

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：基盤研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23390444

研究課題名(和文)炭酸アパタイト骨置換材の多孔性制御による骨置換速度の飛躍的増進

研究課題名(英文)Improvement of the replacement of carbonate apatite to bone by the regulation of porous structure

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) 14,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では他種骨を焼成し、抗原抗体反応の原因となる有機物を完全に焼却するとともに組成を反応性に富むリン酸三カルシウムとし、形態を保ったまま溶解析出反応で焼成骨の組成を骨の組成である炭酸アパタイトとする検討を行った。骨は900℃で焼成することによって有機物が完全に焼却された。その後、1500℃で焼成することによって組成が反応性に富むβ型リン酸三カルシウムとなった。さらに、このβ型リン酸三カルシウムを4モル濃度炭酸アンモニウムに浸漬し、250℃で水熱処理すると溶解析出型反応が進行し、β型リン酸三カルシウムは骨の形態を保ったまま、骨の無機組成である炭酸アパタイトに組成変換できた。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to evaluate the feasibility of fabricating artificial bone substitute from xenograft based on the compositional transformation to β-tricalcium phosphate followed by compositional transformation to carbonate apatite maintaining its macroscopic structure. Heat treatment at 900°C result in complete burning out of the organic substrate indicating antigen-antibody reaction will be completely eliminated. Then, the bone is further heated at 1500°C for compositional transformation to β-tricalcium phosphate which has higher reactivity and slightly dissolves in water. Then the bone with β-tricalcium phosphate composition was hydrothermally treated in 4 mol/L ammonium carbonate at 250°C. Based on the dissolution-precipitation reaction, composition of the bone with β-tricalcium phosphate composition transferred to carbonate apatite maintaining its macroscopic structure.

研究分野：生体材料学

キーワード：炭酸アパタイト 海綿骨 高温分解 溶解析出 前駆体

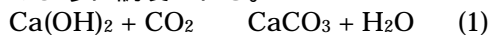
1. 研究開始当初の背景

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。

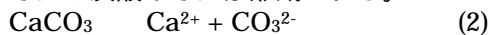
悪性腫瘍や外傷等で骨欠損が発生した場合、骨再建術の第一選択は自家骨移植である。しかしながら、自家骨移植には自家骨採取が不可欠であり、自家骨採取に伴う健全部位への侵襲や採取可能な骨の量や形態の制限等の不可避な問題がある。そのため、人工骨補填材として骨の組成に類似した水酸アパタイト[HAp: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$]が1970年代に開発されているが水酸アパタイトは自家骨と異なり骨に置換されない。

申請者は骨の組成が炭酸アパタイトであることに着目し、前駆体を用いた溶解析出型組成変換で炭酸アパタイトブロックを調製する方法を報告し、米国、欧州、カナダ、ブラジル、中国、豪州、日本で特許を取得した。

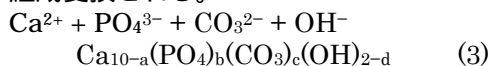
この手法においては、まず、炭酸カルシウムなどの前駆体を調製する。例えば炭酸カルシウムブロックは水酸化カルシウム圧粉体を二酸化炭素に暴露することによって式1のように調製される。



炭酸カルシウムブロックは水中に浸漬すると、一部溶解して式2のようにカルシウムイオンと炭酸イオンが形成される。



水中に他のイオン種が存在しない場合には溶解平衡となってこれ以上反応が進行しないが、水中にリン酸塩が存在する場合には溶液は炭酸アパタイトに対して過飽和となり、これらのイオンは炭酸アパタイトとして式3のように析出する。この溶解析出反応によって炭酸カルシウムブロックが炭酸アパタイトブロックにマクロ形態を保ったまま組成変換される。



また、このようにして調製された炭酸アパタイトは破骨細胞によって吸収され、骨に置換することも見出した。炭酸アパタイトの骨置換は破骨細胞による吸収と骨芽細胞による骨形成によってもたらされるため炭酸アパタイトの骨置換速度の増進には多孔体化が必須である。実際、連通多孔体構造を示す海面骨は皮質骨に比較して約10倍骨置換速度に優れることが知られている。

多孔体の形成方法や多孔性の制御方法にはさまざまな手法が知られているが、本研究においては骨の構造自体を利用して炭酸アパタイトを調製する手法を検討した。

2. 研究の目的

本研究の目的は多種骨を高温で熱処理することによって抗原抗体反応の原因となる有機成分を完全に焼却するだけでなく、骨の無機組成も熱分解し、熱分解生成物を前駆体として溶解析出型組成反応を行なう。このことによって、骨の構造を保ったまま炭酸アパタイトに変換できるかどうかを検討することである。

3. 研究の方法

3-1 骨の焼成

骨としては鶏の大腿骨および頸骨を利用した。骨に付着している筋肉等の組織をできる限り除去し、その後、電気炉(KDF F-70)を用いて900℃で3時間焼成した。

その後、超高温電気炉(SC-1700)にて各種温度で5時間焼成し、また一部の試料についてはクエンチ操作を行った(図1)。

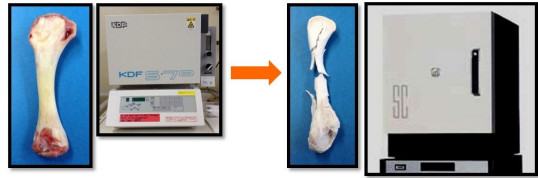


図1 実験に用いた骨および焼成に用いた電気炉

3-2 組成分析

試料の組成は粉末X線回折法によって分析した。標準試料としては太平化学製、水酸アパタイト(HAP-100)型リン酸三カルシウムを用いた。また炭酸アパタイトに関しては炭酸カルシウムのリン酸化によって調製した炭酸アパタイト粉末を標準試料とした。

また、フーリエ変換赤外分光光度計によっても官能基分析を行った。

3-3 形態観察

骨の形態は実体顕微鏡および走査型電子顕微鏡で行った。

4. 研究成果

4-1 初期焼成

異種骨に付着する有機物を焼却するために初期焼成温度を検討した。その結果、900℃で焼成すると有機物が完全に焼却され骨が白色化することがわかった。

4-2 骨の無機質の熱分解

骨の無機組成は炭酸アパタイトであり、900℃では完全には熱分解されない。そのため、溶解析出反応による組成変換は不可能であった。そのため、骨の無機組成の熱分解反応を検討した。骨の無機成分は加熱によって熱分解を受けるが、その一部は1400℃でもアパタイト構造を保持していた。1500℃で焼成するとアパタイト構造が完全に分解され、骨の無機成分は型リン酸三カルシウムを中心とした組成となることがわかった(図2)。なお、熱分解性生物は型リン酸三カルシウム以外にもリン酸四カルシウムなどが検出

された。

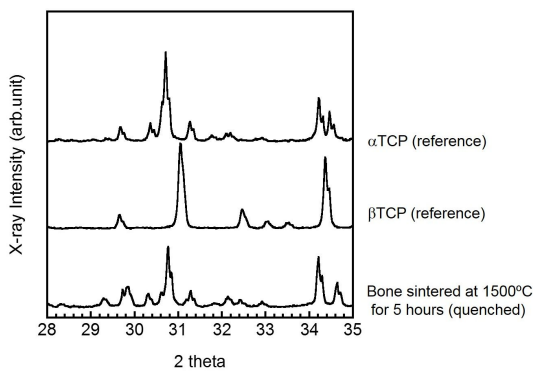
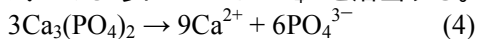


図2 骨を 1500 で 5 時間焼成した場合に得られる試料の粉末 X 線回折パターン。

4 - 2 熱分解生成物の溶解析出反応による炭酸アパタイト化

これまでに前駆体を用いた溶解析出反応によって炭酸アパタイトが調製されることを見出しているが(式2、3) 型リン酸三カルシウムも溶解度が小さく、一部溶解して式4のように Ca^{2+} と PO_4^{3-} を溶出する。



Ca^{2+} と PO_4^{3-} と CO_3^{2-} が存在する溶液は炭酸アパタイトに対して過飽和であるため、組成が 型リン酸三カルシウムとなった焼成骨を浸漬する溶液に炭酸基を導入すれば式3のように炭酸アパタイトが析出する。その結果、溶解析出反応によって形態を保ったまま炭酸アパタイトに組成変換されると思われる。

そこで4モル濃度の炭酸アンモニウムに浸漬し、炭酸アパタイトへの組成変換を検討した。形成された 型リン酸三カルシウムの結晶性が著しく高いためか、80、100 では炭酸アパタイトへの組成変換が1週間以内に認められなかった。

そこで図3に示す水熱反応容器を用いて、さらに温度を上げて反応を行った。

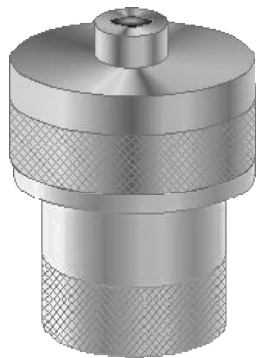


図3 100 以上の水熱反応で用いた水熱反応容器、テフロン製の容器をステンレスジャケットでカバーしており、内部は圧迫しているだけであるため、安全性に優れる。この容器を恒温槽で加熱する。

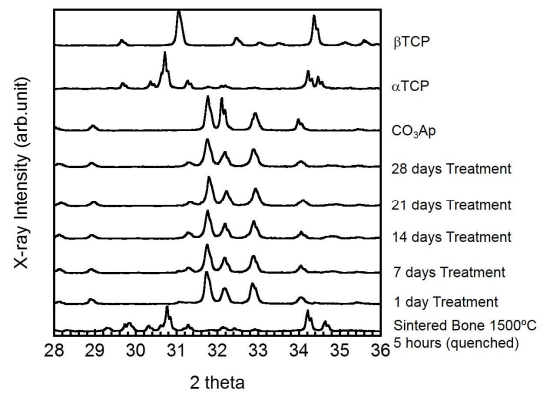


図4 250 で焼成骨を処理した場合に得られる粉末 X 線回折パターン。250 では高結晶性の 型リン酸三カルシウムも炭酸アパタイトに組成変換されることがわかる。

図4に4モル濃度炭酸アンモニウム水溶液を用いた250で水熱処理した焼成骨の粉末X線回折パターンを示す。焼成骨が炭酸アパタイトに組成変換されていることがわかる。

これらの結果から多種骨を高温焼成し、組成を 型リン酸三カルシウムとして、さらに水熱条件で炭酸基存在下で溶解析出反応を行うと形態を保ったまま炭酸アパタイトに組成変換できることがわかった。

高温焼成(1500)しているため、抗原抗体反応の原因となる有機物は完全に焼却されているのは明らかである。本実験では多種骨を用いたが、より形態が好ましい他家骨にも用いることができるため、新しい骨補填材の可能性が見出された。

本研究結果を基盤として組織親和性や骨伝導性などのさらなる検討が望まれる。

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)

- 1 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
都留 寛治 (TSURU, Kanji)
九州大学・大学院歯学研究院・准教授

研究者番号：50314654

松家 茂樹 (MATSUYA, Shigeki)
福岡歯科大学・歯学研究科・教授
研究者番号：00108755

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

丸田 道人 (MARUTA, Michito)
福岡歯科大学・歯学研究科・講師
研究者番号：40507802