

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390500

研究課題名(和文) 海綿骨型骨置換材の創製

研究課題名(英文) Fabrication of cancellous bone type bone replacement

研究代表者

石川 邦夫 (ISHIKAWA KUNIO)

九州大学・歯学研究院・教授

研究者番号：90202952

研究成果の概要(和文)：

骨に迅速に置換される海綿骨に学び、海綿骨様人工骨置換材創製の可能性を検討した。ポリウレタンフォームをテンプレートとし、セラミックスフォーム調製法によって α 型リン酸三カルシウムフォームを調製した。次に炭酸アンモニウム水溶液中に浸漬し、水熱処理を施すと α 型リン酸三カルシウムフォームは炭酸アパタイトフォームとなった。炭酸アパタイトフォームは骨内に埋植すると骨に置換された。

研究成果の概要(英文)：

Feasibility of cancellous bone type bone replacement was evaluated by learning the cancellous bone. First, α -tricalcium phosphate foam was prepared using polyurethane foam as a template based on so-called ceramics foam method. Then, the foam was treated hydrothermally in the presence of ammonium carbonate. Carbonate apatite foam that has the similar interconnected porous structure was found to be prepared. Carbonate apatite foam was found to be replaced by bone when the bone defect was reconstructed by the carbonate apatite foam.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2009年度	5,600,000	1,680,000	7,280,000
2010年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯科医用工学 再生歯学

キーワード：骨置換材、炭酸アパタイト、骨リモデリング、水熱反応、炭酸アパタイトフォーム、多孔体

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会への対応やデンタルインプラントの適応症例拡大に対する社会的要求から、骨造成術式の向上が急務とされています。骨造成術においては自家骨移植が第一選択ですが、健全部位への侵襲等の問題があり、自家骨と同様に機能する人工骨補填材のます。現時点においては骨伝導性を示す水酸アパタイトが臨床応用されていますが、生体骨

には置換されません。生体骨の無機組成は炭酸アパタイトであり、炭酸アパタイトは破骨細胞による吸収と骨芽細胞による骨形成を受け、リモデリングされます。一方、水酸アパタイトは骨芽細胞による骨形成を受けるため骨伝導性を示しますが、破骨細胞による吸収を受けないため生体骨に置換されません。炭酸アパタイトは熱的に不安定であり、焼成すると分解し、焼成物が組織為害性を示

すために歴史的には熱的分解の原因である炭酸基を完全に除去した水酸アパタイト焼結体が骨補填材として用いられてきました。しかし、造血機能など骨の生物学的機能を勘案いたしますと、生体骨に置換される人工骨置換材の創製が必須であると思われます。申請者は①熱力学的不安定相（溶液に浸漬した時に微溶解性を示す相）を利用した溶解-析出型の相変換反応で炭酸アパタイトブロックを調製し、②炭酸アパタイトが破骨細胞による吸収を受けること、その結果、③炭酸アパタイトは生体骨に置換されることを見出しました。

2. 研究の目的

炭酸アパタイトは画期的な骨置換材となると予測され、これまでに前臨床試験が終了し、臨床治験準備段階です。

一方、これまでに調製したのは顆粒状炭酸アパタイトであり、生体骨への迅速な置換の観点からは海綿骨の様な完全連通気孔構造が形態として理想的であると思われます。そこで本研究においては相変換反応による炭酸アパタイトの調製法を基盤技術として、海綿骨形態の炭酸アパタイトの創製法を検討し、その有用性を評価することを研究目的としました。

3. 研究の方法

(1) 海綿骨様前駆体の調製

海綿骨と同様に三次元連通気孔を有しているポリウレタンフォームを α 型リン酸三カルシウムと蒸留水を9 mL/10 gで混合した α 型リン酸三カルシウムスラリーに浸漬し、ポリウレタンフォームの骨梁部に α 型リン酸三カルシウム粉末を付着させた。乾燥後、電気炉にて毎分1°Cで400°Cまで加熱、続けて1550°Cまで毎分5°Cの条件で加熱し、1550°Cで5時間焼成し、ポリウレタンフォームの焼却と α 型リン酸三カルシウムの焼結を同時に行い、 α 型リン酸三カルシウムフォームを調製した。

(2) 水熱相変換反応

得られた α 型リン酸三カルシウムフォームを0-6モル濃度炭酸アンモニウム水溶液に浸漬し、200度24時間の条件で水熱反応を行い、 α 型リン酸三カルシウムフォームを形態を保ったままで炭酸アパタイトへと相変換させた。

(3) 形態観察および組成分析

得られた試料の形態はデジタルカメラ、光学顕微鏡観察、走査型電子顕微鏡観察にておこなった。また、粉末X線回折法、フーリエ変換分光光度計、およびCHN元素分析によって組成分析をおこなった。

4. 研究成果

図1に海綿骨と同様の完全連通気孔構造を示す(A)ポリウレタンフォーム、(B)ポリウレタンフォームをテンプレートとして調製した α 型リン酸三カルシウムフォームおよび(C) α 型リン酸三カルシウムフォームを6モル濃度炭酸アンモニウム水溶液中で溶解-析出型相変換反応にて調製した炭酸アパタイトフォームの形態像を示す。

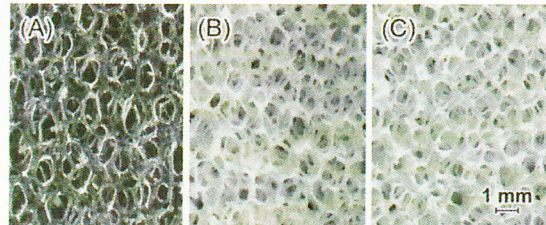


図1 各種試料の形態。(A)ポリウレタンフォーム; (B)ポリウレタンフォームをテンプレートとして調製した α 型リン酸三カルシウムフォーム; (C) α 型リン酸三カルシウムフォームから相変換反応で調製した炭酸アパタイトフォーム

基本的にはいずれも完全連通気孔構造を保持しており、海綿骨と同様の構造であることがわかる。

α 型リン酸三カルシウムフォームおよび炭酸アパタイトフォームの気孔率は $85.5 \pm 1.7\%$ および $87.7 \pm 2.2\%$ であり、極めて高い気孔率を示すこと、アパタイト化は気孔率に変動を及ぼさないことがわかった。

図2に各種試料表面を走査型電子顕微鏡にて観察した結果を示す。 α 型リン酸三カルシウムフォーム表面(A)は焼結に特異的な滑沢面を示している。(B)には蒸留水中で水熱処理を行うことによって得られた水酸アパタイトフォームの表面像を示すが、水酸アパタイトに特徴的な針状結晶が見られる。一方、炭酸アンモニウム水溶液中で水熱処理して得られた炭酸アパタイトフォーム(C-F)は結晶が並んでいる構造であった。

図3に炭酸アンモニウム水溶液の濃度が得られた炭酸アパタイトフォームにおける炭酸基含有量に及ぼす影響を示す。蒸留水中で水熱処理を行った場合には当然炭酸基は導入されず水酸アパタイトフォームが形成された。炭酸アンモニウム濃度の増大に伴い、処理後の炭酸アパタイトフォーム中に導入される炭酸基が増大され、6モル濃度の炭酸アンモニウム水溶液中で水熱処理を行った場合、約7.3%の炭酸基が導入され、海綿骨の炭酸アパタイトとほぼ同様の炭酸アパタイトとなることがわかった。

図4に炭酸アンモニウム水溶液の濃度が調整されるアパタイトフォームの機械的強

さ（圧縮強さ）に及ぼす影響を示す。蒸留水を用いた場合は水酸アパタイトフォームが

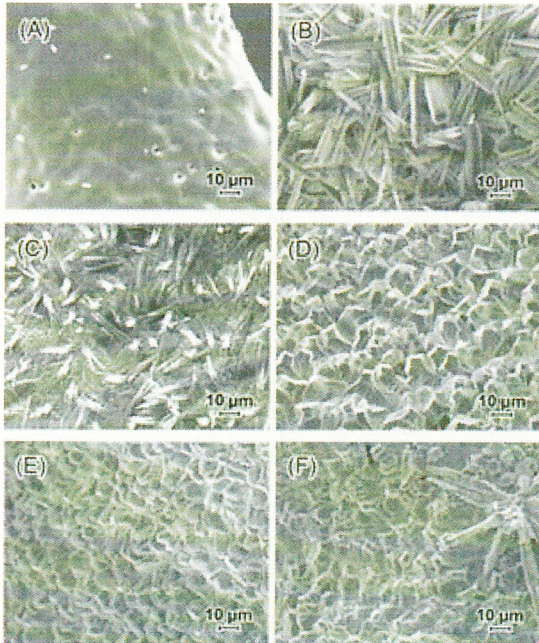


図2 水熱相変換反応前後の試料の走査型電子顕微鏡像 (A)水熱相変換反応前の α 型リン酸三カルシウムフォーム; (B);蒸留水中で水熱相変換処理を行い調製された水酸アパタイトフォーム (C) 0.25M 炭酸アンモニウム水溶液中で水熱相変換処理を行い調製された炭酸アパタイトフォーム; (D) 0.50M 炭酸アンモニウム水溶液中で水熱相変換処理を行い調製された炭酸アパタイトフォーム; (E) 2M 炭酸アンモニウム水溶液中で水熱相変換処理を行い調製された炭酸アパタイトフォーム; (F) 6M 炭酸アンモニウム水溶液中で水熱相変換処理を行い調製された炭酸アパタイトフォーム

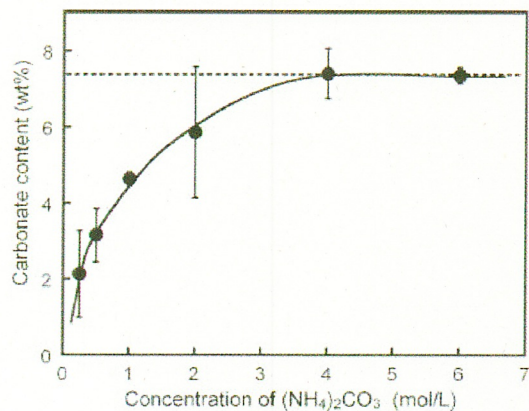


図3 水熱相変換反応に用いる炭酸アンモニウム濃度が形成されるアパタイトフォーム中の炭酸量に及ぼす影響。

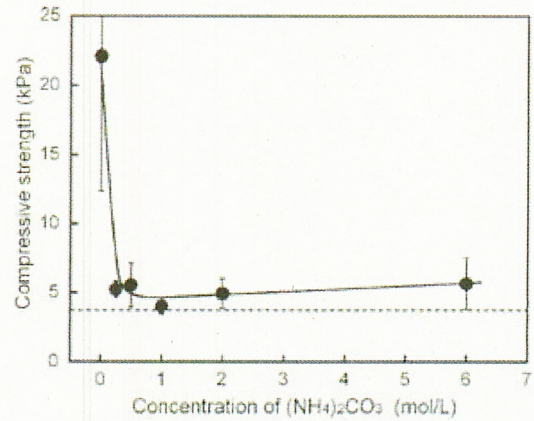


図4 水熱相変換反応に用いる炭酸アンモニウム濃度が形成されるアパタイトフォームの機械的強さに及ぼす影響。

形成されており、圧縮強さは約23kPaである。炭酸アンモニウム水溶液中で水熱処理を施すと、得られるアパタイトフォームは炭酸アパタイトフォームとなり圧縮強さはいずれも約5kPaと著しく小さくなった。

この圧縮強さはアパタイトフォームを骨欠損形態に合わせて形態形成するには小さすぎ、将来的に何らかの手法で炭酸アパタイトフォームの機械的性質を向上させる必要があることがわかった。なお、本研究においては炭酸アパタイトフォームを病理組織学的に検索する必要があったため、炭酸アパタイトフォームを顆粒状とし、当該フォーム顆粒

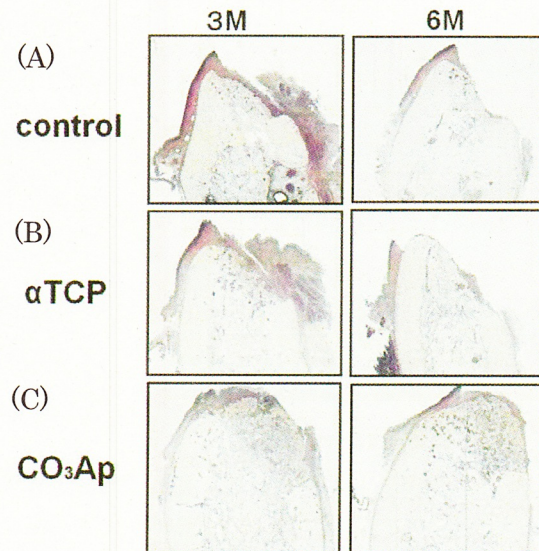


図5 ビーグル犬顎骨骨欠損部を(A)処置しない場合; (B) α 型リン酸三カルシウムフォーム顆粒で再建した場合; (C) 炭酸アパタイトフォーム顆粒で再建した場合の3ヶ月および6ヶ月後の病理組織像。非脱灰薄切研磨標本、ピラヌエバ染色。

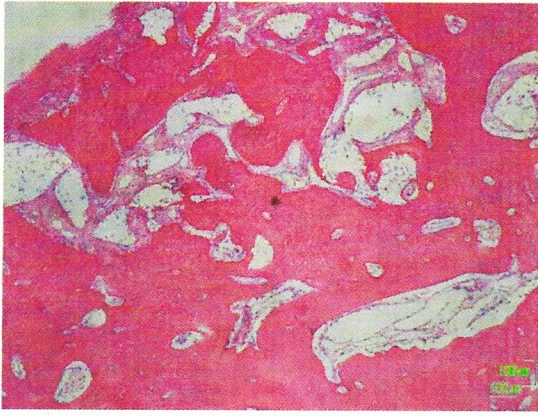


図6 ビーグル犬顎骨に形成した骨欠損を α リン酸三カルシウムフォーム顆粒で再建した場合の3ヶ月目の病理組織像。

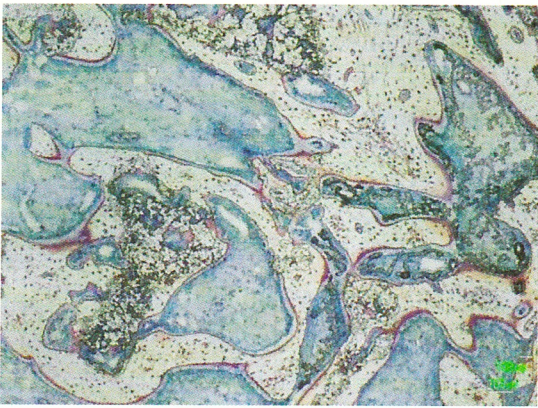


図7 ビーグル犬顎骨に形成した骨欠損を炭酸アパタイトフォーム顆粒で再建した場合の3ヶ月目の病理組織像。

によって骨欠損部を再建し、炭酸アパタイトフォームを病理組織学的に検索することとした。

図5はビーグル犬顎骨に形成した骨欠損部を(A)処置しない場合、(B) α リン酸三カルシウムフォーム顆粒で再建した場合、(C)炭酸アパタイトフォーム顆粒で再建した場合の3ヶ月目および6ヶ月目の非脱灰病理組織像であり、図6、図7は α リン酸三カルシウムフォーム顆粒および炭酸アパタイトフォーム顆粒にて顎骨欠損部を再建した場合の3ヶ月目の脱灰組織像である。いずれも良好な組織親和性を示し、著名な炎症反応が惹起されていないこと、 α リン酸三カルシウムフォーム顆粒および炭酸アパタイトフォーム顆粒が吸収され骨に置換されていることがわかった。

また、残存した材料および新生骨を定量分析した結果、 α リン酸三カルシウムフォーム顆粒は3ヶ月目で約2%の残存量となるが、炭酸アパタイトは約8%、6ヶ月目でも約6%が残留していることがわかった。一方、

骨形成量に関して炭酸アパタイトフォーム顆粒の場合はほぼ全量が骨に置換されているが、 α リン酸三カルシウムフォーム顆粒の場合は約50%であることがわかった。

以上の結果から、炭酸アパタイトフォームは理想的な骨置換材になりうる可能性が極めて高いことがわかった。本研究で得られた実験結果を基盤として、炭酸アパタイトフォームの機械的性質の向上が強く望まれる。

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6件)

- ① Koh-ichi Udoh, Melvin L Munar, Michito Maruta, Shigeki Matsuya, Kunio Ishikawa: Effects of sintering temperature on physical and compositional properties of α -tricalcium phosphate foam. *Dental Materials Journal*, 29 (2): 154-159, 2010.
- ② Kanako Matsumoto, Kanji Tsuru, Giichiro Kawachi, Michito Maruta, Shigeki Matsuya, Ichiro Takahashi, Kunio Ishikawa: Reinforcement of carbonate apatite bone substitutes with carbonate apatite by Ca salt introduction. *Journal of the Ceramic Society of Japan*, 118 (6): 521-524, 2010.
- ③ Akari Takeuchi, Melvin L. Munar, Hanae Wakae, Michito Maruta, Shigeki Matsuya, Kanji Tsuru, Kunio Ishikawa: Effect of temperature on crystallinity of carbonate apatite foam prepared from α -tricalcium phosphate by hydrothermal treatment. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 19 (2-3), 205-211, 2009.
- ④ Satoshi Karashima, Akari Takeuchi, Shigeki Matsuya, Koh-ichi Udoh, Kiyoshi Koyano, Kunio Ishikawa: Fabrication of low-crystallinity hydroxyapatite foam based on the setting reaction of α -tricalcium phosphate foam. *Journal of Biomedical Materials Research A*. 88 (3):628-633, 2009.
- ⑤ Q. H. M. Shawket Zaman, Akari Takeuchi, Chowdhury Tanira Zaman, Shigeki Matsuya, Kunio Ishikawa: Fabrication of Si-substituted hydroxyapatite foam using calcium silicates. *Journal of the Ceramic Society of Japan*, 116, 88-91, 2008.
- ⑥ Hanae Wakae, Akari Takeuchi, Koich Udoh, Shigeki Matsuya, Melvin Munar, Racuel Z

LeGeros, Akihiko Nakasima, Kunio Ishikawa: Fabrication of macroporous carbonate apatite foam by hydrothermal conversion of α -tricalcium phosphate in carbonate solutions. Journal of Biomedical Materials Research A, 87 (4): 957-963, 2008.

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：20902952

(2) 研究分担者

該当者なし

(3) 連携研究者

松家 茂樹 (MATUYA SHIGEKI)
福岡歯科大学・歯学部・教授
研究者番号：00108755

宮本 洋二 (MIYAMOTO YOUJI)
徳島大学・
大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・
教授
研究者番号：20200214

竹内 あかり (TAKEUCHI AKARI)
九州大学・大学院歯学研究院・学術研究員
研究者番号：40432918