原著論文

高分子電解質錯体と HAP・ β -tricalcium phosphate hybrid 体の 骨組織再構築への応用

齋藤 友希

Application of Polyelectrolyte Complex and Hydroxyapatite, β -Tricalcium Phosphate Hybrid to Bone Tissue Reconstruction

Saitoh Yūki

歯科補綴学的意義

歯槽骨の吸収は義歯床の維持、安定に大きな影響を与えることから、歯槽骨の吸収抑制、あるいは再構築は口腔機能の回復に重要である。そこで、Hydroxyapatite および β -tricalcium phosphate と高分子電解質錯体で作製した hybrid 体を骨充填材として用いて検討を行ったところ、顎骨再構築にきわめて有用であり、臨床的に応用できるものであることが示唆された。

抄 録

目的：歯の喪失に伴って生じる歯槽骨の吸収は、残遺歯槽堤の高度な吸収、低下を招き、咀嚼機能、発音、審美性などの口腔機能の回復を困難にし、補綴後の義歯床の維持安定にも大きな影響を与える。そのため、歯を喪失した後の歯槽骨の吸収抑制、あるいは再構築は、口腔機能の回復のために重要な課題となる。本論文では高分子電解質錯体 (PEC) を用いて、生体材料の拡散、漏出を防ぎ、早期の骨再構築を可能とする骨充填材の開発を目的として、Hydroxyapatite (HAP) および β -tricalcium phosphate (β -TCP) 顆粒と PEC との Hybrid 体 (HAP-PEC, β -TCP-PEC hybrid 体) を作製し、成犬を用いて実験的研究を行った。

方法：成犬下顎骨に骨欠損部を形成後、その骨欠損部に HAP-PEC, β -TCP-PEC hybrid 体を充填し、2, 4, 6 週後に、X 線所見および組織学的所見から比較、検討を行った。

結果：X 線所見ではこれらの Hybrid 体に顆粒の拡散、漏出は認められなかった。組織学的所見では、それぞれの Hybrid 体とともに 2, 4, 6 週と新生骨の形成が増加しており、コントロールと比較し形成量も多く、6 週例では、欠損部は元の形態の位置近くまで回復していた。また、 β -TCP-PEC hybrid 体 6 週例では顆粒の吸収像も認められた。

結論：HAP-PEC, β -TCP-PEC hybrid 体は、顎骨再構築にきわめて有用であることが示唆された。

和文キーワード

骨充填材, 高分子電解質錯体, Hydroxyapatite, β -tricalcium phosphate

昭和大学歯学部有床義歯学教室

The Department of Removable Prosthodontics, Showa University School of Dentistry

受付：2002 年 2 月 12 日/受理：2003 年 2 月 10 日

Received on February 12, 2002/Accepted on February 10, 2003

I. 緒 言

歯の喪失に伴って生じる歯槽骨の吸収は、その後の補綴装置による機能回復に種々の障害をひきおこす。特に、歯周病などの原因で抜歯された場合は、残遺歯槽堤の高度な吸収による歯槽堤の低下を招き、口腔機能回復のための義歯床の維持安定にも大きな影響を与える。したがって、歯を喪失した後の歯槽骨の吸収抑制と再構築は、口腔機能の回復のために重要な課題である¹⁻³⁾。

歯の喪失に伴って生じる歯槽骨欠損の回復に対して、従来から種々の移植材が応用されてきている⁴⁻⁷⁾。生体材料としては自家骨や他家骨移植などがある⁴⁻⁶⁾。しかし、自家骨は材料を得るのが困難であり、他家骨には感染症や免疫学的な問題がある。そこで、現在では人工材料として、材料の安定性、保存性、入手の容易さなどの利点を有し、生体親和性に優れ、骨伝導能を有する Hydroxyapatite (HAP)⁶⁻¹⁴⁾ や β -tricalcium phosphate (β -TCP)¹⁵⁻¹⁹⁾ などの骨充填材の移植が行われている。しかし、これらの材料は多くが顆粒状であるため、骨欠損状態によっては技術的に補填操作が困難な場合があり、操作性、補充性も決して良好なものとはいえない。また、顆粒状のため、術後早期に生ずる移植部からの拡散、漏出の問題²⁰⁾などさらに検討を要する点も少なくない。

当教室で開発を試みている新しい生体機能材料の 1 つに高分子電解質錯体膜 (PEC) がある。この PEC はお互いに反対荷電を有する高分子電解質錯体水溶液ポリカチオンとポリアニオンを混合することで生成される生体材料である²¹⁻²⁶⁾。PEC は、物理化学的条件を制御することにより、目的に応じた機能性高分子材料が生成でき、生体親和性も高く、骨伝導能を有していることが明らかにされている²⁷⁻³⁰⁾。

そこで、今回は PEC を用いた生体材料による早期の歯槽骨の再構築を目的として、HAP および β -TCP 顆粒と PEC との Hybrid 体 (HAP-PEC, β -TCP-PEC hybrid 体) を作製し、これらを成犬の顎骨に埋入し、X 線所見および組織学的所見を比較、検討した。

II. 研究方法

1. 実験材料

実験動物は、体重約 10 kg、年齢 15~20 カ月のビーグル犬、雄 (9 頭) を用いた。補填材の HAP 顆粒、 β -TCP 顆粒 (アドバンス) はともに粒径 250~500 μ m、気孔率 35% 以上のものを使用した。PEC は、ポリカチオンには DAC 50、ポリアニオンには S-chitin 140 を用いた。ポリカチオンおよびポリアニオンは、信州大学 (繊維学部高分子学科、阿部康次博士) およびヤトロンより供与された。

2. 実験方法

1) ポリカチオンおよびポリアニオンの作製

ポリカチオンとして DAC 50 はイオン基濃度を 1 unit mol/ (ゲル状) にした。ポリアニオンとして S-chitin 140 はイオン基濃度が 0.2 unit mol/ (水溶液状) となるように調整した。それぞれのポリカチオンとポリアニオンは蒸留水にて混和後、1 N HCl 溶液および 1 N NaOH 溶液を用いて pH 7.2~7.5 に調整して、高分子電解質錯体膜をゲル化した。

2) HAP-PEC, β -TCP-PEC hybrid 体の作製

Hybrid 体は PEC ゲルと HAP 顆粒、および β -TCP 顆粒をそれぞれ体積比 2:3 の割合に混合した後、S-chitin 140 水溶液に滴下し、約 1 時間浸漬して作製した。

3) イヌ顎骨への Hybrid 体補填

実験動物はキシラジン (セラクター 2% 注射液、バイエル) および塩酸ケタミン (動物用ケタラル 50, 三共) にて全身麻酔を施し、両側下顎第一~四前臼歯 (P 1~4) を抜去した。抜歯約 1 カ月後、抜歯窩の治癒を確認後、その部位の歯肉粘膜を切開剝離し、歯肉粘膜骨膜弁を翻転し骨面を露出させた。さらに電気エンジンを用い、滅菌生理食塩水の注水下、低速回転にて、5×10×8 mm の大きさの頬側面が開放された骨欠損部を 1 頭につき 4 カ所形成した。1 頭の欠損部の 3 カ所にはコントロール群、HAP-PEC hybrid 体群、 β -TCP-PEC hybrid 体群とし、残りの 1 カ所にはコントロール群、HAP-PEC hybrid 体群、また、 β -TCP-PEC hybrid 体群のいずれかを充填した。その後欠損部位、充填部位はすべて PEC 膜で被

覆し、縫合糸にて縫合した。なお、使用した PEC 膜は DAC と S-chitin の水溶液を等量混合し、形成した錯体膜を凍結乾燥することにより厚さ約 1 mm のフィルム状にしたものを使用した。術後、術野を十分な量の強電解酸性水にて洗浄し、補填手術を終了した。

4) X 線写真撮影および組織切片の作製

充填 2, 4, 6 週後、3 頭ずつ屠殺し、移植部の下顎骨を軟組織を含めて一塊として摘出し、ただちに 10% 中性緩衝ホルマリンにて 2 週間固定を行った。固定を終了し、X 線写真撮影をした後、10% 蟻酸にて脱灰し、通法に従いパラフィン包埋した。おのおのの試料は 5 μ m の頬舌断連続切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色) を施し、光学顕微鏡にて観察した。なお、骨形成率は欠損部の前方、中央、後方部の 3 群より各 1 枚 (4 ブロック $\times$ 3 枚 (12 枚)) 抽出し、それぞれの光学顕微鏡 40 倍組織切片像をコンピュータに取り込み、NIH Image (NIH, Scion) により画像解析を行った³¹⁾。そして同一検者が標本上で顎骨の欠損領域に形成された新生骨を各週の 3 群に対して測定し、骨形成率とした。また、Hybrid 体群においては顆粒も含め骨形成率とした。これらの各週、各群間の比較には ANOVA と Scheffé 多重比較検定を用い、有意水準 5% として有意差検定を行った。

III. 実験結果

1. X 線所見

1) コントロール群

2, 4, 6 週例とともに、骨欠損部は骨欠損の形態にそって X 線透過像を呈していた。6 週例においては骨欠損部の辺縁に骨吸収像が観察され、歯槽骨頂が窪んだ形態を呈していた (図 1, 2, 3-a)。

2) HAP-PEC hybrid 体群

2, 4, 6 週例において Hybrid 体の顆粒の分離、拡散は認められなかった。充填部は X 線不透過像を示し、2, 4, 6 週と経時的に不透過像の増大が認められた (図 1, 2, 3-b)。

3) β -TCP-PEC hybrid 体群

HAP-PEC hybrid 体群と同様に Hybrid 体の顆粒の分離、拡散は認められず、2, 4, 6 週と充填部の X

図 1 The X-ray observation after 2 weeks

a : Control, b : HAP-PEC hybrid, c : β -TCP-PEC hybrid

X 線の所見 (2 週後)

a : コントロール, b : HAP-PEC hybrid 体群, c : β -TCP-PEC hybrid 体群

図 2 The X-ray observation after 4 weeks

a : Control, b : HAP-PEC hybrid, c : β -TCP-PEC hybrid

X 線の所見 (4 週後)

a : コントロール, b : HAP-PEC hybrid 体群, c : β -TCP-PEC hybrid 体群

図 3 The X-ray observation after 6 weeks

a : Control, b : HAP-PEC hybrid, c : β -TCP-PEC hybrid

X 線の所見 (6 週後)

a : コントロール, b : HAP-PEC hybrid 体群, c : β -TCP-PEC hybrid 体群

線不透過像の増大が認められた (図 1, 2, 3-c)。

2. 組織学的所見

1) コントロール群

骨欠損形成後 2 週において、欠損部の大部分は細胞成分に富む線維性結合組織により占められていたが、

図 4 The histological observation of bone reconstruction in the control group
a : After 2 weeks, b : After 4 weeks, c : After 6 weeks

コントロール群における組織学的所見
a : 2 週後, b : 4 週後, c : 6 週後

図 5 The histological observation of bone reconstruction in the HAP-PEC hybrid group
a : 2 weeks after implantation, b : 4 weeks after implantation, c : 6 weeks after implantation

HAP-PEC hybrid 体群における組織学的所見
a : 充填 2 週後, b : 充填 4 週後, c : 充填 6 週後

図 6 The histological observation of bone reconstruction in the β -TCP-PEC hybrid group
a : 2 weeks after implantation, b : 4 weeks after implantation, c : 6 weeks after implantation

β -TCP-PEC hybrid 体群における組織学的所見
a : 充填 2 週後, b : 充填 4 週後, c : 充填 6 週後

図 7 The bone formation ratio in the control, HAP-PEC hybrid and β -TCP-PEC hybrid groups
コントロール群, HAP-PEC hybrid 体群, β -TCP-PEC hybrid 体群における骨形成率

既存骨から添加されるように骨芽細胞に縁取られた幼若線維骨の形成も認められた (図 4-a). 骨形成率は 29.5% であった (図 7). 4 週例では, 欠損表層部は新生骨の形成とその表面は細胞成分に乏しい線維性結合組織で覆われていた (図 4-b). 骨形成率は 38.2% であった (図 7). 6 週例では, 2, 4 週例と比べ新生骨の形成, 層板構造を含む骨梁の増大, 骨髓腔の形成も認められたが, 骨欠損部表層部では一部に細胞成分に乏しい線維性結合組織により覆われている部分を認めた (図 4-c). 骨形成率は 58.8% であった (図 7).

2) HAP-PEC hybrid 体群

補填後 2 週において, 欠損部は Hybrid 体で充満し, HAP 顆粒を取り囲むように周囲に細胞成分に富む線維性結合組織の新生や一部で新生骨の形成が認められた (図 5-a). 骨形成率は 37.6% であった (図 7). 4 週例では, Hybrid 体内部の顆粒間に既存骨から増生した骨芽細胞による新生骨の形成が認められ, この新生骨の一部は HAP 顆粒と直接結合している部分も認められるようになった (図 5-b). 骨形成率は 56.4% であった (図 7). 6 週例では, HAP 顆粒間に新生骨の形成を認め, 骨組織中に HAP 顆粒が埋没された像が認められた. 骨欠損部表層でも HAP 顆粒に接して新生骨の形成を認め, 骨欠損部のほぼ全域にわたり新生骨と Hybrid 体が占め, 既存の歯槽骨頂とほぼ同様な領域にまで新生骨の形成がみられた (図 5-c). 骨形成率は 79.6% であった (図 7). 2, 4, 6 週例において, 1% の危険率でコントロール群, HAP-PEC hybrid 群両者の間に有意な差が認められた.

3) β -TCP-PEC hybrid 体群

補填後 2 週において, 欠損部は Hybrid 体で満たされ, Hybrid 体周囲およびその内部の顆粒の周囲に細胞成分に富む線維性結合組織が形成され, 一部では顆粒に接して新生骨の形成が認められた. 顆粒の吸収像は認められなかった (図 6-a). 骨形成率は 36.4% であった (図 7). 4 週例では, 骨欠損部位は既存骨と連続するように新生骨の形成を認め, この新生骨とは別に β -TCP 顆粒間に新生骨の形成が認められた. また, いずれの骨梁辺縁にも骨芽細胞の縁取りを認め, 骨形成が盛んに行われている像を示した. また, 顆粒はその辺縁が不正形を呈するようになり, いわゆる顆粒の吸収像として認められた (図 6-b). 骨形成率は 58.9% であった (図 7). 6 週例では, 欠損部の Hybrid 体はほとんどが新生骨で取り囲まれ, 新生骨の骨梁も増大し, 一部では骨髓腔の形成が認められた. また, 多くの β -TCP 顆粒に吸収像が認められた (図 6-c). 骨形成率は 78.8% であった (図 7). 2, 4, 6 週例において, 1% の危険率でコントロール群, β -TCP-PEC hybrid 群両者の間に有意な差が認められた. また HAP-PEC hybrid 群, β -TCP-PEC hybrid 群両者の間には有意な差は認められなかった.

IV. 考 察

歯槽骨の吸収抑制や再構築は, 口腔機能の回復のために重要な課題であり, これまでもさまざまな人工材料の補填による歯槽骨の再構築が試みられている. 骨欠損部を人工物で修復する試みは, 1892 年に Dressmann³²⁾ が骨欠損の修復に石膏を用いたことに始まる. しかし, 石膏が硬化時に発熱するなどの物性の問題もさることながら, その当時は抗生物質もなく, 消毒, 滅菌も確立しておらず, 良好な結果は得られなかった. その後, 多くの人工材料が開発され, それらの基礎的研究や臨床応用が報告されるようになった. それらの人工材料を Osborn³³⁾ は生体許容性, 生体不活性, 生体活性の 3 種類に分類している. 生体許容性とは, 骨組織と充填材の間に厚い線維組織が形成され, 骨との直接的な結合を得られないもの, 生体不活性とは, 骨組織と充填材の間に線維性結合組織が介在するもののきわめて薄いものである. また, 生体活性とは骨組織と充填材が化学的に結合するもので,

HAP や β -TCP はこれに分類され、Osborn は人工骨としては生体活性が適した材料であると報告しているので、本研究においても HAP 顆粒や β -TCP 顆粒を充填材として用いた。これらの顆粒は生体親和性も良く、良好な骨伝導能を有している。しかしながら、この充填材は顆粒状であるため、骨欠損状態によっては技術的に補填操作が困難であり、操作性、補充性にも問題がある。また、粒子状のため、術後早期に術部から拡散、漏出してしまい、欠損部への保持が難しいなどの問題点を有している。そこで本研究では、それらの問題点を解決すべく、PEC とそれぞれの顆粒で Hybrid 体を作製した。

当教室では、PEC を用いた一連の実験を行っており²¹⁻²⁶⁾、物質透過性、電解質親・疎水性などの生体適合性を確認している。PEC は互いに反対荷電を有する、ポリカチオン（プラスの電荷）とポリアニオン（マイナスの電荷）を混合することで、高分子電解質の中和反応によりイオンの相互反応が生じ、瞬時に生成される構造物で、主にクーロン力を介して形成される。そして、高分子電解質の種類、混合比、反応条件などの物理化学的条件を制御することで目的に応じた機能性高分子材料を生成できる特性を有している。本研究で用いた生体材料は、すでに人工皮膚、吸収性縫合糸、徐放性薬剤の基材に応用されており³⁴⁾、歯科領域ではインプラントコーティング剤、サイトカインキャリアー、口腔内創面保護、骨充填材料など、補綴領域を含む幅広い分野で応用される可能性がある。

本研究では、DAC 50 の反応条件をゲルにし、顆粒と混合した後に S-chitin 140 水溶液に浸漬することにより、顆粒が PEC に確実に保持される物質であることが確認された。本研究で使用した Hybrid 体は、骨欠損形態に合わせて充填することが可能であり、操作性、補充性も非常に良好であった。また、X 線所見からも顆粒の拡散、漏出は認められず、これらの問題点は解決されたといえる。

骨組織はコラーゲン線維が一定の配列のもとに集合して、間質にリン酸カルシウムを主とする無機塩類が沈着したものである。コラーゲン線維の間に存在する基質は多糖体で、グリコサミノグリカン (GAG) と呼ばれる。GAG は、ヒアルロン酸やコンドロイチンのほか、硫酸エステル化されたコンドロイチン硫酸などが含まれる。GAG のいくつかはタンパク質と共有

結合して、さらに高次の分子構造であるプロテオグリカンになる。プロテオグリカンは分子内に OH 基を多く含むので、水分や電解質の代謝に大きな役割を演じているほか、水と結合して粘稠なゲルを形成し、組織に弾性力を与えている³⁵⁾。本研究で用いた PEC は、成分ポリマーとして多糖類を用いている。ポリアニオンとして用いた S-chitin 140 は、グルコサミンの重合体であり、GAG と同様の性質を有している。加えてポリカチオンとして使用した DAC 50 は、水溶性のキトサンでキチンを 50% 脱アセチル化したもので、フリーのアミノ基を多く含有しているため、タンパク質や脂質の吸着に優れている。よって PEC は、いずれも生体の細胞外基質と非常によく似た性質を有しているといえる。PEC を用いて、ヒト歯根膜由来線維芽細胞、およびマウス骨芽細胞様細胞の細胞接着性、増殖性を検索した結果では、PEC は細胞接着性や増殖性に全く阻害しない物質であることが判明している^{21,22)}。このような生体親和性の特性を利用して、表面に PEC のコーティングを施したインプラントでは骨との Osteointegration が増大し、その新生骨の形成期間の短縮とインプラントとの骨接触面積の増大を得ることが確認されている²⁵⁾。また、PEC と HAP の Hybrid 体を骨欠損部に埋入し、HAP 単独と比較して骨形成に有意な増加を認めている^{24,26)}。本実験でも、コントロール群と HAP-PEC hybrid 群両者間の骨形成率は 1% 危険率で有意な差を認めた。しかしながら、HAP との Hybrid 体は強度や骨のような柔軟性を有するとはいい難い。そこで、本研究においては、PEC と HAP 顆粒および β -TCP 顆粒の Hybrid 体を作製し、骨欠損部に埋入し、既存の骨組織と同様な物理的および化学的特性を有した骨欠損部の回復をめざした。そのためには、Hybrid 体が骨組織と置換することが条件となる。HAP は $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ で表され、脊椎動物の歯や骨などの無機成分の主体をなしている。結晶構造は六方晶系に属し、密度は 3.16 g/cm^3 でイオンが密に接しているため比較的大きい。化学的には水にわずかに溶け、弱アルカリ性 (pH 7~9) を呈する³⁶⁻³⁸⁾。HAP は、若月³⁹⁾の報告では、多孔性の顆粒において、24 週で HAP の吸収像が認められたとあるものの、ほかの報告においては吸収されたとの報告はない。一方、 β -TCP は $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ で表される TCP の結晶型の異なる相の高温型の α 相

と低温型の β 相に分けられた低温型で、 β 相から α 相への転移温度は $1,180^{\circ}\text{C}$ 付近であるといわれている。 β -TCPも六方晶系に属し、密度は 3.07 g/cm^3 である。また、HAPと比較すると、溶解度に大きな相違がみられ、HAPはTCPよりも難溶性な材料である³⁶⁻³⁸⁾。Levinら⁴⁰⁾は、イヌの歯槽骨に骨欠損部を作製し、 β -TCPを補填したところ、4週目でTCPの周囲に巨細胞が観察され、13週目にはTCPの吸収がみられ、24週後にはTCPは完全に吸収され新生骨により置換されていると報告している。また、TCPは生体に対し無害で生体親和性に優れ、骨欠損部に補填すると次第に吸収されながら新生骨により置換されると報告されている。骨充填材の材料性を考えたとき、充填材が吸収し、骨に置換されてくれば、顎骨に異物が残ることなく骨が形成される。三枝樹ら⁴¹⁾は、 β -TCPとBMPの複合体をマウス大腿部筋膜状に移植し、BMPを単独で移植した場合と比較して骨形成が活発であり、新生骨と周囲組織および β -TCPとの親和性は良好であったと報告している。また、伊藤ら⁴²⁾はキトサンを結合材として、 β -TCPを基材とする骨補填材を作製し、硬化時間、圧縮強さ、pH値、組織観察について検討し、良好な報告をしている。本研究結果では β -TCP-PEC hybrid体を補填後2週目では、顆粒周囲に細胞成分に富む線維性結合組織の新生や新生骨の形成を認め、補填後4週目では、新生骨はより多く形成され、特に β -TCP顆粒間や骨梁間には骨芽細胞が多く認められた。同時に顆粒が吸収されはじめている像もみられた。そして補填後6週目では、新生骨の形成は増大し、多くの β -TCP顆粒に吸収像が認められ、これらの顆粒は新生骨に置換されていた。HAP-PEC hybrid体と比較しても、各週において骨形成率は1%の危険率で両者間に有意な差は認められなかった。したがって、 β -TCPは新生骨の形成を阻害することなく、骨の増生に従って次第に吸収され新生骨と置換していくという利点をもった骨充填材といえる。しかしながら、顆粒が比較的早い時期に吸収されていくため、機械的強度に問題点が生じる可能性がある。本研究では、粒径 $250\sim 500\text{ }\mu\text{m}$ 、気孔率35%以上のものを使用した、顆粒の粒径、また、気孔率によっては、吸収される時期を調節することが可能であると考えられ、この点に関しては、改良の余地を残すであろう。

また、本研究において、骨欠損形態は臨床的に高度歯周病の吸収した顎堤を想定し、頬側面が開放された形態に形成した。これは臨床的に抜歯窩に補填すると想定する骨欠損形態をボックスフォームにした場合と異なり、操作性、補充性も難しく、流出性も高くなると考えられる。しかしながら、本研究で用いたHybrid体は、先にも述べたとおり、操作性、補充性は良好であった。また、流出に対しても、ほぼ良好であったが、外部からの圧力により、流出する可能性がないともいい切れないため、充填部位をPEC膜で被覆し、縫合糸にて歯肉粘膜を密に縫合した。このPEC膜は用いたHybrid体と同種のPECを用いて作製したものであり、問題はないと考えられる。そしてPEC膜を用いることにより、顆粒の流出防止はより確実にとなると考えられる。また、コントロール群では骨欠損部にPEC膜が埋入してしまったためか新生骨の形成が欠損形態にそって窪んだ形態であったが、Hybrid体を充填後、PEC膜で被覆することにより、新生骨の形成も、欠損部形成する前の位置付近まで認められた。これは、充填初期にPEC膜が線維芽細胞の侵出を防止したためと考えられる。

以上のことにより、これらのHybrid体を補填し、PEC膜で被覆する方法は顎骨再構築において優れた方法であることが示唆された。

V. 結 論

骨組織再構築への高分子電解質錯体の臨床応用への可能性を明らかにすべく、顎骨にHAP-PEC hybrid体、 β -TCP-PEC hybrid体を補填し、その予後をX線所見および組織学的所見から比較、検討を行ったところ以下の結論を得た。

1. PECはDAC 50の濃度を調整することによりゲル状になり、HAP顆粒や β -TCP顆粒を保持することができ、補填材として使用できることが確認された。
2. これらのHAP-PEC hybrid体、 β -TCP-PEC hybrid体は骨欠損領域の形態に合わせて充填することが可能であった。
3. これらのHybrid体を充填後、さらにPEC膜で被覆することにより、さらに拡散、漏出を防止することが可能であった。

4. これらの Hybrid 体は異物反応が少なく、新生骨の形成を促進させた。それは PEC とそれぞれの顆粒の骨伝導能によるものと考えられた。

5. β -TCP-PEC hybrid 体は β -TCP 顆粒が吸収し、新生骨を形成する可能性が示唆された。

6. これらの Hybrid 体は骨形成率が 2, 4, 6 週と経時的に増加しており、また、コントロール群と比較して、1% の危険率で両者間に有意な差が認められたことから、骨再生期間の短縮を図ることができる充填材と考えられた。

7. 以上のことより、これらの HAP-PEC hybrid 体、 β -TCP-PEC hybrid 体は顎骨再構築にきわめて有用であることが示唆された。

稿を終えるにあたり、本研究のご指導、ご校閲を賜りました昭和大学歯学部有床義歯学教室 芝 燐彦教授に深謝いたします。また、本研究の遂行に際し、終始懇切なるご指導およびご校閲を賜りました昭和大学歯学部口腔病理学教室 立川哲彦教授に深謝いたします。また、本研究にご理解とご支援をいただきました昭和大学歯学部口腔病理学教室員各位ならびに昭和大学歯学部有床義歯学教室員各位に心からお礼申し上げます。

本論文の要旨の一部は、第 31 回日本口腔インプラント学会学術大会 (2001 年 9 月 23 日, 福岡) および第 106 回日本補綴歯科学会学術大会 (2001 年 10 月 27 日, 盛岡) において発表した。

文 献

- 1) Atwood DA. Reduction of residual ridges: A major oral disease entity. J Prosthet Dent 26: 266-279, 1971.
- 2) Tallgren A. The continuing reduction of the residual alveolar ridges in complete denture wearers: A mixed-longitudinal study covering 25 years. J Prosthet Dent 27: 120-132, 1972.
- 3) 芝 燐彦. 歯槽骨の吸収機転. 歯医学報 7: 13-17, 1981.
- 4) 川崎隆義. 新鮮自家肋骨片の填塞のラットの抜歯創治癒に及ぼす影響に関する病理組織学的研究. 日大歯学 48: 371-383, 1974.
- 5) Denissen HW, Groot K. Immediate dental root implants from synthetic dense calcium hydroxyapatite. J Prosthet Dent 42: 551-556, 1979.
- 6) Veldhuis H, Driessn T, Denissen H et al. A 5-year evaluation of apatite tooth roots as means to reduce residual ridge resorption. Clin Prevent Dent 6: 5-8, 1984.
- 7) 松下尚生. 抜歯創への脱灰凍結乾燥骨移植における微細血管構築について. 日口外誌 37: 566-577, 1991.
- 8) Block MS, Kent JN. A comparison of particulate and solid root forms of hydroxyapatite in dog extraction sites. J Oral Surg 44: 89-93, 1986.
- 9) 青 久昭, 大口弘和, 佐原紀行ほか. 顆粒状 Hydroxyapatite Ceramics 填塞による組織反応. 松本歯学 12: 52-59, 1986.
- 10) 早乙女雅彦. ハイドロキシアパタイト・セラミック抜歯窩填塞後の歯槽骨の動態変化に関する実験的研究. 歯学 75: 291-318, 1987.
- 11) Quinn JH, Kent JN, Hunter RG et al. Preservation of the alveolar ridge with hydroxyapatite tooth root substitutes. J Am Dent Assoc 110: 189-193, 1989.
- 12) 田中 滋. 抜歯創の治癒過程に関する研究—難抜歯窩に 70°C 加温同種小骨片および Hydroxyapatite 顆粒を填塞した例の検討—. 日大歯学 67: 520-531, 1993.
- 13) Ugo R. Osteoinduction in porous hydroxyapatite implanted in heterotopic sites of different animal models. Biomaterials 17: 31-35, 1996.
- 14) 北山展弘. アパタイト複合コラーゲン材を用いた骨形成に関する実験的研究. 補綴誌 41: 86-93, 1997.
- 15) 清水光雄. イヌの実験的垂直性骨欠損に施した β -Tricalcium Phosphate 移植の効果—主として病理組織学的観察を中心として—. 日歯周誌 28: 79-86, 1986.
- 16) 清水光雄. イヌの実験的垂直性骨欠損に施した β -Tricalcium Phosphate 移植の効果. 第 2 報—主として病理組織学的観察を中心として—. 日歯周誌 28: 1028-1043, 1986.
- 17) 菅谷 彰, 児玉利朗, 古郷辰二ほか. イヌ歯槽骨欠損部への Hydroxyapatite および β -Tricalcium Phosphate 移植に関する組織学的研究. 日歯周誌 29: 179-197, 1987.
- 18) 原 宜興, 古川猛士, 宮武祥子ほか. リン酸カルシウム系セラミックの歯周治療への応用 7. Hydroxyapatite 周囲に再生した骨組織について. 日歯周誌 29: 545-556, 1987.
- 19) 林 英昭, 鴨井久一. リン酸カルシウム系セラミックの歯周組織再生に関する研究. 病理組織学およびオートラジオグラフィーによる検討. 日歯周誌 30: 1-21, 1988.
- 20) 三辺正人, 田村利之, 菅谷 彰ほか. 人工骨移植に関する臨床的研究—移植後 1 年後の X 線学的骨欠損充填率が予後成績におよぼす影響について—. 日歯周誌 29: 557-567, 1987.
- 21) 荻野孝義. 高分子電解質錯体膜の生体機能性物質としての補綴領域への応用. 補綴誌 38: 974-987, 1994.
- 22) 若林克敏. 骨組織再構築のための生体材料. 補綴誌 40: 831-842, 1996.
- 23) 岩佐文則. 口腔粘膜上皮細胞および線維芽細胞に及ぼす TGF- β と細胞外基質の影響. 日口腔インプラント誌 10: 261-271, 1997.
- 24) 田口健一. 高分子電解質錯体膜の補綴領域への応用. 補綴誌 41: 645-656, 1997.

- 25) 新田茂夫. 高分子電解質錯体膜コーティングインプラント植立後の組織学的研究. 補綴誌 42: 768-778, 1998.
- 26) 飯田克実. 高分子電解質錯体とハイドロキシアパタイトとのハイブリット体を用いた顎骨の再構築. 補綴誌 43: 1034-1042, 1999.
- 27) 阿部康次. ポリイオンコンプレックスの特性と機能. 高分子 36: 794-797, 1987.
- 28) 高分子学会編. 医療機能材料 51-86, 東京: 共立出版, 1990.
- 29) 阿部康次, 土田英俊. 高分子と細胞の相互作用. 日本表面化学学会編 25-31, 東京: 共立出版, 1992.
- 30) 阿部康次, 寺本 彰. 高分子電解質錯体による細胞機能培養. 高分子 41: 710-713, 1992.
- 31) 小島清嗣, 岡本洋一. 医学・生物学研究のための画像解析テキスト—NIH Image, Scion Image 実践講座 10-211, 東京: 羊土社, 2001.
- 32) Dressman H. Über Knochenplombierung. Beitr Klin Chir 9: 804-810, 1892.
- 33) Osborn JF, Weiss TH. Hydroxylapatitkeramik-ein knochenähnlicher Biowerkstoff. Schweiz Mschr Zahnheilk 88: 1166-1172, 1978.
- 34) キチン, キトサン研究会編. キチン, キトサンの応用 104-120, 東京: 技報堂出版, 1990.
- 35) 筏 義人編. バイオマテリアル入門 53-72, 東京: 学会出版センター, 1993.
- 36) 栗原由紀夫, 中島信也, 原田 康ほか. 骨代用材としての Hydroxyapatite (HAP) 顆粒および Tricalcium Phosphate (TCP) 顆粒の物理化学的特性について. 歯科学報 87: 83-93, 1986.
- 37) 野間弘康, 石川達也. 骨補填材の基礎と臨床 10-32, 東京: クインテッセンス出版, 1987.
- 38) 榎本昭二, 立川敬子. 骨補填用リン酸カルシウムセメント. DENTAL OUTLOOK 94: 942-944, 1999.
- 39) 若月達也. 顎骨欠損部への Hydroxyapatite (HAP) 移植後の治癒過程に関する実験的研究—多孔性 HAP と緻密性 HAP との比較について—. 歯科学報 85: 931-952, 1985.
- 40) Levin MP, Getter L, Cutright DE et al. Biodegradable ceramic in periodontal defects. Oral Surg 38: 344-351, 1974.
- 41) 三枝樹明道, 河合達志, 石博一博ほか. 骨形成因子結合 β -リン酸 3 カルシウムの骨形成能について. 歯材器 8: 224-230, 1989.
- 42) 伊藤充雄, 新納 亨, 森 厚二ほか. 生体材料に関する研究 (その 5) β 型リン酸 3 カルシウムをキトサンで練和した骨補填材について. 歯材器 13: 9-16, 1994.

著者連絡先: 齋藤 友希

〒145-8515 東京都大田区北千束 2-1-1

TEL: 03-3787-1151 (内線 295)

FAX: 03-3787-6774

Application of Polyelectrolyte Complex and Hydroxyapatite, β -Tricalcium Phosphate Hybrid to Bone Tissue Reconstruction

Saitoh Yūki

The Department of Removable Prosthodontics, Showa University School of Dentistry

J Jpn Prosthodont Soc 47 : 272-281, 2003

ABSTRACT

Purpose : Absorption of the alveolar bone following the loss of teeth causes high absorption and reduction of the edentulous ridge hinders the recovery of stomatognathic function such as masticatory function, pronunciation and esthetics, and has a considerable influence on the maintenance and stability of the denture base after prosthesis. Therefore, control of absorption or reconstruction of alveolar bones after the loss of teeth is an important issue for the recovery of stomatognathic function. We made a hybrid body of hydroxyapatite (HAP) and β -tricalcium phosphate (β -TCP) granulation and polyelectrolyte complex (PEC) (HAP-PEC, β -TCP-PEC hybrid body) and carried out an experimental study using adult dogs in order to prevent diffusion and leakage of biomaterials by using PEC and to develop bone paste for early bone reconstruction.

Methods : After making osseous defects in the mandibular bone of adult dogs, we filled the osseous defects with HAP-PEC, β -TCP-PEC hybrid bodies, and compared and examined them in two, four and six weeks, based on roentgenographic and histological findings.

Results : In the roentgenographic finding, diffusion or leakage of granulation was not observed in these hybrid bodies. In the histological finding, an increase in the formation of bone regeneration in each hybrid body was observed at two, four and six weeks, compared with the control, and increase was greater. At six weeks, the osseous defects had nearly recovered to the original form. An absorption image of granulation was also observed in the β -TCP-PEC hybrid bodies in the six-week cases.

Conclusions : It was suggested that the HAP-PEC, β -TCP-PEC hybrid body is extremely effective for the reconstruction of jaw bone.

Key words

reconstruction, polyelectrolyte complex, hydroxyapatite, β -tricalcium phosphate