

令和3年12月3日

報道機関 各位

東北大学大学院歯学研究科

骨再生材料の組織治癒力が増大 高密度で転位を導入したリン酸八カルシウム（OCP）骨補填材の開発

【発表のポイント】

- ・リン酸八カルシウム（OCP）^{*1}は、世界的に注目される新しい骨補填材である。OCP結晶に原子レベルの構造欠陥である転位（原子配列のしわ）を高密度で導入することで、骨再生能^{*2}を増大させる方法を開発した。
- ・転位導入によりOCPの自己溶解性が増大することで、骨芽細胞^{*3}が活性化されることを解明した。転位導入は、結晶中への他元素添加や組成変化に依らない、骨補填材料の新たな設計指針となり得る。
- ・高密度の転位を導入したOCPを自己修復困難な骨欠損モデルに埋入すると、自己溶解に合致して新生骨との置換が促進された。骨再生の特性を強化したOCPの骨再生治療への応用が期待される。

【概要】

自己修復することが難しい骨欠損を修復するために、自家骨に代わる安定供給可能な人工材料の開発が求められてきました。東北大学大学院歯学研究科顎口腔機能創建学分野の鈴木治教授、濱井瞭助教、酒井進氏（博士課程学生）らは、有用な骨補填材として世界的に期待されるリン酸八カルシウム（OCP）に、第3成分として生体由来高分子であるゼラチンの共存下で化学合成することで、高密度の転位を含み、高い自己溶解性と新生骨置換性を兼ね備えた高活性OCP骨補填材の開発に成功しました。本材料による再生骨は、天然骨に近い性質（骨質^{*4}）を有することを大阪大学大学院工学研究科生体材料学領域の中野貴由教授らが共同研究で明らかにしました。さらに、OCPへの転位導入は、ゼラチンと同様の分子相互作用が期待できるいくつかの他の有機分子でも可能となることも見出して新たに特許出願し、骨補填材の新しい設計指針を提示しました。骨再生治療が求められる医療への広い応用が期待されます。

本成果は、2021年12月2日に材料科学の国際雑誌「Applied Materials Today」のオンライン速報版に掲載されました。

【詳細な説明】

1. 研究背景

疾病や外傷で失われ、自己修復することが難しい骨欠損を修復するために、整形外科や口腔外科をはじめとした医療の領域では骨欠損部への人工材料を用いた補填治療が広く行われています。骨の細胞や成長因子、また細胞の足場となるコラーゲンや無機リン酸カルシウムである骨アパタイト結晶を元来含む自家骨は、高い生体親和性と骨再生能を持つことから、骨補填材として第一選択されています。しかしながら、自家骨は、患者自身の正常な骨組織から採取されます。自家骨採取には二次侵襲を伴い、量的な制限もあることから、自家骨に代わり安定供給が可能な人工材料の開発が求められてきました。骨アパタイト結晶に類似した組成と構造を有し、新生骨と直接結合できる骨伝導^{*5}を示すハイドロキシアパタイト (HA)^{*6}や生体内で吸収性を示すβ-リン酸三カルシウム (β-TCP)^{*7}といったリン酸カルシウム系材料は広く臨床応用されている人工合成の骨補填材です。しかしながら、これらは優れた生体材料であるものの、自家骨のように自身で骨再生能を示さないため、より高い骨形成能を持つ人工材料の登場が期待されてきました。

リン酸八カルシウム (OCP) は、骨や歯のアパタイト結晶の前駆体として位置づけられる物質であり、実際に歯の象牙質形成や骨アパタイト結晶の成長開始部位でその存在が確認された無機の生体材料です。著者らは先に、OCPのベンチスケール合成方法を確立してバイオマテリアルとして使えるようにし、OCPがHA材料と比較してより早い骨形成を引き起こすこと、また骨芽細胞の分化を促進して骨形成を促進すること、さらには破骨細胞^{*3}の形成を誘導して材料の生体内吸収を促進することを解明しています。これらの成果は、近年、東北大学発として実用化された生体由来高分子コラーゲンとOCPとの複合体による口腔外科領域の骨補填材開発における基本的な科学上の知見のひとつとなっています。以上の背景から、OCPは現在、世界の生体材料研究者が注目する素材であり、細胞の活性化機能を持つことから、本素材を活用して自家骨に匹敵する高活性骨補填材の開発が期待されています。本研究では、コラーゲンの熱変性産物であるゼラチン分子が結晶成長中のOCPと特異的に相互作用して転位が導入されることで、OCPが高い骨形成能を獲得できることを解明しました。転位は構造欠陥の一種であり、転位の存在が工業材料の性質を低下させる原因となることも知られていますが、骨補填材としては逆に高い性能を発揮することを見出しました。

2. 成果の内容

ゼラチン存在下、もしくは非存在下で合成したOCP結晶には、転位の一種である刃状転位^{*8}が欠陥として含まれることが高分解能透過型電子顕微鏡 (HRTEM) で観察されました。また、特定の結晶面をフィルタリングすること

で、得られた HRTEM 像を解析することにより、ゼラチン共存下で合成した OCP には、非共存下で合成したものよりも、約 6 倍の密度で刃状転位が導入されていることが見いだされました。また、なぜ、ゼラチン共存下での合成で OCP 結晶に多くの転位が導入されるのか考察するため、結晶成長の異方性や、優先的に転位が導入される結晶面などを解析しました。その結果から、本研究では、ゼラチン分子がある特定の結晶面と強く相互作用することで、OCP の結晶成長中に刃状転位が導入されるというモデルを提案しました。このモデルを基に、その結晶面と相互作用すると予想されるゼラチンとは異なる有機分子共存下で OCP を合成すると、多くの転位が導入されることが HRTEM 観察により確認されました。

また、生理的環境を模倣した水溶液に転位密度の異なる OCP を浸漬し、結晶から溶出するカルシウムイオンやリン酸イオンの量を測定するとともに、結晶表面の化学状態を分析しました。その結果、低転位密度 OCP と比較して、高転位密度 OCP では、生理的環境下での加水分解反応（溶解を伴う反応）の速度が増大することが明らかとなりました。これら OCP の加水分解反応の活性化エネルギーの差と、転位密度から推定された内部エネルギーの増加の対応関係から、高密度での転位の導入は、OCP の溶解性を高める効果があることが示唆されました。

さらに、本研究では、転位の導入が OCP の骨再生能に与える影響を検討するため、動物実験および細胞培養実験を実施しました。細胞実験では、高転位密度 OCP は、多量のカルシウムイオンやリン酸イオンの溶出によって間葉系幹細胞^{*3}に刺激を与え、骨芽細胞（骨を造る細胞）への分化を促進させることが示されました。また、動物実験では、臨界径骨欠損（自己修復が困難なサイズの骨欠損）に OCP 顆粒とスポンジ状のゼラチンとの複合体を埋入しました。得られた組織染色像では、低転位密度 OCP と比較して、高転位密度 OCP を埋入した欠損では多くの骨組織が再生されるとともに、OCP 顆粒がほぼ吸収され、新生骨と置換していることが観察されました。さらに、骨アパタイト結晶の配向性を解析した結果、高転位密度 OCP は、より質の高い骨を再生していることが分かりました。

以上のことから、本研究では、高密度の刃状転位の導入が、結晶の自己溶解性を高めると共に、骨補填材の基材である OCP の新生骨置換性を増大することを新たに見出しました。

3. 今後の展望

今後は転位導入 OCP 材料の工業スケールにおける合成を試み、また、生体吸収性高分子材料との組みあわせなど、骨再生材料としての応用検討を進めたいと考えています。

【用語説明】

* 1 リン酸八カルシウム

化学式は $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ と表記され、水溶液中からの HA 形成の前駆体のひとつであり、また、骨アパタイト結晶の前駆体とも考えられてきた生体材料である。リン酸オクタカルシウムとも称されている。化学式が示す通り、多量の水を含むため、HA や β -TCP と異なり、単一結晶相として焼結できないことから、生体由来高分子、天然由来高分子、合成高分子と組みあわせた複合体の研究が報告されている。 β -TCP と同様に生体内吸収性を示す。また、OCP は骨芽細胞など、骨組織に関連するいくつかの細胞を活性化する能力を持つことが報告されている。

* 2 骨再生

疾病や怪我で失われた骨は、その欠損サイズが小さければ自然に骨が再生され元にもどるが、大きな欠損は自己修復できないことが知られている。そのため、自家骨移植や人工材料を補填した骨再生治療が行われている。

* 3 骨芽細胞・破骨細胞・間葉系幹細胞

骨髄中や骨組織に存在し、骨形成あるいは骨吸収を担う細胞である。間葉系幹細胞は骨芽細胞に分化する。骨芽細胞は骨形成を行い、破骨細胞は骨吸収を行う機能を有する。

* 4 骨質

骨の性質を表す用語であり、骨のコラーゲン線維の配向、HA 結晶の c 軸方向への配向が高い場合、骨質が高いと表現される。骨の力学的性質に関連する指標ともなっている。

* 5 骨伝導

人工材料に対して、骨組織が線維性被膜を介さず直接に結合できる場合、その材料は骨伝導を示すと表現される。HA や β -TCP、また OCP は骨伝導能を示す材料である。

* 6 ハイドロキシアパタイト

骨は有機成分の主体であるコラーゲン線維と無機成分である骨アパタイト結晶からなる。骨アパタイト結晶はリン酸カルシウムから成り、その構造はハイドロキシアパタイト (HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) を基本型とし、またその組成は炭酸イオンやマグネシウムイオンなどいくつか他の成分を含んだ、炭酸含有カルシウム欠損型のアパタイトであることが知られている。人工合成の HA を高温で焼結したセラミックス材料が骨補填材として臨床応用されている。

* 7 β -リン酸三カルシウム

化学式は $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ と表記され、HA セラミックスと同様に高温で焼結した材料が骨補填材として臨床応用されている。生体内吸収性を示す。

* 8 刃状転位

材料の結晶中に含まれる構造欠陥の一種で、線状欠陥を表す。結晶とは材料の構成原子が3次元方向に整然と並ぶ状態を指す。面のような原子配列（結晶面）の1枚が余分に結晶中へ楔（くさび）のように挿入された際、その配列（半原子面）が結晶内で中断された箇所が刃状転位である。結晶中では、原子配列の中断された箇所（欠陥）は1つの線として連続しており、転位線という。

【論文情報】

Journal: Applied Materials Today 26 (2022) 101279

Title: Octacalcium phosphate crystals including a higher density dislocation improve its materials osteogenicity

Authors: Ryo Hamai, Susumu Sakai, Yukari Shiwaku, Takahisa Anada, Kaori Tsuchiya, Takuya Ishimoto, Takayoshi Nakano, Osamu Suzuki

DOI: 10.1016/j.apmt.2021.101279

本研究は、科学研究費補助金(23106010、18H02981、18H05254、21H03121)の一環で行われました。

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学大学院歯学研究科

顎口腔機能創建学分野

教授 鈴木 治

E-mail: suzuki-o@tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学大学院歯学研究科広報室

電話: 022-717-8260

E-mail: den-koho@grp.tohoku.ac.jp