

令和 6 年 5 月 28 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H04469

研究課題名(和文)炭酸アパタイト骨補填材の気孔形状・サイズが骨伝導性および骨置換性に及ぼす影響

研究課題名(英文) Effects of pore size on carbonate apatite bone substitute's osteoconductivity and replacement to bone

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：前駆体を連通多孔体とすることによって連通多孔性炭酸アパタイトブロックが調製できることがわかった。これは多孔体化によって溶解析出反応が三次元的に進行するためであることが原因であると考えられた。また、気孔が一次元、二次元、三次元であることに関わらず、連通多孔性炭酸アパタイトブロックには埋植4週の段階で中央部まで骨形成が確認された。一方、同じ三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材であっても気孔形態が異なることによって骨形成状況が異なることもわかった。以上のことから、連通多孔体化は極めて有効であるが、気孔形態によって骨形成が異なるため、連通多孔体構造の最適化が重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢社会を迎え、骨再建術が急増している。自家骨移植(患者自身の骨を採取して骨欠損治療を行う手法)には健全部位への侵襲という重篤な問題があり、自家骨に匹敵する機能を備える人工骨が望まれている。本研究で開発した連通多孔性炭酸アパタイト人工骨は連通構造に関わらずいずれも埋植4週目で中央部まで骨形成され、さらに骨リモデリングによって新しい骨に置換される理想的な人工骨となる可能性が高い。また、マクロ的な連通構造だけでなく、ミクロレベルの気孔形態が骨形成に影響を及ぼすことがわかった。本研究結果を基盤に最適化した連通多孔性炭酸アパタイトブロック状骨補填材の最適化が望まれる。

研究成果の概要(英文)： Fully interconnected porous carbonate apatite block was found to be fabricated by fabricating fully interconnected porous precursor or calcium carbonate block.

This is due to the three-dimensional compositional transformation through dissolution-precipitation reaction. Regardless of the interconnected porous structure, one, two or three-dimensional porous structure, new bone was formed at the center of the block after implantation for 4 weeks. On the other hand, bone formation nature was different when pore morphology was different even when key interconnected structure was the same.

It was demonstrated that optimization of the pore structure is important for improving the capability of carbonate apatite block.

研究分野：生体材料学

キーワード：炭酸アパタイト 人工骨 骨補填材 連通多孔体

1. 研究開始当初の背景

骨は炭酸基を含む炭酸アパタイトである(表1)。しかしながら、炭酸アパタイトは焼結できない。1970年代に発明された炭酸を除去した水酸アパタイト焼結体は骨伝導性(材料表面に骨が結合する性質)を示す画期的な材料であり、典型的な人工骨補填材として臨床応用されているが、自家骨移植が第一選択であるという状況を打破するには至っていない。

これは、「①自家骨は新しい骨に置換されるが、置換されない。」「②水酸アパタイト焼結体の骨伝導性は自家骨には遠く及ばない。」ためである。

研究代表者は炭酸カルシウムブロックを前駆体として用い、リン酸塩水溶液中で溶解析出型組成変換反応を行うと前駆体ブロックが形態を保ったまま、組成が炭酸アパタイトになることを見出した(特許成立:日本、米国、欧州、カナダ、豪州、中国など)。

ビーグル犬顎骨欠損モデルによる使用模擬試験において、炭酸アパタイトは水酸アパタイト焼結体、β型リン酸三カルシウム、ウシ焼成骨と比較して圧倒的な骨伝導性を示すことが確認された(図1)。また、水酸アパタイト焼結体は骨に置換されない

表1 ヒトの骨組成例

組成	含有量(wt%)
Ca	34.8
CO ₃	7.4
PO ₄ as P	15.2
Na	0.9
Mg	0.72
K	0.03
Cl	0.13
F	0.03



図1 使用模擬試験結果 ビーグル犬顎骨に形成したインプラント隣接部骨欠損を各種骨補填材で再建、12週後のビラヌエバゴールドナー染色像。ビラヌエバゴールドナー染色では成熟骨は緑色に染色される。

いが、炭酸アパタイトは経時的に骨に置換されることが確認された(図2)。

なお、水酸アパタイト骨補填材は体内で吸収されないためクラスIII医療機器であるが、炭酸アパタイトは体内で骨に置換されるためクラスIV医療機器と分類された。

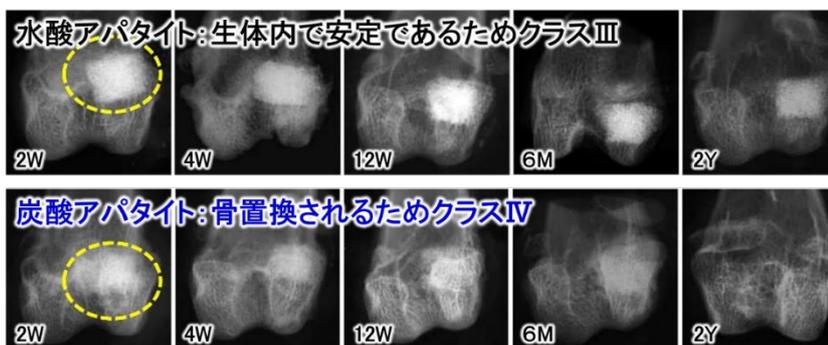


図2 ウサギ大腿骨に埋植した水酸アパタイトおよび炭酸アパタイト骨補填材のマイクロCT像。

我が国では歯科インプラントを前提した骨再建術に用いことができる骨補填材は承認されていなかったため、歯科インプラントを前提とした骨補填材の有効性・安全性の検証を目的としたワーストケース多施設治験を行った。その結果、全症例で有効性が確認されただけでなく、炭酸アパタイトから骨への置換も確認された(図3)。

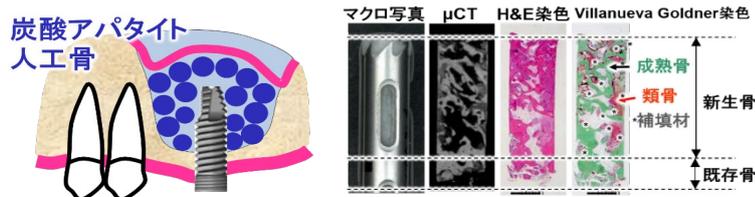


図3 多施設治験の概要 サイナスリフトでの有効性を検証し、ヒトでも炭酸アパタイトが骨に置換されることを確認。他の有効性も100%であった。

骨と同じ組成である炭酸アパタイト骨補填材は世界で初めて承認され、日米で臨床応用されている。なお、これまでの骨補填材は骨伝導性が限定的であるため、インプラントなど過重負荷を受ける部位への適用は禁忌であった。骨の無機組成である炭酸アパタイト骨補填材は骨伝導性に優れるため、適用制限がない骨補填材（インプラント術を含めた全ての歯科領域で用いることができる。）として薬事承認され、日本ではトップシェアとなっている。

炭酸アパタイト骨補填材は溶解析出型組成変換反応で製造されるが、溶解析出型組成変換反応は前駆体の表面からしか進行しない。そのため、ブロック状骨補填材の製造には時間がかかったり、不可能であったりするという課題がある。

この課題は前駆体を連通多孔体化することで解決できる可能性がある。

また、連通多孔性炭酸アパタイト骨補填材では骨補填材の表面だけでなく、内部からの骨置換が進行する可能性が高く、多孔体化は治療効果の観点からも有用である可能性が高い。

一方で、多孔体構造が骨補填材の機能に及ぼす影響は十分に検討されていない。すなわち、臨床的には、気孔形成材を用いて調製した三次元気孔多孔体が一般的であるが、気孔形態の比較検討は行われていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ブロック状炭酸アパタイト骨補填材の調製の可否およびその調製法を検討することである。さらに、気孔構造がブロック状炭酸アパタイト骨補填材の機能に及ぼす影響を解明することである。

極めて多種の多孔体が想定されるため、本研究においては連通多孔体に限定し、さらに、一次元、二次元、三次元多孔体の製造の可否および組織反応を検討する。

3. 研究の方法

一次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材としては、炭酸アパタイトハニカム骨補填材を調製した。まず、炭酸カルシウムとバインダーを混練し、ハニカム金型を通して押出成形する。得られた炭酸カルシウム&バインダーハニカムを雰囲気制御電気炉にて脱脂して、炭酸カルシウムハニカムを調製する。この炭酸アパタイトハニカムを前駆体として用い、リン酸ナトリウム水溶液に浸漬して、溶解析出型組成変換反応で炭酸アパタイトハニカム骨補填材を調製する。

二次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材としては、炭酸アパタイトディスクを重ねたものを調製した。板状の炭酸カルシウムディスクを調製し、当該ディスクを溶解析出型組成変換反応で炭酸アパタイトディスクを調製し、重ねて二次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材とした。

三次元多孔性炭酸アパタイト多孔体としては、顆粒結合型の多孔体を調製した。

4. 研究成果

4-1 各種多孔性炭酸アパタイト骨補填材の調製

4-1-1 一次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材の調製

一次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材としては、炭酸アパタイトハニカム骨補填材を調製した。まず、炭酸カルシウムとバインダーを混練し、ハニカム金型を通して押出成形する（図4）。得られた炭酸カルシウム&バインダーハニカムを雰囲気制御電気炉にて脱脂して、炭酸カルシウムハニカムを調製する。この炭酸アパタイトハニカムを前駆体として用い、リン酸ナトリウム水溶液に浸漬すると、溶解析出型組成変換反応で炭酸アパタイトハニカム骨補填材が調製できた（図5）

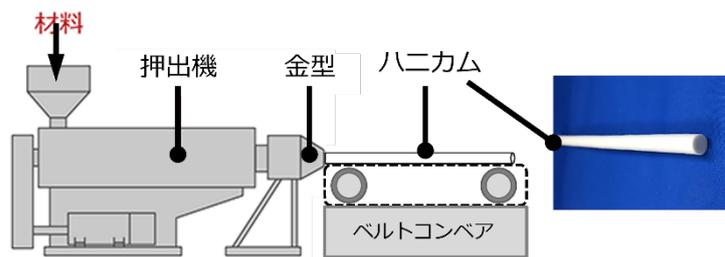


図4 一次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材の調製に用いた押出機の概要。

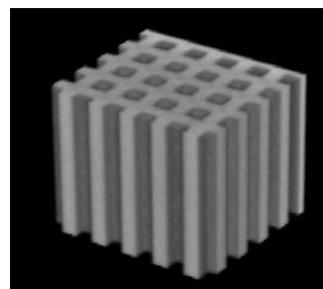


図5 調製した炭酸アパタイトハニカム（一次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材）

4-1-2 二次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材の調製

二次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材としては、炭酸アパタイトディスクを調製し、調製した炭酸アパタイトディスクを重ねることによって調製した。

4-1-3 三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材の調製

三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材としては、炭酸カルシウム含有バインダー顆粒を融着させ、炭酸カルシウム&バインダー三次元多孔体を調製した。次に、雰囲気制御電気炉にて脱脂

して、炭酸カルシウム三次元多孔体を調製した。この炭酸カルシウム三次元多孔体を前駆体として用い、リン酸ナトリウム水溶液に浸漬して、溶解析出型組成変換反応で炭酸アパタイト三次元多孔性骨補填材を調製した(図6)。

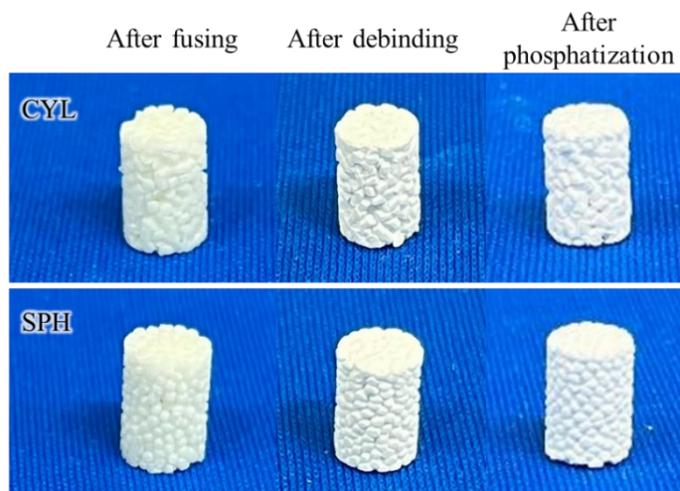


図6 調製した三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材。CYL 円柱状顆粒を用いた場合、SPH 球状顆粒を用いた場合

4-2 各種多孔性炭酸アパタイト骨補填材が骨形成能に及ぼす影響

4-2-1 一次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材の骨内組織反応

一次元多孔性炭酸アパタイトの特徴は一次元気孔であるため、一軸方向の骨形成が促進され、気孔方向に垂直な方向からの組織侵入が抑制されることである。

図7はウサギ頭蓋骨上の炭酸アパタイトハニカムを設置した場合の4週目の μ CTおよびHE染色像を示す。

μ CT像から頭蓋骨に炭酸アパタイトハニカムが結合していることがわかる。また、HE染色横断面からは4週にもかかわらず骨が上面まで形成されていることがわかる。また、上面切断面像から全ての気孔で骨が形成されていること、血管も形成されていること、骨が層板骨となっており、骨リモデリングまで進んでいることがわかる。さらに骨組織以外の軟組織の侵入が認められないことがかった。

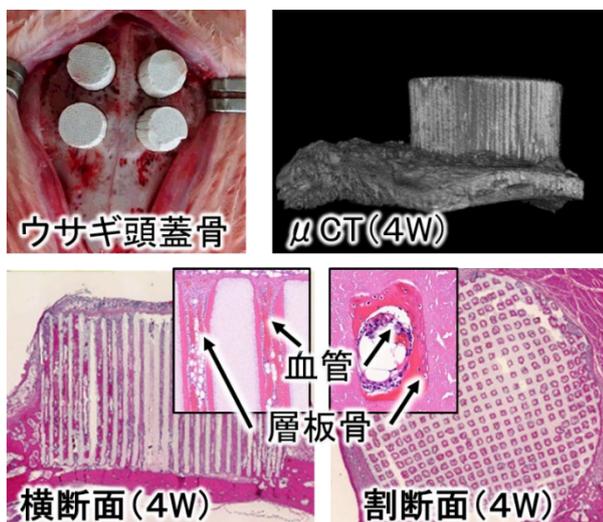


図7 調製した一次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材(炭酸アパタイトハニカム)をウサギ頭蓋骨に設置した場合の4週後の、 μ CT像およびHE染色像。

4-2-2 二次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材の骨内組織反応

図8は調製した二次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材でウサギ脛骨欠損を再建した場合の4週後目のHE染色像である。二次元多孔性炭酸アパタイトの特徴は一次元多孔性炭酸アパタイト

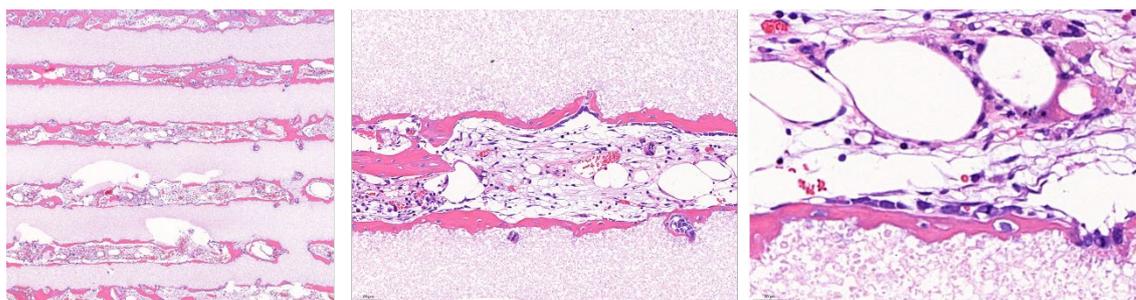


図8 調製した二次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材でウサギ脛骨欠損を再建した場合の4週後目のHE染色像。

トと比較して気孔体積が大きいいため、骨置換が迅速に進むことが期待されたが、埋植4週目の段階では顕著な相違は認められなかった。

4-3-2 三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材の骨内組織反応

図9は調製した三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材でウサギ脛骨欠損を再建した場合の4週目のHE染色像である。なお、図中CYLは円柱状顆粒を用いて調製した三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材であり、SPHは球状顆粒を用いて調製した三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材である。

円柱状顆粒を用いて調製した三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材、球状顆粒を用いて調製した三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填体のいずれも骨補填材中央部まで骨が形成されていることがわかる。また、骨芽細胞、破骨細胞、血管が確認されたことから骨リモデリングが活発に行われていることもわかる。

円柱状顆粒を用いて調製した三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材に比較して球状顆粒を用いて調製した三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填体の方が、骨形成量が多いことから、同じ三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填体でも気孔形態が骨形成に影響を及ぼすことがわかった。

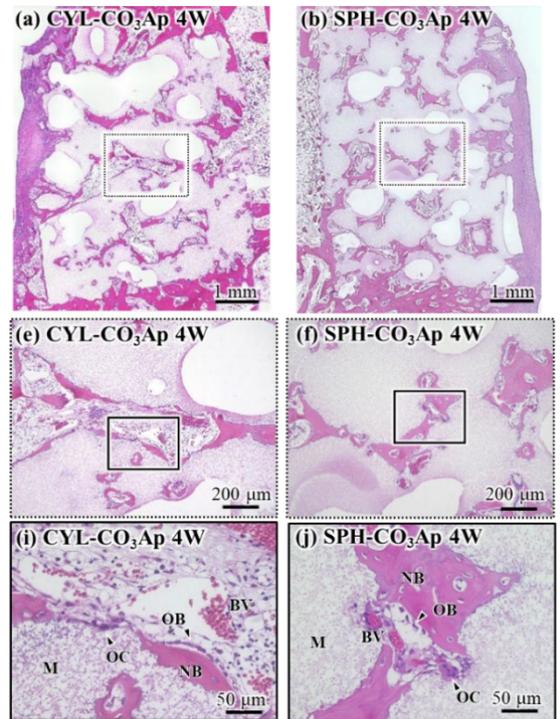


図9 調製した三次元多孔性炭酸アパタイト骨補填材でウサギ脛骨欠損を再建した場合の4週後目のHE染色像。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

特記事項なし

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
---------	---------