

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24659861

研究課題名(和文)リン酸三カルシウムフォームセメント

研究課題名(英文)Tricalcium phosphate cement

研究代表者

石川 邦夫(Ishikawa, Kunio)

九州大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号：90202952

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は骨欠損内部で、室温で硬化し、骨に置換するリン酸カルシウムのみで多孔体を形成するリン酸三カルシウムフォームセメントを調製できるか否かを検討することを目的とした。型リン酸三カルシウム顆粒と酸性リン酸カルシウム水溶液を練和すると、型リン酸三カルシウム顆粒表面にリン酸水素カルシウム二水和物が形成され、形成されたリン酸水素カルシウム二水和物結晶の絡まりあいで、型リン酸三カルシウム顆粒が橋架けされ、その結果、型リン酸三カルシウム顆粒が硬化して多孔体が形成された。クエン酸を練和液に添加することによって硬化時間が制御でき約4分で硬化するリン酸三カルシウムフォームセメントとなることがわかった。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to evaluate the feasibility of fabrication of interconnected pore forming tricalcium phosphate cement (TCP). β -TCP granules were prepared by heating the mixture of calcium carbonate and dicalcium phosphate dihydrate (DCPD) with Ca/P molar ratio of 1.5 at 1100 °C. Liquid phase was prepared by dissolving calcium phosphate monohydrate into phosphoric acid so that the solution will be saturated with respect to DCPD. When the β -TCP granules were mixed with the acidic calcium phosphate solution, DCPD was formed on the surface of β -TCP granules. DCPD crystals was also formed between the β -TCP granules and thus bridged the β -TCP granules. Although the setting reaction was 2 min, addition of the citric acid result in the extension of the setting time to reach 4 min when the acidic calcium phosphate solution contains 0.1 mol/L citric acid which is known to chelate calcium ions. Further studies are awaited base on the results obtained in the present study.

研究分野：生体材料学

キーワード：リン酸三カルシウム セメント 多孔体 連通気孔 リン酸水素カルシウム 生体吸収性

1. 研究開始当初の背景

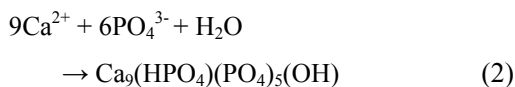
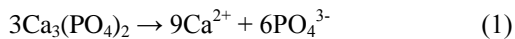
わが国は2007年に超高齢社会(総人口に対して65歳以上の高齢者が占める割合が21%を超えた社会)となった。また、わが国の平均寿命と健康寿命の差は男性で9年、女性で12年以上の差があり(2011年時点)、要介護の原因の2割強を占めるのが運動器障害である。さらに、また、一般の国民医療費(2010年)の7.4%(2兆263億円)が運動器系疾患(筋骨格系及び結合組織の疾患)を原因としている。

悪性腫瘍や外傷等で骨欠損が発生した場合、骨再建術の第一選択は自家骨移植である。しかしながら、自家骨移植には自家骨採取が不可欠であり、自家骨採取に伴う健全部位への侵襲や採取可能な骨の量や形態の制限等の不可避な問題がある。

人工骨補填材としては組成としては水酸アパタイト[HAp: Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂]および型リン酸三カルシウム[β-TCP: Ca₃(PO₄)₂]があり、水酸化アパタイトは骨内で安定であるが、型リン酸三カルシウムは骨内で吸収されて骨に置換されることが知られている。一方、骨補填材の形態としてはブロック状、顆粒状、セメント状などのものがある。ブロックの場合は術場で形態形成する必要があり、骨欠損部の形態にあわせることは必ずしも容易ではない。顆粒の場合は固定に問題があり、顆粒が骨欠損部から移動するという問題がある。一方、セメントの場合は骨欠損部で硬化するため固定性に優れ、骨欠損部から移動することもない。

一方、人工骨補填材と骨との結合や人工骨補填材の骨への置換を考えると海面骨のように連通多孔体構造とする必要がある。これまでにマンニトールなどの気孔形成材をセメントに導入し、骨内で溶解させ、多孔体を形成する試みが報告されていたが、骨内での溶解は限定的であり、実用性に乏しいものであった。

そこで申請者は顆粒を硬化させて多孔体化する多孔体セメントが好ましいのではと考えた。型リン酸三カルシウム[α-TCP: Ca₃(PO₄)₂]は水と反応してCa²⁺とPO₄³⁻を溶出する(式1)。これらのイオンがカルシウム欠損アパタイトとして析出し、析出したカルシウム欠損アパタイトが絡み合って硬化する(式2)。



そこでポリウレタンフォームをテンプレートとして用い、セラミックスフォーム形成法を応用して型リン酸三カルシウムフォームを調製した。また、そのフォームを粉碎し、TCPフォーム顆粒を調製した。TCPフォーム顆粒の硬化条件を調べたところ、

200 で24時間という過酷な条件では硬化したが、100 24時間でも硬化反応は限定的であり、体温では全く硬化しなかった(図1)。

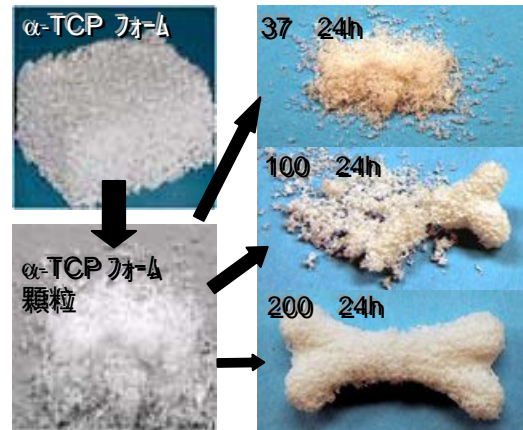


図1 TCPフォーム顆粒の硬化反応。TCP顆粒を骨の枠型に導入し、各種温度で水中で24時間反応させた場合のTCPフォーム顆粒の硬化挙動。

そこでアパタイト形成による体温(37)での硬化反応は困難であると考え、リン酸水素カルシウム二水和物の形成による顆粒の硬化を考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は骨との置換が報告されているTCP顆粒を、同様に骨との置換が報告されているリン酸水素カルシウム[DCPD: CaHPO₄·2H₂O]で橋架けし、骨との置換が報告されているリン酸カルシウムのみで、多孔体を形成するリン酸三カルシウムフォームセメントが調製できるか否かを検討することである。

3. 研究の方法

3-1 TCP顆粒の調製

TCP顆粒は炭酸カルシウムとリン酸水素カルシウム二水和物をCa/Pモル比が1.5となるように混合し、一軸圧粉、電気炉にて1100 で6時間焼成、粉碎、篩分けして調製した。

3-2 酸性リン酸カルシウム水溶液の調製

TCP顆粒を橋架けするために形成させるリン酸水素カルシウムは酸性領域で安定相であるため、酸性溶液を調製する必要がある。また、リン酸水素カルシウムを形成させるため、当該溶液をリン酸水素カルシウムに対して飽和するように調製する必要がある。そのため、リン酸二水素カルシウムをリン酸に溶解させて酸性リン酸カルシウム水溶液を調製した。

3-3 反応制御型酸性リン酸カルシウム水溶液の調製

一部の実験は反応制御型酸性リン酸カル

シウム水溶液を用いて実験を行った。反応制御を目的として酸性リン酸カルシウム水溶液にクエン酸を添加した。

3-3 硬化反応

型リン酸三カルシウムと練和液を室温で混和し、顆粒の移動が認められなくなった時間を硬化時間とした。

3-4 組成分析

硬化体の組成は粉末X線回折法によって分析した。標準試料としてはナカライテスク製リン酸水素カルシウム二水和物を用いた。

4. 研究成果

型リン酸三カルシウム顆粒を0.6モル濃度リン酸水溶液に1モル濃度となるようにリン酸二水素カルシウムを溶解した溶液で練和すると1分以内に硬化することがわかった。

図2に硬化体の走査型電子顕微鏡写真を示す。型リン酸三カルシウム顆粒表面に結晶が析出しており、析出した結晶が型リン酸三カルシウム顆粒を橋架けして硬化している。その結果、型リン酸三カルシウム顆粒が多孔体を形成している。

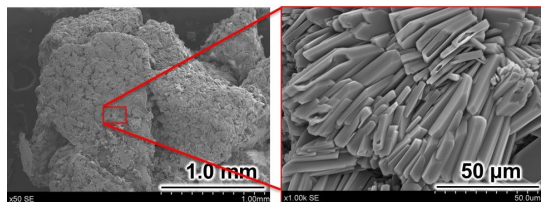


図2 型リン酸三カルシウム顆粒を酸性リン酸カルシウム水溶液で練和した際に得られる多孔体の走査型電子顕微鏡写真

図3に粉末X線回折パターンを示す。得られた多孔体の粉末X線回折パターンには型リン酸三カルシウムに特有のピーク以外にリン酸水素カルシウム二水和物のピークが認められる。これらのことから型リン酸三カルシウム顆粒と酸性リン酸カルシウム水溶液を練和した場合、リン酸水素カルシウム二水和物が型リン酸三カルシウム顆粒の表面に形成され、析出したリン酸水素カルシウム二水和物が型リン酸三カルシウム顆粒を橋架けすることによって型リン酸三カルシウム顆粒が硬化して多孔体を形成することがわかった。

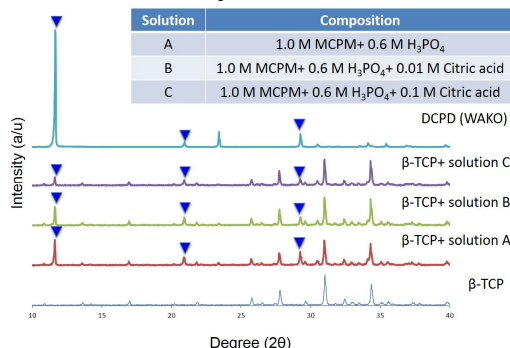


図3 粉末X線回折パターン

型リン酸三カルシウム顆粒も酸性リン酸カルシウム水溶液の練和で形成されたリン酸水素カルシウム二水和物も骨に置換されるため、当初の研究目的である全て骨に置換される材料による多孔体形成セメントの形成は達成されたが、硬化時間が2分程度であり、臨床的には十分な走査時間が確保できないことがわかった。

そこで硬化時間を制御するためにカルシウムイオンとのキレート反応が報告されているクエン酸の添加を検討した。0.01モル濃度のクエン酸を添加することによって硬化時間は3分となり、また0.1モル濃度のクエン酸の添加によって硬化時間は4分程度に制御することが可能であることがわかった。

図4にクエン酸を添加した場合の型リン酸三カルシウム顆粒多孔体の走査型電子顕微鏡写真を示す。クエン酸を添加してもクエン酸を添加していない場合と同様に

型リン酸三カルシウム顆粒表面に結晶が析出し、析出した結晶の絡み合いで型リン酸三カルシウム顆粒が橋架け硬化していることがわかった。粉末X線回折による分析の結果、析出物にも変化はなくリン酸水素カルシウム二水和物であることがわかった(図3)。

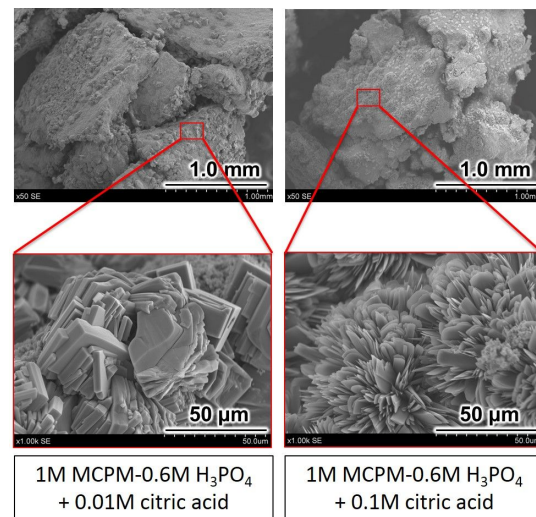


図4 型リン酸三カルシウム顆粒をクエン酸添加酸性リン酸カルシウム水溶液で練和した際に得られる多孔体の走査型電子顕微鏡写真

今回の実験結果を基盤として組織親和性や骨置換性などの検討が望まれる。

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13件)

- Sakai A, Valanezhad A, Ozaki M, Ishikawa K, Matsuya S: Preparation of Sr-containing carbonate apatite as a bone substitute and its

- properties. Dent Mater J, 31(2): 197-205, 2012.
- 2 Kawashita M, Taninai K, Li Z, Ishikawa K, Yoshida Y: Preparation of low-crystalline apatite nanoparticles and their coating onto quartz substrates. J Mater Sci: Mater Med, 23: 1355-1362, 2012.
 - 3 Sunouchi K, Tsuru K, Maruta M, Kawachi G, Matsuya S, Terada Y, Ishikawa K: Fabrication of solid and hollow carbonate apatite microspheres as bone substitutes using calcite microspheres as a precursor. Dent Mater J, 31(4): 549-557, 2012.
 - 4 Otsu A, Tsuru K, Maruta M, Munar ML, Matsuya S, Ishikawa K: Fabrication of microporous calcite block from calcium hydroxide compact under carbon dioxide atmosphere at high temperature. Dent Mater J, 31(4): 593-600, 2012.
 - 5 Ahmad N, Tsuru K, Munar ML, Maruta M, Matsuya S, Ishikawa K: Effect of precursor's solubility on the mechanical property of hydroxyapatite formed by dissolution-precipitation reaction of tricalcium phosphate. Dent Mater J, 31(6): 995-1000, 2012.
 - 6 Bang LT, Tsuru K, Munar M, Ishikawa K, Othman R: Mechanical behavior and cell response of PCL coated α -TCP foam for cancellous-type bone replacement. Ceram Int, 39(5): 5631-5637, 2013.
 - 7 Munar GM, Munar ML, Tsuru K, Ishikawa K: Influence of PLGA concentrations on structural and mechanical properties of carbonate apatite foam. Dent Mater J, 32(4): 608-614, 2013.
 - 8 Nomura S, Tsuru K, Matsuya S, Takahashi I, Ishikawa K: Fabrication of carbonate apatite block from set gypsum based on dissolution-precipitation reaction in phosphate-carbonate mixed solution. Dent Mater J, 33(2): 166-172, 2014.
 - 9 Munar GM, Munar ML, Tsuru K, Ishikawa K: Effects of PLGA reinforcement methods on the mechanical property of carbonate apatite foam. Bio-Medical Materials and Engineering, 1817-1825, 2014.
 - 10 Rashid RN, Tsuru K, Ishikawa K: Effect of calcium-ozone treatment on chemical and biological properties of polyethylene terephthalate. J Biomed Mater Res: Part B, in press.
 - 11 Ishikawa K, Nguyen Xuan Thanh Tram, Tsuru K, Toita R: Fabrication of porous calcite using chopped nylon fiber and its evaluation using rats. J Mater Sci: Mater Med, in press.
 - 12 Nagai H, Fujioka-Kobayashi M, Fujisawa K, Ohe G, Takamaru N, Hara K, Uchida D, Tamatani T, Ishikawa K, Miyamoto Y:

Effects of low crystalline carbonate apatite on proliferation and osteoblastic differentiation of human bone marrow cells. J Mater Sci: Mater Med, in press.

- 13 Koga N, Tsuru K, Takahashi I, Ishikawa K: Effects of humidity on calcite block fabrication using calcium hydroxide compact. Ceram Int, in press.

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
関連する出願状況(計 3 件)

名称：医療用硬組織再建材及びその製造方法
発明者：石川邦夫、都留寛治、戸井田力、中島康晴
権利者：国立大学法人九州大学
種類：特許
番号：特願 2014-177564
出願年月日：2014 年 9 月 1 日
国内外の別：国内

名称：硬化性組成物、多孔体及びその製造方法、表面アパタイト化多孔体及びその製造方法、焼成多孔体及びその製造方法、並びに表面アパタイト化焼成多孔体及びその製造方法
発明者：石川邦夫、都留寛治、戸井田力、中島康晴
権利者：国立大学法人九州大学
種類：特許
番号：特願 2014-177565
出願年月日：2014 年 9 月 1 日
国内外の別：国内

名称：骨補填材及びその製造方法
発明者：石川邦夫、都留寛治、戸井田力、中島康晴
権利者：国立大学法人九州大学
種類：特許
番号：特願 2014-177566
出願年月日：2014 年 9 月 1 日
国内外の別：国内

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川 邦夫 (ISHIKAWA, Kunio)
九州大学・大学院歯学研究院・教授
研究者番号：90202952

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：