ジルコニア分散ヒドロキシアパタイトセラミックの 力学的性質ならびに生体親和性に関する基礎的研究

飯野 光喜

Experimental Studies on the Mechanical Property and Biocompatibility of Zirconia Dispersed Hydroxyapatite Ceramic

Mitsuyoshi IINO

Abstract: The mechanical properties and biocompatibility of zirconia dispersed hydroxyapatite ceramic (HAP-ZrO₂) were examined. The composition of HAP-ZrO₂ was 50 Vol % hydroxyapatite and 50 Vol % zirconia.

1. Mechanical properties.

Bending strength, Young's modulus and fracture toughness of HAP-ZrO₂ were 270 MPa, 60 GPa, 4.5 MPa·m^{1/2} respectively.

Compared with other bioactive ceramics, such as tricalcium phosphate (TCP), hydroxyapatite ceramic (HAP) and apatite-wollastonite-whitlockite glass ceramic (A-W-CP GC), these values showed the HAP-ZrO₂ had high mechanical strength and low Young's modulus which was close to those of human cortical bone and tooth.

2. Biocompatibility *in vitro*.

By using L-929 cells, the HAP-ZrO₂ and HAP cell adhesiveness experiments and cell growth were evaluated.

HAP-ZrO₂ and HAP showed no cytotoxicity to L-929 cells. There were no significant differences between both ceramics concerning initial cell attachment and cell growth rate. Morphological changes of the cells on both materials observed by scanning electron microscopy also showed excellent biocompatibility of HAP-ZrO₂ and HAP.

3. The biocompatibility *in vivo*.

HAP-ZrO₂ and HAP were implanted into femurs of 10 week old male rats of an inbred Wistar strain. These rats were killed 1, 2, 4, 8, 12 weeks after implantation. Undecalcified ground sections were examined by light microscopy, contact microradiography and scanning electron microscopy.

Both ceramics were in direct contact with newly formed bone and there was no fibrous connective tissue at the interface. Mode and rate of bone formation were quite similar in both ceramics.

Because of its high bending strength and fracture toughness low Young's modulus and excellent biocompatibility, HAP-ZrO₂ seems to be one of the most useful substitute materials for bone and tooth.

Key words: zirconia dispersed hydroxyapatite ceramic (ジルコニア分散ヒドロキシアパタイトセラミック), mechanical property (力学的性質), biocompatibility (生体親和性)

緒 言

現在、硬組織代用材として用いられているセラミックスとしては、アルミナ、ジルコニア、三リン酸カルシウム（以下 TCP と略す）、ヒドロキシアパタイト（以下 HAP と略す）などがある。アルミナ、ジルコニアは力学的強度が高くしかも生体親和性に優れ異物反応がきわめて少ないため、人工骨や人工歯根として多用される傾向にある。しかしアルミナ、ジルコニアはともに骨とは化学的な結合は起こらず、条件が良ければ骨と直接接する場合もあるが通常は骨との界面に薄い線維組織が存在することから、生体不活性材料すなわち bioinert material といわれている¹⁻⁴⁾。このことから bioinert material を人工骨や人工歯根として用いた場合、その保持は物理的な嵌合力に負うところが大きくなる⁵⁾。しかしこれら bioinert material の弾性率は骨と比較して非常に大きく、さらに骨との化学的な結合が得られないこととあいまって、応力が加わった場合、骨との界面に弾性率の違いによる歪が生じる。この界面における歪は炎症を誘発し骨の吸収を引き起こし、長期的にはインプラント材の脱落の大きな原因となっている⁶⁾。一方 TCP や HAP は骨と化学的に強固な結合をするという優れた骨親和性を有するため、生体活性材料すなわち bioactive material といわれている¹⁻⁴⁾。しかしながら TCP や HAP などの bioactive material は機械的強度の小さい脆性材料であり、その臨床応用は現在骨充填材としてがほとんどであり、皮質骨や歯根の代用材としての応用は非常に限定されている¹⁻⁴⁾。

以上のように、現在使用されている硬組織代用材は、力学的強度が大きい素材は bioinert material で骨とは化学的な結合が得られず、その逆に骨と化学的に強固な結合をする bioactive material は力学的強度が小さいという性質がある¹⁻⁴⁾。このことから、現在の新しい硬組織代用材の開発の方向としては、骨との接触部位を多孔性にして骨との物理的嵌合力を強化したアルミナ人工歯根⁶⁾や、金属の表面にヒドロキシアパタイトをコーティングする^{7,8)}などして素材を組合せることにより、骨と化学的に結合する人工骨や人工歯根が考案される一方で、高い力学的強度を持ち、しかも骨と化学的に結合する新素材の開発も進められている⁹⁻¹¹⁾。

そこで著者は、日本ファインセラミック株式会社研究開発部とともに、高い機械的強度ならびに生物力学的適合性を持ち、しかも優れた骨親和性を有するセラミックスの開発を目的として、ヒドロキシアパタイト 50 Vol %, ジルコニア 50 Vol % よりなるジルコニア分散ヒドロキシアパタイトセラミック（以下 HAP-ZrO₂ と略す）を作製し、その力学的性質、細胞培養法による細胞吸着・増殖試験、動物実験による骨親和性試験を行ったのでそ

の結果について報告する。

材料および方法

1. HAP-ZrO₂ の作製方法ならびに力学的性質の検討

HAP-ZrO₂ の組成はヒドロキシアパタイト 50 Vol %, ジルコニア 50 Vol % である。ヒドロキシアパタイトは Hayek ら¹²⁾の方法により合成し、ジルコニアは湿式法により添加した。このようにして得られた粉末を金型で予備成形し、2 t/cm² の条件でラバープレスし、1400°C で1時間保持して焼結した。HAP-ZrO₂ の力学的性質としては曲げ強さ、弾性率、破壊靱性の測定を行った。曲げ強さの測定は HAP-ZrO₂ を 4×3×40 mm の大きさに成形し、スパン 20 mm、クロスヘッドスピード 0.5 mm/min の条件で三点曲げを行った。破壊靱性は三点曲げから求めた弾性率を用いて、indentation microfracture 法¹³⁾により測定を行った。また相対密度はアルキメデス法¹⁴⁾により測定した。

2. 細胞培養法による生体親和性試験

細胞培養法による生体親和性試験としては細胞吸着試験ならびに細胞増殖試験を行った。

1) 試料および細胞株

試料には HAP-ZrO₂ と HAP の2種類を用いた。なお HAP は 1250°C で焼成したものをを用いた。それぞれ直径 11 mm、厚さ 1.5 mm のディスク状に成形した後、1 μm のダイヤモンドペーストを用いラッピングマシンで鏡面状に研磨した。その結果、表面粗さ計の測定による表面粗さは両試料ともに 0.1 μm であった。

両試料とも中性洗剤にて10分間煮沸洗浄後、24時間流水にて水洗し、その後70%エタノール、滅菌生理食塩水にてそれぞれ10分間ずつ超音波洗浄した。さらに乾熱滅菌を行って実験に用いた。

細胞株にはマウス由来線維芽細胞株 L-929 を用い、細胞培養液には10% 子牛血清添加イーグル MEM を用いた。細胞濃度は細胞吸着試験では 5×10⁴ 個/ml、細胞増殖試験では 1×10⁴ 個/ml となるよう細胞浮遊液を調整した。

2) 細胞吸着試験

細胞吸着試験では、試料表面に吸着した細胞数の計測と走査型電子顕微鏡による吸着細胞の形態観察を行った。

HAP-ZrO₂、HAP それぞれ15個を組織培養用24ウェルマルチプラスチックディッシュ内に配置し、上記細胞浮遊液を 1 ml/ ずつ分注し、37°C、5% 炭酸ガス培養器で 5、10、20、40、60 分それぞれ 3 個ずつ培養した。培養後、2 個は試料表面に吸着した細胞数の計測に、1 個は走査型電子顕微鏡による試料表面の吸着細胞の形態観察に用いた。吸着細胞数の計測は以下のごとく行った。培養後、リン酸緩衝液で軽く洗浄し未吸着細胞を除いて

から、試料2個にトリプシン EDTA液を1ml 加え攪拌器で十分攪拌して吸着細胞を試料表面より剥離した。ついで10% 子牛血清添加イーグル MEM 10 ml を加えトリプシンの作用を停止させた後、2,000 rpm で7分間遠心して細胞を沈澱させ上清を除去した。次に沈澱した細胞に0.2 ml のリン酸緩衝液を加えた後、血球計算板にて 1×10^{-4} ml 中の細胞数を計測し、その値から試料1個に吸着した細胞数を算出した。なお、細胞数の計測は1検体について24回行い、その平均値を用いた。

吸着細胞の形態観察は以下のごとく行った。培養後、試料をリン酸緩衝液で軽く洗浄した後、10%ホルマリンに1時間、1%オスミウムに30分浸漬し細胞の2重固定を行った。アルコール上昇系にて脱水後酢酸イソアミルに浸漬し、ついで日立製臨界点乾燥器 HCP-2 にて炭酸ガスによる臨界点乾燥を行った。最後に、日立製真空蒸着装置 E102 にて白金パラジウムを蒸着し、日立製走査型電子顕微鏡 S-570 にて加速電圧 20 KV, working distance 25 mm の条件で観察した。

3) 細胞増殖試験

HAP-ZrO₂ と HAP を12個ずつ組織培養用16ウェルマルチプラスチックディッシュ内に配置し細胞浮遊液を1ml ずつ分注した後、5%炭酸ガス培養器にてそれぞれ3個ずつ24, 48, 72, 120時間培養した。培養後は細胞吸着試験と同様の方法で細胞数を計測し、試験材料1個の培養面上の細胞数を算出した。

3. 動物実験による骨親和性試験

1) 実験動物

10週齢雄のウィスター系ラット50匹を用いた。50匹をHAP-ZrO₂ 埋入群25匹、HAP 埋入群25匹の2群に分けた。

2) 試料

埋入試料には HAP-ZrO₂ ならびに HAP を用いた。なお HAP は1250°C で焼成したものを用いた。両試料とも、焼成後それぞれ長さ3.5 mm, 直径1.6 mm の円柱に成形した後、ほぼ縦に4等分したような形に切削して埋入試料とした。切削後、アセトン、70%エタノール、滅菌生理食塩水にて10分間ずつ超音波洗浄して脱脂、消毒した後オートクレーブにて滅菌し実験に用いた。

3) 埋入方法

ケタラル筋注による全身麻酔下に大腿部外側を剃毛消毒後、大腿骨中央相当部皮膚をメスにて切開し、筋組織を鈍的に剥離して大腿骨を露出した。ついで歯科用フィッシャーバーにて注水下に大腿骨骨体中央部に骨欠損を作製し、生理食塩水にて十分洗浄したのち試料を埋入した。

4) 標本の作製および観察

埋入後1, 2, 4, 8, 12週で両群ともそれぞれ5匹ずつ屠殺し大腿骨を摘出、10%ホルマリンにて1週間固定

後、水洗、アルコール上昇系にて脱水したのちスチレンに浸漬し、次いでエポキシ樹脂（スウェーデン、Struers社製、Epofix®）にて樹脂包埋した。ついで樹脂包埋した標本を硬組織カッティングマシン（西ドイツ、Exact社製、BS-3000）にて150 μ m 前後の厚さに薄切、ついでハードディッシュ社製 HT 式硬組織研磨装置にて研磨を行い、厚さ50 μ m の非脱灰研磨片を作製した。標本は1検体より4～5枚作製し、contact microradiography（以下 CMR と略す）、HE 染色にて観察した。CMR は、総研社製 Sofron-M 50, type SRO-M 50 にて撮影した。フィルムは E. Kodak 社製 spectroscopic safety film 649-0R を使用し、撮影条件は13～14 KVp, 5 mA, 20分とした。また HE 染色は本間ら¹⁵⁾の方法に従って行った。走査型電子顕微鏡用試料はカッティングマシンで薄切した標本を、#6000の耐水研磨紙で研磨し表面を滑沢にした後、日立製真空蒸着装置、HUS-5 GB にてカーボン蒸着を行い、日立製走査型電子顕微鏡 S-570（以下 SEM と略す）にて加速電圧 20 KV, working distance 25 mm の条件で試料と骨との界面を観察した。

結 果

1. 力学的性質

HAP-ZrO₂ の力学的性質は曲げ強さ 270 MPa, 弾性率 60 GPa, 破壊靱性 4.5 MPa $\cdot$ m^{1/2} であった。また相対密度は91%であった。

2. 細胞培養法による生体親和性試験

(1) 細胞吸着試験

1) 吸着細胞数

HAP-ZrO₂ と HAP の吸着細胞数を比較すると両者

図1 細胞吸着試験

写真 1 HAP-ZrO₂ 培養 5 分後 写真 3 HAP-ZrO₂ 培養 10 分後

写真 2 HAP 培養 5 分後

写真 4 HAP 培養 10 分後

にはほとんど差がみられず、培養40分までは直線的な増加を示し、以降プラトーに達していた(図1)。

このことは HAP-ZrO₂ は L-929 細胞の吸着に対してなんら障害となるものではなく、細胞吸着に親和性を持っていることを示すものと考えられた。

2) 吸着細胞の形態

培養5分後: HAP-ZrO₂, HAP ともに吸着細胞の形態は球形であり、偽足様突起の形成はごくわずかであった(写真1, 2)。

培養10分後: 両試料ともに細胞形態は培養5分後と同様球形に近いが、偽足様突起がしだいに形成されつつあった(写真3, 4)。

培養20分後: HAP-ZrO₂ では培養5, 10分後と比較して偽足様突起がやや発達し、幾分偏平化してドーム状

の形態を示す細胞が多く認められた(写真5)。HAPもほぼ同様の所見であり、扁平化した細胞が多く認められるようになった(写真6)。

培養40分後: 両試料ともに偽足様突起が非常に良く発達し、扁平化して試料表面に伸展し、中央部に核が盛り上がりが見えるようになった細胞が認められた(写真7, 8)。

培養60分後: 低倍での観察では、HAP-ZrO₂, HAPともに、全体として扁平化し試料表面によく伸展した細胞が多く認められるようになった(写真9, 10)。

(2) 細胞増殖試験

HAP-ZrO₂ と HAP にはほとんど差がなく、両試料とも時間の経過とともに直線的な細胞数の増加が認められた(図2)。

写真 5 HAP-ZrO₂ 培養20分後 写真 7 HAP-ZrO₂ 培養40分後

写真 6 HAP 培養20分後

写真 8 HAP 培養40分後

以上細胞培養法による生体親和性試験においては、HAP-ZrO₂ と HAP の間には細胞の吸着速度、吸着細胞の形態変化、細胞の増殖速度とも全く差が認められなかった。

3. 動物実験による骨親和性試験

1) HE 染色, CMR 所見

(1) 埋入後1週

HAP-ZrO₂ : 骨髓腔内にはさまざまな程度の新生骨の形成が認められた。この時期の新生骨はヘマトキシリンに濃染し、細胞成分が多く、骨小腔の形態も不明瞭で幼弱な状態であった。このような新生骨は、内骨膜領域、骨髓腔中央部領域はもちろん、詳細に観察すると一部 HAP-ZrO₂ の表面にも直接形成されていた(写真11)。

HAP・HAP-ZrO₂ 同様骨髓腔内には種々の程度の骨

形成が認められた。骨形成が旺盛な部分では皮質骨内面から HAP 表面に至るまで網状の骨形成が認められ、一部 HAP 表面にも直接新生骨が形成され、その骨が骨梁により骨髓腔に形成された新生骨と連結している所見が認められた(写真12)。

(2) 埋入後2週

HAP-ZrO₂ : 術後1週と比較して骨形成は進行しており内骨膜領域、骨髓腔中央部領域、HAP-ZrO₂ 表面に形成された新生骨は互いに連続して骨梁を形成しつつある所見が認められた。また新生骨の骨小腔の形態も幾分明瞭になってきており骨の成熟化傾向も認められた(写真13)。HAP-ZrO₂ 表面における骨形成は、術後1週と比較するとその範囲、量ともに明瞭に増加しており、HAP-ZrO₂ の表面に沿ってまたは塊状に骨が形成され

写真 9 HAP-ZrO₂ 培養60分後

写真 10 HAP 培養60分後

ている所見も認められた(写真13, 14)。

HAP: 骨髓腔内の新生骨梁は太さを増し, HAP 表面での骨形成も明らかに増加していた(写真15)。このHAP表面での骨形成は, HAP-ZrO₂ 同様, 塊状に形成されているものと, HAP 表面に沿うように薄く長く形成される2種類が認められた(写真16)。しかしこの時期では HAP は骨と接している部分はまだ少ない状態にあった(写真15)。

(3) 埋入後4週

HAP-ZrO₂: 本来の骨髓腔領域全体に活発な新生骨の形成が認められた。HAP-ZrO₂ はほぼ全周が直接新生骨で囲まれており, この新生骨と HAP-ZrO₂ の間には線維性組織の介在は全くなく, HAP-ZrO₂ と新生骨は密着していた。全体的に, この時期の骨は骨小腔の形態

図 2 細胞増殖試験

もしいに明瞭となってきたおり, CMR では既存の皮質骨よりは幾分透過性は高いものの, 埋入後2週と比較すると次第に成熟してきていることがうかがわれた(写真17)。

HAP: HAP もほぼ全周にわたり 新生骨と密着している所見が認められた。骨髓腔も HAP-ZrO₂ 同様新生骨梁でほぼ埋めつくされるようになり, 埋入に際し削除された皮質骨領域にも多量の新生骨が形成され, 皮質骨領域の骨は連続性を回復していた(写真18)。

(4) 埋入後8週

HAP-ZrO₂: HAP-ZrO₂ は埋入後4週と同様全周が骨と直接密着していたが, 埋入後4週で骨髓腔領域に形成された新生骨梁は骨改造により吸収され, HAP-ZrO₂ 周囲には骨髓腔が再生されている所見が認められた。この骨改造による骨吸収のため, 骨髓腔領域の HAP-ZrO₂ 表面には薄い一層の骨が認められるのみとなった部分もあった。なおこの時期の骨小腔の形態は比較的明瞭となり, CMR でも既存の皮質骨と比較してわずかな透過性の違いがみられるのみとなっていた(写真19)。

HAP: HAP-ZrO₂ とほとんど同じ所見であり, 骨改造により新生骨梁は吸収され, いくつかの比較的小さな骨髓腔が再生されている所見が認められた。そのため骨髓腔領域の HAP 表面には薄い一層の骨組織が認められる部分が多くなっていた。一方皮質骨領域の HAP は既存の皮質骨とほとんど差がみられないまでに成熟した骨組織と密着していた(写真20)。

(5) 埋入後12週

HAP-ZrO₂: 基本的に埋入後8週とほぼ同じ所見であったが, 新しく形成された骨髓腔はたがいに融合してさらに大きな骨髓腔を形成する傾向にあった。HAP-ZrO₂ 周囲の骨も骨髓腔領域においては薄い一層の骨の認めら

写真 24 HAP-ZrO₂ 埋入後12週
(SEM 原図, ×5,000)

Z : HAP-ZrO₂, B : 骨組織

写真 25 HAP 埋入後12週 (SEM 原図,
×5,000)

H : HAP, B : 骨組織

れる範囲が多くなった (写真 21)。また皮質骨領域においては HAP-ZrO₂ は成熟した骨組織と密着していた (写真 22)。

HAP : 骨改造は埋入後 8 週と比較してさらに進行し、HAP-ZrO₂ 同様大きな骨髓腔が形成される傾向にあった。HAP は全周が線維組織の介在なく骨と密着してい

たが、埋入後 8 週と比較して骨髓腔領域の HAP 表面の骨はさらに菲薄となっていた (写真 23)。

2) SEM 所見

HAP-ZrO₂, HAP とともに試料と骨との界面には線維組織の介在は全く認められず、骨は試料表面の小さな凹凸まで進入し、試料表面と密着している所見が認められた (写真 24, 25)。

以上を総括すると、HE 染色、CMR による観察では、HAP-ZrO₂ と HAP の骨形成の様式、速度にはほとんど差は見られず、両試料とも埋入後 1 週ですでに試料周囲ならびに試料表面での活発な骨形成があり、埋入後 4 週で試料の全周が線維組織の介在なく新生骨と密着する所見が認められた。以降は試料表面は全周が骨と接している所見には変わりはないが、骨改造により骨髓腔領域の新生骨の吸収が認められた。また SEM による観察でも HAP-ZrO₂ と HAP の骨と界面の状態には差は見られず、両試料とも線維組織の介在は全く認められず骨と密着していた。

考 察

現在まで硬組織代用材として用いられてきた生体材料には金属、高分子、セラミックスなどがあげられる。しかしながら現時点においては、どの材料にもそれぞれ一長一短がありその臨床応用には制限が認められる。金属材料ではステンレス鋼 (SUS-316)、Vitallium は従来最も広く用いられてきた材料で、口腔外科領域では顎骨再建材^{16,17)}、骨縫合材、整形外科領域では骨プレート、髄内釘、脊椎固定具、人工関節などに应用されてきた^{1,2)}。しかし、これらの金属材料は生体内において腐蝕と疲労が起り破折の原因となること、骨内においては繊維性結合組織により被包されること^{1,2)}、Ni の発癌性^{18,19)} などにより現在ではほとんど用いられなくなっている。同じ金属でもチタンは Ni を含まず生体内では間隙腐食を起こさず、しかも細胞毒性、発癌性もなくすぐれた生体親和性を有するため最近では生体材料として用いられる金属はその多くがチタンとなっている^{1,2,5,20,21)}。一般に金属は機械的強度がきわめて大きくしかも高靱性であることから強固な支持固定が得られる。しかしこれら金属と骨の力学的性質、特に弾性率には大きな隔たりがあり、この生物力学的不調和は機能下における材料-組織界面での分離、応力集中による組織の崩壊、材料の破壊断裂、機械的刺激による慢性炎症の誘発が起り、最終的には金属材料の脱落の大きな原因となっている^{5,22)}。

一方高分子材料としては PMMA 系樹脂が古くより用いられている²³⁾。PMMA 系樹脂は、比重が軽く成形加工が容易であること、安価で熱の不良導体であること、体内での腐食劣下が少ないことなどから骨セメントなどとして用いられてきた^{1,2,23)}。しかし PMMA 系樹脂は

耐摩耗性に劣ることに加え、生体親和性に大きな問題があり、monomer は生体の循環系に作用して術中に血圧低下をきたしたり、生体の貪食細胞の機能を低下させ感染に対する危険性が増すといわれていること、また骨内に埋入すると細胞毒性により骨との間には組織壊死に起因する 500 μm を越す厚さの結合組織が形成されるため、いわゆるゆるみが生じやすくこれが晩発合併症の大きな原因となっていることなどから、最近では用いられなくなる傾向にある^{1,2)}

また生体材料として用いられているセラミックスは bioinert ceramics と bioactive ceramics の2種類に分けられる¹⁻⁴⁾。硬組織代用材として多用されている bioinert ceramics にはアルミナとジルコニアがある。アルミナは生体親和性がきわめて良くしかも機械的強度が Vitallium などの金属より大きいため人工歯根²³⁾、人工骨²⁵⁾、人工関節²⁶⁾などに応用されすぐれた臨床成績を示している。ジルコニアもすぐれた生体親和性を示し、しかも力学的強度において弾性率がアルミナよりも小さいこと、破壊靱性値が大きいこと^{27,28)}などより最近人工歯根²⁹⁾、人工骨³⁰⁾として用いられつつある。しかしアルミナにしるジルコニアにしる生体親和性にすぐれるといっても骨と化学的に結合しているわけではなく、詳細に観察すると両者の間には数 μm 以上の幅を持った薄い結合組織が介在していることが少なからず認められている^{1,2,31-34)}。そのためこれらセラミックスの骨内における維持は金属同様機械的嵌合力に負う所が大きい。それでも生物力学的な条件が悪ければ材料-組織界面に歪みが生じ、骨組織とセラミックスの間にゆるみが生ずることになるのは金属の場合と同様である⁵⁾。これに対して bioactive ceramics はセラミックスと骨が結合組織を介することなく直接化学結合するという優れた骨親和性を有するセラミックスであり¹⁻⁴⁾、現在まで Bioglass³⁵⁾、Ceravital³⁶⁾、TCP³⁷⁾、HAP^{38,39)}が開発され臨床応用されている。しかしながら bioactive ceramics は、一般的に bioinert ceramics に比し機械的強度が低いことが大きな欠点となっている¹⁻⁴⁾。Bioglass は最初に開発された bioactive ceramics であるが、もともと機械的強度が低いことに加え、材料表面に形成されたアパタイト層の下に silica-rich layer と呼ばれる機械的強度がきわめて低い層が形成される⁴⁰⁾ため生体材料としての応用は、耳小骨または金属表面のコーティング材などに限局されている^{2,3)}。Ceravital は Bioglass の改良品であり力学的強度は改善されたものの、Bioglass 同様骨との結合部よりも材料よりの部位で力学的強度が低下するという欠点を持っている⁴⁾。TCP は Bioglass のような silica-rich layer を形成することはないが溶解度が非常に大きく生体内において非常に劣下をきたしやすい材料である^{3,37)}。HAP は機械的強度が人皮質骨に近似しており生体親和性にもすぐれることから現在最も多用されてい

表 1 各種バイオセラミックス、人皮質骨ならびに HAP-ZrO₂ の力学的性質

	曲げ強さ (MPa)	弾性率 (GPa)	破壊靱性 (MPa·m ^{1/2})
TCP	138	89.2	1.14
HAP	191~215	41~121	0.7~1.2
A-W-CP GC	213	124	2.6
Al ₂ O ₃	510	392	3.1~5.5
ZrO ₂	900~1500	140~200	5.7~9.6
人皮質骨	160~180	15.8	2.2~4.6
HAP-ZrO ₂	270	60	4.5

る硬組織代用材のひとつである⁴¹⁾。しかしアルミナ、ジルコニアと比較すれば力学的強度はかなり低く、また破壊靱性も小さく衝撃に弱い脆性材料であることは Bioglass、TCP などと同様であり、HAP 単独では皮質骨の代用材としては用いることができない¹⁻⁴⁾。事実、HAP を人工歯根として用いた倉科らの実験ではその約40%が破折している⁴²⁾。そのため HAP は現時点では海綿骨代用材すなわち骨充填材として用いられることがほとんどである^{43,44)}。

このことより最近では骨と直接結合し、しかも機械的強度にすぐれた硬組織代用材の開発がすすめられ、これまでリン酸カルシウムガラス⁹⁾、A-W glass ceramic および A-W-CP glass ceramic^{10,11)}、などの開発が進む一方で、チタンの表面に HAP をコーティングしたり^{7,8)}、金属-高分子-HAP の多相系材料²²⁾なども開発され臨床に用いられつつある。そこで著者は日本ファインセラミックス株式会社研究開発部とともに、優れた力学的強度ならびに生物力学的適合性を持ち、しかも骨と化学的に結合する硬組織代用材の開発を目的として、ジルコニアの高靱性とヒドロキシアパタイトの優れた骨親和性に注目し、ヒドロキシアパタイト 50 Vol%，ジルコニア 50 Vol% よりなる、ジルコニア分散ヒドロキシアパタイトセラミック (HAP-ZrO₂) を作製し、その力学的性質ならびに生体親和性について検討を行った。

1. 力学的性質

これまで開発されたバイオセラミックスの力学的性質(表1)⁴⁶⁾をみると前述したごとく骨と化学結合する bioactive ceramics は力学的強度が小さく、骨と化学的に結合することのない bioinert ceramics は力学的強度が比較的大きいという特徴があることがわかる。また弾性率を見ると力学的強度が大きくなるほど弾性率も大きくなる傾向がうかがわれる。川原⁹⁾は生体材料の具備すべき性質として生体親和性に優れることに加えて生物力学的適合性 (biomechanical compatibility) が重要であると述べている。現在使用されているバイオセラミック

スの弾性率は最も小さいものでも 100 GPa 近くあり、これは人皮質骨の 6 倍程度の値である。さらにアルミナの弾性係数は 392 GPa で人皮質骨の約 25 倍、弾性係数の比較的小さいといわれている ジルコニア でも 140~200 GPa で人皮質骨の 9~13 倍もある。生物力学的適合性を考えた場合この弾性率の不調和は非常に重要であり、弾性係数の大きな硬組織代用材は応力下において周囲骨組織との間に力学的不調和による歪が発生し、骨組織との界面に機械的刺激が起こり骨の吸収が起きる^{1,3,5)}。そして、この生物力学的不調和による骨吸収は骨と化学的に結合することのない bioinert ceramics においては骨吸収の最も大きな原因の一つであるため特に重要な問題である。今回の検討では HAP-ZrO₂ の弾性率は 60 GPa であり、これは現在まで開発、臨床応用されているバイオセラミックスと比較するとかなり小さい値である。このことは HAP-ZrO₂ は従来には見られなかった flexible ceramic であることを示しており、機能下での生物力学的不調和が少なく、より長期の使用に耐えるセラミックであると考えられる。一方曲げ強さは 270 MPa でありアルミナよりはやや劣るものの現在まで開発されている bioactive ceramics の中で一番強度が大きいといわれている A-W-CP glass ceramic^{10,11)} よりもさらに大きい値となっている。さらに脆性破壊に対する抵抗力を表し、セラミックスの脆さを定量的に評価しているといわれる破壊靱性⁴⁶⁾ は 4.5 MPa·m^{1/2} であり、この値は HAP の約 4 倍ではぼアルミナに匹敵している。このことは HAP-ZrO₂ は衝撃に対して強い粘りのあるセラミックであることを示している。以上弾性率、曲げ強さ、破壊靱性の値からみて、HAP-ZrO₂ は力学的強度ならびに生物力学的性質の非常にすぐれたセラミックであると考えられる。

2. 細胞培養法による生体親和性試験

生体材料の生体親和性を評価する場合、組織培養法 (*in vitro*) を応用した細胞レベルでの評価、動物実験による個体組織レベルでの評価ならびに臨床レベルにおける評価というように多段階的な評価が要求されている⁴⁷⁾。その中で培養細胞を用いた細胞親和性による評価は主に生体材料の毒性試験として、比較的短期間に行うことができ、組織刺激性や細胞毒性度を量的に表現することが可能となり、実験成績の統計精度は高く、しかも薬剤や材料に対する細胞の反応像を生きたままで連続的に観察することができること、さらに培養条件を人工的に制御することができることなどから、生体材料の組織刺激性や毒性の発現機序を解明するには非常に有効な方法であるといわれている^{47,48)}。そのため国際標準化機構 (International Standardization Organization) の TC 150 でも生体材料評価の第 1 段階として *in vitro* cytotoxicity の評価を義務付けている⁴⁹⁾。毒性試験としての細胞培養試験には寒天重層法、抽出液法、直接浸漬法、直

接接触法がある⁴⁵⁾。その中で今回著者が行った直接接触法は、試料表面に直接細胞をまいて培養しその細胞の数の増減ならびに形態を観察する方法であることから、試料からの溶出物がわずかでもあればかなりの濃度で直接細胞と接するため鋭敏に毒性のチェックができること、また試料表面の細胞の形態を観察することよりその試料の細胞・組織とのなじみやすさ、なじみにくさ、すなわち生体親和性を調べることができることから、非常に有効な手段であるといわれている^{45,50,51)}。

直接接触法において、細胞の吸着ならびに増殖は試料の表面特性に影響を受けることが知られており、試料表面を平滑面から粗面にすると細胞は付着しやすいが、増殖しにくくなるのが一般的傾向として認められている^{48,52,53)}。そのため今回の検討では HAP-ZrO₂、HAP とともに同一の研磨法を行い表面を鏡面状とした。その結果、SEM による観察では HAP と比較して HAP-ZrO₂ の方が粗造ではあったが、表面粗さ計による測定では、両試料の表面粗さはともに 0.1 μm であった。

文献的に、直接接触法においては生体親和性にすぐれるセラミックスや金属の場合、培養細胞は時間の経過とともに直線的に増加し、その形態は試料表面に吸着した初期は球形であるが、しだいに多数の細い偽足様突起をのぼして平らに試料表面に付着し、やがては細胞は扁平化し核や核小体が盛り上がって見えるようになり、試料表面に密着すると報告されている^{48,50,54)}。一方細胞毒性のある材料においては細胞の増殖は認められないか、あるいは増殖速度は鈍く、また細胞の形態も偽足様突起の形成はわずかで球形または紡錘形で材料表面には伸展せず、ある程度増殖を示しても材料への吸着力よりも細胞同士の凝集力の方が強いような形で凝集して、塊となって盛り上がるといわれている^{48,50,54)}。

細胞培養試験による HAP の生体親和性についてはこれまでいくつかの報告がなされており、いずれも高温で焼成された HAP は細胞毒性はなく細胞親和性に富むと報告している^{55,56~57)}。今回の検討でも HAP は細胞吸着試験において、吸着細胞は直接的な増加を示し、SEM による細胞形態の観察でも細胞は多数の偽足様突起を表面に出し材料と密着している所見が認められた。また、細胞増殖試験でも時間の経過とともに細胞は直線的な増殖を示しこれまでの報告同様 HAP は細胞毒性がなく、また細胞とのなじみがきわめて良好な材料であることを再確認することができた。一方 HAP-ZrO₂ は HAP と比較して、細胞の吸着、増殖速度ならびに吸着細胞の形態に全く差がみられなかったことから、HAP-ZrO₂ もまた HAP 同様細胞毒性はなく、かつすぐれた生体親和性を持つことが明らかとなった。また前述したごとく HAP-ZrO₂ の表面は HAP と比較して粗造であったが、それにもかかわらず試料表面への細胞の伸展の程度や細胞増殖の速度に差がみられなかったという結果

は、HAP-ZrO₂ のすぐれた生体親和性をさらに裏付ける所見であるとも考えられる。

3. 動物実験による骨親和性試験

一般に硬組織代用材は骨内に埋入した場合、骨との界面の状態より biotolerant material, bioinert material, bioactive material の3種類に分類されている^{1,2,4,5)}。Biotolerant material とは生体の実質細胞からは線維性の被膜によって被包される材料であり、通常材料と骨との間には数百 μm から数 mm に達する線維性結合組織が存在する。ステンレス鋼, Vitallium, PMMA などがこれに属する材料である^{1,2,4)}。これらの材料周囲の骨形成は必ず一層の線維性結合組織を介してみられるため骨形成の様式は介在性骨形成 (intervened osteogenesis) といわれている。この介在性骨形成の状態ではインプラント材は応力に対する抵抗性はきわめて低く、長期の使用により必ず骨吸収が起こり、それに伴い線維性被膜の厚さが増大し脱落する運命にある。以上のことから、biotolerant material は硬組織代用材としては不向きな材料であるといわれている¹⁻⁴⁾。

一方アルミナ、ジルコニア、チタンなどは bioinert material といわれている。Bioinert material は biotolerant material と比較すると生体親和性に優れており、骨内に埋入すると炎症反応は全く認められず、骨との界面には数 μm 程度のごく薄い線維性の被膜が存在するか、または条件がよければ直接材料に接して骨が形成される^{1-4,45)}。このような骨形成の状態は、接触性骨形成 (contact osteogenesis) といわれている。Bioinert material はこのように骨親和性に優れ、また機械的強度が大きいため硬組織代用材として多用されている。しかしながら生体親和性に優れているとはいっても骨と化学的に結合しているわけではないので、応力に対する抵抗力は小さく、動的条件下では次第に線維性の被膜が厚くなり、やがては biotolerant material のような介在性骨形成の状態となってしまう緩みを生ずることになる⁵⁵⁾のは前述したごとくである。

これに対し bioactive material は骨内に埋入すると材料表面が活性となり材料と骨が直接化学的に結合する材料である。すなわち bioactive ceramics は骨組織との間に界面のない強固な結合をする性質を持つセラミックスであり、この骨の形成様式は結合性骨形成 (bonding osteogenesis) といわれている¹⁻⁴⁾。Bioactive ceramics は骨内に埋入されると表面がわずかに溶解し Ca と P が溶出すると同時に、周囲の体液からも Ca と P を吸着して Ca-P rich layer を形成する。これが材料表面で化学的に活性な chemical apatite となり、この chemical apatite は osteoconduction によって材料表面に向かって形成された新生骨と結合する^{1-37,40)}。以上が HAP が骨と化学的な結合する機序であるといわれている。また SUS-316, アルミナ, HAP の骨との接着強度

を測定した大塚⁵⁶⁾の報告をみると、SUS-316, アルミナの値はほぼ同じ低い値であるのに対し、HAP の接着強度は SUS-316, アルミナの約 45 倍で非常に高い値となっている。以上、硬組織代用材としては bioactive material であること、すなわち結合性骨形成 (bonding osteogenesis) を起こす材料が最も望ましいことは明らかである。

HAP は代表的な bioactive material であり HAP の骨内埋入実験に関しては数多くの論文がある⁵⁹⁻⁶⁴⁾。それらを総合すれば、埋入後すみやかに HAP 周囲および HAP 表面に直接新生骨が形成され、やがて全周が直接新生骨と密着している。電顕レベルでの観察でも HAP と骨には線維性結合組織は全く認められていない⁶⁵⁻⁶⁹⁾。小木曾^{65,66)}は透過型電子顕微鏡で骨と HAP の界面の詳細な観察を行っており、それによれば、アパタイト表面を基盤として生じた結晶沈着と基質小胞などを基盤としてアパタイト周囲に生じた結晶の沈着は、おのおのの周囲に存在する collagen 線維に沿った結晶沈着が開始されることにより連続した結晶沈着となること、そしてアパタイト表面に形成された骨組織の結晶の沈着状態は、顎骨埋入後 60 日のものから成熟骨の状態と全く同様となり組織構造においてもななら異常は観察されていない。さらに骨とアパタイトの界面において、アパタイトと骨の結晶格子が連続し、同一方向に配列している所見を報告している。また請川ら⁶⁹⁾は HAP と骨の界面を SEM にて観察し、HAP と骨の界面には線維組織の介在はなく、骨内埋入後 2 か月では HAP のごく表層は侵蝕を受けながら骨組織と結合し、埋入後 7 年 1 か月では HAP の侵蝕は中心部まで及んでいる所見を認めており、HAP は surface active なバイオセラミックであり徐々に体液による侵蝕を受けると述べている。

今回の実験においても HAP はこれまでの報告とはほぼ同様の所見であり、埋入後 1, 2 週では HAP 周囲ならびに HAP 表面にはすみやかな骨形成が認められ埋入後 4 週では全周が直接新生骨で囲まれる所見が認められた。また SEM による所見でも骨との間には全く線維組織の介在は認められず、bioactive material の所見を呈していた。一方 HAP-ZrO₂ も HAP と全く同じ所見であり、骨形成の様式、骨形成の速度、SEM による骨との界面の状態も HAP とななら違いは認められなかった。このことは HAP-ZrO₂ は HAP 同様すぐれた骨親和性を有することを示す所見であると考えられた。今回の検討では HAP-ZrO₂ が骨と化学的に結合しているという直接の証明はなされていないが、以上の結果は、HAP-ZrO₂ が bioactive ceramic であることを示唆する重要な所見であると思われる。

以上、高い曲げ強度と破壊靱性ならびに低い弾性率という力学的性質、そして優れた細胞親和性ならびに骨親和性を持つことから、HAP-ZrO₂ は、これまで考案さ

れた硬組織代用材としてのバイオセラミックスのなかでは今後最も期待できるセラミックのひとつであると考えられた。

ま と め

優れた機械的強度ならびに生物力学的適合性を持ち、しかも骨と化学的に結合する硬組織代用材の開発を目的としてヒドロキシアパタイト 50 Vol %, ジルコニア 50 Vol % よりなるジルコニア分散ヒドロキシアパタイトセラミック (HAP-ZrO₂) を作製し、その力学的性質ならびに生体親和性について検討を行い以下の結果を得た。

1. 力学的性質は、曲げ強さ 270 MPa, 弾性率 60 GPa, 破壊靱性 4.5 MPa・m^{1/2} であった。
2. 細胞培養法による生体親和性試験では、HAP-ZrO₂ と HAP には、細胞の吸着速度、吸着細胞の形態変化、細胞の増殖速度とも全く差はみられず、両者とも優れた生体親和性を有することが明らかとなった。
3. 動物実験による骨親和性試験では、HAP-ZrO₂ と HAP はほぼ同じ所見であり、セラミックス周囲の骨の形成速度、骨の形成様式にはほとんど差は認められず、また SEM による観察でも、骨と両セラミックスは線維組織の介在なく密着していた。
4. 以上より、HAP-ZrO₂ は、従来にない高い力学的強度と優れた生体親和性を持つ flexible な bioceramic であると考えられ、今後硬組織代用材として最も有望なセラミックのひとつであると思われる。

稿を終えるにあたり、終始ご懇篤なるご指導とご校閲を賜った手島貞一教授に深甚なる感謝の意を表します。

併せて、論文校閲の労をとられた本学口腔解剖学第2講座加賀山学教授、口腔細菌学講座熊谷勝男教授、清水義信助教授に感謝するとともに、本研究の推進に際して、多大なるご協力、ご助言をいただいた本学歯科理工学講座本間久夫教授、歯科保存学第2講座笹崎弘一講師、山形大学医学部整形外科科学講座須田昭男講師ならびに松田耕策先生はじめ口腔外科学第2講座の諸先生方に厚くお礼申し上げます。

また材料の開発、提供や種々のご協力をいただいた日本ファインセラミック(株)研究開発部原田芳次部長、角谷清隆次長、鈴木治氏、田辺元氏ならびに研究員一同に深く感謝いたします。

本研究の要旨は、第34回日本口腔外科学会総会(平成元年10月27日、郡山)、第9回整形外科セラミックインプラント研究会(平成元年12月9日、東京)において発表した。

引 用 文 献

- 1) 山室隆夫：生体材料と骨形成の様式。生体材料 7: 19-23 1989.
- 2) 山室隆夫：整形外科 最近の進歩, 1. 整形外科用生体材料研究の現況と今後の展望。整・災外 30: 1129-1138 1987.
- 3) 山室隆夫：バイオセラミックスの分類とバイオアクティブ・セラミックスの特徴。臨整外 21: 1221-1224 1986.
- 4) 山室隆夫：整形外科的セラミック・インプラント—最近の進歩—日整会誌 59: 339-348 1985.
- 5) 川原春幸：インプラント材料。歯界展望別冊デンタル・インプラント: 15-42 1987.
- 6) 古戸 充, 樋出 誠, 他：多孔質アルミナセラミックインプラントに関する研究(第2報)特にインターロッキング効果による骨内維持力の推移変化について。インプラント誌 1: 293-300 1988.
- 7) 角谷慶明, 山室隆夫, 他：チタン合金表面の水酸アパタイトコーティングと骨結合能について。Orthopaedic Ceramic Implants 6: 81-85 1986.
- 8) Block, M.S., Kent, J.N., et al.: Evaluation of Hydroxyapatite-Coated Titanium Dental Implants in Dogs. J Oral Maxi Fac Surg 45: 601-607 1987.
- 9) 阿部良弘, 綾瀬政己, 他：強靱性リン酸カルシウム方向結晶化ガラスの開発。Orthopaedic Ceramic Implants 3: 43-47 1983.
- 10) Nakamura, T., Yamamoto, T., et al.: A new glass-ceramic for bone replacement: Evaluation of its bonding to bone tissue. J Biomed Mater Res 19: 685-698 1985.
- 11) Kitsugi, T., Yamamura, T., et al.: Bone bonding behavior of three kinds of apatite containing glass ceramics. J Biomed Mater Res 20: 1295-1307 1986.
- 12) Hayek, E., and Newsly, H.: Inorganic Synthesis VII. 1st ed, McGraw-Hill. New York, 1963, p 63-65.
- 13) 新原皓一：セラミックスの微小圧子圧入破壊—その応用と問題点—セラミックス 20: 12-18 1985.
- 14) 山口 喬：セラミックスのキャラクタリゼーション技術。セラミックス 19: 520-529 1984.
- 15) 本間哲夫, 若松英吉：骨形態計測ハンドブック。西村書店, 新潟, 1983, 34-44頁。
- 16) 梶山 稔, 銅城将鋳, 他：ステンレス・スチール多孔板により即時再建を行ったエナメル上皮腫の1例。日口外誌 27: 48-53 1981.
- 17) George, W.H. and Donald, A.C.: Chrome cobalt mesh mandibular prothesis. J Oral Surg 27: 5-10 1969.
- 18) Tyton, K.J.J.: Ewing's sarcoma at the site of a metal plate. Cancer 45: 413-415 1980.
- 19) Lee, Y.S.: Malignant fibrous histiocytoma at

- site of metal implant. *Cancer* 54: 2286-2289 1984.
- 20) 三浦維四, 浜中武人: 硬組織代用材料 (1) 金属材料. 化学総説 21: 85-96 1978.
 - 21) George, H.H.: *Metal Implants for Orthopedic and Dental Surgery*. Battelle Columbus Laboratories. MCIC Report: 74 1974.
 - 22) 桐ヶ久保光弘: 骨適合性を有する多相系生医学材料に関する研究—第1報 ハイドロキシアパタイト—合成高分子—金属多相系材料の機械的性質— 日口外誌 32: 1541-1560 1986.
 - 23) 増原英一: 硬組織代替用材料 (2) 有機材料. 化学総説 21: 97-110 1978.
 - 24) 江原雄二, 山上哲賢: バイオセラム・スクリュ—タイプの応用. 日歯評論 525: 95-114 1986.
 - 25) 木村博人, 村上涼一, 他: アルミナ・セラミックスによる下顎骨再建—特にその設計法と予後に関して—. 日口外誌 34: 570-585 1988.
 - 26) 澤井一彦, 丹羽滋郎, 他: UHMWPE 製関節面をもつアルミナ・セラミック screw ソケット. *Orthopaedic Ceramic Implants* 3: 211-214 1983.
 - 27) 藤樹 宏, 白石光一, 他: ジルコニアセラミックスの特性について. *Orthopaedic Ceramic Implants* 3: 77-80 1983.
 - 28) 永井教之, 竹下信義: 部分安定化ジルコニアセラミックの性質とその歯科インプラントへの応用—病理組織学的立場から—. 歯科ジャーナル 25: 581-596 1987.
 - 29) 青木秀希, 丹羽滋郎編著: バイオセラミックスの開発と臨床. 第1版, クインテッセンス出版, 東京, 1987, 185-188頁.
 - 30) 青木秀希, 丹羽滋郎編著: バイオセラミックスの開発の臨床. 第1版, クインテッセンス出版, 東京, 1987, 189-192頁.
 - 31) 近藤寿郎, 柴田 豊, 他: 単結晶アルミナスクリュ—の骨組織反応について. *Orthopaedic Ceramic Implants* 4: 21-26 1984.
 - 32) Harms, J. and Maüsle, E.: Tissue reaction to ceramic implant material. *J Biomed Mater Res* 13: 68-87 1978.
 - 33) Nagai, N., Takeshita, N., et al.: Biological reaction of zirconia ceramic as a new implant material in the dental field, *Jap. J Oral Biol* 24: 759-762 1982.
 - 34) 大西啓靖, 辻 栄治, 他: ジルコニアの整形外科的応用に関する研究—生体組織反応—. *Orthopaedic Ceramic Implants* 3: 87-94 1983.
 - 35) Hench, L.L. and Paschall, H.A.: Direct bond of bioactive glass-ceramic materials to bone and muscle. *Biomed Mater Symp* 4: 25 1973.
 - 36) Blencke, B.A., Strunz, V., et al.: Experimentelle und erste klinische Erfahrungen mit dem bioaktiven Werkstoff: Glaskeramik. *Orthop Praxis* 13: 799-804 1977.
 - 37) 青木秀希, 丹羽滋郎編著: バイオセラミックスの開発と臨床. 第1版, クインテッセンス出版, 東京, 1987, 86-90頁.
 - 38) 青木秀希, 加藤一男: 生体材料としてのアパタイト セラミックス 10: 469-478 1973.
 - 39) Jarcho, M.: Calcium phosphate ceramic as hard tissue. *Clinical Orthop* 57: 259-278 1981.
 - 40) Hench, L.L., Wilson, J.: Surface Active Biomaterials. *Science* 226: 630-636 1984.
 - 41) 青木秀希, 丹羽滋郎編著: バイオセラミックスの開発と臨床. 第1版, クインテッセンス出版, 東京, 1987, 138頁.
 - 42) 倉科憲治: Ceramic 材料の臨床応用に関する研究 第3報 Calcium hydroxyapatite dental implant に対する周囲組織の反応について. 信州医誌 32: 410-419 1984.
 - 43) 倉科憲治, 峯村俊一, 他: Ceramic 材料の臨床応用に関する研究—第8報 顆粒状 hydroxyapatite ceramics による部分的歯槽堤形成について—. 日口外誌 33: 1377-1382 1987.
 - 44) 黒沢 尚, 松垣昇三, 他: 合成多孔性アパタイトの骨充填・置換材としての臨床応用. 整・炎外 30: 1425-1437 1987.
 - 45) 桐ヶ久保光弘: 骨適合性を有する多相系生医学材料に関する研究—第2報 ハイドロキシアパタイト—合成高分子—複合材料の生体内組織反応について—. 日口外誌 32: 1561-1580 1986.
 - 46) 青木秀希, 丹羽滋郎編著: バイオセラミックスの開発と臨床. 第1版, クインテッセンス出版, 東京, 1987, 8-10頁.
 - 47) 川原春幸, 大島 浩, 他: 生体材料の細胞毒性評価法. 組織培養 12: 46-50 1986.
 - 48) 今井庸二: 組織培養法による生体適合試験. 病態生理 3: 366-371 1984.
 - 49) ISO/TC 150/WG 4, DRAFT REPORT No 36 and TECHNICAL REPORT 9966, DECEMBER, 1988.
 - 50) 渡辺昭彦, 今井庸二, 他: 細胞培養法による高分子材料の評価. 医器材研報 13: 13-19 1979.
 - 51) 久田敏樹: 高分子材料の表面に対する細胞の“なじみ”について (*in vitro*). 歯理工誌 17: 91-101 1976.
 - 52) 今井庸二, 渡辺昭彦, 他: 材料の生体適合性に及ぼす表面粗さの影響. 人工臓器 9: 911-914.
 - 53) 飯島啓一郎, 板倉良暢, 他: 骨原性細胞 MC 3 T 3-E 1 による ハイドロキシアパタイトの生体適合性に関する研究. 歯基礎誌 28: 170-176 1986.
 - 54) 渡辺昭彦, 今井庸二, 他: 新しい高分子材料の生体適合試験. 人工臓器 8: 259-262 1979.
 - 55) Ahmed, A., Kobayashi, S., et al.: Tissue Compatibility of Ceramics as Compared with Other Implant Materials by means of Tissue

- Culture. Orthopaedic Ceramic Implants 1: 25-30 1981.
- 56) 大塚誠治：合成ハイドロキシアパタイトの基礎および臨床応用に関する研究. 生体材料 7: 59-71 1989.
- 57) 青木秀希, 加藤一男, 他：歯科用無機材料と組織培養. 組織培養 6: 42-46 1980.
- 58) 永井教之, 竹下信義：歯科骨内インプラントに関する臨床病理組織学的考察. 歯界展望別冊デンタル・インプラント: 51-65 1987.
- 59) 小木曾 誠：Apatite 焼結体埋入による顎骨組織の経時的变化. 口病誌 45: 170-221 1978.
- 60) Denissen, H.W., Groot, K., et al.: Tissue response to dense apatite implants in rats. J Biomed Mater Res 14: 713-721 1980.
- 61) 高橋 忍, 丹羽滋太, 他：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.
- 62) 倉科憲治, 小谷 朗, 他：Ceramics 材料の臨床応用に関する研究 第1報: Dense calcium hydroxyapatite ceramics に対する骨の反応. 信州医誌 30: 161-173 1982.
- 63) 石田光輔：アパタイトセラミックス・インプラントの骨組織による保持に関する組織学的研究. 口病誌 51: 333-371 1984.
- 64) 永井教之, 竹下信義, 他：合成水酸化アパタイトのラット顎骨補填時における病理組織学的研究. 口外誌 31: 1352-1361 1985.
- 65) 小木曾 誠：アパタイト表面における骨組織形成ならびにその石灰化について. 口病誌 50: 1-19 1983.
- 66) 小木曾 誠：アパタイト・セラミックスとデンタル・インプラントについて. ザ・クインテッセンス 4: 389-407 1985.
- 67) Tracy, B.M. and Doremus, R.H.: Direct electron microscopy studies of the bone-hydroxylapatite interface. J Biomed Mater Res 18: 719-726 1984.
- 68) 須田 暁, 白井康正, 他：アパタイトの新生骨結合に関する電顕的検索. Orthopaedic Ceramic Implants 3: 27-31 1983.
- 69) 請川 洋, 磯部 豊, 他：骨内に埋入された水酸アパタイト焼結体の7年後の組織反応. Orthopaedic Ceramic Implants 4: 121-125 1984.

写真 11 HAP-ZrO₂ 埋入後 1 週 (非脱灰 HE 染色, ×100)

N : 新生骨, Z : HAP-ZrO₂

HAP-ZrO₂ の表面にも新生骨がみられる (矢印).

写真 14 HAP-ZrO₂ 埋入後 2 週 (非脱灰 HE 染色, ×132)

Z : HAP-ZrO₂

HAP-ZrO₂ 表面に塊状の骨新生がみられる (矢印).

写真 12 HAP 埋入後 1 週 (非脱灰 HE 染色, ×100)

N : 新生骨, H : HAP

HAP の表面にも新生骨がみられる (矢印).

写真 15 HAP 埋入後 2 週 (CMR, ×66)

N : 新生骨, H : HAP

新生骨梁は太さを増している.

写真 13 HAP-ZrO₂ 埋入後 2 週 (CMR, ×66)

N : 新生骨, Z : HAP-ZrO₂

HAP-ZrO₂ 表面に薄く長い形状の新生骨がみられる (矢印).

写真 16 HAP 埋入後 2 週 (非脱灰 HE 染色, ×132)

H : HAP

HAP 表面で塊状 (小矢印) と薄く長い形状 (大矢印) の骨新生がみられる.

写真 17 HAP-ZrO₂ 埋入後 4 週 (CMR, ×10)

N : 新生骨, Z : HAP-ZrO₂, B : 既存骨
HAP-ZrO₂ は全周が既存骨よりX線透過性の高い新生骨により囲まれている。

写真 20 HAP 埋入後 8 週 (CMR, ×10)

N : 新生骨, H : HAP, M : 骨髓腔
骨改造による骨髓腔の再生が認められる。

写真 18 HAP 埋入後 4 週 (CMR, ×10)

N : 新生骨, H : HAP, B 既存骨
削除した皮質骨領域は新生骨により連続性を回復している。

写真 21 HAP-ZrO₂ 埋入後12週 (非脱灰 HE 染色, ×66)

N : 新生骨, Z : HAP-ZrO₂, M : 骨髓腔
大きな骨髓腔が再生し, HAP-ZrO₂ 表面の骨は菲薄化している。

写真 19 HAP-ZrO₂ 埋入後 8 週 (CMR, ×10)

N : 新生骨, Z : HAP-ZrO₂, M : 骨髓腔
HAP-ZrO₂ 表面には 薄い一層の 骨がみられる (矢印)。

写真 22 HAP-ZrO₂ 埋入後12週 (非脱灰 HE 染色, ×100)

N : 新生骨, Z : HAP-ZrO₂
皮質骨領域では HAP-ArO₂ は成熟した骨と密着している。

写真 23 HAP埋入後12週（非脱灰 HE染色，
×100）

N：新生骨，H：HAP，M：骨髓腔
HAP表面の骨は菲薄化している。