




学 位 論 文 内 容 の 要 旨

論文提出者	芝辻 篤史		
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学部教授	澁谷 俊昭	
	(副 査) 朝日大学歯学部教授	土井 豊	
	(副 査) 朝日大学歯学部教授	江尻 貞一	
論文題目	非焼結炭酸含有アパタイト多孔体の作製とビーグル犬筋肉内での組織学的検討		
論文内容の要旨	<p>【目的】 骨再生治療において自家骨移植が最も信頼性が高く、最も有効とされているが供給量に制限がある。また、同種骨は入手が困難であり、感染症などの問題もあるため、自家骨、同種骨の代わりにさまざまな人工骨が開発されている。現在、スキャフォールド型骨補填材として、非吸収性のハイドロキシアパタイトや吸収性のリン酸三カルシウム、焼結炭酸含有アパタイト等が用いられている。生体内の骨アパタイトは純粋なハイドロキシアパタイトではなく、炭酸イオンが4～8%含まれている。これまでに、我々は焼結法により炭酸含有アパタイト (CA) 多孔体を作製してきた。しかし、焼結による作製法では焼結時の加熱により結晶性の向上と炭酸イオンの消失が起こり、吸収性は焼結前と比較して低下する。本研究では焼結を行わず CA 多孔体を創製する手法を先ず確立し、得られた新規 CA 多孔体をビーグル犬背筋内に埋入し、CA 多孔体の異所性骨造成能、および吸収性の評価を行なった。</p> <p>【材料および方法】 1. 非焼結炭酸含有アパタイト多孔体 (nsCA) の作製 第二リン酸カルシウム二水塩 (DCPD) を CA の前駆物質として用い、市販グラニュー糖を重量比 7 : 3 で混合し、金型を用い成型しその後静水圧処理を行い圧粉体を作製した。得られた圧粉体を 60℃の炭酸水素ナトリウム溶液に浸漬し、糖溶出と DCPD から CA への移転を計った。糖溶出開始から 3, 6, 9時間, 1, 2, 3日後に多孔体を取り出し蒸留水で洗浄後、凍結乾燥した。CA への転移の程度は X 線回折で評価し、炭酸含有量は FT-IR で検討した。また、多孔体の表面性状は実体顕微鏡および走査型電子顕微鏡 (SEM) で調べた。比較として用いた焼結 CA 多孔体 (sCA) はこれまでの方法で合成した CA を用いて作製した。また、βリン酸三カルシウム多孔体は市販品 (OSferion® (OS, オリンパス社)) を使用した。</p>		

2. ビーグル犬背筋内での異所性骨形成

同程度の大きさとした各種多孔体、nsCA, sCA, 及び OS をビーグル犬 8 頭を用い、全身麻酔下において、両側背部を剃毛後、切開し背筋内 3 か所に埋入し縫合した。

観察期間を 3 か月、6 ヶ月とし、屠殺後、4 % 中性パラホルムアルデヒドで固定を行った。固定期間中に μ CT 装置 (ScanXmate-RB090SS150, Comscan) により断層撮影し画像計測ソフト (3D-BON, RATOC 社) を用い多孔体体積の残存率を定量的に計測した。

組織学的観察は通法に従い脱灰標本を作製、ヘマトキシリン・エオジン染色、破骨細胞のマーカーとして酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (TRAP) 活性、骨形成のマーカーとしてアルカリフォスファターゼ活性を酵素組織学染色法により観察した。

【結果】

1. 非焼結 CA の作製法

糖溶出後の DCPD 多孔体は 60°C 炭酸水素ナトリウム溶液浸漬 3 時間後で低結晶性のアパタイトおよびリン酸八カルシウム (OCP) が出発材料としての DCPD に加え検出できた。DCPD および OCP のピークは経時的に減少したが、DCPD のほうが消失速度は速く 6 時間浸漬後では殆ど検出できなかった。9 時間浸漬後では OCP は僅かに確認できたが殆どはアパタイトに移行していた。浸漬 1 日後でアパタイト単相と確認でき、FT-IR で炭酸イオンを含有することが示され、今回の実験では DCPD→OCP→CA の転移反応が進行し、浸漬 1 日で CA 単相の多孔体を得られることがわかった。また、SEM 観察において、気孔の連通性、気孔を構成する壁の一部を高倍率で観察すると、微細なフレーク状の結晶が多く認められ、この集合体で多孔体が形成されていることが明らかとなった。以降の実験では浸漬 1 日で作製した CA 単多孔体を用いた。

2. ビーグル犬背筋内での評価

μ CT 撮影による多孔体残存率は埋入後 3 カ月では sCA 群 92.7%, OS 群 65.7%, nsCA 群 18.1% であり、sCA 群と nsCA 群間、OS 群と nsCA 群に有意差を認めたが、sCA 群と OS 群には差がみられなかった。6 カ月では sCA 群 81.4%, OS 群 55.9%, nsCA 群 5.8% であり、sCA 群と nsCA 群、OS 群と nsCA 群間に有意差を認め、sCA 群と OS 群には差がみられなかった。埋入後 3 ヶ月、6 カ月ともに、全ての試料で異所性の骨形成を認めた。また、多孔体に接して TRAP 陽性で多核の大型細胞である破骨細胞様細胞が多数出現した。また、新生骨表面に骨芽細胞様細胞の出現がみられた。

【考察および結論】

新規吸収性アパタイト多孔体 (nsCA) は sCA ならびに OS 多孔体と同様の骨誘導能を有することが明らかとなった。しかし、nsCA は sCA 並びに OS に比べ吸収性に極めて優れ、スキャフォールドとして臨床応用の際、有効な選択肢の 1 つになると考えられた。