

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K17010

研究課題名(和文) マクロ-マイクロ気孔が炭酸アパタイトハニカム人工骨の骨伝導・骨置換に及ぼす影響

研究課題名(英文) Effects of macropores and micropores on the osteoconductivity and bone replacement in honeycomb scaffolds

研究代表者

柳沢 俊樹 (Yanagisawa, Toshiki)

九州大学・歯学研究院・学術研究員

研究者番号：50898103

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：一方向の貫通孔(マクロ気孔)を有するハニカム構造体隔壁部の炭酸アパタイトの骨置換には一定の時間を要する。本研究は、炭酸アパタイトハニカム骨補填材の隔壁部にマイクロ気孔を形成し、骨伝導・骨置換の検討を行った。マイクロ気孔の量(0.07から0.18 cm³g⁻¹)は、脱脂による焼結温度を調整することで制御した。強度測定より、マイクロ気孔が増加しても圧縮強度は高水準であった(40MPa以上)。マイクロ気孔が多いと、材料吸収が進行し、12週での骨形成が抑制された。0.15 cm³g⁻¹では破骨細胞と骨芽細胞の相互作用により、骨伝導・骨置換が進行し、マクロ-マイクロ気孔のシナジー効果が検証された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義：マクロ気孔を有する炭酸アパタイトハニカム骨補填材の隔壁部にマイクロ気孔を導入し、骨伝導性・骨置換性に関して、マクロ気孔とマイクロ気孔のシナジー効果は認められるを検討し、骨形成能に優れる炭酸アパタイトハニカム骨補填材を創製することである。

社会的意義：隔壁部へのマイクロ気孔の付与によって炭酸アパタイトハニカム骨補填材の機能が向上すれば、臨床歯学・臨床医学への貢献は極めて大きい。また、骨補填材の隔壁部へのマイクロ気孔の付与は他の骨補填材への展開も期待できる。さらに、マクロ気孔-マイクロ気孔のシナジー効果の解明は、骨補填材の各術領域に新たな研究分野を開拓する先駆的研究であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Bone regeneration from honeycomb scaffolds consisting of C03Ap with distinct macropore in the direction of the long axis in oriented struts took long time. C03Ap honeycomb scaffolds blocks with micropore structures are fabricated and evaluated effective of harmoniously macro- and microporous structures about osteoconductivity and bone replacement. Honeycomb scaffolds with micropore volumes were successfully fabricated by controlling the sintering temperature of honeycomb scaffolds bodies. Mechanical strength was kept high average (40MPa) regardless of micropore volume increased. In the case of micropore volume increased, honeycomb scaffolds resorption accelerated. When honeycomb scaffolds micropore volume was 0.15 cm³g⁻¹, both osteoclastogenesis and osteogenesis harmoniously proceeded, we indicated osteoconductivity and bone replacement in scaffolds with both micropores and micropores was more efficient.

研究分野：Biomaterial

キーワード：炭酸アパタイト骨補填材 炭酸アパタイトハニカム骨補填材 骨伝導 骨置換 マクロ気孔、マイクロ気孔

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会の到来に伴い骨再建術が急増しており、骨補填材の研究は、国内外で活発に行われている。炭酸アパタイトハニカム材料は、一軸連通気孔(マクロ気孔)を有していることから、材料内への骨成長が円滑に行われ、垂直的骨造成、水平的骨造成に有用であり、配向骨が形成される。ハニカム構造体のマクロ気孔内および周壁には迅速に骨が形成されるが、隔壁部の炭酸アパタイトの骨置換を促進するためには、細胞の接着や侵入を考慮する必要がある。そこで代表者は、マクロ気孔を有する炭酸アパタイトハニカム骨補填材の隔壁部にマイクロ気孔を形成すれば、隔壁部内への細胞接着や、細胞の侵入が可能となり、骨置換が促進され、炭酸アパタイトハニカム骨補填材の有用性が向上すると考えた。また、マクロ気孔とマイクロ気孔のシナジー効果による炭酸アパタイト骨置換材の有用性の向上も期待できる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、炭酸アパタイトハニカム骨補填材の隔壁部にマイクロ気孔を形成し、マクロ-マイクロ気孔が炭酸アパタイトハニカム骨補填材の骨伝導・骨置換に及ぼすシナジー効果を検討することにある。好ましくは骨伝導性・骨置換性に優れる炭酸アパタイトハニカム骨補填材を創製することである。

3. 研究の方法

(1) 水酸化カルシウム粉末からスプレードライ法で水酸化カルシウム球を調製する。スラリー供給速度を制御することによって水酸化カルシウム球の粒径が制御できることがわかっているため、直径 20 μm 、50 μm 、100 μm の水酸化カルシウム球を調製する。次に、水酸化カルシウム球を相対湿度 100% の条件で二酸化炭素に暴露し、炭酸カルシウム球とする。炭酸カルシウム球と有機バインダーを混練(炭酸カルシウム球はバインダーと混合しても崩れない)、ハニカム金型を通して押出を行い、原料ハニカム(炭酸カルシウムと有機バインダーの混合物を組成とするハニカム)を調製する。次に、加熱脱脂(有機バインダーを除去する工程)し、炭酸カルシウムハニカムを調製する。さらに、炭酸カルシウムハニカムをリン酸塩水溶液に浸漬し、溶解析出法で炭酸アパタイトハニカムに組成変換させる。隔壁部のマイクロ気孔は SEM 観察するとともに、水銀圧入法で定量化する。また、圧縮強度などの物性試験を行う。

(2) 実験動物を用いた炭酸アパタイトハニカム骨補填材の病理組織学的解析は、日本白色ウサギ大腿骨遠位部の 6、深さ 4 mm の骨欠損を炭酸アパタイトハニカム骨補填材によって再建する。再建後 4、12 週に周囲組織と一塊に試料を摘出し、マイクロ CT 撮影を行い、その後、脱灰、HE 染色する。病理組織学的に骨の形成量を評価し、隔壁部へのマイクロ気孔の付与の有無、マイクロ気孔が骨伝導・新しい骨への置換に及ぼす影響を解析する。

4. 研究成果

(1) マクロ気孔とマイクロ気孔を有する炭酸アパタイトハニカム骨補填材の作製方法の検討および機械的強度

マクロ気孔は、金型の設計により 100 から 600 μm の範囲で制御することができた。炭酸アパタイト球間にマイクロ気孔が存在しており、マイクロ気孔体積は、脱脂による焼結度を調整することにより、0.07

cm^3g^{-1} から $0.15\text{cm}^3\text{g}^{-1}$ の範囲で制御することができた。圧縮強度試験の結果、マクロ気孔の径が $200\ \mu\text{m}$ から $600\ \mu\text{m}$ に増加すると、圧縮強度は 68MPa から 43MPa に低下した。また、マクロ気孔の気孔率がほぼ同じ場合、マイクロ気孔率が 47% から 56% に増加すると、圧縮強度は約 130MPa から約 45MPa に減少した。このことから、マクロ気孔率に比べてマイクロ気孔率の方が圧縮強度に与える影響が明らかになった

(2) 炭酸アパタイトハニカム骨補填材のマイクロ気孔が骨伝導・骨置換に与える影響

マクロ-マイクロ気孔のシナジー効果を検証した。材料吸収・骨形成は、ウサギ大腿骨欠損部に試料を埋入し、4、12 週のマイクロCT および組織学的計測により評価した。マイクロ気孔体積が大きい ($0.18\text{cm}^3\text{g}^{-1}$ 以上) と、破骨細胞の増加に伴い材料吸収は進行し、12 週において骨形成は抑制された。マイクロ気孔体積は、 $0.07\text{cm}^3\text{g}^{-1}$ から $0.15\text{cm}^3\text{g}^{-1}$ の範囲が骨形成に有効であり、 $0.15\ \text{cm}^3\text{g}^{-1}$ において、破骨細胞と骨芽細胞の相互作用により、骨伝導・骨置換が進行した。以上から、マイクロ気孔を制御することで、炭酸アパタイトハニカム骨補填材の強度と骨伝導・骨置換を制御することができた。また、マクロ気孔の効果を検証する為、マイクロ気孔を制御し、マクロ気孔を有するハニカム構造体と有しない構造体とを前記同様の動物実験により比較した。マクロ気孔を有するハニカム構造体は骨伝導が良好であり、新生骨量も有意に高かった。以上より、骨伝導・骨置換に関してマクロ-マイクロ気孔のシナジー効果が検証された。隔壁部へのマイクロ気孔の付与によって炭酸アパタイトハニカム骨補填材の機能が向上すれば、臨床歯学・臨床医学への貢献は極めて大きい。また、骨補填材の隔壁部へのマイクロ気孔の付与は他の骨補填材への展開も期待できる。

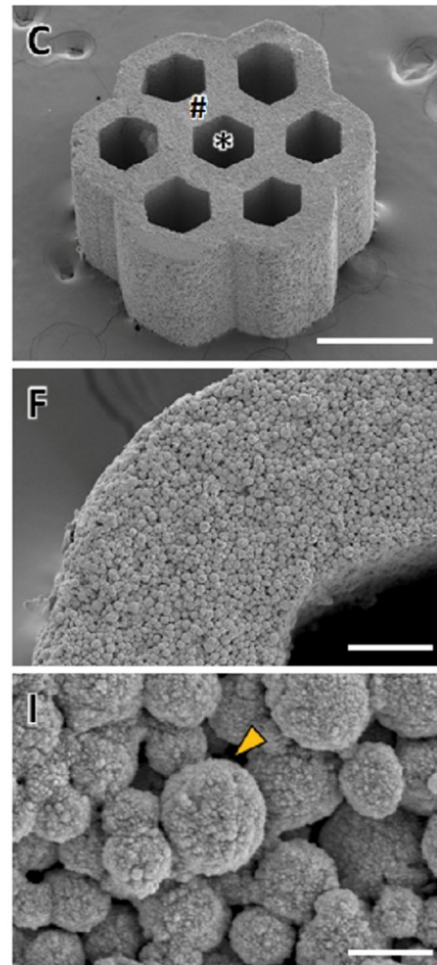


図1 マクロ-マイクロ気孔を有するハニカム骨補填材(引用文献)

C: ハニカム骨補填材 (*:マクロ気孔、#: 隔壁部)

F: ハニカム骨補填材隔壁部

I: 隔壁部拡大写真(矢印: マイクロ気孔)

< 引用文献 >

Hayashi Koichiro, Yanagisawa Toshiki, Kishida Ryo, Ishikawa Kunio, Effects of Scaffold Shape on Bone Regeneration: Tiny Shape Differences Affect the Entire System, ACS Nano, 16, 2022, 11755~11768

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hayashi Koichiro, Yanagisawa Toshiki, Shimabukuro Masaya, Kishida Ryo, Ishikawa Kunio	4. 巻 14
2. 論文標題 Granular honeycomb scaffolds composed of carbonate apatite for simultaneous intra- and inter-granular osteogenesis and angiogenesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Materials Today Bio	6. 最初と最後の頁 100247 ~ 100247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mtbio.2022.100247	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Koichiro, Yanagisawa Toshiki, Kishida Ryo, Ishikawa Kunio	4. 巻 16
2. 論文標題 Effects of Scaffold Shape on Bone Regeneration: Tiny Shape Differences Affect the Entire System	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 11755 ~ 11768
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.2c03776	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------