411 ホタテ貝炭酸カルシウムを利用した骨補填材の開発

The Development of Bone Augmentation by Gelatin and Calcium Carbonate of Scallop Shell Composite

○正 新井田 淳 (北医療大) 正 但野 茂 (北大工) 正 東藤 正浩 (北大工)
非 越智 守生 (北医療大) 非 廣瀬 由紀人 (北医療大)

Atushi NIIDA, Health Sciences University of Hokkaido, Toubetsu, Hokkaido, Japan
Shigeru TADANO, Graduate School of Engineering, Hokkaido University
Masahiro TODOH, Graduate School of Engineering, Hokkaido University
Morio OCHI, Health Sciences University of Hokkaido
Yukito HIROSE, Health Sciences University of Hokkaido

Key Words: Calcium Carbonate, Gelatin, Biomaterials, Scallop Shell

1. 緒 言

今日、歯科領域での骨欠損症例、および口腔インプラント埋入治療において骨補填材（人工骨）が用いられている。人工骨を用いられている理由は、骨欠損部の大きさにより自家骨での骨補填が難しい場合があるため、骨欠損部を人工骨での補填を行ない骨幅や高さの回復をはかり骨増生することにある。口腔インプラント治療においては、口腔インプラントを埋入する際、下顎に対しては骨幅の増生、上顎に対しては上顎洞の挙上、および埋入したインプラントのスレット部の露出の補填に対し用いられている。主に用いられている材料（人工骨）は、ハイドロキシアパタイト（以下、HA）、第三リン酸カルシウム（B-TCP）によるものが大半である。また、HA、B-TCP およびコラーゲンの3種類以外に凍結脱灰乾燥骨もあるが、凍結脱灰乾燥骨はヒトあるいは牛の骨であり BSE 問題で使用が控えられている。そのため HA、B-TCP が主に用いられているが、HA は生体に吸収されず、B-TCP は生体吸収され骨と置換されるが、HA 同様顆粒状であるため、賦形性が悪く操作性に劣る。

コラーゲンは、抗原性が比較的弱いことが知られているが、免疫原性を示すテロペプチドを酵素的に切断したアテロコラーゲンとして作製し抗原性をさらに低くして医療用として使用されている¹⁾。ゼラチンは、このコラーゲンを熱変性させて得られ、抗原性が低いことで知られている。しかし、コラーゲンやゼラチンは水に接触すると乾燥状態の形態を保てず容積（ボリューム）の確保が困難なため骨補填材としての利用はなされていない。そのようなものであるにもかかわらずゼラチンスポンジが止血材として長い間利用されている理由は、生体における抗原性が低く、生体吸収性が高く、安全性が高いためである。ゼラチンの低い抗原性、高い安全性である生体吸収性材料の特性を生かしたまま、同じく生体吸収性材料であり、安

全性が高い炭酸カルシウムを配合し新しい生体吸収性骨補填材として開発することを目的とした。

本研究の特色として、いままで止血剤の役割としてのみのゼラチンであるものを骨補填材としての開発および、ボリューム保持（スペースメイキング）とカルシウムの徐放による骨誘導させるため配合される化学合成ではなく生体親和性があると思われるホタテ貝炭酸カルシウムにより骨置換材として新しい材料とすることである。

2. 材料および方法

2.1 実験試料 ホタテ貝炭酸カルシウム（北海道共同石灰株式会社）の HPC-R15 を用いた。ホタテ貝炭酸カルシウムの純度は 85 % であり、その粒径は 10~20 μm で棒状ある。対して、市販の化学合成の炭酸カルシウムの粒径は、1 μm の正方形あるいは長方形であり、小さいためボリュームの確保ならびに攪拌時の操作性を考え走査型電子顕微鏡にて観察し、ゼラチンとの配合状態により、本実験では、ホタテ貝炭酸カルシウムを使用した。

ゼラチンは、ブタ皮膚より抽出された酸性ゼラチン（新田ゼラチン株式会社）でゼラチン強度 150 のものを使用した。また、ゼラチン濃度を 7 % に調節した。ホタテ貝炭酸カルシウムの濃度は、0.03 mol, 0.05 mol および 0.1 mol に調整したものと、それらに 1 % グルタルアルデヒドを添加しゼラチンに架橋を持たせたものに調整し、平型自立型チューブに 1.4 ml の調整液を注入、攪拌後、-84℃ で急速冷凍させた後、真空乾燥機（EYELA FOU-1100）させ試験片を作製した（Fig. 1）。コントロールとして、ホタテ貝炭酸カルシウムを配合していないゼラチンのみのものを使用した。

2.2 走査型電子顕微鏡による観察 コントロールであるゼラチンと市販の炭酸カルシウムおよびホタ

テ貝炭酸カルシウムとゼラチンとの配合状態を確認するため、各々の試験片を 5mm^2 の観察用に切断し、観察片とした。観察片を真空下にて $200\text{ }\mu\text{m}$ の金蒸着を行い、走査型電子顕微鏡 (SEM, スーパースキャン, 島津製作所) にて観察を行った。

2.3 圧縮試験 圧縮試験用に作製した各複合体の直径は、 $12.0\sim 13.0\text{ mm}$ 、長さ $6.0\sim 8.5\text{ mm}$ に調整した。試験には万能材料試験機 (Model4411, Instron) を用いた。クロスヘッドスピードは、 1.0 mm/min で 50% ひずみにて停止する条件で行った。

3. 結果

3.1 SEM 像 ゼラチンだけのものでは、コラーゲン様構造ではあるが、コラーゲンよりもゼラチン線維間が疎であり、線維同士の連絡が欠けている状態が観察された (Fig. 2(a))。市販の炭酸カルシウムとゼラチンとの配合では、炭酸カルシウムが均等に配分されずばらつきが多く塊っている部分とまったくない部分との差が大きいことが観察された (Fig. 2(b))。一方、ホタテ貝炭酸カルシウムでは、ある程度の均等分散されていることが確認された (Fig. 2(c))。

3.2 圧縮試験 Fig. 3(a),(b) 縦軸がホタテ貝炭酸カルシウム (以下、複合体) に対する応力値、横軸が 50% ひずみ値を示している。ヤング率では、一番値が高いものがゼラチンに 1% グルタルアルデヒド添加の 0.1 mol のもので 43.25 MPa (Fig. 3(a)) と大きく、一番低いものでゼラチンと炭酸カルシウム 0.05 mol の 8.78 MPa (Fig. 3(b)) であった。ゼラチンに 1% グルタルアルデヒド添加したものと無添加のものとの比較では、添加しているものの方が無添加のものよりも高い値を示した。

4. 考察

この結果より、 1% グルタルアルデヒド添加することによるゼラチンが架橋構造を得ることにより、ばらばらになっていたゼラチン線維同士が結合を有し、

Fig. 1 Photography of gelatin-calcium carbonate of scallop shell

Fig. 2 SEM micrograph (arrow is calcium carbonate). (a) gelatin. (b) gelatin-calcium carbonate. (c) gelatin-calcium-carbonate of scallop shell

Fig. 3 Compression testing of gelatin-calcium carbonate of scallop shell (G-CCSS). (a) G-CCSS 0.1 mol with 1% glutaraldehyde. (b) G-CCSS 0.05 mol .

弾性に寄与したためと考えられる。また、Fig. 3 で見られる 0.1 mol の複合体にグルタルアルデヒド添加でのグラフは他のどの複合体よりも極めて大きいヤング率を示したことから、機械的には最適な配合であることが示唆された。B-TCP/Collagen Sponge において、同様の結果を Matsuno らが B-TCP 0.2 g/ml の配合で報告している⁽²⁾。このことより、本複合体の機械的強度での有用性が示唆できる。

5. 結 言

本研究では、ゼラチンとホタテ貝炭酸カルシウム顆粒 0.1 mol に 1% グルタルアルデヒドを添加したものが、材料的に優れていることを示し、今後の骨補填材として機械的強度における有用性を示唆した。

参考文献

- (1) 長田義仁他, バイオメディックスハンドブック, エヌ・ティー・エス (2000), 463-466.
- (2) T. Matsuno et al., Development of B-tricalcium Phosphate/Collagen Sponge Composite for Bone Regeneration, *Dental Materials Journal*, **25**(1), (2006), 138-144.