

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19791446

研究課題名（和文） 任意形態付与が可能な炭酸アパタイト骨補填材の創製

研究課題名（英文）

Fabrication of carbonate apatite bone substitute which can be created as an arbitrary shape

研究代表者

鈴木裕美子（YUMIKO SUZUKI）

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：20432916

研究成果の概要（和文）：本研究では、新生骨と置換しうる可能性のある生体骨の無機主成分である低結晶性炭酸アパタイトを人工的に創製することを目的とした。

まず、任意形態のセッコウ硬化体を作製し、種々の濃度比のリン酸三Naと炭酸Na混合水溶液中で水熱処理し、形態を保持したまま組成を炭酸アパタイトへと相変換させ、ブロックを調製した。次に炭酸アパタイトブロックを分析し、強度以外は天然の骨の結晶成分に類似していることを確認した。続いて、細胞を用いた炭酸アパタイトブロックの生体適合性の検討を行い、天然骨に類似した細胞反応を示すことが明らかになった。また、この試料を実験動物に埋入した結果、本材料は生体内においてもマクロファージではなく破骨細胞により吸収され、また材料表面に骨芽細胞が直接接して骨基質を分泌している像が見られたことより、生体骨を細胞レベルで模倣していることが示唆された。これらより、本研究の低結晶性炭酸アパタイトブロックは生体内で吸収されたのちに新生骨と置換し、なおかつ骨欠損部の形状に一致させうるという点で、現在臨床応用されている従来の骨補填材とは全く異なるものである。この材料によって、従来の骨補填材の欠点であった生体内での非吸収性や形態付与の困難性を解決可能と思われる。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to fabricate the low-crystalline, carbonate apatite block as a bone substitute material.

First of all, set gypsum was immersed in several kinds of phosphate aqueous solution. After hydrothermal treatment, set gypsum converted to low-crystalline carbonate apatite retaining its original shape. Analysis of fabricated specimen showed that component is similar to that of natural bone except strength.

Investigation of the biocompatibility of the fabricated specimen in vitro was performed. As a result, it was demonstrated that specimen showed no adverse effect on either osteoblast-like cells or osteoclasts.

Following the in vitro experiment, animal experiment was performed. As a result, direct bone deposition to the specimen is detected. Howship's lacuna formed by multinucleated cells supposed to be osteoclasts, are observed around the specimen.

There are some cells which have a similar morphology of osteoblast around the specimen.

We concluded that this is a useful bone filler fabrication method since low-crystalline carbonate apatite same as the shape of bone defect could be fabricated.

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	0	2,200,000
2008年度	712,904	213,871	926,775
2009年度	387,096	116,128	503,224
年度			
年度			
総計	3,300,000	329,999	3,629,999

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴理工系歯学

キーワード：インプラント；骨補填材；ハイドロキシアパタイト

1. 研究開始当初の背景

骨の再建は歯科領域においてインプラント治療や歯周病治療を行う際の重要な課題であるが、骨欠損部再建術の第一選択は自家骨移植である。しかし近年では自家骨に代わる補填材として人工骨が注目を集めている。人工骨補填材に関しては臨床応用上の重要性から国内外できわめて活発に研究が行われているものの、自家骨と同様に機能する人工骨補填材はいまだに開発されていない。具体的には、通常のHAP製品は化学合成したHAP粉末を焼成し、ブロック状あるいは顆粒状とした焼結体である。焼成法によるHAPブロックの調製においては焼成に伴う収縮を補償するため、所望の形態から収縮分を拡大した型枠を作製する必要があるが、正確な型枠作製は極めて困難である。また、900～1200℃の高温で焼成を行うため、焼成過程でHAPの結晶性が向上し、生体骨とはかけ離れた結晶性を示すものとなる。加えて、生体骨には炭酸基が含まれているのに対して、焼結体では原料段階で炭酸基を含有していても焼成の際に炭酸基が遊離するため、焼結HAPには炭酸基が含まれていない。その結果、調製されたHAP焼結体は、生体内で吸収されず、新生骨への置換が期待できなくなる。これは、骨欠損部に新生骨の再生をめざす症例にとって大きな問題点となる。そのため、人工骨が新生骨と置換するためには人工骨の組成を生体骨の組成に近づける必要がある。すなわち、生体骨の無機主成分である低結晶性炭酸アパタイトを人工的に創製できれば、新生骨

と置換する吸収性や骨置換速度に優れた人工骨置換材となりうる。

そこで本研究では、セッコウ（硫酸カルシウム）からのHAP合成について検討することとした。セッコウ（硫酸カルシウム）は優れた成型性を示すため、任意の形態形成が可能なカルシウム化合物である。セッコウ硬化体の組成は $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ であり、中性および塩基性領域においてはHAPより溶解度が大きい。従って、リン酸塩水溶液中にセッコウ硬化体を浸漬すると、より熱力学的に安定なHAPへと相変換する可能性がある。相変換反応でHAPブロックが形成できれば、セッコウで形成した形態を保ったまま結晶性が骨に類似した低結晶性HAPブロックを創製できる可能性が大きい。

本研究で開発したい低結晶性炭酸アパタイトブロックは生体内で吸収されたのちに新生骨と置換し、なおかつ骨欠損部の形状に一致させようという点で、現在臨床応用されている従来の骨補填材とは全く異なるものである。この材料によって、従来の骨補填材の欠点であった生体内での非吸収性や形態付与の困難性を解決可能と思われる。

2. 研究の目的

本研究では、新生骨と置換しうる可能性のある生体骨の無機主成分である低結晶性炭酸アパタイトを、セッコウ（ CaSO_4 ）をリン酸塩で処理し、相変換反応を利用することによってセッコウの形態を維持したまま人工的に創製することを目的とした。また、創製

された低結晶性アパタイトに関し、物性および細胞・組織反応について検討し、新規材料の特性を多角的に検討することとした。

3. 研究の方法

生体骨の無機組成を模倣した炭酸アパタイトブロックの調製

任意形態のセッコウ硬化体を作製し、種々の濃度比のリン酸三 Na と炭酸 Na 混合水溶液中で水熱処理し、形態を保持したまま組成を炭酸アパタイトへと相変換させた。

炭酸アパタイトブロックの材料学的検討

炭酸アパタイトブロックを粉末 X 線回折赤外分光分析法、元素分析にて分析し、結晶成分に類似していることを確認した。また、試料の気孔性や表面性状や強度について天然骨と比較した。

炭酸アパタイトブロックに対する細胞反応 (in vitro)

骨芽細胞様細胞の初期接着性、細胞増殖、細胞分化能や破骨細胞による貪食の可能性を検討するため、本試料をサブストレートとしてそれぞれの細胞を培養し、細胞動態について検討した。

炭酸アパタイトブロックに対する組織反応 (in vivo)

ラット脛骨に本試料を埋入し 2 週あるいは 4 週間後における組織反応を光学顕微鏡レベルで検討した。

4. 研究成果

生体骨の無機組成を模倣した炭酸アパタイトブロックの調製

炭酸アパタイトブロックの材料学的検討
セッコウを蒸留水で練和し、作製したセッコウ硬化体を種々の 1 mol/L リン酸塩水溶液 (Na, K, NH₄) に一定期間 60 ~ 100°C で浸漬した。浸漬後 37°C で 24 時間乾燥し、走査型顕微鏡 (SEM) による処理後試料の表面と断面の観察、粉末 X 線回折 (XRD)、フーリエ変換赤外分光 (FT-IR) 分析および元素分析による組成分析を行った。また機械的強さの指標として間接引張強さ (DTS) 試験を行った。その結果、セッコウ硬化体を Na₃PO₄、K₃PO₄ および (NH₄)₃PO₄ 水溶液で 100°C において 24 時間処理することによって低結晶性の HAP へ転化することが認められた。また、FT-IR 分析および元素分析より大気中の CO₂ が試料内にとりこまれ、生体骨と同じ B 型炭酸アパタイト (リン酸基を炭酸基が置換した炭酸アパタイト) が形成されていることがわかった。また、他の塩と比較して Na₃PO₄ 処理の試料が、他の塩と比較して機械的強さが優れていた。

炭酸アパタイトブロックに対する細胞反応 (in vitro)

ラット脛骨より採取した骨芽細胞様細胞を試料表面に播種し、細胞接着率、細胞増殖率、分化能を検討した。また、破骨細胞様細胞の試料上の分布および破骨細胞様細胞による試料の吸収窩形成を調べた。試料上での骨芽細胞様細胞の接着・増殖率はコントロール群 (未処理のセッコウ硬化体、焼結 HAP) と比較して低かったものの、分化能は高かった。また、試料上での破骨細胞の分布はコントロール群と比較して低かったものの、より多くの吸収窩が認められた。

炭酸アパタイトブロックに対する組織反応 (in vivo)

本法により作製した試料上に対しては、天然の骨代謝に類似した、骨芽細胞による新生骨形成と破骨細胞による正常な吸収窩が認められた。

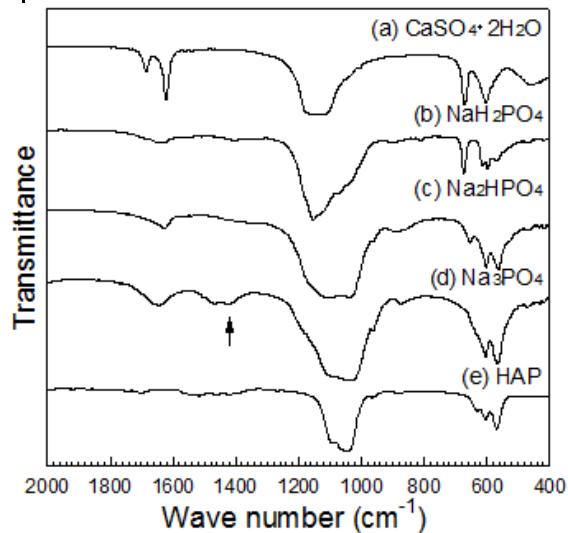


図 1 セッコウ、HAP およびリン酸のナトリウム塩の FT-IR スペクトル。矢印部分より、炭酸基がリン酸基に置換していることが分かる。

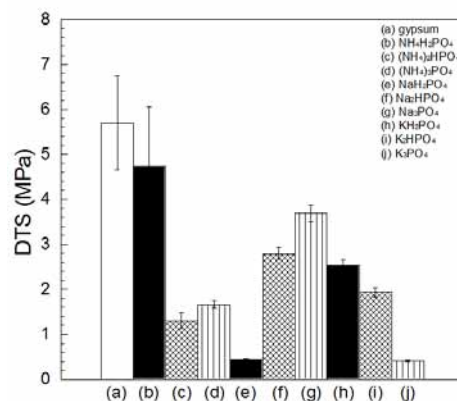


図2
各種リン酸塩の用いた場合の硬化体の機械的強度。Na₃PO₄の強度が比較的強いのが分かる。

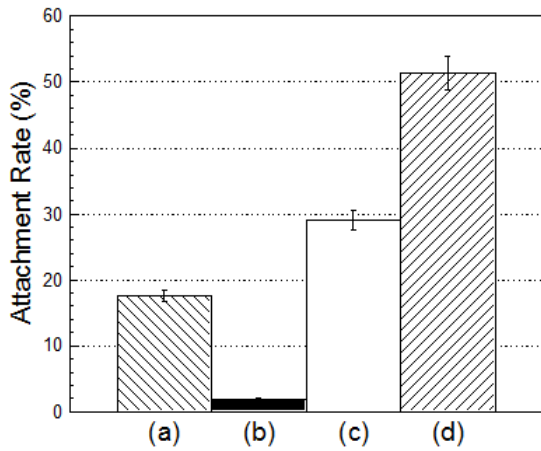


図3
本研究で作製した試料(a)、セッコウ(b)、焼結HAP(c)、培養皿(d)に対する骨芽細胞様細胞の接着率。本研究で作製した試料の細胞接着率は高いことが分かる。

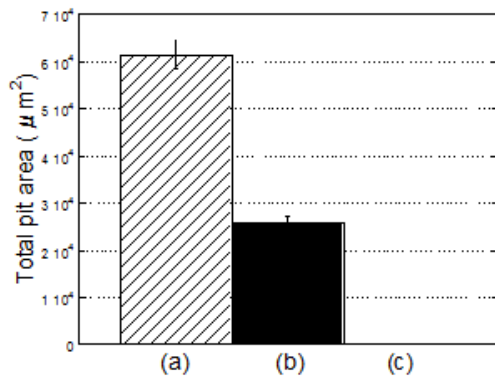


図4
本研究で作製した試料(a)、セッコウ(b)、焼結HAP(c)に播種した破骨細胞による吸収窩の面積。本研究で作製した試料の吸収窩の面積は広いことが分かる。



図5
本研究で作製した試料(*)をラット脛骨に埋入し、2週間後の組織像。試料表面に骨芽細胞(矢印)の直接接触を認める。

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0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木裕美子 (SUZUKI YUMIKO)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：20432916

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：