

骨補填材としての炭酸含有アパタイトの有用性に関する基礎的研究

山 口 健 一

The Basic Experiment about the Usefulness as Bone Prosthetic Material of Carbonic Acid Inclusion Apatite

YAMAGUCHI KENICHI

炭酸含有アパタイト焼結体の骨補填材，骨代用材としての有用性を検索するため，ヒドロキシアパタイト (HAP) および β -リン酸三カルシウム (β -TCP) と比較した基礎的実験を行った。

1. 乳酸リンゲル溶液において 6 HAP は 3 HAP より高い溶解性を示したものの， β -TCP よりも低い溶解性を示した。
2. 光学顕微鏡所見では，各種埋入材料は 2 週目に骨組織に取り囲まれていた。なお，炭酸含有アパタイトは HAP 同様良好な骨親和性を示し， β -TCP と同様の造骨性を示した。
3. SEM 所見では，炭酸含有アパタイトは，1 週目で HAP と同様に類骨様構造物が材料表面に緊密に接しており，2 週目以降では β -TCP と同様に材料と骨様構造物との界面が不鮮明となり，より強固に接合している所見が認められた。

以上より，炭酸含有アパタイト焼結体は，HAP と同様に骨親和性を持ち， β -TCP と同様の良好な造骨性を備えた材料であることが判明した。

キーワード：炭酸含有アパタイト焼結体，HAP， β -TCP，骨補填材，骨親和性

A comparative study was designed to evaluate the usefulness, as a substitute for bone, of carbonic acid inclusion sintered apatite, the β -Tricalcium Phosphate (β -TCP) and hydroxyapatite (HAP). Tissue specimens of bone implanted with these implant materials for a period of two weeks were evaluated by light microscopy and scanning electron microscopy.

1. The solubility of carbonic acid inclusion sintered apatite was lower than that of β -TCP although its solubility in lactic acid ringer solution of 6HAP was higher than for 3HAP.

2. Light microscopic evaluation of tissue specimens after implantation for two weeks in bone showed a very similar picture of bone formation around the implants of carbonic acid sintered apatite, β -TCP and HAP.

3. Scanning electron microscopy showed the formation of osteoid around the implanted HAP in the first week, and there was a close contact of osteoids with the surface. and a similar feature was seen in the β -TCP in the two week specimen. There were more areas of bony contacts with the carbonic acid inclusion apatite sintered compact.

Our observation suggested that carbonic acid inclusion apatite sintered compact had a bone forming potential comparable to β -TCP, and better than HAP, and the material may be better choice as a substitute of bone in clinical situations.

Key words : Carbonic acid inclusion apatite sintered compact. HAP, β -TCP, Bone prosthetic material, Bone seeking

緒 言

顎骨面領域での嚢胞、腫瘍、奇形等の治療では、形態および機能の回復を目的として、骨欠損部に自家骨移植や種々の生体材料が応用されている¹⁻⁴⁾。しかしながら自家骨移植では、採取量および手術侵襲などの問題点があり、その適用に制限を受けざるを得ない⁵⁻¹⁰⁾。一方、生体材料、中でもリン酸カルシウム系セラミックスを主とする骨補填材や骨代用材は、その材料の採取に何らかの制限を受けることなく臨床応用が可能である¹¹⁻¹⁵⁾。リン酸カルシウム系セラミックスの中で臨床応用されているものには、 β -リン酸三カルシウム(以下 β -TCP)とヒドロキシアパタイト(以下HAP)がある^{13, 16-18)}。 β -TCPは組織内溶解性であることから、最終的には骨組織に置換することが利点とされているが、埋入初期において材料周囲での骨組織の形成が劣るとされている¹⁹⁻²⁵⁾。一方、HAPは骨組織の無機成分と同一の結晶構造を有していること、および早期に骨組織の形成が材料周囲に起こること等の利点をそなえているが、組織内吸収が起こりにくいため長期間組織内に存在し、これが材料埋入部骨組織の機械的性質の低下および術後の感染等に影響をあたえているとされている²⁶⁻³⁰⁾。このように骨補填材、骨代用材としてリン酸カルシウム系セラミックスは不可欠であるにもかかわらず、臨床応用する場合にはそれぞれ利点欠点があり、いかなる材料を選択すべきか議論されている³¹⁻³³⁾。

骨アパタイトは数wt%の炭酸イオンを含有した非化学量論組成のアパタイト³⁴⁾で、これまでの化学量論組成のHAPとは質的に大きく異なるものである。またアパタイト結晶格子内に炭酸イオンが置換されると結晶性が低下し^{35, 36)}、物理化学的溶解性も増大することにより、生体内でも吸収を受ける可能性が示唆されている³³⁾。炭酸含有アパタイトはこれらのことに着目し、骨補填材として生体親和性の点で従来のHAPに匹敵し、さらに組織内吸収性の点では β -TCPに匹敵する材料の開発を目的に土井ら^{33, 38, 41)}により研究が進められてきた。

本実験では炭酸含有アパタイトを骨補填材、骨代用材として応用した場合、いかなる様式で材料周囲に骨組織の形成が起こるかを検索し、本材料の骨補填材、骨代用材としての有用性を検討した。

実験材料および方法

1. 実験材料

1) 炭酸含有アパタイト

土井らの報告^{33, 38, 41)}に基づき作成した(Fig. 1)。炭酸含有アパタイトは0, 1もしくは6 molの炭酸二ナト

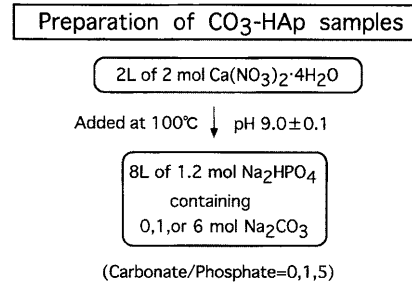


Fig. 1 炭酸含有アパタイトの作成方法

リウムを含む1.2molのリン酸二ナトリウム溶液8リットルに、2リットルの2mol硝酸カルシウム溶液を滴下し、合成温度100°C(沸騰状態)でpH9.0±0.1に自動調整しながら3日間かけて合成し、C/P=0, C/P=1およびC/P=5の焼結原材料を得た。合成後の各試料は遠沈、水洗を10回以上行い、凍結乾燥後、X線回折、および赤外線吸収スペクトルで不純物がないことを確認した。合成後の各試料は74 μ m以下に篩い分けし、金型(直径7mm, 長さ10mm)に充填し25MPaで予備成形して、ラバープレスを用い約600MPaの静水圧処理を行い圧粉体試料を得た。各圧粉体試料を、高温小型ボックス炉(NIKKATO KORP UFS-3608)を用い、昇温速度を毎分5°Cとし、C/P=1およびC/P=5の試料では750°C, C/P=0の試料では1,200°Cまで加熱し、これらの温度で2時間保持し、毎分5°Cで冷却し焼結体試料を得た。C/P=0, 1および5の試料の焼結後の炭酸含有量は0, 約3および6wt%であり、これら焼結体試料をそれぞれHAP, 3HAPおよび6HAPとした。

2) β -TCP

炭酸カルシウムと第二リン酸カルシウムを1:2モル比で秤量し、アセトンを分散媒とし、自動乳鉢で2時間混合した。その後、100°Cで一昼夜乾燥してアセトンを揮散した。得られた試料を、金型(直径7mm, 長さ10mm)に充填し25MPaで予備成形して、ラバープレ

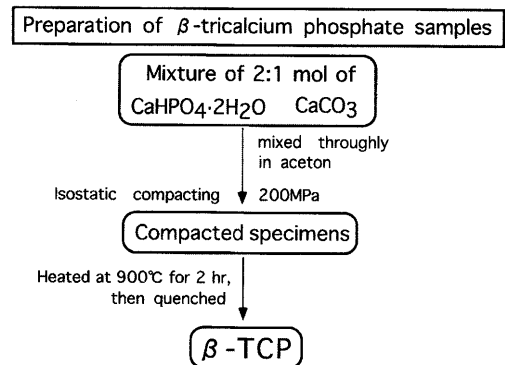


Fig. 2 β -TCP作成方法

スを用い約600MPaの静水圧処理を行い圧粉体試料を作成した。圧粉体試料を電気炉(SUPER-C)を用い、昇温速度2℃/minとして900℃まで加熱し、その温度で2時間保持後に急冷して β -TCPを得た(Fig. 2)。

3) X線回折分析

X線回折の測定は焼結前後(β -TCPは焼結後のみ)の各種材料を乳鉢、乳棒にて粉碎、粉末とし、X線回折パターンを測定し同定を行った。

4) 赤外線吸収スペクトル分析

焼結前後(β -TCPは焼結後のみ)の各試料約1mgに400mgの臭化カリウムを加え均一混合後、ペレットを作製し、赤外吸収(IR)スペクトル分析装置(島津, FTIR4200)を用いて分析した。透過モードを用い4,000 cm^{-1} ~400 cm^{-1} の波形範囲のスペクトルを観測した。また、焼結前後の各試料の炭酸含有量は線形吸収モード2,000 cm^{-1} ~1,300 cm^{-1} の炭酸イオンに由来するピークを測定し、その積分値を標準試料の積分値と比較して求めた³³⁾。

2. 乳酸リンゲル溶液中での各種実験材料の溶解性

乳酸リンゲル液(ラクテック注[®])100mlに100mgの各試料を入れ、5分間攪拌した。その後、1~24時間後にサンプリングし、ミリポアフィルターにてろ過後、溶液中のカルシウム、リン酸濃度を測定した。カルシウム濃度は原子吸光法により、リン酸濃度はリンモリブデン法による比色定量法により測定した。なお、カルシウム濃度測定の際、リン酸による干渉を防ぐため、1,000ppmのランタン溶液を用いた。

3. ラット大腿骨骨髓腔内埋入実験

1) 実験動物

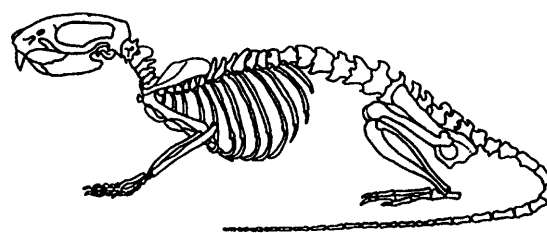
実験には7週齢Wister系雄性ラット1群6匹として使用した。なお、ラットを室温22±2℃、湿度60±5%、明暗12時間周期のもとで、固形試料MF(オリエンタル酵母)と水を自由に与え飼育した。

2) 埋入材料

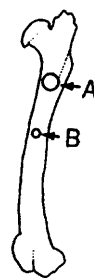
実験に供した材料はHAP, 3 HAP, 6 HAPおよび β -TCPである。これらの材料は300~500 μm に粒度調整し、術前に乾熱滅菌(160℃, 90分)を行い実験に用いた。

3) 埋入実験

ペントバルビタールナトリウム(ネンプター[®], Abbott社)0.4ml/kgを腹腔内投与した全身麻酔下において、両側大腿部を剃毛後、手術野の消毒を行った。皮膚切開を行い、骨膜を切開して大腿骨を露出させた。歯科用エアータービンにて大腿骨骨頭部付近に骨髓腔に達する直径2.5mmの孔(A)を形成し、遠位の1cm離れた所に直径1mmの孔(B)を形成した。B孔より注



Frame of Rat



Femur

Fig. 3 骨髓腔内埋入実験での埋入部位

射器にて生理食塩液を加圧注入し、両孔間の骨髓組織をA孔より流出させた。アマルガム充填器にてA孔より材料を加圧しながらB孔まで充填し、骨髓および皮膚を縫合した。同一動物において、異種の材料を両側に充填した(Fig. 3)。

4) 観察期間

埋入後、3日、5日、1週、2週、3週、4週、8週、12週経過後に前述のような全身麻酔下で脱血屠殺し、大腿骨を一塊として摘出した。

4. 観察方法

1) 脱灰光学顕微鏡標本作成法

採取したラット大腿骨試料を10%中性ホルマリンで1週間固定したあと、モース脱灰液(50%ギ酸+20%クエン酸ナトリウム)にて4週間脱灰し、水洗した。通法に従いアルコール上昇系列にて脱水、キシロール置換、パラフィン包埋した。さらに4~6 μm の連続切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン(以下HE)染色を施し光学顕微鏡にて観察した。

2) 走査型電子顕微鏡(以下SEM)標本作成法

採取したラット大腿骨試料をドライアイスアセトン(-60℃)にて凍結し、切断小片とした。2.5%グルタルアルデヒド溶液(0.05Mリン酸緩衝液pH7.4)にて4時間固定し、0.05Mリン酸緩衝液にて洗浄し、アルコール上昇系列にて脱水した。アセトンに浸漬した後、酢酸イソアミルで置換し、液体炭酸ガス使用下にてHCP-2臨界点乾燥機で乾燥し、HITACHI-Ion Sputter E-1030にて50~100ÅのPt-Pd蒸着を行い、日本電子株式

会社製JSM-35C走査型電子顕微鏡にて観察を行った。

3) 骨組織定量

島田らの方法³²⁾に従い、各群4枚の組織切片を無作為に抽出し、組織切片上の移植中心部を40倍で検鏡、写真撮影を行い、写真上に縦8本、横5本の等間隔の線を引き、その線と埋入材料との交点の材料表面に存在する組織を骨組織(類骨又は骨)およびその他(線維芽細胞など)にわけて測定、それぞれの割合を算定した。

実験結果

1. 各種実験材料の表面性状

各種実験材料の表面性状を通常に従い、SEMで観察した結果はFig. 4に示す通りである。弱拡大をみると各材料の粒子径がほぼ同じであることが理解できる。強拡大をみると β -TCPでは表面の凹凸が著明であり、

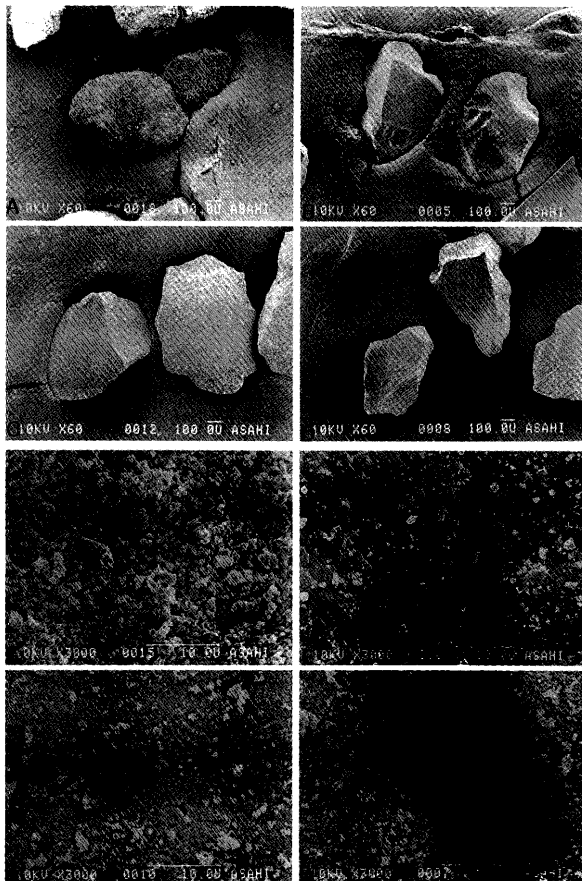


Fig. 4 各種実験材料表面の走査電顕像

A: β -TCPの弱拡大 B: HAPの弱拡大 C: 6 HAPの弱拡大 D: 3 HAPの弱拡大 E: β -TCPの強拡大 F: HAPの強拡大 G: 6 HAPの強拡大 H: 3 HAPの強拡大。 β -TCPでは表面の凹凸が著明であり、HAPは均一、平坦な表面性状を呈している。3および6 HAPは細やかな凹凸のある顆粒表面に1~50 μ mの粒が散在している。

HAPは均一、平坦な表面性状を呈していた。3および6 HAPは細かな凹凸のある顆粒表面に1~50 μ mの粒子が散在していた。

2. X線回折分析

各種実験材料のX線回折の結果はFig. 5に示す通りである。3 HAP, 6 HAPは、HAPとほぼ同一の回折パターンを示し、炭酸含有アパタイト焼結体がX線学的な意味ではHAP焼結体と同様なものであることがわかる。しかしながら、焼結後の試料中の炭酸含有量が增大するにつれ、 $32^\circ/2\theta$ 近くの回折ピークの分離が悪くなり、炭酸含有量に比較して焼結アパタイトの結晶性が低下することがわかった。実験に供した β -TCPは、JCPDSカードNo. 90159の β -TCPの回折パターンと一致することが確認された。

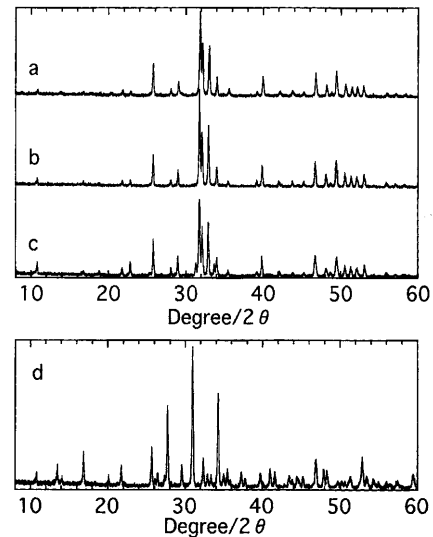


Fig. 5 各種材料のX線回折図

a: 6 HAP b: 3 HAP c: HAP d: β -TCP. HAP, 3 HAPおよび6 HAPは本質的には同じ回折パターンを示し、3および6 HAPがHAPとX線学的には同一の構造を有することがわかる。また、アパタイトの炭酸含有量に比例して結晶性が低下することがわかる。dでは、JCPDSカードNo. 90159から、 β -TCPの回折パターンであることが確認された。

3. 赤外吸収スペクトル分析

各種実験材料の赤外吸収スペクトル分析の結果はFig. 6に示す通りである。HAPは、約 $3,600\text{cm}^{-1}$ と 640cm^{-1} 近くに水酸基由来のピークが検出されるが、炭酸含有量に比例して、これらのピークは消失する傾向が見られた。また、炭酸含有量が增大すると、炭酸のイ

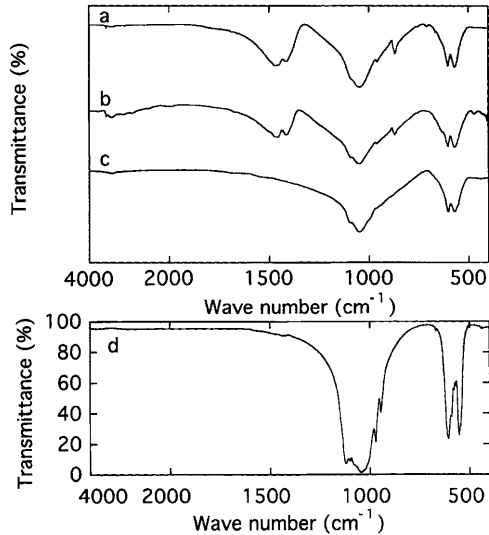


Fig. 6 各種材料の赤外線吸収スペクトル分析
 a: 6 HAP b: 3 HAP c: HAP d: β -TCP. 炭酸含有アパタイトでは、炭酸含有量が增大すると、炭酸イオン由来のピーク ($1,450\text{cm}^{-1}$ と $1,412\text{cm}^{-1}$)が高くなる。

オン由来のピーク ($1,450\text{cm}^{-1}$ と $1,412\text{cm}^{-1}$)が高くなり、より多くの炭酸イオンがアパタイト格子内に置換していることが確認できた。 β -TCPではHAPのものとリン酸基由来の吸収ピークの現われ方が異なり、結晶構造がHAPとは異なることが赤外吸収スペクトル分析でも判明した。

4. 乳酸リンゲル溶液中での各種実験材料からの溶解挙動

乳酸リンゲル溶液中での各試料の溶出カルシウムおよびリン酸濃度の経時変化をFig. 7に示した。 β -TCPではカルシウムおよびリン酸溶出は、他の材料より多く、これらの材料中では β -TCPが一番溶解しやすいことがわかった。3 HAPおよび6 HAPはHAPよりもカルシウムおよびリン酸の溶出量が多く、これらの試料はHAPに比べ溶解しやすいことが明らかだったが β -TCPに比べると溶解しにくいことが判明した。

5. 骨組織定量結果

各種材料表面に形成された骨組織が占める割合の経時変化はFig. 8に示す通りである。埋入5日目では骨組織の形成された割合はHAP, 3 HAP, 6 HAPでそれぞれ60%以上の値を示すものの、 β -TCPでは58%と各種HAPよりもやや低い傾向が認められた。2週目では各材料とも、その表面の90%以上に骨組織が存在していた。なお、一ヶ月以降ではHAPにおいては、材料周囲に占める骨組織の割合は80%以下に低下していく

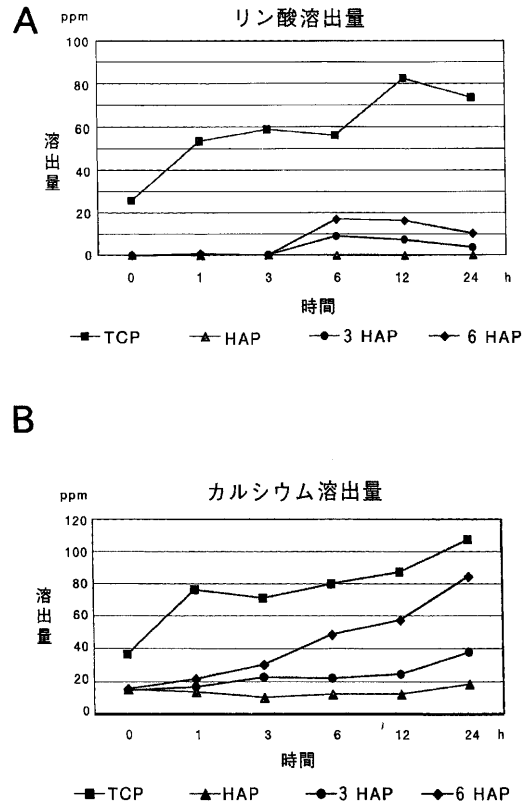


Fig. 7 乳酸リンゲル溶液中での各種実験材料の溶解性
 A: 溶出リン酸濃度の経時変化. B: 溶出カルシウムの濃度の経時変化. 3 HAP, 6 HAPはHAPより高い溶解性を示したものの、 β -TCPよりも低い溶解性を示した。

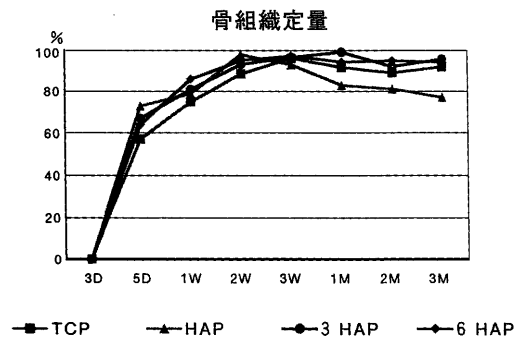


Fig. 8 骨組織定量
 各種埋入材料表面に形成された骨組織が占める割合の経時変化は、埋入5日目では、HAP, 3 HAP, 6 HAPでそれぞれ60%以上の値を示すものの、 β -TCPでは各種HAPよりもやや低い傾向が認められる。2週目では各材料とも、その表面の90%以上に骨組織が存在する。なお、4週日以降ではHAPにおいては、材料周囲に占める骨組織の割合は80%以下に低下していく傾向を示すが、その他の材料は90%前後を維持している。

傾向を示したが、その他の材料では90%前後を維持していた。

6. 光学顕微鏡下での組織学的所見

1) β -TCP

ラット大腿骨骨端部に β -TCPを埋入して得られた組織学所見ではFig. 9に示す通りである。埋入後3日目では、埋入材料周囲の一部に出血巣を認め、内骨膜より増殖したと思われる線維芽細胞が β -TCP周辺に増殖していた。5日目では、埋入材料周囲の一部に出血巣が残るものの、母床骨に近い所では類骨様組織の形成が認められるようになり、材料表面には骨芽細胞

や線維芽細胞が配列していた。なお、材料と細胞の境界面は不規則であり、一部に材料表面の溶解を思わせる所見が認められた。1週目では、材料埋入領域中心部を除き、移植部の多くの部分に、成熟した骨組織の増殖が認められた。なお、材料表面の一部は成熟した骨組織と接していた。ただし、材料に密接する成熟骨の骨量はまだ少なかった。埋入2週目の所見では材料表面に密接した骨の骨量が増加していた。しかしながら、材料表面に形成される骨は材料全体を覆うことはなく、未だに骨芽細胞あるいは線維芽細胞と接している部分も認められた。なお、一部では漸次材料周囲の線維芽細胞が骨芽細胞に置換されている所見が認めら

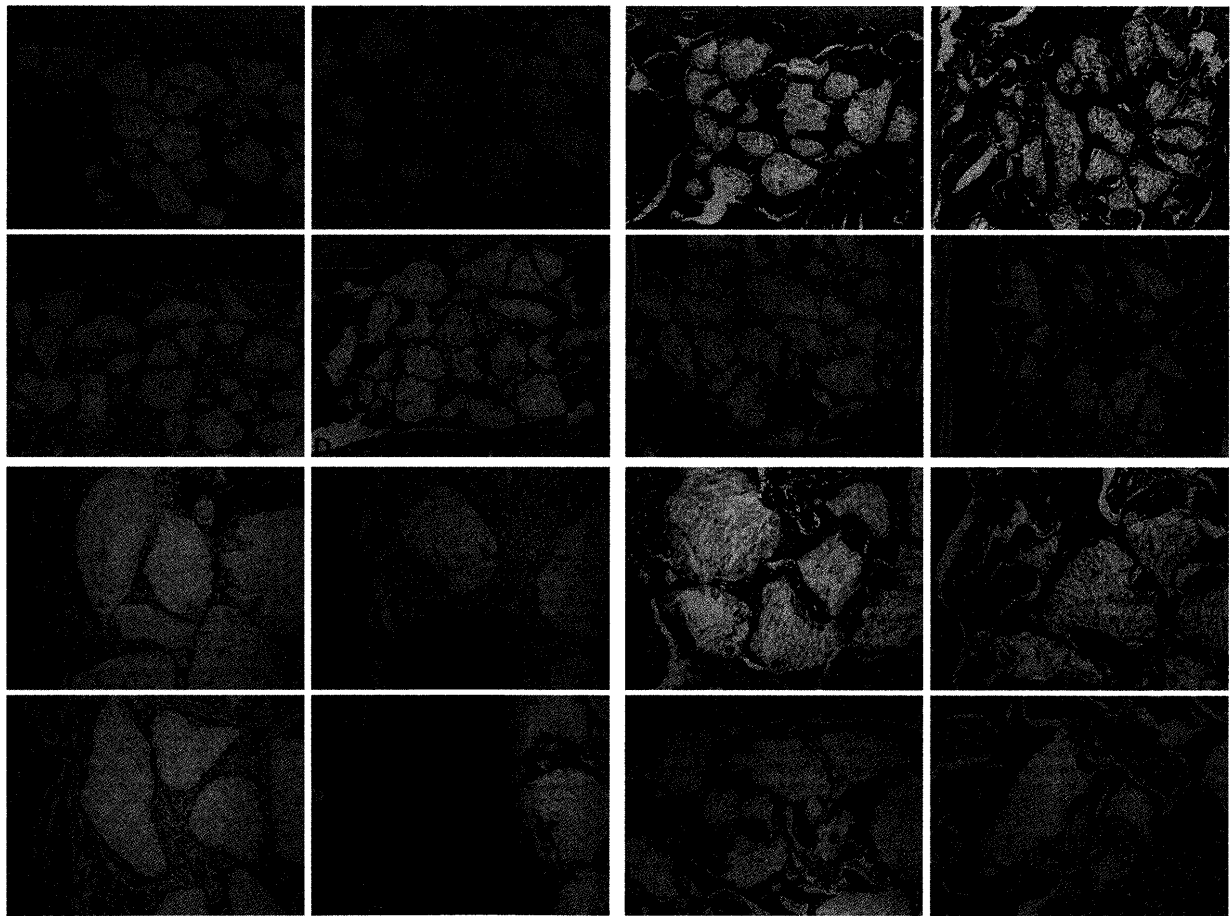


Fig. 9 骨髓腔内埋入実験における β -TCPの脱灰光学顕微鏡所見

A: 3日目のHE染色所見($\times 40$)。一部に出血巣を認め、母床骨付近には線維芽細胞がみられる。B: 5日目のHE染色所見($\times 40$)。母床骨に近い所では類骨組織の形成が認められるようになり、材料表面には骨芽細胞が配列している。C: 1週目のHE染色所見($\times 40$)。材料埋入中心部を除き多くの部分に成熟した骨組織の増殖が認められる。D: 2週目のHE染色所見($\times 40$)。材料周囲に密接した骨の骨量が増加している。しかし材料表面には骨芽細胞あるいは線維芽細胞と接している部分も認められる。E: Aの強拡大($\times 100$)。F: Bの強拡大($\times 100$)。G: Cの強拡大($\times 100$)。H: Dの強拡大($\times 100$)。I: 3週目のHE染色所見($\times 40$)。材料周囲の骨組織は層板状を呈し、埋入材料との境界は不規則で一部骨梁が材料中に陥入している部分がみとめられる。J: 4週目のHE染色所見($\times 40$)。埋入材料と骨組織の境界面の凹凸は著名である。K: 8週目のHE染色所見($\times 40$)。埋入材料の形態が変化している状態が認められる。L: 12週目のHE染色所見($\times 40$)。埋入材料の縮小傾向が認められる。M: Iの強拡大($\times 100$)。N: Jの強拡大($\times 100$)。O: Kの強拡大($\times 100$)。P: Lの強拡大($\times 100$)。

れた。埋入3週目の所見では、材料表面に部分的に形成される骨はさらにその骨量を増し、層板骨を呈していた。なお、骨と材料の界面は不規則であり、一部の骨梁が材料中に陥入している所見も認められた。また、材料の表面が溶解し、この部分は新生骨に置換されている所見が認められた。材料の周囲を埋める結合組織の大部分は骨髄組織に置換されていた。4週目では骨組織の増減は認められなかったが、埋入材料と周囲の骨組織との界面の凹凸は著明になっていた。8週目では、4週目のものとほぼ同様であるが、埋入材料の形態が変化している状態が観察された。なお、材料の溶解に伴い、部分的ながら材料表面に骨が添加している所見も認められた。12週目では、埋入材料周囲の骨組織が菲薄になる傾向はみられず、さらに埋入材料の縮小傾向が認められた。また材料周囲の骨組織に著大な変化はみられなかった。

2) HAP

埋入3日目の所見では、主として内骨膜より増殖したと思われる幼若な線維芽細胞が材料を取り囲んでいた。5日目では、材料周囲の細胞の大部分はエオジンで好染された類骨様の組織を形成していた。なお、材料表面と細胞の境界面は直線状で明瞭であり、その部分には骨芽細胞あるいは線維芽細胞が直線状をなして付着していた。また、材料表面の一部には細胞と材料の境界面に薄状の類骨様の組織が認められた。この類骨組織は材料表面を進展しつつ材料全体を覆いつつあるように思われた。1週目では、材料表面の大部分が新生骨により取り囲まれ始め、直接骨組織と接している部分が多く観察された。2週目の所見では、埋入材料表面のほとんどが新生骨で取り囲まれていた。しかしながら材料表面を取り囲む骨は、その材料表面の大部分を覆うものの、その骨量は β -TCPと比較すると薄かった。3週目の所見では、材料表面を覆う新生骨は層板状を呈していた。ただしその骨量は2週目と比較してもそれほど増加した所見は認められなかった。また、形成された骨の一部には破骨細胞により吸収されている所見が認められた。なお、材料周囲の結合組織の多くは骨髄組織に置換されつつある所見が認められた。4週目の所見では、HAP顆粒表面の大部分は層板骨で覆われているが、その骨量が増加している所見は認められなかった。なお、骨の間隙を埋める結合組織は

全体にわたり骨髄組織に置換されていた。8週目では、4週目のものとほぼ同様であるが、骨髄には脂肪組織が認められた。12週目では、埋入材料表面の骨組織のさらなる減少傾向が認められた(Fig. 10)。

3) 3 HAP

3日目では、一部に出血巣が認められ、埋入材料と母床骨の間には紡錘型、類円形の細胞が多く認められた。5日目では、母床骨と埋入材料との間に盛んな骨形成がみられた。また、一部にはまだ出血巣が残存していた。1週目では、中心部の一部を除き埋入材料周囲が骨組織により取り囲まれ、一部において直接接している状態も観察された。2週目では、埋入材料のほとんどが幼弱な骨組織により覆われていた。また周囲骨組織はほとんどが骨髄組織で満たされていた。3週目のものでは、埋入材料周囲の骨組織の増加が認められ、それは層板状の構造を呈していた。4週目では、さらに骨組織の増大が観察された。8週目、12週目では、骨組織周囲に骨髄組織が認められた(Fig. 11)。

4) 6 HAP

埋入3日目の所見では、埋入材料周囲を幼若な結合組織が取り囲んでいた。5日目の所見では、移植した顆粒周囲の結合組織はエオジン好染の類骨組織となり材料表面を覆っていた。材料と周囲組織の境界面はHAPと同様に明瞭な直線状をなしており、材料表面に骨芽細胞あるいは線維芽細胞が直線状に配列していた。この細胞と材料の境界に材料を覆う形でHAPと同様の薄い類骨様の組織が存在していた。1週目の所見では、材料表面はほぼ全周にわたり成熟した骨によって被われていた。なお、材料表面を被う骨は薄板状をなして、材料全体を覆っているものの、まだその骨量は少なかった。埋入後2週目の所見では、埋入材料表面に接する骨の骨量の増加が認められた。なお、材料周囲の結合組織の一部は骨髄組織に置換されていた。3週目では、埋入材料周囲で骨組織の増大傾向が認められ、埋入材料はほとんどが成熟した層板骨により取り囲まれていた。4週目では3週目とほぼ同様の所見が認められた。8週目、12週目では、埋入材料は成熟した層板状の骨組織により取り囲まれており、骨梁の間隙には骨髄組織が観察された。なお、材料表面に接する骨の骨量はHAPにみられた様な減少傾向は認められなかった(Fig. 12)。

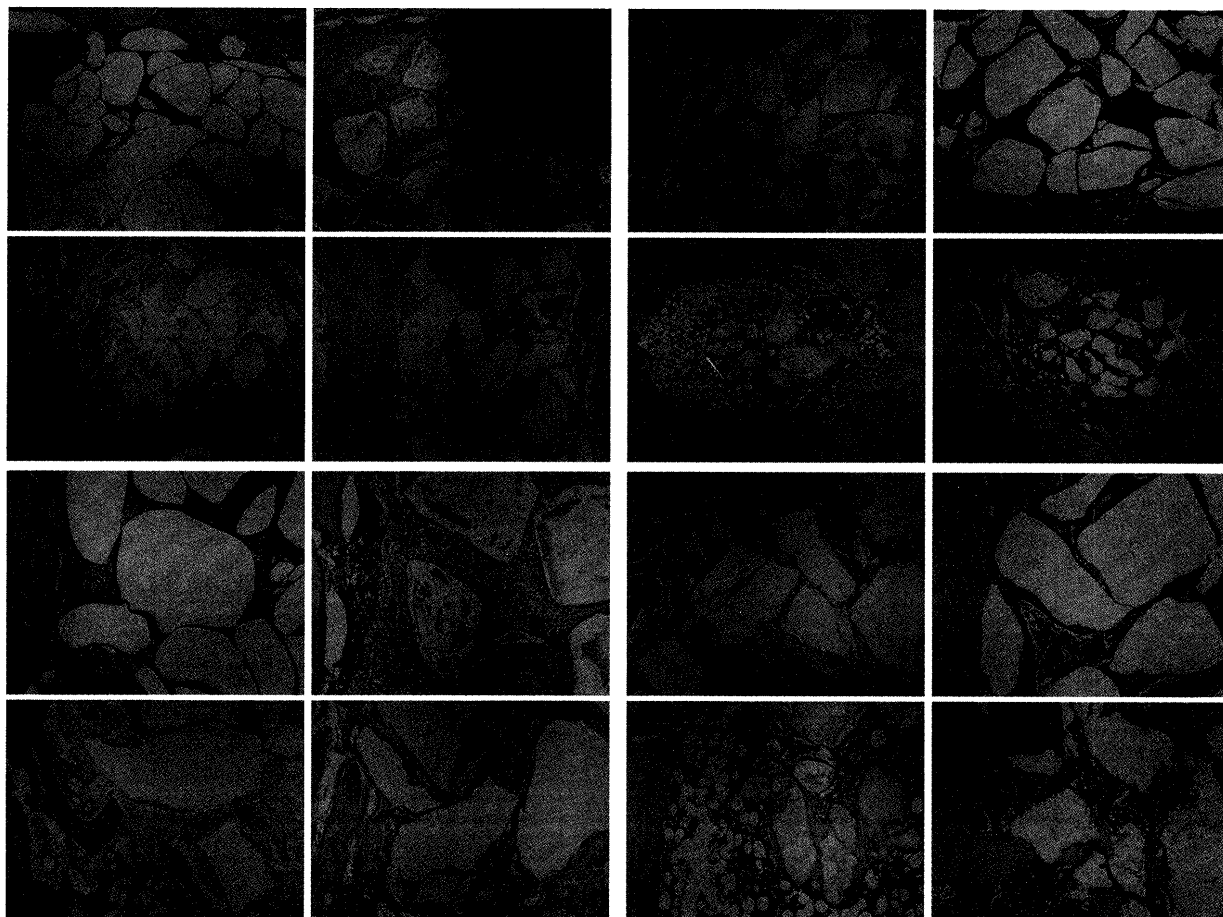


Fig. 10 骨髄腔内埋入実験におけるHAPの脱灰光学顕微鏡所見

A : 3日目のHE染色所見($\times 40$)。幼弱な線維芽細胞が材料を取り囲んでいる。B : 5日目のHE染色所見($\times 40$)。材料周囲の細胞の大部分はエオジンで好染された類骨様の組織を形成している。なお、材料表面と細胞の境界面は直線状で明瞭であり、その部分には骨芽細胞あるいは線維芽細胞が直線状をなして付着している。C : 1週目のHE染色所見($\times 40$)。材料表面の大部分が新生骨によって取り込まれ、直接骨組織と接している部位が多く見られる。D : 2週目のHE染色所見($\times 40$)。埋入材料表面のほとんどが新生骨により取り囲まれているがその骨量は薄い。E : Aの強拡大($\times 100$)。F : Bの強拡大($\times 100$)。G : Cの強拡大($\times 100$)。H : Dの強拡大($\times 100$)。I : 3週目のHE染色所見($\times 40$)。埋入材料周囲の新生骨は層板状を呈している。なお、材料周囲の結合組織の多くは骨髄組織に置換されつつある。J : 4週目のHE染色所見($\times 40$)。材料表面の大部分は層板骨で覆われているが、その骨量が増加している所見は認められない。なお、骨の間隙を埋める結合織は全体にわたり骨髄組織に置換されている。K : 8週目のHE染色所見($\times 40$)。4週目のものと同様であるが、骨髄には脂肪組織が認められる。L : 12週目のHE染色所見($\times 40$)。埋入材料表面の骨組織量のさらなる減少傾向が認められる。M : Iの強拡大($\times 100$)。N : Jの強拡大($\times 100$)。O : Kの強拡大($\times 100$)。P : Lの強拡大($\times 100$)。

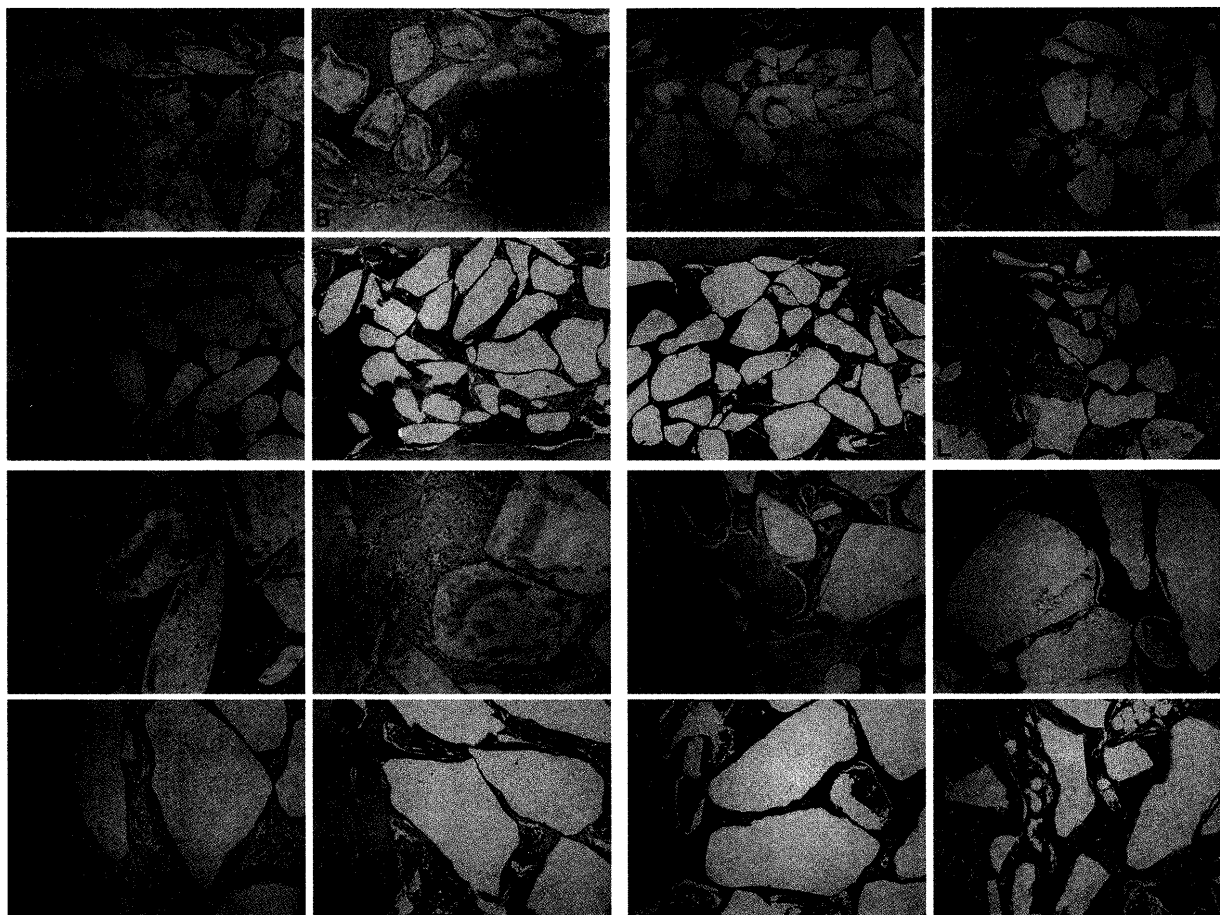


Fig. 11 骨髓腔内埋入実験における3 HAPの脱灰光学顕微鏡所見

A: 3日目のHE染色所見($\times 40$)。一部に出血巣が認められ、埋入材料と母床骨の間には紡錘型、類円型の細胞が多数認められる。B: 5日目のHE染色所見($\times 40$)。母床骨と材料の間に盛んな骨組織の形成がみられ、一部にはまだ出血巣が残存している。C: 1週目のHE染色所見($\times 40$)。中心部の一部を除き埋入材料周囲が骨組織により取り囲まれている。D: 2週目のHE染色所見($\times 40$)。埋入材料のほとんどが幼若な骨組織により覆われ、また周囲組織はほとんどが骨髓組織で満たされている。E: Aの強拡大($\times 100$)。F: Bの強拡大($\times 100$)。G: Cの強拡大($\times 100$)。H: Dの強拡大($\times 100$)。I: 3週目のHE染色所見($\times 40$)。材料周囲の骨組織の増加が認められ、それは層板状の構造を呈している。J: 4週目のHE染色所見($\times 40$)。骨組織の増大がみられる。K: 8週目のHE染色所見($\times 40$)。骨組織周囲に骨髓組織が認められる。L: 12週目のHE染色所見($\times 40$)。M: Iの強拡大($\times 100$)。N: Jの強拡大($\times 100$)。O: Kの強拡大($\times 100$)。P: Lの強拡大($\times 100$)。

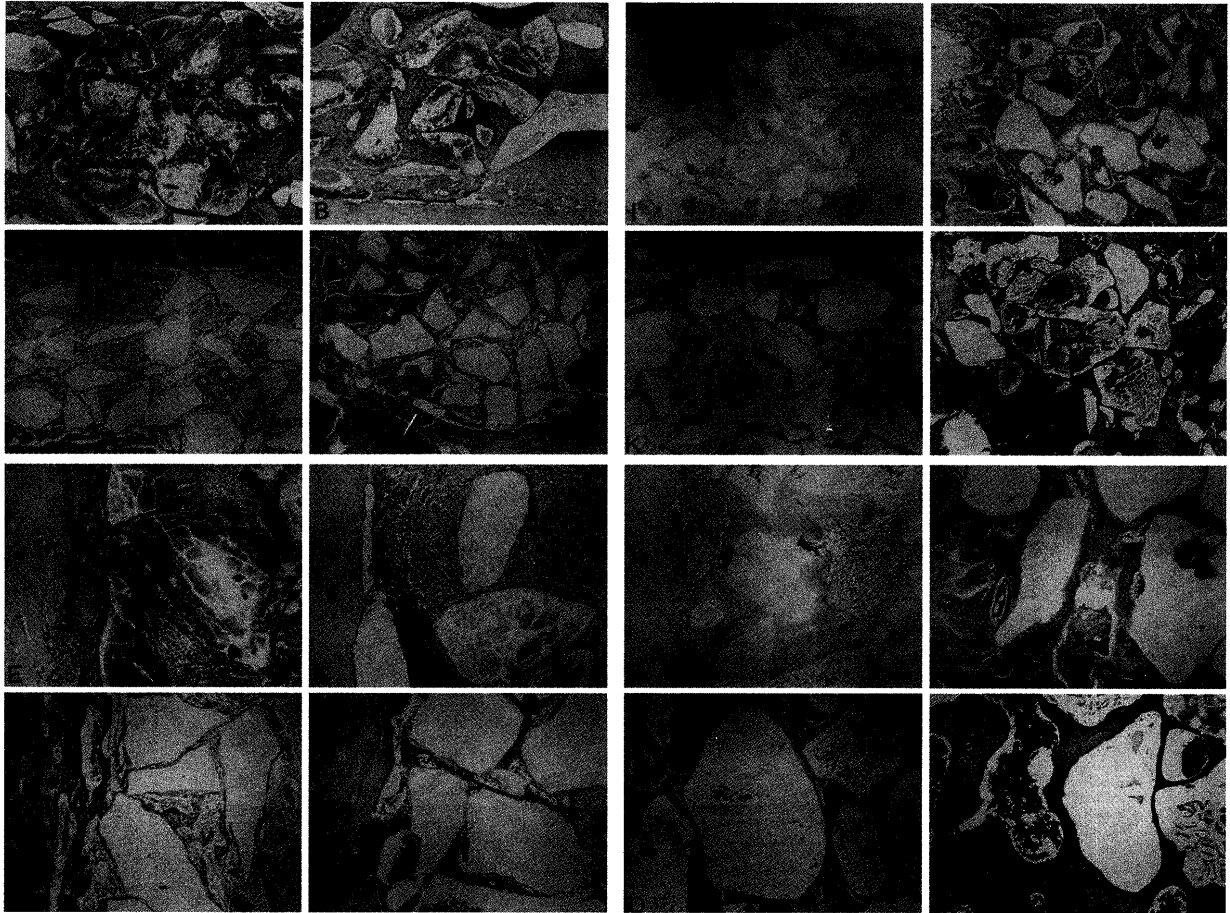


Fig. 12 骨髄腔内埋入実験における 6 HAP の脱灰光学顕微鏡所見

A : 3 日目の HE 染色所見 ($\times 40$)。埋入材料周囲を幼若な結合組織が取り囲んでいる。B : 5 日目の HE 染色所見 ($\times 40$)。埋入した材料周囲の結合組織はエオジン好染の類骨組織となり、埋入材料表面を覆っている。材料と周囲組織の境界面は HAP と同様に明瞭な直線状である。C : 1 週目の HE 染色所見 ($\times 40$)。材料表面はほぼ全周にわたり、成熟した骨によって覆われている。D : 2 週目の HE 染色所見 ($\times 40$)。埋入材料表面に接する骨量の増加が認められる。なお、材料周囲の結合組織の一部は骨髄組織に置換されている。E : A の強拡大 ($\times 100$)。F : B の強拡大 ($\times 100$)。G : C の強拡大 ($\times 100$)。H : D の強拡大 ($\times 100$)。I : 3 週目の HE 染色所見 ($\times 40$)。埋入材料周囲で骨組織の増大傾向が認められ、埋入材料はほとんどが成熟した層板状の骨により取り囲まれている。J : 4 週目の HE 染色所見 ($\times 40$)。3 週目とほぼ同様の所見がみられる。K : 8 週目の HE 染色所見 ($\times 40$)。L : 12 週目の HE 染色所見 ($\times 40$)。8 週目、12 週目では、埋入材料は成熟した層板状の骨組織により取り囲まれ、骨量の減少傾向はみられない。また骨梁の間隙には骨髄組織がみられる。M : I の強拡大 ($\times 100$)。N : J の強拡大 ($\times 100$)。O : K の強拡大 ($\times 100$)。P : L の強拡大 ($\times 100$)。

7. SEMによる形態学的検査

1) β -TCP

3日目では線維芽細胞様構造物が直接埋入材料を取り囲んでいるのが観察された。5日目では、埋入材料表面には多数の細胞様構造物が直接材料表面に認められた。1週目では、類骨様の構造物が埋入材料を取り囲んでいるのが観察された。2週目では10~20 μ mの厚さの骨様構造物が埋入材料を取り囲み、直接埋入材料と接しているのが観察された。その界面は不整で材料と骨組織の移行部は、不鮮明であった。3週目になると、埋入材料周囲の骨様構造物内には骨細胞様のものが認められ、骨様構造物は、埋入材料との界面において埋

入材料内部に侵入しているのが観察された。また、4週目、8週目、12週目においては、埋入材料周囲の骨様構造物の増大と、埋入材料の断面の多数の孔を埋めるように骨様構造物の一部が侵入しているのが認められた(Fig. 13)。

2) HAP

3日目では、埋入材料表面にはすでに細胞外基質よりなるとされる一層の膜様の構造物が認められ、その上に多数の細胞様のものが認められた。5日目においては、埋入材料表面では一部において菲薄な類骨様構造物が埋入材料と接して認められた。1週目では、均一な7~8 μ m程度の厚みを持った骨様構造物が埋

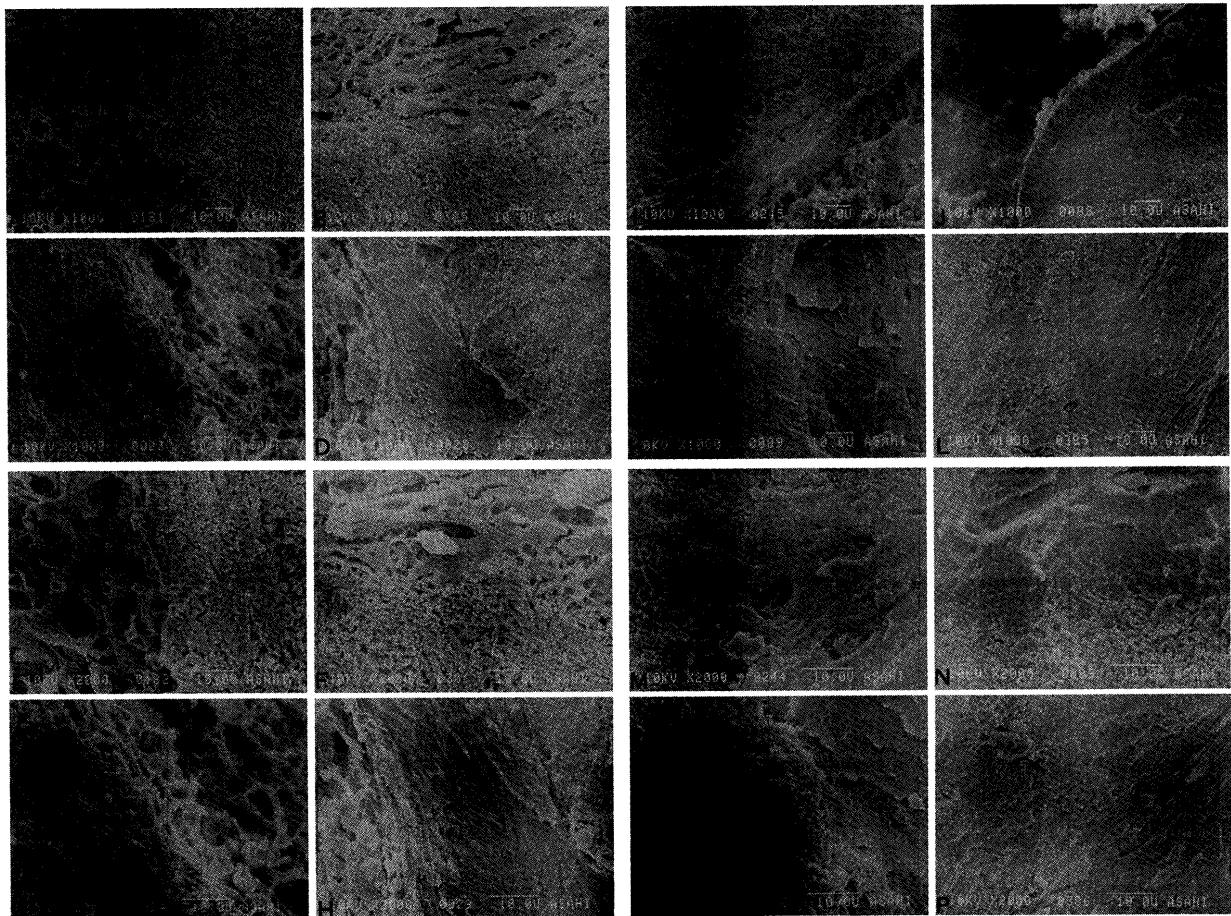


Fig. 13 骨髄腔内埋入実験における β -TCPのSEM所見

A: 3日目の所見。線維芽細胞様構造物が直接埋入材料を取り囲んでいる。B: 5日目の所見。埋入材料表面には多数の細胞様構造物が直接材料表面に認められる。C: 類骨様の構造物が埋入材料を取り囲んでいる。D: 2週目の所見。約10~20 μ mの厚さの骨様構造物が埋入材料を取り囲み、直接埋入材料と接している。その界面は不整で材料と骨組織との移行部は不鮮明である。E: Aの強拡大($\times 100$)。F: Bの強拡大($\times 100$)。G: Cの強拡大($\times 100$)。H: Dの強拡大($\times 100$)。I: 3週目。埋入材料周囲の骨様構造物内には骨細胞様のものが認められ、骨様構造物は、埋入材料の界面において埋入材料内部に侵入している。J: 4週目。K: 8週目。L: 12週目。4週目、8週目、12週目においては、埋入材料周囲の骨様構造物の増大と、埋入材料の断面の多数の孔を埋めるように骨様構造物の一部が侵入している。M: Iの強拡大($\times 100$)。N: Jの強拡大($\times 100$)。O: Kの強拡大($\times 100$)。P: Lの強拡大($\times 100$)。

入材料を取り囲んでいた。2週目では、埋入材料を取り囲む骨様構造物の厚みが10~20 μm に達していた。3週目では、さらに骨様構造物の厚みが増しており、埋入材料と骨様構造物との線状の界面が明瞭に認められた。4週目、8週目、12週目では、ほぼ3週目のものと同様のSEM像が観察されたが、骨様構造物内には骨細胞様のものが認められた(Fig. 14)。

3) 3 HAP

3日目のものでは、埋入材料の切断面に数個の1~2 μm の孔が認められ、線維様の構造物が網状を呈し埋入材料を取り囲んでいるのが観察された。5日目では、3~7 μm 程度の厚みの類骨様構造物が埋入材料を取り囲んでいるのが観察された。1週目では、埋入材料周囲に骨様構造物がみられ、その厚さは10 μm 程の

厚みに達しているのが確認できた。2週目では、埋入材料周囲の骨様構造物はさらに厚みを増しており、その線状の界面が観察された。3週目、4週目になると骨様構造物の中には骨細胞様の像が存在しているのが観察された。8週目、12週目においては、埋入材料と周囲の骨様構造物との界面はHAPと異なり軽度ながら不鮮明となっていた(Fig. 15)。

4) 6 HAP

材料埋入後3日目の所見では、 β -TCPと異なり、材料表面に約1~2 μm の細胞外基質よりなると思われる薄層が付着し、さらにその外層に多数の細胞様の構造物が付着しているのが観察された。5日目では、埋入材料を類骨様の構造物が覆っており、その上に細胞様の構造物が多数認められた。1週目では、7~10 μm

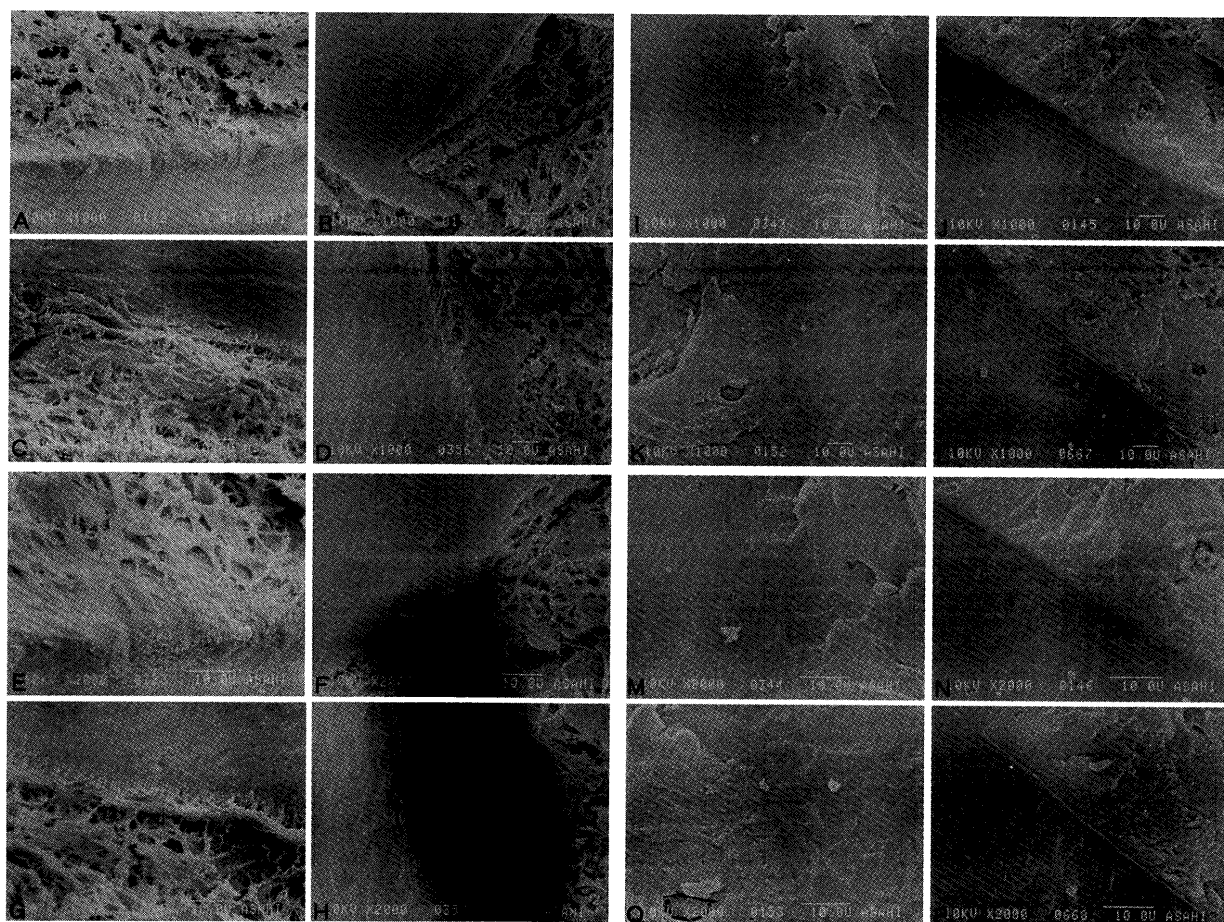


Fig. 14 骨髓腔内埋入実験におけるHAPのSEM所見。

A: 3日目の所見。埋入材料表面には膜様の構造物がみられ、その上に多数の細胞様のものが認められる。B: 5日目の所見。埋入材料表面では一部において菲薄な類骨様構造物が埋入材料と接している。C: 1週目の所見。均一な7~8 μm 程度の厚みを持った骨様構造物が埋入材料を取り囲んでいる。D: 2週目の所見。埋入材料を取り囲む骨様構造物の厚みが10~20 μm に達している。E: Aの強拡大($\times 100$)。F: Bの強拡大($\times 100$)。G: Cの強拡大($\times 100$)。H: Dの強拡大($\times 100$)。I: 3週目の所見。埋入材料を取り囲む骨様構造物の厚みが10~20 μm に達している。J: 4週目の所見。K: 8週目の所見。L: 12週目の所見。4週目、8週目、12週目では、ほぼ3週目のものと同様であるが、骨様構造物内には骨細胞様のものが認められる。M: Iの強拡大($\times 100$)。N: Jの強拡大($\times 100$)。O: Kの強拡大($\times 100$)。P: Lの強拡大($\times 100$)。

程度の厚みを持った骨様の構造物が埋入材料表面を覆っているのが観察された。2週目では、さらに材料表面に接する骨様構造物は厚みを増している。なお、材料と骨組織界面はHAPと異なり、その境界は不鮮明で材料と骨組織がより緊密に接合している所見が認められる。3週目では、埋入材料周囲の骨様構造物はさら

にその量を増し、その中には骨細胞様のものが認められた。4週目、8週目、12週目では、埋入材料周囲の骨様構造物はさらに増量し、かつ、材料と骨組織界面は不鮮明となり、両者が強固に接合しているように思われた(Fig. 16)。

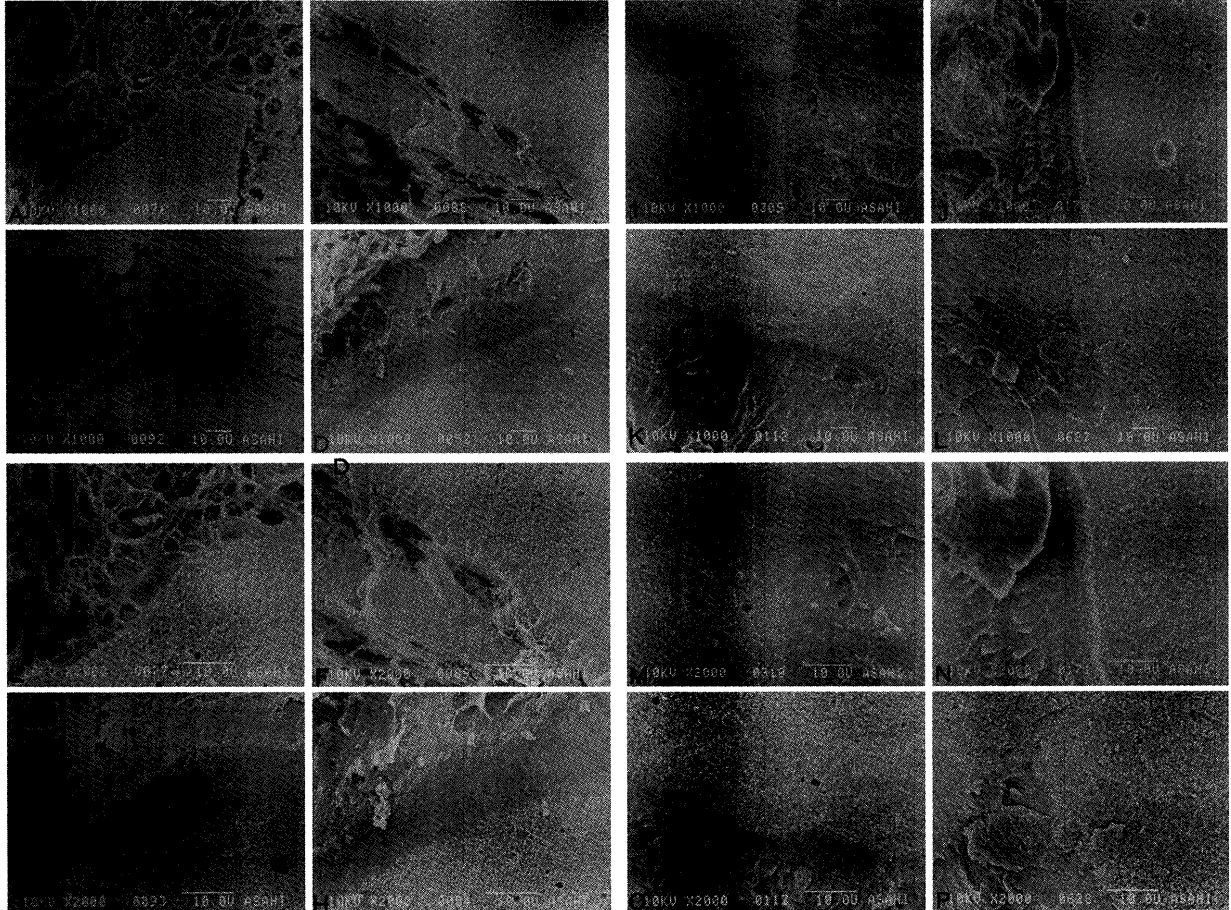


Fig. 15 骨髓腔内埋入実験における3 HAPのSEM所見。

A : 3日目の所見。埋入材料の切断面に数個の1~2 μ mの孔が認められ、線維様の構造物が網状を呈し埋入材料を取り囲んでいる。B : 5日目の所見。3~7 μ m程度の厚みの類骨様構造物が埋入材料を取り囲み接している。C : 1週目の所見。埋入材料周囲に骨様構造物がみられ、その厚さは10 μ m程の厚みに達している。D : 2週目の所見。埋入材料周囲の骨様構造物はさらに厚みを増しその線状の界面がみられる。E : Aの強拡大($\times 100$)。F : Bの強拡大($\times 100$)。G : Cの強拡大($\times 100$)。H : Dの強拡大($\times 100$)。I : 3週目の所見。埋入材料周囲の骨様構造物の増大とその中に骨細胞のものが存在している。J : 4週目の所見。K : 8週目の所見。L : 12週目の所見。8週目、12週目においては、埋入材料と周囲の骨様構造物との界面はHAPと異なり軽度ながら不鮮明である。M : Iの強拡大($\times 100$)。N : Jの強拡大($\times 100$)。O : Kの強拡大($\times 100$)。P : Lの強拡大($\times 100$)。

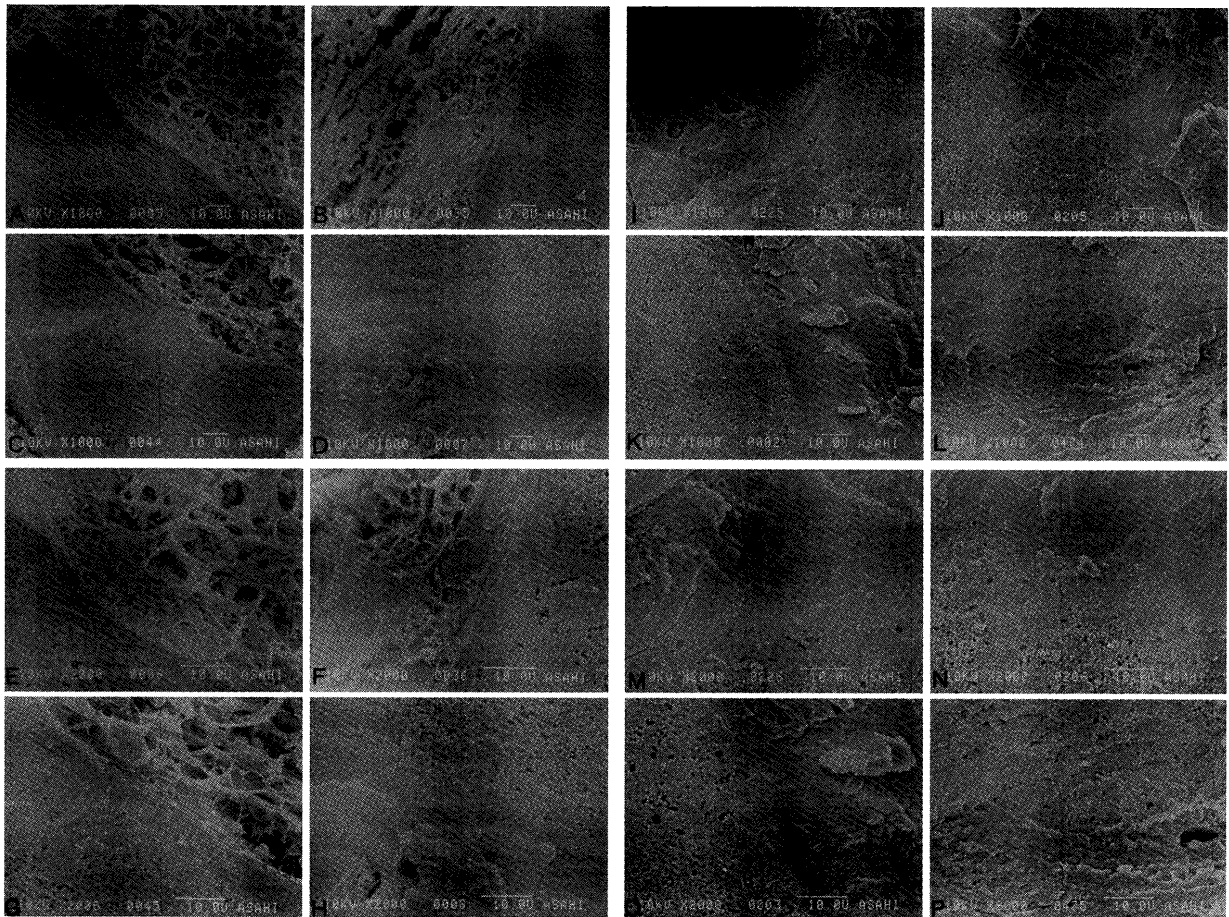


Fig. 16 骨髓腔内埋入実験におけるHAPのSEM所見.

A : 3日目の所見. β -TCPと異なり, 材料表面に約 $1 \sim 2 \mu\text{m}$ の細胞外基質よりなると思われる薄層が付着し, さらにその外層に多数の細胞様の構造物が付着している. B : 5日目の所見. 埋入材料を類骨様の構造物が覆っており, その上に細胞様の構造物が多数認められている. C : 1週間目の所見. $7 \sim 10 \mu\text{m}$ 程度の厚みを持った骨様構造物が埋入材料を覆っている. D : 2週目の所見. 材料表面に接する骨様構造物は厚みを増している. なお, 材料と骨組織界面はHAPと異なり, その界面は不鮮明で材料を骨組織がより緊密に接合している所見が認められる. E : Aの強拡大. F : Bの強拡大の所見. G : Cの強拡大. H : Dの強拡大. I : 3週目の所見. 埋入材料の周囲の骨様構造物はさらにその量を増やし, その中には骨様細胞のものが認められる. J : 4週目, K : 8週目, L : 12週目. 4週目, 8週目, 12週目では, 埋入材料周囲の骨様構造物はさらに増量し, かつ, 材料と骨組織界面は不鮮明となり, 両者が強固に接合しているように思われる. M : Iの強拡大. N : Jの強拡大. O : Kの強拡大. P : Lの強拡大.

考 察

手術あるいは外傷等で失われた骨組織を再建することは, 早期に顎骨の機能および形態を回復し, 患者を日常生活に復帰させるために重要である¹⁻⁴. そのために自家骨, 同種骨移植あるいは各種生体材料の骨欠損部への応用がなされている⁴²⁻⁴⁴. しかしながら自家骨移植では骨の採取にあたり, 健常部への外科的侵襲が加わること, また, 採取にも限界があることなど, 大きな問題を抱えている⁵⁻¹⁰. そのため種々の生体材料が開発され, 臨床応用が検討されてきた^{11-15, 45-48}. これらのうち生体内不活性 (bio-inert) 材料として金属材料,

セラミックスなどがあり, 生体内活性 (bio-active) 材料としてはバイオグラス, HAPなどがあり, 生体内崩壊性 (bio-degradable) 材料には β -TCP などがある⁴⁹. 中でも, リン酸カルシウム系セラミックスは骨伝導能に優れ, 特にHAP, β -TCPは, 骨補填材として注目を集め臨床応用されている¹¹⁻¹⁸. しかし, HAPは生体親和性に優れているが生体内で吸収されにくいことが知られている²⁶⁻²⁵. β -TCPは, 生体内で吸収され, それに伴い骨組織に置換され, 機能, 形態を修復するには理想的な材料であるとする研究者もいる²²⁻²⁵. しかし, 生体親和性において, HAPに劣るとの考えもあり¹⁹⁻²¹, 臨床応用に際し, どの材料が最適な材料であるか解明され

ていないのが実状である。

一方、従来までの化学量論比組成のHAPに代わり、湿式合成による炭酸含有アパタイトを焼結原材料とすると、焼結体アパタイトが骨アパタイトと同程度の炭酸イオンを結晶格子内に含有し^{33,38,41)}、得られた焼結体の物理化学的溶解性は著しく向上し、生体内においても吸収性を示す生体材料となることが示されている^{33,41)}。

今回の研究では、独自に合成、焼結した炭酸含有アパタイトの骨補填材、骨代用材としての有用性を検討することを目的とし、既に臨床応用されている、 β -TCP、HAPとの比較を行った。

1) 物理化学的溶解性

リン酸カルシウム系セラミックスの生体材料としての有用性を検討するための基礎実験として、物理化学的溶解性を検討した報告はいくつかみられる^{4,39,50,53)}。 β -TCPはHAPに比べ溶解度が高く³⁷⁾、より多く溶解することは明らかであるが、溶解量は実験条件(用いる溶液の種類、温度、および固相/溶液比)により異なることが知られている。宗宮ら⁵⁰⁾は、生理食塩水中で焼結HAPと β -TCPの溶解量を測定し、振盪時間の経過につれ β -TCPの溶出量はHAPのそれより多くなったと述べている。

今回の実験では、溶媒に細胞外液と電解質組成が近い乳酸リンゲル液を用い、反応温度も体温にほぼ等しい37℃という条件で、300~500 μ mに粒度調整した各種顆粒材料の溶解性を検討した。その結果いずれかの計測時点(1~24時間)においても β -TCPはHAPに比べリン酸およびリン酸カルシウム溶出量が高くなることが確認できた。また、3HAPはHAPよりも高く、6HAPは β -TCPと3HAPの中間の溶解性を示すことが確認できた。in vitroでの溶解実験では前述したようにpH、イオン強度などの条件の違いにより溶出量の大小関係の結果は変わってくるものの、HAPに比べ β -TCPの方が溶解しやすいという結果は諸家の報告と同じであった。炭酸含有アパタイト焼結体の乳酸リンゲル溶液中での溶解性の検討は、本研究で初めてなされたもので、その結果、本焼結体は β -TCPとHAPのほぼ中間的な溶解性を示すことが明らかとなった。一般にアパタイト格子が炭酸イオンで置換されると、物理化学的安定性が低下し、酸で溶解され易くなるといわれている³⁴⁾。破骨細胞による吸収過程では水素イオンが重要な役割を果し、その吸収過程を単なる物理化学的溶解現象とも考えることも可能である³⁸⁾。そのため炭酸含有アパタイトがin vitroでHAPよりも溶解しやすいという事実は、生体材料として応用した際、HAP

に比べ炭酸含有アパタイト焼結体の方が骨組織に置換される可能性があることを示唆する。

2) β -TCP

骨補填材、骨代用材として臨床応用されているリン酸カルシウム系セラミックスには β -TCPとHAPがある^{13,16~18)}。 β -TCPは生体内で吸収され、埋入材料が新生骨に置き換わることから、骨補填材としてHAPに優る意見や、生体親和性の点では、HAPの方が優るとする考えもあり、未だ結論が出ていない^{19~25,31~33)}。横山²⁵⁾は β -TCPの生物学的安全性に関して、細胞毒性試験、溶血性試験、急性毒性試験、発熱性物質試験、皮膚感作試験、エームス試験、溶出物試験を行ったが、全てに異常がなく、また、家兎への埋入試験でも良好な組織親和性と骨癒着が認められたと述べている。また、Cutrightら⁵¹⁾、柴田ら⁴⁵⁾も、 β -TCPと組織との親和性は非常に良いと述べている。大串ら⁵²⁾は多孔性のHAP/TCPの混合物をラットの皮下に移植しても異物反応はみられず、良好な生体反応を示したと述べている。また、ラットの骨髄細胞との複合物の移植実験で、2週目より骨芽細胞と思われる細胞が埋入材料の表面に発現し、3週目頃には明らかな骨組織の形成が認められたと述べている。小沢²³⁾はビーグル犬の脛骨に β -TCPを埋入し、材料周囲に形成された骨組織の面積率を測定してところ、6週目で新生骨面積が34%と最大に達し、その後12、24週目では29%と一定で、SEMによる観察では、 β -TCPと新生骨との界面には何も存在せず両者は密に接し、SEM-EPMAによる線分析ではリン、カルシウムとも β -TCP側で高く、新生骨側で低い濃度公配を示し、滑らかに移行していたと述べている。また、永原⁵³⁾は、ラット大腿骨骨髄腔内に β -TCPを埋入し、1週目では周囲の母床骨より埋入材料に幼若な骨組織が形成され、3週目頃より埋入材料周囲に骨組織の形成が見られ、5週目、8週目になると材料は完全に骨組織に取り込まれるようになると述べている。さらに、SEMによる観察では、1週目には埋入材料表面に細胞が付着するのみであるが、3週目になると埋入材料の周囲には膠原線維が出現し、5週目になると埋入材料は組織液等に溶解し、埋入材料内部の気孔が増大し、その気孔に膠原線維の侵入が認められ、8週以降になると埋入材料周囲の膠原線維が石灰化し骨組織となる状態が観察され、12週目では埋入材料はしっかりと骨組織により取り込まれるようになると述べている。また、Bhaskarら⁵⁴⁾は β -TCP小片をラット脛骨骨髄腔内に埋め込み、4日以内に結合組織が材料の気孔内に侵入し、1週目より材料埋入部に周囲の母床骨から骨組織の形成が認められ、また2週目頃には材料

周囲に付着している破骨細胞様細胞質内に大小の空孔が認められ、材料が間葉系細胞により貪食され始めると述べている。

本実験でも、1週目より β -TCPは骨組織に取り囲まれ始めるが、SEMによる観察では、3週目頃より埋入材料周囲の骨組織様構造物が埋入材料内部に侵入し、埋入材料と骨組織との界面が不明瞭になっているのが観察されている。また、埋入材料周囲の骨組織定量において、3ヶ月目においても骨量の減少が見られず埋入材料周囲での骨組織のリモデリングが長期間持続していることが示唆された。

3) HAP

HAPは、さまざまな基礎研究が進められ、臨床にも応用されて10年以上経過している。動物実験に関する報告は多数あり、原ら⁵⁵⁾はイヌ顎骨内に焼成温度の異なる2種類のHAPを埋入し、2週および4週を通じて異物巨細胞の出現はごくまれで、HAPに対する被膜形成や、急性炎症細胞浸潤の所見は認められなかったと述べている。矢野⁵⁶⁾は、動物実験で、HAP埋入後2週目に材料と骨との間に多量の類骨組織が形成され、8週目には、これらの類骨組織が骨組織に移行すると述べている。人工骨としてのHAPが骨組織と共存する部位での骨組織形成は、生理的骨形成より早く、形成された骨組織量も多いと述べており、さらに、電子顕微鏡所見では両者の間には化学的結合が存在しており、両者を区別することが困難であると述べている。高橋ら⁵⁷⁾は、家兎大腿骨髄腔内のHAPを埋入し、骨髄内に活発な骨形成を認めたが、新生骨梁は次第に吸収され、本来の骨髄の形態に戻ると述べている。

本実験においては、HAPは他の埋入材料と同様に、埋入後1週目頃より埋入材料周囲に骨組織に形成がみられ、その後3週目頃までは骨形成は進行したが骨組織の定量結果より、埋入3ヶ月目で減少傾向を示していた。また、SEMによる観察で埋入材料と骨組織の界面は、直線的で明瞭であった。このことは、梅田⁵⁸⁾の報告にあるように、HAPが組織内での溶解性が低い材料であることを示しているものと考えられる。

4) 炭酸含有アパタイト

炭酸含有アパタイトは、骨アパタイトが数wt%前後の炭酸イオンを含む骨アパタイトに着目し土井ら^{33, 37~39, 41)}により開発が試みられてきた。炭酸含有アパタイトを750°Cで焼結すると、大きさ形状とも比較的均一な結晶粒での焼結体が構成され、さらに各結晶粒とも融合して全体的に均一な焼結体となる。また、この温度までの範囲ではおおむね初期炭酸含有量の半分が

アパタイト格子内に残留することが明らかとなっている。このように炭酸含有アパタイトは、比較的低温で焼結できるため従来までのHAPに比べ約1/5から1/10程度の大きさの結晶粒で焼結体が構成されている。

本実験における初期溶解性では炭酸含有アパタイトは β -TCP、HAPの中間の溶解性を示し、6 HAPは3 HAPより高い溶解性を示していた。一般に、アパタイト格子内に炭酸イオンが置換すると物理化学安定性は低下し、溶解性が増大すると言われており、今回の結果はそれを裏付けるものであった。

骨髄腔内埋入実験での、光学顕微鏡およびSEMによる観察で、1週目までの初期において炭酸含有アパタイトは、HAPと同様の骨親和性を示していた。これは骨組織定量結果のグラフでも、HAPと同様の立ち上がりを示していたことからでも明らかである。一方、埋入後3週間から12週目までの期間では、HAPとはことなり β -TCPと同様に骨組織の減少傾向が認められない。また、SEMによる観察でも、周囲の骨組織様構造物との境界が β -TCPと同様に不鮮明となり、骨組織と材料が緊密に接合している所見が認められている。この様に炭酸含有アパタイト焼結体はHAPおよび β -TCPの良い意味での両側面を有することが理解できた。

炭酸含有アパタイトは生体内で破骨細胞により吸収される可能性が示唆されており⁵⁹⁾、組織内埋入後、埋入材料の気孔が拡大し、その中に体液、細胞などが侵入しやすくなり、周囲の骨組織様構造物との境界は不明瞭化することは容易に想像できる。一方、 β -TCPは破骨細胞による吸収を受けにくい⁶⁰⁾といわれていることから、 β -TCPは組織液中での溶解、崩壊により減少すると考えられ、この点に置いて組織内での反応機構がことなることが推察される。

また、3 HAPと6 HAPの比較では、明らかな差を認めることはできなかったが、6 HAPのように炭酸含有量の多い焼結体試料の方が吸収性の点では β -TCPに近い性質を示すことも示唆された。これらのことにより炭酸含有アパタイトは、埋入初期の反応ではHAPに類似し、埋入材料周囲に骨組織を伝導し、その後、経時的に組織内で吸収され、かつ十分な骨量を保ちながら最終的には骨組織に置換され得る生体材料であることが推測された。これらのことは、炭酸含有アパタイトがHAPの利点と β -TCPの利点を合わせ持つ生体材料であることを示唆するものである。

結 論

骨アパタイトが炭酸含有イオンを含有することに着目して開発された炭酸含有アパタイト焼結体の骨補填

材, 骨代用材として有効性を検索するための基礎的実験を行った結果, 以下の結論を得た.

1. 乳酸リンゲル溶液中において6 HAPは3 HAPより高い溶解性を示したものの, β -TCPよりも低い溶解性を示した.
2. 光学顕微鏡所見では, 各種埋入材料は2週目に骨粗織により取り囲まれていた. なお, 炭酸含有アパタイトはHAP同様良好な骨親和性を示し, β -TCPと同様な造骨性を示した.
3. SEM所見では, 炭酸含有アパタイトは, 1週目でHAPと同様に類骨様構造物が材料表面に緊密に接しており, 2週目以降では β -TCPと同様に材料と骨様構造物との界面が不鮮明となり, より強固に接合している所見が認められた.

このように, 本実験において炭酸含有アパタイトは, HAPと同様に骨親和性を持ち, β -TCPと同様の良好な造骨性を備えた材料であることが判明した.

稿を終えるにあたり, 懇切なる御高閲と御教示を頂きました本学歯学部口腔病態医療学講座口腔外科学分野兼松宣武教授, 口腔機能修復学講座歯科理工学分野土井豊教授に謹んで感謝の意を表します.

さらに, 終始激励し, 数々の御助言あるいはご指導を頂きました本学歯学部口腔病態医療学講座口腔外科学分野水原國央教授に深く感謝いたします.

引用文献

- 1) 河村政昭: 骨移植. 最新口腔外科学. 第3版, 医歯薬出版(東京), 227~284, 1989.
- 2) 倉科憲治, 矢島幹人, 武田 進: Ceramic材料の臨床応用に関する研究 第5報 口腔外科領域でのhydroxyapatite ceramicsの使用経験. 日口外誌, 31: 2169~2178, 1985.
- 3) 西嶋 寛, 吉井 剛, 森島秀一, 白井絃一, 植松浩司, 西嶋克己: インプラント撤去を行った予後不良5例の臨床的検討. 日口腔インプラント誌, 4: 7~13, 1991.
- 4) 川井隆夫, 内藤 勲, 寺延 治, 島田桂吉: ヒドロキシアパタイト骨充填材の軟組織安定性に及ぼす溶出性状および形状の影響. 歯科材料・器械, 11: 746~753, 1992.
- 5) Bell, W. H.: Current concept of grafting. *J Oral Surg*, 26: 118~124, 1968.
- 6) 真角昭吾: 骨・軟骨移植の現状と展望. 別冊整形外科 8 骨・軟骨移植の基礎と臨床. 南江堂(東京), 235~241, 1985.
- 7) Flemming, A. F., Brough, M. D., Evavs, N. D., Grant, H. R., Harris, M., James, D. R., Lawlor, M. and Laws, I. M.: Mandibular reconstruction using vascularised fibula. *Br J Plast Surg*, 43: 403~409, 1990.
- 8) Marx, R. E.: Mandibular reconstruction. *J Oral Maxillofac Surg*, 51: 446~479, 1993.
- 9) 工藤啓娵, 藤岡幸雄: 下顎骨骨移植の臨床的研究 その1 28症例の予後について. 日口外誌, 21: 180~187, 1975.
- 10) 清水博文: 骨移植に関する実験的研究. 日口外誌, 14: 2~16, 1968.
- 11) 小澤正宏: 高純度 β -TCPの骨形成能と溶解性に関する実験的研究. 生体材料, 13: 167~175, 1995.
- 12) 島村憲優: 骨形成タンパクーヒドロキシアパタイト複合体による骨欠損部修復実験. 日口外誌, 37: 1981~1994, 1991.
- 13) 富井信之: 歯槽骨について 人工骨移植材としての β -TCPの臨床応用. 歯学, 81: 1143~1144, 1994.
- 14) 柴田寛一, 磯貝昌彦, 兼松宣武: 各種生体材料の組織親和性. 岐歯学誌 20周年特集号: 495~505, 1990.
- 15) 川井隆夫, 松下富春, 寺延 治, 島田桂吉: Ca/P比の異なるヒドロキシアパタイトより作成した2相混合セラミックスの各種溶液における界面反応挙動. 歯科材料・器械, 12: 295~303, 1993.
- 16) 大野正光, 黒住良隆, 磐田 茂, 石見隆夫, 竹山万里子, 西村敏治: HAP顆粒の臨床応用に関する文献的考察. 日口腔インプラント誌, 3: 223~230, 1990.
- 17) 瀧川一也, 李 団団, 吉沢和剛, 坂爪 誠, 青木秀希: 脱灰骨基質とヒドロキシアパタイトゾルの骨髄腔内における組織反応. 生体材料, 13: 211~217, 1995.
- 18) Salyer, K. E. and Hall, C. D.: Porous hydroxyapatite as an onlay bone-graft substitute for maxillofacial surgery. *Plast Reconstr Surg*, 84: 236~244, 1989.
- 19) De Groot, K.: Bioceramics consisting of calcium phosphate salts. *Biomaterials*, 1: 47~50, 1980.
- 20) Flatley, T. J., Lynch, K. L. and Bebson, M.: Tissue response to implants of calcium phosphate ceramic in the rabbit spine. *Clinic Orthop*, 179: 246~252, 1983.
- 21) Jarcho, M.: Biomaterial aspects of calcium phosphates, properties and application. *Dent Clin North Am*, 30: 25~47, 1986.
- 22) 古川猛士, 岸 哲也, 原 宣興, 鄭有 仁, 吉川祥子, 赤峰昭文, 青野正男: リン酸カルシウム系セラミックの歯周治療への応用(2) Tricalcium phosphateについての基礎実験. 日歯周誌, 26: 262~274, 1984.
- 23) 小澤正宏: 高純度 β -TCPの骨形成能と溶解性に関する実験研究. 生体材料, 13: 262~274, 1984.
- 24) 築瀬一彦, 飯島 敏, 渡辺一夫, 佐藤 博, 山田 了, 大野 誠: ラットの歯槽骨欠損部への β -tricalcium phosphate補填に関する組織学的研究. 歯科学報, 87: 807~820, 1987.
- 25) 横山信之, 三辺正人, 菅谷 彰, 堀 俊雄, 大滝晃一, 長谷川明, 入江洋之, 袴塚康治: 歯周治療への β -TCPの応用(第1報)メカノケミカル法で合成した β -TCPの諸性質とその生物学的安全性について. 日歯周誌, 31: 213~223, 1989.

- 26) Jarcho, C. H., Bolen, M. B., Thomas, J. Bobick and RH Doremus : Hydroxyapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form. *J Mater Scie*, 11 : 2027~2035, 1976.
- 27) Doi, Y., Moriwaki, Y., Aoba, T. and Kani, M. : ESR on the Hydroxyl Ion Vacancies in the Apatites. *Calcif Tissue Int*, 34 : S 47~S 51, 1982.
- 28) 小川 勝 : 骨補填材としてのリン酸カルシウムセメントに関する基礎的研究. ハイドロキシアパタイト顆粒の混合について. *日大歯学*, 69 : 561~570, 1995.
- 29) 若月達也, 中島信也, 原田 康, 栗原由紀夫, 柿澤 卓, 野間弘康, 大野 誠, 小池 修, 朝波惣一朗, 野本種邦, 若林章一 : 多孔性Hydroxyapatit顆粒の臨床応用. *日口科誌*, 36 : 82~95, 1987.
- 30) 藤井俊治, 阿部廣幸, 真中信之, 片海裕明, 扇内秀樹 : イヌ下顎骨における合成ヒドロキシアパタイトの填塞に関する研究 第2報 粒状緻密体の9ヶ月までの病理組織的観察. *東京女子医科大学雑誌*, 64 : 430~439, 1994.
- 31) 笹岡邦典 : ヒドロキシアパタイト(HAP)および β -リン酸三カルシウムの抗原性に関する実験的検討. *日口外*, 38 : 1508~1523, 1992.
- 32) 島田勝弘, 陳 明裕, 武 宣昭, 内藤 勲, 高橋伸彰, 岩田耕三, 梅田正博, 栗岡一人, 川本博男, 寺延 治, 島田桂吉, 川井隆夫 : HAPと β -TCPの骨伝導性および安定性に関する組織学的研究 家兎脛骨骨髓内移植実験の長期観察結果について. *日口インプラント誌*, 2 : 236~243, 1989.
- 33) 土井 豊, 幸田起英, 足立正徳, 若松宣一, 後藤隆泰, 亀水秀男, 森脇 豊 : 炭酸含有アパタイトの焼結. *歯科材料・器械*, 14 : 313~320, 1995.
- 34) LeGeros, R. Z. : Apatite from aqueous and non-aqueous systems, relation to biological apathies, 1st International Congress on Phosphorus Compound, Rabit. *IMPHOS* : 247~361, 1977.
- 35) 岡崎正之, 土井 豊, 高橋純造, 森脇 豊, 青葉孝昭 : 合成CO₂含有アパタイトの物理化学的性状—結晶性と溶解性—. *歯基礎誌*, 22 : 97~101, 1980.
- 36) LeGeros, R. Z., Trautz, O. R., LeGeros, J. P., and Klein, E : Apatite Crystallites : Effects of Carbonate on Morphology. *SCIENCE*, 155 : 1409~1411, 1967.
- 37) Doi, Y., Koda, T., Adachi, M., Wakamatsu, N., Goto, T., Kamemizu, H., Moriwaki, Y. and Suwa, Y. : Pyrolysis-gas chromatography of carbonate apatites used for sintering. *J Biomed Mater Res*, 29 : 1451~1457, 1995.
- 38) Doi, Y., Koda, T., Wakamatsu, N., Goto, T., Kamemizu, H., Moriwaki, Y., Adachi, M. and Suwa, Y. : Influence of Carbonate on Sintering of Apatites. *J Dent Res*, 72 : 1279~1284, 1993.
- 39) 土井 豊, 森脇 豊 : ハイドロキシアパタイト. *歯科ジャーナル*, 36 : 355~370, 1992.
- 40) Doi, Y., Moriwaki, Y., Aoba, T., Takahashi, J. and Joshi, K. : ESR and IR studies of carbonate-containing hydroxyapatites. *Calcif Tissue Int*, 34 : 178~181, 1982.
- 41) 幸田起英, 土井 豊, 足立正徳, 若松宣一, 後藤隆泰, 亀水秀男, 志水雄一郎, 林 憲司, 渡辺 孝, 朴 健二, 森脇 豊 : 炭酸含有アパタイトの加熱と焼結性との関連性. *岐歯学誌*, 23 : 69~76, 1995.
- 42) 柴田寛一 : 骨移植. *岐歯学誌*, 6 : 1~7, 1978.
- 43) Gross, B. D., Nevins, A. and Laporta, R. : Bone-induction potential of mineralized collagen gel xenografts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 49 : 21~26, 1980.
- 44) 鶴木 隆 : 口腔・顎・顔面外科領域における凍結骨および凍結乾燥骨の応用に関する研究. *口科誌*, 35 : 1009~1034, 1986.
- 45) 柴田寛一 : 生体材料としての可溶性セラミックス. *岐歯学誌*, 10 : 341~345, 1983.
- 46) 柴田寛一 : 顎顔面領域に用いられる医用生体材料の文献的考察. *岐歯学誌*, 6 : 47~60, 1978.
- 47) 大西正俊 : 人工顎骨 人工生体材アパタイトによる下顎骨の再建. *耳鼻・頭頸外科*, 60 : 291~297, 1988.
- 48) Osborn, J. F., and Newesely, H. : Dynamic Aspects of the Implant-Bone-Interface. *Dental Implant Carl Haser Verlag* : 111~123, 1980.
- 49) 山室隆夫 : 生体材と骨形成の様式. *生体材料*, 7 : 19~23, 1989.
- 50) 宗宮正典, 丹羽滋郎, 澤井一彦, 三井忠夫, 高橋 忍, 黒田正誼, 杉藤紘一, 高橋富士丸, 佐藤正喜, 山崎節正, 田賀井秀夫, 尾野幹也, 福田恭彬 : 骨置換材料に関する実験的研究—合成水酸アパタイトと β -TCPの比較検討—. *整形基礎科学*, 8 : 253~262.
- 51) Cutright, D. E., Bhaskar, S. N., Brady, J. M., Getter, L. and Possey, W. R. : Reaction of bone to tricalcium phosphate ceramic pellets. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 33 : 850~856, 1972.
- 52) 大串 始, 奥村元昭, 吉川隆章, 玉井進 : 骨形性能を有する骨髓細胞/セラミック複合体—生体材料と細胞分化—. *生体材料*, 12 : 22~29, 1994.
- 53) 永原国央 : Tricalcium phosphate (TCP) 及びhydroxyapatite (HAP) による骨形成とコラーゲン分子種の変化. *歯基礎医会誌*, 29 : 131~155, 1987.
- 54) Bhaskar, S. N., Brady, J. M., Getter, L., Grower, M. P. and Priskell, T. : Biodegradable ceramic implants in bone. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 32 : 336~346, 1971.
- 55) 原 宜興, 古川猛士, 岸 哲也, 鄭有仁, 赤峰昭文, 青野正男 : リン酸カルシウム系セラミックの歯周治療への応用 1. Hydroxyapatite についての基礎実験. *日歯周誌*, 25 : 806~816, 1983.
- 56) 矢野英雄 : 新しい生体材料 人工骨ヒドロキシアパタイトの臨床. *化学と生物*, 31 : 403~409, 1993.
- 57) 高橋 忍, 丹羽滋郎, 澤井一彦, 田賀井秀夫, 尾野幹

- 也, 福田恭彬: 人工移植骨材としての合成水酸アパタイト. 医学のあゆみ, 116:156~157, 1981.
- 58) 梅田正博, 寺延 治, 岩田耕三, 島田勝弘, 栗岡一人, 高橋伸彰, 内藤 勲, 武宜 昭, 陳 明裕, 川本博男, 島田桂吉: HAPの骨伝導性とHAP-骨複合体の安定性に関する組織学的検討-HAPの家兎脛骨骨髓内移植実験の長期観察について-. インプラント誌, 2: 197~203, 1989.
- 59) Davies, J. E., and Brady, J. : A METHOD TO ASSESS THE RESPONSE OF A BONE SUBSTITUTE MATERIAL TO OSTEOCLASIS. *CRC Handbook of Bioactive Ceramics*, 2 : 283~293, 1990.
- 60) de Bruijn, J. D., Bovell, Y. P., Davies, J. E and van Blitterswijk, C. A. : Osteoclastic resorption of calcium phosphates is potentiated in postosteogenic culture conditions. *J Biomed Mater Res*, 28 : 105~112, 1994.
-