原著論文

ラットにおける rhBMP-2 の担体として用いた β -TCP の評価

高瀬 一郎* 渡邊 文彦*** 畑 好昭*

Assessment of β -TCP used for the Carrier of rhBMP-2 in Rat

Takase Ichiro*, Watanabe Fumihiko*** and Hata Yoshiaki*

歯科補綴学的意義

骨形成因子と人工材料（担体）複合体による骨造成は任意の部位に骨誘導を与え、また誘導したい箇所に形成因子をとどめることができる。このことは、インプラント適応症の拡大を促し、その後に行われる補綴処置にとっても選択の幅が広がる。本研究は、担体としての β -TCP (β -tricalcium phosphate) ブロックの有用性について組織形態的検討を行った。その結果は顎堤形態回復の可能性を示唆し、歯科補綴学的に意義のあるものとする。

抄 録

目的：本研究は、骨形成因子 recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) の担体として2種の異なる気孔率を有する β -リン酸三カルシウム (β -TCP) ブロックの有効性と骨形成について、組織形態的に検討することである。

方法：10週齢SD系雌性ラットを使用し、頭頂部に切開を加え、骨膜ごと剥離し頭頂骨を露出させ、1. 気孔率60% β -TCP 単独 (60 TCP), 2. 気孔率60% β -TCP に rhBMP-2 含浸 (60 TCP+BMP), 3. 気孔率75% β -TCP 単独 (75 TCP), 4. 気孔率75% β -TCP に rhBMP-2 含浸 (75 TCP+BMP) の4条件で、rhBMP-2 含浸群には β -TCP 1 cm³ あたり 0.2 mg の割合となるよう含浸後填入した。観察期間は2週、4週とし、屠殺後、非脱灰研磨標本作製し、組織形態的に観察した。

結果：60 TCP, 75 TCP 群は新生骨形成を認めず、60 TCP+BMP, 75 TCP+BMP 群は新生骨形成を認めた。また、 β -TCP の吸収は、気孔率75% β -TCP ブロックのほうが早かった。

考察：60 TCP+BMP, 75 TCP+BMP 群の新生骨形成は、複合体作製が可能で β -TCP ブロックが rhBMP-2 を保持、徐放したと考えられ、担体としての有用性が示唆された。よって rhBMP-2 と β -TCP の複合体は、骨欠損部の回復の可能性をもつと期待できる。

和文キーワード

β -tricalcium phosphate, 担体, 骨造成, Bone morphogenetic protein, ティッシュエンジニアリング

*日本歯科大学新潟歯学部歯科補綴学第2講座

**日本歯科大学新潟歯学部先端研究センター

*Department of Crown and Bridge Prosthodontics, The Nippon Dental University School of Dentistry at Niigata

**Department of Advanced Research Center, The Nippon Dental University School of Dentistry at Niigata

受付：2003年2月12日/受理：2003年6月3日

Received on February 12, 2003/Accepted on June 3, 2003

I. 緒 言

近年、骨造成術や上顎洞底挙上手術などの併用によるインプラント適応の拡大に伴い、骨造成が要求されている^{1,2)}。骨造成には、採取した自家骨が利用されることが多いが、採取部への侵襲や採取量に限界がある。一方、骨補填材にはハイドロキシアパタイト (HA)、生体活性ガラス、脱灰凍結乾燥骨など³⁾があるが、現状では骨形成量、形成能など不明な点を残している^{4,5)}。このことから、生体為害性のない材料の開発や骨形成因子を応用した骨造成法および組織再生法が検討されている。

骨形成因子は、1965 年 Urist により発見された骨形成蛋白 (Bone morphogenetic protein: BMP)⁶⁾ が、1988 年 Wozney らによって Transforming growth factor- β (TGF- β) スーパーファミリーに属することが明らかにされた⁷⁾。さらに、Wang らは組換え型 BMP (Recombinant human BMP: rhBMP) の合成を可能とした⁸⁾。Fleet らは、rhBMP の骨形成量をラットの週齢と比較し、老齢では少なくなることを示した⁹⁾。Wang らは、rat BMP のホモロジーが human BMP にほぼ一致し相同性が高いことから、埋入物あたりの rhBMP-2 使用量を比較し、量が多いほど骨形成が早期に起こるとしている⁸⁾。臨床的には、BMP は骨折や抜歯後の骨形成促進作用があり¹⁰⁾、rhBMP-2 を上顎洞挙上手術に併用し、インプラント埋入可能な骨形成を認めている¹¹⁾。しかし、BMP を単独で局所に作用させても、短時間に拡散するため、担体が必要である^{12,13)}。担体は毒性、発癌性、抗原性、起炎性がなく、生体内分解性で、加工、成形が容易で、量産、大量入手が可能などの条件¹⁴⁾を有することが必要で、現在ポリ乳酸ポリグルコール酸共重合体¹⁰⁾や吸収性コラーゲンスポンジ¹⁵⁾が主に使用されている。しかし、これらの顎堤造成への応用には、強度、成形性に不安がある。また、人工材料と骨形成因子の組合せは、使用前にあらかじめ複合体として準備し、使用されているが、臨床では簡便に使用できることが求められる。

β -リン酸三カルシウム (β -TCP) は、整形外科や歯周領域^{16,17)}に用いられ、多孔性のブロックにすることで強度が得られる。 β -TCP ブロック (以下、ブ

ロックと略す) は、骨内で新生骨が入り込むことにより、HA に比べて骨の強度が増し¹⁸⁾、骨形成の核となり、リモデリングにより吸収される¹⁵⁾。ラットによる研究では、ブロックが培養人工骨再生の足場を提供し、吸収速度は骨組織再生を妨げないことが示されている¹⁹⁾。

β -TCP と BMP 複合体に関する研究では、 β -TCP に BMP を吸着、凍結乾燥させた複合体で筋肉内に異所性の骨形成を示している²⁰⁾。以上のことから、 β -TCP に rhBMP-2 を含浸させるだけで、ブロックが担体としての役割をはたすことが可能か、その複合体を即時に使用することで骨の形成が起こるのかは不明である。

本研究の目的は、担体として 2 種の異なる気孔率のブロックに rhBMP-2 を含浸した複合体を作製し、ブロックとしての担体の有効性と、即時埋入による骨形成について組織形態的に検討することである。

II. 研究方法

1. 実験材料

骨形成因子に rhBMP-2 (山之内製薬)、担体に β -TCP 粉末に界面活性剤を加えたスラリーを調製し、発泡させ乾燥、焼成により作製した多孔性 β -TCP ブロック (オリンパス光学) を用いた。担体は直径 4 mm、高さ 2 mm の円柱で、気孔率 60%、気孔径 100~200 μ m、圧縮強さ約 15 MPa と気孔率 75%、気孔径 100~400 μ m、圧縮強さ約 2 MPa の 2 種類 (図 1 a~c) を用いた。

2. 実験動物

生後 8 週齢 SD 系雌性ラット (体重 220 g 前後) 48 匹を用い、2 週間飼育後、異常を認めない 10 週齢群を実験に供した。実験期間中はラット用固形飼料、水自由摂取、自由運動可能な環境下で飼育した。

3. 実験方法

ラットはエーテル吸入後、ペントバルビタール (ネンブタール[®], 大日本製薬) 腹腔内麻酔を体重 100 g あたり 0.08 ml の割合で行ったのち、頭頂部を剃毛し、切開 (図 2) を加え、骨膜ごと剝離、頭頂骨を露出させ、以下の条件で 12 匹ずつ、計 48 匹に埋入し緊

図 1 Carrier's materials

a : β -TCP block, b : SEM photograph of 60% β -TCP block, c : SEM photograph of 75% β -TCP block
担体として使用した材料

a : β -TCP ブロック, b : 60% β -TCP ブロック SEM 像 $\times 40$, c : 75% β -TCP ブロック SEM 像 $\times 40$

図 2 Incision line in rat parietal

→ : Incision line
ラット頭頂部切開線
→ : 切開線

密に縫合した。

- 1) 気孔率 60% β -TCP ブロック単独 (60 TCP)
- 2) 気孔率 60% β -TCP ブロックに rhBMP-2 含浸 (60 TCP+BMP)
- 3) 気孔率 75% β -TCP ブロック単独 (75 TCP)
- 4) 気孔率 75% β -TCP ブロックに rhBMP-2 含浸 (75 TCP+BMP)

複合体作製は、rhBMP-2 量が β -TCP 1 cm³ あたり 0.2 mg の割合となるようにマイクロピペットで採取し、ブロック上面中央より滴下、含浸させ、ただちに含浸面が頭頂骨面に接触するよう埋入した。観察は埋入 2 週と 4 週後とし、各条件 12 匹を埋入 2 週群 6 匹、埋入 4 週群 6 匹とした。ただし、埋入 4 週 75 TCP 群は観察期間中 1 匹の死亡により観察数は 5 匹である。観察終了後は、エーテルの過麻酔により屠

殺、頭頂骨とともに摘出し、ホルマリン固定後、通法に従って樹脂包埋したのち、ブロックを含むように前頭断で厚さ約 50 μ m に薄切した。研磨後、Contact microradiogram (CMR) を撮影し、H-E 染色後、光学顕微鏡下で組織形態的に観察した。なお、本実験は日本歯科大学新潟歯学部動物舎倫理委員会の承認を受けている。

III. 結 果

1. 頭蓋摘出時肉眼的観察

埋入 2 週、4 週後のブロック頭部残存数と残存状態は、60 TCP+BMP および 75 TCP+BMP 群ですべてに残存、埋入 2 週 60 TCP 群は 6 匹中 3 匹、75 TCP 群は 6 匹中 4 匹に残存、埋入 4 週 60 TCP 群は 6 匹中 4 匹、75 TCP 群は 5 匹中 2 匹に残存していた。60 TCP+BMP および 75 TCP+BMP 群のブロックはすべて頭部に固定され、60 TCP および 75 TCP 群のブロックはすべて固定されていなかった (表 1)。

2. 組織形態的观察

1) 60 TCP 群, 75 TCP 群

新生骨形成はみられず、ブロックが頭頂骨と接する像もなかった。また、ブロック周囲に線維性結合組織がみられた。埋入 2 週後では 75 TCP 群に、埋入 4 週後には両群にブロック吸収がみられた (図 3, 6)。

2) 60 TCP+BMP 群

(1) 埋入 2 週後の所見

頭頂骨に接する新生骨はブロック周囲には接してい

表 1 The detected number of β -TCP block on the cranium including fixed to it (2 weeks and 4 weeks after operation)
頭部の β -TCP ブロック残存数と固定数 (埋入 2 週, 4 週後)

	No. of animals		No. of survival		No. of fixation	
	2 w	4 w	2 w	4 w	2 w	4 w
60 TCP+BMP	6	6	6	6	6	6
60 TCP	6	6	3	4	0	0
75 TCP+BMP	6	6	6	6	6	6
75 TCP	6	5	4	2	0	0

ないが、取り囲むように形成していた。またブロック上部の骨膜由来と思われる骨形成もみられた (図 4)。

(2) 埋入 4 週後の所見

埋入 2 週後に比べて新生骨形成が増加し、ブロックに接し、ブロック下部と頭頂骨間の結合も密になった。また、ブロック周囲はやや吸収され、新生骨と置換する像もみられた (図 5)。

3) 75 TCP+BMP 群

(1) 埋入 2 週後の所見

頭頂骨に接する新生骨形成が広くみられ、ブロックに接しないものの新生骨が取り囲むように形成していた。また、ブロックは周囲から吸収され、新生骨と置換していた。(図 7)。

(2) 埋入 4 週後の所見

埋入 2 週後に比べて新生骨形成が増加し、ブロックを取り囲むように形成され、ブロック下部と頭頂骨の間も新生骨による結合がみられた。また、ブロックの吸収が進み、新生骨と置換し気孔内に新生骨がみられた (図 8)。

IV. 考 察

1. 研究方法について

実験材料について、担体のブロックは周囲組織との親和性が良好で、吸収性である¹⁹⁾ことが、為害性のないことを示し、生体への応用に適している。また、気孔率については 75% ブロックがすでに整形外科領域で臨床応用されている材料であり、硬さを増すために、気孔径を約半分にした 60% ブロックを用いることで、気孔率の違いによる新生骨形成の違いを比較で

きると考えた。

rhBMP-2 は使用量が明確でないのが現状で、ポリ乳酸ポリグルコール酸共重合体との複合体では、ウサギの骨折癒合不全モデルで、骨折部位に BMP 量が 1 cm³ あたり 0.1 mg で骨形成を認め、0.4, 1 mg と増加するにしたがって骨折部の癒合率が上昇、用量依存性がある¹⁴⁾。また、コラーゲンスポンジとの複合体では、ラットの頭頂骨に移植したモデルにおいては、BMP 量が 100 μ l 中に 10 μ g で骨形成が認められている¹⁵⁾。これより、複合体の rhBMP 量を埋入時に rhBMP-2 の必要十分な量として、 β -TCP 1 cm³ あたり 0.2 mg とした。

実験動物は、加齢による BMP 誘導骨の減少²¹⁾と幼弱期ラットの旺盛な成長発育を考慮し、10 週齢ラットを選択した。

実験方法は、rhBMP-2 の体内残存期間が血流量に影響を受け、約 3~7 日といわれている²²⁾ことから、複合体をとどめるために極力血流の少ない頭頂骨骨膜下に埋入した。口腔内とは異なる環境であるが、顎骨に複合体を置くだけで骨造成を可能とすることを想定して、血流が少ない平坦な広い面が得られる頭頂骨を選択した。観察期間は埋入後 2 週と 4 週とし、初期の骨形成を観察することが可能と考えた。埋入方法は、rhBMP-2 をブロックに含浸させた即時埋入する方法をとった。これは臨床応用で求められる簡便さを考慮したものであり、急遽使用にも対応可能と考える。

2. 結果について

1) 頭蓋摘出時肉眼的観察

rhBMP-2 含浸群は、気孔率に関係なくすべてが頭部に残存し、固定され骨形成があると考えられた。一方、ブロック単独群は頭部から観察期間中に自然脱落しているものがあり、骨結合や骨形成がないと考えられた。

2) 組織形態的観察

(1) β -TCP ブロック単独群について

いずれの条件でも新生骨形成はみられず、ブロックを結合組織が取り巻くことから、 β -TCP には骨形成能はないといえる^{19,20)}。60 TCP は埋入 4 週後、75 TCP は埋入 2 週後にブロック周囲から吸収、結合組織の侵入がみられた。これはブロック気孔率の違いによる吸収速度の差により生じやすくなるものと考え

る。よって気孔径の小さい 60 TCP は内部への組織侵入は起こりにくいことを示唆する。単独群では炎症などの所見はなく β -TCP の生体為害性はないといえる。

(2) rhBMP-2 含浸群について

rhBMP-2 含浸群においては、気孔率にかかわらず新生骨形成がみられた。60 TCP+BMP 群は、埋入 2 週後でブロックに接しない新生骨や頭頂骨側からの新生骨がみられるが、rhBMP-2 が骨膜や骨面に作用したものと考えられる。また、埋入 4 週後の新生骨形成増加は rhBMP-2 の徐放が続いたものと考えられる。ブロック周囲の新生骨被覆は rhBMP-2 の徐放の可能性を示唆している。75 TCP+BMP 群の埋入 2 週後の新生骨形成は 60 TCP+BMP 群と比較して大きな違いはないが、ブロック単独群と同様にブロックの吸収は大きかった。埋入 4 週後ではブロック周囲に新生骨が形成され、ブロックが核となっていると考えられる²³⁾。

ブロック吸収は Groot²⁴⁾, Jarcho²⁵⁾, 清水²⁶⁾らが生体内でカルシウム塩の溶解による液媒介プロセスと、細胞貪食による細胞媒介プロセスによって起こるとし、小澤は液媒介プロセスを「溶出」、細胞媒介プロセスを「吸収」とし、初期に起こるブロックの形態変化はこれら 2 つのプロセスにより進むとしている²³⁾。ブロックを骨膜下に埋入すると、周囲との濃度差により β -TCP が「溶出」し、細胞が入り込み貪食され「吸収」することでブロックが周囲から吸収し、形態が変化していることを説明できる。また、BMP 含浸群で吸収が早いことは、BMP が細胞の活動と骨形成を促すためと考えられる。

これより、rhBMP-2 含浸ブロックは rhBMP-2 を保持、徐放し、新生骨形成に大きな役割をもつといえる。

(3) 担体として使用した β -TCP ブロックについて

気孔径について、多孔体に骨が侵入するには 100 μm 以上の気孔径が必要であるといわれている^{27,28)}。今回用いたブロックは、骨新生に対し十分な気孔径があるといえる。気孔率の違いからは、気孔率 60% β -TCP ブロックに比べて、75% ブロックでは吸収速度が速く、新生骨がブロック内部へ侵入、骨との置換が起こりやすい傾向にあるといえる。しかし、臨床応用には口腔内環境を考えると、ある程度の硬さ

が要求され、圧縮強度は気孔径が大きいほど脆弱となり、咀嚼圧や食塊の移動がある口腔内では加工性、成形性などの点から気孔率 60% β -TCP ブロックが使用しやすい。しかし、骨造成には気孔率の高いほうが有利であり、使い分けについてはさらに検討が必要である。

β -TCP ブロックは、rhBMP-2 の滴下による含浸で新生骨形成がみられたことは、一定期間ブロック内に rhBMP-2 を保持し、徐放した結果といえる。

V. 結 論

ラット頭頂骨骨膜下において、担体に β -TCP ブロック、骨形成因子に rhBMP-2 を用い、担体としての有効性と骨形成について組織形態的に検討し、以下の結論を得た。

1. β -TCP に rhBMP-2 含浸の任意形状複合体作製が可能であった。
2. 複合体から rhBMP-2 が徐放されることが示唆された。
3. β -TCP 単独群では骨形成を認めないのに対し、rhBMP-2 含浸群では新生骨形成を認め、とくに 75 TCP+BMP で著明であった。

以上のことから、 β -TCP が rhBMP-2 の担体として有用であることが示唆された。

稿を終えるにあたり、rhBMP-2 を供与頂きました山之内製薬、rhBMP-2 研究会、 β -TCP を供与頂きましたオリンパス光学工業、終始ご教示を頂きました日本歯科大学新潟歯学部口腔解剖学第 2 講座 吉江紀夫教授、同歯科薬理学講座 中村康則講師に心から感謝の意を表すとともに、ご協力くださいました諸先生方に厚くお礼申し上げます。

本研究の内容の一部は、第 106 回日本補綴歯科学会学術大会 (平成 13 年 10 月 26 日、盛岡) において発表した。

文 献

- 1) Peleg M, Mazor Z, Garg AK. Augmentation grafting of the maxillary sinus and simultaneous implant placement in patients with 3 to 5 mm of residual alveolar bone height. *Int J Oral Maxillofac Implants* 14: 549-556, 1999.
- 2) Widmark G, Andersson B, Carlsson GE et al. Rehabilitation of patients with severely resorbed maxillae by

- means of implants with or without bone grafts : A 3- to 5-year follow-up clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 16 : 73-79, 2001.
- 3) Ruhaimi KA. Bone graft substitutes : A comparative qualitative histologic review of current osteoconductive grafting materials. *Int J Oral Maxillofac Implants* 16 : 105-114, 2001.
- 4) Hurzeler MB, Kohal RJ, Naghshbandi J et al. Evaluation of a new bioresorbable barrier to facilitate guided bone regeneration around exposed implant threads. *Int J Oral Maxillofac Surg* 27 : 315-320, 1998.
- 5) Yildirim M, Spiekermann H, Biesterfeld S et al. Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss in combination with venous blood. *Clin Oral Impl Res* 11 : 217-229, 2000.
- 6) Urist MR. Bone formation by autoinduction. *Science* 150 : 893-899, 1965.
- 7) Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ et al. Novel regulators of bone formation : Molecular clones and activities. *Science* 242 : 1528-1534, 1988.
- 8) Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS et al. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 87 : 2220-2224, 1990.
- 9) Fleet JC, Cashman K, Cox K et al. The effects of aging on the bone inductive activity of recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Endocrinology* 137 : 4605-4610, 1996.
- 10) Matin K, Nakamura H, Irie K et al. Impact of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on residual ridge resorption after tooth extraction : An experimental study in the rat. *Int J Oral Maxillofac Implants* 16 : 400-411, 2001.
- 11) Boyne PJ, Marx RE, Nevins M et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodont Rest Dent* 17 : 11-25, 1997.
- 12) Takaoka K, Nakahara H, Yoshikawa H et al. Ectopic bone induction on and in porous hydroxyapatite combined with collagen and bone morphogenetic protein. *Clin Orthop* 234 : 250-254, 1988.
- 13) Takaoka K, Koezuka M, Nakahara H. Telo peptide-depleted bovine skin collagen as a carrier for bone morphogenetic protein. *J Orthop Res* 9 : 902-907, 1991.
- 14) 高橋浩一郎. 骨形成タンパク質 (BMP) の臨床応用に向けて. *日薬理誌* 116 : 232-240, 2000.
- 15) Murata M, Maki F, Sato D et al. Bone augmentation by onlay implant using recombinant human BMP-2 and collagen on adult rat skull without periosteum. *Clin Oral Impl Res* 11 : 289-295, 2000.
- 16) 小澤正宏, 石垣正美, 有賀伸一ほか. 人工骨 (高純度 β -TCP) の臨床応用. *厚木病院医誌* 20 : 35-39, 2000.
- 17) 富井信之, 高居欣治, 大内岳彦ほか. 顎骨欠損に対する β -TCP ブロック移植術の臨床成績. *日口科誌* 45 : 491-496, 1996.
- 18) 森川 茂. 人工骨充填剤としての高純度 β -tricalcium phosphate (β -TCP) と hydroxyapatite との比較検討. *慈恵医大誌* 115 : 193-207, 2000.
- 19) 夫 才成, 日比野祥敬, 山田陽一ほか. 生体吸収性セラミックス β -TCP を足場に用いた培養人工骨に関する実験的研究. *日口外誌* 47 : 1-7, 2001.
- 20) 三枝樹明道. β -リン酸 3 カルシウム-複合体の骨形成能. *愛院大歯誌* 28 : 43-58, 1990.
- 21) Qin CL, Murata M, Nagatsuka H et al. Morphological and immunohistochemical study of ectopic bone formation induced by crude BMP in 4-week-old and 6-month-old rats. *日口腔インプラント誌* 10 : 288-295, 1997.
- 22) 和田圭祐. rhBMP-2 による硬組織の再生—歯科領域における応用の可能性—. 末次恒夫, 松本直之監修, 先端医療シリーズ・歯科医学 1 歯科インプラント 272-279, 東京 : 先端医療研究所, 2000.
- 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的研究. *生体材料* 13 : 167-175, 1995.
- 24) Groot KD. Bioceramics consisting of calcium phosphate salts. *Biomaterials* 1 : 47-50, 1980.
- 25) Jarcho M. Calcium phosphate ceramic as hard tissue prosthetics. *Clin Orthop* 157 : 259-278, 1981.
- 26) 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. *日歯周誌* 28 : 79-86, 1985.
- 27) 高木幸人. 合成ハイドロキシアパタイトの骨膜下 Onlay Graft に関する実験的研究. *東北大歯誌* 4 : 135-151, 1985.
- 28) 高岡克典. ウサギ頭頂骨に設置したチタンキャップ内の骨造成に及ぼす β -リン酸三カルシウムの影響. *日歯保存誌* 44 : 115-123, 2001.

著者連絡先 : 高瀬 一郎

〒951-8580 新潟県新潟市浜浦町 1-8

TEL : 025-267-1500 (内線 311)

FAX : 025-231-0231

E-mail : takase@ngt.ndu.ac.jp

—図の説明—

- 図 3 60 TCP histomorphological view 2 weeks after operation
 a : CMR×6, b : Hematoxylin and eosin stain×6
 B : Parietal bone, T : β -TCP block, ★ : Connective tissue
 60 TCP 埋入 2 週後の組織形態的所見
 a : CMR 像×6, b : H-E 染色像×6
 B : 頭頂骨, T : β -TCP ブロック, ★ : 結合組織
- 図 4 60 TCP+BMP histomorphological view 2 weeks after operation
 a : CMR×6, b : Hematoxylin and eosin stain×6, c : CMR×22,
 d : Hematoxylin and eosin stain×22
 B : Parietal bone, T : β -TCP block, → : New bone
 60 TCP+BMP 埋入 2 週後の組織形態的所見
 a : CMR 像×6, b : H-E 染色像×6, c : CMR 像×22, d : H-E
 染色像×22
 B : 頭頂骨, T : β -TCP ブロック, → : 新生骨
- 図 5 60 TCP+BMP histomorphological view 4 weeks after operation
 a : CMR×6, b : Hematoxylin and eosin stain×6, c : CMR×22,
 d : Hematoxylin and eosin stain×22
 B : Parietal bone, T : β -TCP block, → : New bone
 60 TCP+BMP 埋入 4 週後の組織形態的所見
 a : CMR 像×6, b : H-E 染色像×6, c : CMR 像×22, d : H-E
 染色像×22
 B : 頭頂骨, T : β -TCP ブロック, → : 新生骨
- 図 6 75 TCP histomorphological view 2 weeks after operation
 a : CMR×6, b : Hematoxylin and eosin stain×6
 B : Parietal bone, T : β -TCP block, ★ : Connective tissue
 75 TCP 埋入 2 週後の組織形態的所見
 a : CMR 像×6, b : H-E 染色像×6
 B : 頭頂骨, T : β -TCP ブロック, ★ : 結合組織
- 図 7 75 TCP+BMP histomorphological view 2 weeks after operation
 a : CMR×6, b : Hematoxylin and eosin stain×6, c : CMR×22,
 d : Hematoxylin and eosin stain×22
 B : Parietal bone, T : β -TCP block, → : New bone
 75 TCP+BMP 埋入 2 週後の組織形態的所見
 a : CMR 像×6, b : H-E 染色像×6, c : CMR 像×22, d : H-E
 染色像×22
 B : 頭頂骨, T : β -TCP ブロック, → : 新生骨
- 図 8 75 TCP+BMP histomorphological view 4 weeks after operation
 a : CMR×6, b : Hematoxylin and eosin stain×6, c : CMR×22,
 d : Hematoxylin and eosin stain×22
 B : Parietal bone, T : β -TCP block, → : New bone
 75 TCP+BMP 埋入 4 週後の組織形態的所見
 a : CMR 像×6, b : H-E 染色像×6, c : CMR 像×22, d : H-E
 染色像×22
 B : 頭頂骨, T : β -TCP ブロック, → : 新生骨

図 3

図 4

図 5

図 6

図 7

図 8

Assessment of β -TCP used for the Carrier of rhBMP-2 in Rat

Takase Ichiro*, Watanabe Fumihiko*** and Hata Yoshiaki*

*Department of Crown and Bridge Prosthodontics, The Nippon Dental University
School of Dentistry at Niigata

**Department of Advanced Research Center, The Nippon Dental University
School of Dentistry at Niigata

J Jpn Prosthodont Soc 47 : 662-670, 2003

ABSTRACT

Purpose : In this study, the authors histomorphologically investigated the usefulness of porous β -tricalcium phosphate (β -TCP) block with two different pore rates as a carrier of bone formation factor, recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2), and bone formation.

Methods : Using 10-week-old female SD rats, the parietal region was incised, and the periosteum was exfoliated to expose the parietal bone. The following four conditions were established : 1. β -TCP alone with a pore rate of 60% (60 TCP) ; 2. rhBMP-2 was immersed in β -TCP with a pore rate of 60% (60 TCP+BMP) ; 3. β -TCP alone with a pore rate of 75% (75 TCP) ; and 4. rhBMP-2 was immersed in β -TCP with a pore rate of 75% (75 TCP+BMP). In the 60 TCP+BMP and 75 TCP+BMP groups, 0.2 mg/cm³ β -TCP was added to rhBMP-2. The follow-up period was established at 2 and 4 weeks. After the animals were sacrificed, nondecalcified polished specimens were prepared for histomorphological investigation.

Results : In the 60 TCP and 75 TCP groups, no neogenetic bone formation was detected. In the 60 TCP+BMP and 75 TCP+BMP groups, neogenetic bone formation was observed. Furthermore, β -TCP with a pore rate of 75% showed more rapid absorption.

Conclusions : In the 60 TCP and 75 TCP groups, neogenetic bone formation was observed, suggesting that a complex can be prepared and that β -TCP block facilitates maintaining and gradually releasing rhBMP-2, thus β -TCP block may be a useful carrier. Therefore, treatment with β -TCP block may improve bone defects.

Key words

β -tricalcium phosphate, carrier, bone augmentation, bone morphogenetic protein, tissue engineering