Injectable Cross-Linked Hyaluronic Acid

Containing Nano-Hydroxyapatite and Bone Morphogenetic Protein

ナノハイドロキシアパタイト・骨形成タンパク含有注入型架橋ヒアルロン酸による

齧歯類頭蓋骨における骨形成

(Polymers 第 14 巻, 第 24 号 5368, 令和 4 年 12 月)

はちのへ ゆうき
八戸 勇樹

I. 研究目的

口腔インプラント治療では前処置として骨増生を必要とする症例が多い。しかし、現状の自家骨あるいは顆粒状の人工骨を用いた骨増生では、切開剥離・縫合といった身体的侵襲を避けることができず、移植材料の流出や感染の問題が生じることがある。現在、切開・縫合を避け、低侵襲な骨増生を可能とする注入型骨補填材の開発が望まれている。そこで本研究では、注入後に生体内でゲル化する架橋型チオール修飾ヒアルロン酸に着目し、そこに骨誘導能を持つ骨形成タンパク (BMP) とそのキャリアーであるナノハイドロキシアパタイト (nHAp) を複合化した生体材料を試作した。この 3 元系複合材料をマウスおよびラットの頭蓋骨に注入する動物実験を行い、その骨形成効果から注入型骨補填材としての有用性を評価した。

II. 研究方法

使用した架橋型ヒアルロン酸 (Hystem®, Sigma-Aldrich) は、凍結乾燥体で供給され、脱気水にて溶解後、架橋剤を添加することで、ゾル状態からゲル状態へ約 20 分で変化する生体材料である。nHAp (40 nm 径品, ソフセラ) および BMP (rhBMP-2, R&D systems) は、架橋剤添加前のゾル状態で混和することで 3 元系の複合材料とした。

理工学的評価として、フーリエ変換赤外吸光分析 (FTIR)、熱分析 (TG/DSC)、走査型電子顕微鏡観察 (SEM) とヒアルロニダーゼ溶解試験を行った。さらに、共焦点レーザー顕微鏡を用いた nHAp と蛍光タンパクの結合観察および架橋ヒアルロン酸/nHAp/タンパク複合体からのタンパク溶出実験を行い、nHAp のタンパク担持・徐放能力について検討を行った。

動物実験では、2 種類の実験を行った。(I) 架橋ヒアルロン酸/nHAp(±)/BMP のゾルをマウスの頭蓋部皮下に注入し、体内でゲル化させた。(II) 架橋ヒアルロン酸/nHAp/BMP(±) のゾルをテフロンリング内に充填・ゲル化後、ラット頭蓋骨に直接接触するように外科的に留置した。両試験において、(+) はテスト群、(-) は対象群であった。埋入 8 週後に安楽死させ、材料周辺の頭蓋骨部のマイクロ CT と軟

エックス線を用いたエックス線学的評価および H-E 染色標本による組織学的評価を行った。

そして、架橋ヒアルロン酸/ nHAp/BMP からなる 3 元系注入型材料の骨補填材としての有用性を評価した。

III. 研究成績

1. 理工学的評価：FTIR 分析の結果、架橋ヒアルロン酸には 2 つの特有官能基(-OH, -COOH)とチオール基(-SH)のピークを有し、架橋によりチオール基のピーク強度の減少が認められた。架橋反応は架橋剤であるポリエチレングリコールジアクリレートとのクリック反応によるもので、-CH 基のピーク強度の相対的上昇がみられた。TG/DSC 熱分析から、架橋ヒアルロン酸は未架橋ヒアルロン酸と比較して熱分解ピーク温度が上昇することが確認された。ヒアルロニダーゼ溶解試験では、架橋ヒアルロン酸は未架橋ヒアルロン酸に比べ有意に高いヒアルロニダーゼ耐性を有することが判明した。SEM 観察は乾燥状態の試料で行われ、架橋ヒアルロン酸は未架橋ヒアルロン酸に比べより緻密な構造を有することが観察された。

nHAp と蛍光タンパク (FITC 修飾 I 型コラーゲン) の共焦点レーザー顕微鏡観察から、nHAp はタンパクを強固に吸着することが確認された。架橋ヒアルロン酸/nHAp (±) / タンパク (牛血清アルブミン) からのタンパクの溶出実験から、nHAp は 7 日間以上にわたりタンパクを保持・徐放する反面、nHAp を含まない場合、タンパクは 7 日以前に完全溶出することが判明した。

2. 動物実験 I では、nHAp (+) 群 10 匹中の 7 匹において、試料注入部に異所性骨を多く形成し、既存骨と連続した骨形成は限定的であることがマイクロ CT 像によって確認された。H-E 染色標本からは、結合組織内に島状の異所性骨と局所的な既存骨の増骨が確認された。一方、nHAp (-) 群 10 匹の試料注入部では、マイクロ CT 像および H-E 染色標本上で著名な骨形成像は確認できず、これら 2 群間の骨形成の成功率において、有意差 ($p < 0.05$) が確認された。

動物実験 II では、試料の埋入部位において既存骨と連続した骨の顕著な肥厚と僅少な結合組織内での異所性骨形成が認められ、BMP (+) 群でのリング内の骨厚さ (平均 $721 \mu\text{m}$) は sham 群 (平均 $602 \mu\text{m}$) よりも有意に大きいことが確認された ($p < 0.05$)。

IV. 考察及び結論

1. 理工学的評価 (FTIR, TG/DSC 熱分析, SEM およびヒアルロニダーゼ溶解試験) から、架橋ヒアルロン酸におけるチオール基と架橋反応を示す所見が確認され、この架橋によって、耐熱性の向上、乾燥体における構造の緻密化、ヒアルロニダーゼ耐性の向上が生じたと考えられた。
2. nHAp はタンパク質と直接結合し、タンパク質を長期間保持・放出するキャリアーとし

て重要な役割を果たすことが確認され、BMP の骨形成に利用可能であると思われた。

3. BMP は強力な骨形成成長因子であるものの、頭蓋部軟組織への注入では異所性骨形成を多く引き起こした。一方、頭蓋骨上に直接留置すると既存骨と連続した効果的な骨増生が多くみられた。今後、骨補填材を正確に骨膜下に注入する技術の開発が強く望まれた。
4. 架橋型ヒアルロン酸に nHAp と BMP を併用することで、頭蓋部に骨形成が確認され、70%という比較的高い骨形成率を示した。nHAp と BMP の併用は骨形成を実現するために不可欠であった。

上記の結果から、架橋型ヒアルロン酸/BMP/nHAp からなる 3 元系複合生体材料は注射のみで適応可能な骨補填材であることが示唆された。これら新規の知見は、切開剥離を伴わない低侵襲な骨増生法の確立に寄与すると考えられた。

論文審査担当者

主査 山田 浩之 教授 (口腔顎顔面再建学講座 口腔外科学分野)
副査 近藤 尚知 教授 (補綴・インプラント学講座 補綴・インプラント学分野)
副査 平 雅之 准教授 (医療工学講座)

論文審査の結果の要旨

口腔インプラント治療は、欠損補綴における必要不可欠な治療オプションとなりつつあるが、容易に万人に適用可能というわけではない。前処置として骨増生を必要とする症例が少なくないが、現状の自家骨あるいは顆粒状の人工骨を用いた骨増生では、切開剥離・縫合といった身体的侵襲を避けることができず、また術後の創の裂開等による移植材料の流出や感染の問題が生じる可能性も否定できない。上記のような理由で、切開・縫合を避け、低侵襲な骨増生を可能とする注入型骨補填材の開発が望まれている。そこで本研究では、注入後に生体内でゲル化する架橋型チオール修飾ヒアルロン酸に着目し、そこに骨誘導能を持つ骨形成タンパク (BMP) とそのキャリアであるナノハイドロキシアパタイト (nHAp) を複合化した生体材料を試作した。この3元系複合材料をマウスおよびラットの頭蓋骨に注入する動物実験を行い、その骨形成効果から注入型骨補填材としての有用性を評価した。

使用した架橋型ヒアルロン酸 (Hystem®, Sigma-Aldrich) は、凍結乾燥体で供給され、脱気水にて溶解後、架橋剤を添加することで、ゾル状態からゲル状態へ約 20 分で変化する生体材料である。nHAp (40 nm 径品、ソフセラ) および BMP (rhBMP-2, R&D systems) は、架橋剤添加前のゾル状態で混和することで3元系の複合材料とした。理工学的評価として、フーリエ変換赤外吸光分析 (FTIR)、熱分析 (TG/DSC)、走査型電子顕微鏡観察 (SEM) とヒアルロニダーゼ溶解試験を行った。さらに、共焦点レーザー顕微鏡を用いた nHAp と蛍光タンパクの結合観察および架橋ヒアルロン酸/nHAp/タンパク複合体からのタンパク溶出実験を行い、nHAp のタンパク担持・徐放能力について検討を行った。並行して行った動物実験 I では、架橋ヒアルロン酸/ nHAp (±) /BMP のゾルをマウスの頭蓋部皮下に注入して体内でゲル化させ、埋入 8 週後に安楽死させた。また、動物実験 II では架橋ヒアルロン酸/nHAp/BMP (±) のゾルをテフロンリング内に充填・ゲル化後、ラット頭蓋骨に直接接触するように外科的に留置し、埋入 8 週後に安楽死させた。材料周辺の頭蓋骨部のマイクロ CT や軟エックス線を用いたエックス線学的評価および H-E 染色標本による組織学的検索を行い、架橋ヒアルロン酸/ nHAp/BMP からなる3元系注入型材料の骨補填材としての有用性を評価し

た。

1. 理工学的評価：FTIR 分析の結果、架橋ヒアルロン酸には2つの特有官能基（-OH、-COOH）とチオール基（-SH）のピークを有し、架橋によりチオール基のピーク強度の減少が認められた。架橋反応は架橋剤であるポリエチレングリコールジアクリレートとのクリック反応によるもので、-CH 基のピーク強度の相対的上昇がみられた。TG/DSC 熱分析から、架橋ヒアルロン酸は未架橋ヒアルロン酸と比較して熱分解ピーク温度が上昇することが確認された。ヒアルロニダーゼ溶解試験では、架橋ヒアルロン酸は未架橋ヒアルロン酸に比べ有意に高いヒアルロニダーゼ耐性を有することが判明した。SEM 観察は乾燥状態の試料で行われ、架橋ヒアルロン酸は未架橋ヒアルロン酸に比べより緻密な構造を有することが観察された。nHAp と蛍光タンパク（FITC 修飾 I 型コラーゲン）の共焦点レーザー顕微鏡観察から、nHAp はタンパクを強固に吸着することが確認された。架橋ヒアルロン酸/nHAp（±）/タンパク（牛血清アルブミン）からのタンパクの溶出実験から、nHAp は7日間以上にわたりタンパクを保持・徐放する反面、nHAp を含まない場合、タンパクは7日以前に完全溶出することが判明した。上記の理工学的評価の結果から、架橋ヒアルロン酸におけるチオール基と架橋反応を示す所見が確認され、この架橋によって、耐熱性の向上、乾燥体における構造の緻密化、ヒアルロニダーゼ耐性の向上が生じたと考えられた。また、nHAp はタンパク質と直接結合し、タンパク質を長期間保持・放出するキャリアとして重要な役割を果たすことが確認され、BMP の骨形成に利用可能であることが示唆された。
2. 動物実験 I では、nHAp（+）群 10 匹中の 7 匹において、試料注入部に異所性骨を多く形成し、既存骨と連続した骨形成は限定的であることがマイクロ CT 像によって確認された。H-E 染色標本からは、結合組織内に島状の異所性骨と局所的な既存骨の増骨が確認された。一方、nHAp（-）群 10 匹の試料注入部では、マイクロ CT 像および H-E 染色標本上で著名な骨形成像は確認できず、これら 2 群間の骨形成の成功率において、有意差（ $p < 0.05$ ）が確認された。動物実験 II では、試料の埋入部位において既存骨と連続した骨の顕著な肥厚と僅少な結合組織内での異所性骨形成が認められ、BMP（+）群でのリング内の骨の厚さ（平均 721 μm ）は sham 群（平均 602 μm ）よりも有意に大きいことが確認された（ $p < 0.05$ ）。上記の結果より、BMP は強力な骨形成成長因子であるものの、頭蓋部軟組織への注入では異所性骨形成を誘導し、一方、頭蓋骨上に直接留置すると既存骨と連続した効果的な骨増生を促進することが示唆された。今後は、骨補填材の開発に加え、これを正確に骨膜下に注入する技術の開発も必要であることが明らかとなり、今

後の課題となった。さらに、架橋型ヒアルロン酸に nHAp と BMP を併用することで、70% という比較的高い骨形成率を示したことから、nHAp と BMP の併用は骨形成を実現するために不可欠であると考えられた。

上記研究成果から、架橋型ヒアルロン酸/BMP/nHAp からなる 3 元系の複合生体材料は注射のみで適応可能な骨補填材となりうることが示唆され、かつ骨と骨形成材料の接触という、注入型骨増生法が具備すべき 1 条件が明らかとなった。これら新規の知見は、切開剥離を伴わない低侵襲な注入型骨増生法の確立を通じて、歯科補綴分野における臨床および学術的發展に寄与すると推察され、本論文は学位論文に値すると評価した。

試験・試問結果の要旨

本研究の内容について、本人からの説明を受け質問を行った。また、今後の研究の展開並びに関連する基本事項についても試問を行い、適切かつ十分な回答を得られたことから、学位に値する十分な学識と研究能力を有するものと認めた。

主査・副査から八戸に対して、多くの質問があり、下記のような質疑応答が行われた。

山田主査：頬粘膜のような部位では組織が伸びるためゾル状材料の注入が容易であるが、歯肉のような部位では組織が固いため伸展せず、ゾル状材料の注入は困難と思われる。このゾル状材料はどこに注入する想定をしているのか。

答：本研究は、歯の喪失によって減少した骨量を回復することを目的としているため、その適応範囲は歯肉に覆われた顎堤の粘膜・骨膜下を想定している。頬粘膜下の適応はより容易と思われるが、使用の想定はない。

近藤副査：山田主査の指摘する歯肉部の粘膜・骨膜下注入の難点に対して、これを解決する工夫はあるか。

答：先行研究にて、イヌ頭蓋骨骨膜下にバルーン様の組織拡張器を挿入し、徐々にバルーンを膨らませることで骨膜を伸展し、骨膜下のスペースメイキングに成功した報告がある。このような機器を、注射と同等な侵襲の範囲内で行うことができれば、本研究の注入型骨補填材と併せて、低侵襲な骨増生法の確立につながると考えている。参考としては、医科領域での形状記憶合金を用いたカテーテル治療が挙げられ、これを口腔内に適応可能な大きさに小型化することなどの着想を抱いている。

山田主査追加：

注入部位についてはサイナスリフトの術式への適応はスペース確保が容易なため、直ちに適応可能と思われる。

山田主査：注入後、架橋型ヒアルロン酸は化学変化（架橋）するが、発熱反応で組織障害を生じないか。

答：今回用いた架橋型ヒアルロン酸は、生きた細胞の培地や、その移植担体として用いられているものであるため、架橋によって生体に損傷を与えるような、発熱反応は生じない。

近藤副査：実際に温度を測ってみたというデータはあるか。

答：実際に温度が何度まで上昇するかという数値的なデータは持ち合わせていないが、実験中に架橋中のヒアルロン酸が入った遠沈管を保持した際には、認識できるほどの温度の上昇を感じることはなかった。

山田主査：FTIR の図に示す 3 材料（ヒアルロン酸原料、未架橋ヒアルロン酸、架橋ヒアルロン酸）には相違点は無いと解釈してよいか。

答：ここで示した 3 材料はすべてヒアルロン酸をベースとした材料であるため、非常に類似した波形を示しているが、材料のチオール修飾の有無、あるいは架橋の有無によってグラフに相違点が現れている。具体的には、未架橋ヒアルロン酸において、ヒアルロン酸原料にみられないチオール基を示す波形がみられること。また、架橋ヒアルロン酸において、架橋によるチオール基の消費を示すピーク強度の低下と、架橋剤成分を示す CH 基のピーク強度の上昇が確認できる。

山田主査：nHAp のタンパク吸着による nHAp 粒子の凝集抑制は何を意味するのか。

答：タンパクの吸着により nHAp の凝集が抑制されることで、最終的にヒアルロン酸担体に配合した際の nHAp 粒子の分散性の向上が見込める。これにより、担体の接触範囲に対する薬効の均一な発現や、担体の分解に伴う薬剤の徐放量の均一化に資すると考えられる。

山田主査：マイクロ CT 像から nHAp (+) 試料が一部骨と連続した骨形成を起こしたと報告しているが、注入時に骨膜下に材料が入ったことの検証は行っているのか。

答：注入時、注射針の先端が確実に頭蓋骨に接触することを手指感覚で確認しているため、注入材料の一部は骨膜下の骨と接触していたと考えられる。しかし、今回の実験系では、骨

膜下への材料侵入が生じているかについての検証は行えていない。今後、骨膜下への注入を行う研究においては、ご指摘されたような注入直後の動物の組織標本を用いた骨膜下注入についての検証を行いたい。

山田主査：動物実験ⅠのnHAp (+) 群のH-E像で頭蓋骨上の白い大きく抜けている部分は何か。

答：ヒアルロン酸系材料は含水量が多いため、脱水による収縮が大きいと思われる。H-E組織標本の作製時に用いる有機溶剤（アルコール・キシレンなど）の影響を受け、脱水収縮・脱落した部分がこのような空隙領域となっていると考えている。

山田主査：動物実験ⅠのnHAp (+) 群において10匹中3匹のマウスで骨形成の確認ができていない。30%で効果がみられないのは、臨床上良い結果といえないと思うが、その理由は何か。

答：今回3匹のマウスにて骨形成が確認されなかった理由としては、実験動物自身による注入部位への接触やケージへの接触等によるゲルの移動・断片化等により、材料の分解（生吸収）が早期に進み、長期的な骨形成効果が得られなかったためと考察している。

山田主査：動物実験Ⅱにおける骨量評価は、骨領域を垂直方向の長さで計測している。別に軟エックス線像を用いて、骨欠損部の骨修復を面積で計測する方法があるが、なぜ骨量を垂直方向の長さで評価したのか。

答：本研究の目的は、大きな外科的侵襲を加えない低侵襲な骨増生法の確立である。既存骨上での骨増生を評価するには、垂直的な長さの計測が妥当であった。増骨が直接的に長さの増加で評価できた。一方、骨形成量を面積におけるエックス線不透過度（白化度）で評価する方法もあるが、この方法は、頭蓋部に大きな欠損を形成し、その中に生体材料を入れて骨が形成される状態での骨量評価に適している。生体材料による骨の形成をエックス線学的に評価する場合は、骨の増生部位や方式の違いを考慮して、適切な評価方法を採用するのが妥当と思われた。

近藤副査：注入型材料として様々な材料が検討されているが、架橋型ヒアルロン酸を使用した理由は。

答：ヒアルロン酸は生体親和性に優れ、生体内マトリックスとしてコラーゲンと並び多く含

まれている。しかし、ヒアルロン酸を基材とする注入型骨補填材の報告はこれまで非常に少ない。そこで、本材料を用いて注入型骨補填材の開発を試みることにした。この取り組みは極めて新規性が高いと思われる。なお、ヒアルロン酸の臨床応用例として、整形外科領域での関節疾患の治療と美容整形領域でのヒアルロン酸注射が広く知られている。ヒアルロン酸は未架橋では3-4日程度で生吸収されるため、架橋によって2か月以上生体内に残存する架橋型ヒアルロン酸をベース材料として採用した。

近藤副査：Hystemの架橋型ヒアルロン酸がチオール修飾を選択している理由は。

答：今回用いたHystemのヒアルロン酸の架橋機構は、2022年にノーベル賞を獲得したクリックケミストリーと呼ばれる化学反応の一種に該当する。これは、特定の官能基を有する物質同士が反応副生成物を発生させない非常に簡便な機構で強固に化学結合する特徴を有している。チオール基はこの反応を示す官能基であり、その反応の特異性と、副生成物の影響や複雑な化学反応による熱的影響の回避を図れるものとして採用されていると考える。

近藤副査：Hystemは細胞移植用担体として用いられているとのことでしたが、日本において認可はおいているのか。

答：日本での使用認可が下りていないが、製造メーカーの公表論文によると、米国FDAの510(K)臨床使用許可が下りており、且つヨーロッパでも臨床試験の対象となっており、本研究の成果は実臨床において早期に実現可能と思われる。

近藤副査：なぜ動物実験Ⅱでテフロンリングを使用したのか。

答：骨形成に関する定量的な評価を行うにあたって、ゾル状態の試料を直接注入する手法では、試料が骨面で流動的に広がってしまい、計測時に材料の効果範囲を規定するのが困難であった（動物実験Ⅰ）。そのため、ゲル化した材料が入ったテフロンリングを用いることで、骨面における材料の効果範囲を限定し、計測時にはリング内の領域に計測箇所を規定できるようにした（動物実験Ⅱ）。本研究では、動物実験Ⅰと動物実験Ⅱの実験結果を総合的に考慮して考察した。

近藤副査：本研究は外科的侵襲を伴わない低侵襲な骨増生を目的としているが、動物実験Ⅱでは外科的に切開剥離を行っている。これはなぜか。

答：動物実験Ⅰでは切開を行わず注射で材料を注入したが、結果、既存骨と遊離した骨形成

が多く認められた。これは骨と材料が広範囲にわたり接触せず頭蓋骨上の軟組織に存在していたためと考察した。したがって、動物実験Ⅱでは骨-材料の確実な接触条件下での骨形成挙動について検討を行うため、当初の目的とは一旦離れ、全層弁を形成する手法を採用した。テフロンリング内でゲル化させた材料を直接頭蓋骨に接触させ、その後の骨増生挙動の評価を行った結果、架橋型ヒアルロン酸/nHAp/BMP 注入型材料骨面と接触することで、本来の骨増生能力を示すことを明らかにできた。

近藤副査：動物実験Ⅱの Sham 群はテフロンリングが入っているのか。

答：今回設定した sham 群は、ラット頭蓋骨部の切開剥離を行い、その後は何も入れずに縫合した実験群であり、テフロンリングのみを埋入した実験群の設定は行っていない。

近藤副査：テフロンリング埋入をしなかった理由はあるか。

答：実験の中で、BMP等の生体活性物質を入れないテフロンリングは、頭蓋骨上で移動あるいは脱離を引き起こすことが判明している。また、テフロンリングと接する骨領域はその直下で骨吸収を引き起こす特徴がある。テフロンリングの移動によって不特定領域で骨吸収が起きてしまうと、正常なラットの骨組織との比較が困難となるので、今回はテフロンリングの埋入を行わなかった。

平副査：本研究で用いた BMP と nHAp はどのようにして作られたものか。

答：BMPに関しては、遺伝子工学を利用して精製されたチャイニーズハムスターの子宮由来の rhBMP-2 である。nHAp に関しては、1000 °C 以上で焼成した高結晶ハイドロキシアパタイトであり、焼成時にアパタイト粒子が融着してしまう問題を、融着防止剤を添加して焼成することでナノサイズ粒径（単分散性 40 nm）を維持し、後に融着防止剤成分を除去して精製しているとのことが、ソフセラ社の特許情報で公開されている。

平副査：架橋ヒアルロン酸、BMP、nHAp の組み合わせで骨形成が生じるとしたが、これら 3 要素の役割は何か。

答：架橋ヒアルロン酸は、注入型骨補填材のベースとなる担体の役割を持ち、ゲル化による材料の位置固定とスペースメイキングを行っている。nHAp は、BMP を吸着することで、ヒアルロン酸内に留めつつ、BMP を徐放する役割を持つ。nHAp はヒアルロン酸の分解に伴って放出され、一部生分解される。BMP は生体内で未分化間葉系細胞や前骨芽細胞の分化を促し、骨形成を誘導する強力な骨形成因子である。

平副査：HApは骨伝導能を示す材料として知られる。グリセリンに多量のnHApを配合した材料の骨膜下注入によって骨形成を生じたとの報告があるが、今回使用のnHApも骨伝導能があったのか。

答：本実験で用いたnHApは、多量に配合し骨膜下に埋入した場合、破骨細胞の出現・接着・分化・成熟により吸収され、また、RANKLの分泌から骨芽細胞の活動を活発化し、骨リモデリングの機構から顕著な骨形成を生じることが報告されている。一方、本研究で調製した3元系ゾルゲル材料中のnHAp配合量は極めて少なく、分散して存在しており、破骨細胞の出現や成熟、骨リモデリング機構の発現には至らないため骨伝導能は極めて小さいと思われる。しかしながら、少量配合のnHApには成長因子（BMP）を担持・徐放するキャリアとしての役割があり、本研究ではこの効果が著名に現れたと考えられる。3元系材料中のnHApは、ヒアルロン酸マトリックスの生分解に伴い、体外排出の生体機構によって処理されたと考えられる。一部はマクロファージにより貪食・分解されたと思われる。

平副査：注入型生体材料としてヒアルロン酸系以外に使用あるいは検討されている材料はあるのか。

答：ヒアルロン酸の他には、コラーゲン・ゼラチン・PEG-PLGA系高分子・アルギン酸・リン酸カルシウムセメントなどが知られている。中でもリン酸カルシウムセメントは、注入型として整形外科領域で骨折の治療などで使用されている材料である。また、PEG-PLGA系高分子については、基材自体が疎水性相互作用による薬剤バインドの役割を果たすものも出てきており、盛んに検討が進んでいる材料である。

