キトサンを結合材とした自己硬化型骨形成材

伊藤 充雄

1. 緒 言

近年、食に対して世界的に注目されたことのひとつに狂牛病がある。この狂牛病問題以降、牛骨から抽出していたコラーゲンは医療用と食料用としては使用できなくなった。そこで注目されたのが魚類の皮と鱗である。現在、サケ、テラピアの皮や鱗からコラーゲンが抽出されている。とくに鱗にはコラーゲンのほかに無機質としてハイドロキシアパタイトが含有されている。これら天然素材は骨形成材としてもミネラル補給材としても有効に作用することを確認している。天然素材の中で古くから知られているのがキチンである。このキチンはエビ、カニの甲殻類と糸状菌などの菌類から抽出される天然の高分子である¹⁾。キチンを30～60%のアルカリ溶液中で加熱することにより、脱アセチル化されたキトサンが精製される。このキトサンはキチンとは異なり酸で容易に溶解することができる。また、キトサンは生体に対して抗原性が低く、生体内で糖と炭酸ガスに分解されてしまう材料である²⁾。低分子から高分子まで種類も多数製造されている。生体内では脱アセチル化度と分子数によって分解、吸収される速度が異なる。したがって、目的に適した材料の選択が必要である。

本解説は脱アセチル化度の高いキトサンを用い、ゾルゲル反応で自己硬化する骨形成材料の作製についてである。これはキトサンゾルと骨伝導材料のハイドロキシアパタイト粒子およびキトサンゾルのゲル化材を混合した粉末を練和し、3～5分で硬化する材料である。キトサンゾルはリンゴ酸で溶解して作製する。そして、架橋してゲル化させる金属酸化物（酸化亜鉛、酸化カルシウム）を添加するとともにハイドロキシアパタイト粉末を混合し合成した。この材料は生体内で吸収され骨と置換するのが特徴である。この自己硬化型骨形成材料についての諸性質を以下に報告する。

2. 材料および方法

実験には脱アセチル化度 85% (C85) と 99% (C99) のキトサン（焼津水産化学）をそれぞれ 0.1 g 用い、リンゴ酸 0.08 g、アスコルビン酸 0.02 g を 2 mL の生理食塩水中で溶解した溶液でゾルを作製した。一方、粉末は平均粒径 35 μm の球状のハイドロキシアパタイト（セキスイ化学）0.4 g、CaO 0.02 g、ZnO 0.04 g を混合した。

硬化時間の測定はエポキシの棒にキトサンゾルと粉末を練和したペーストが付着しなくなった時間を硬化時間とした。圧縮強さの測定は高さ 10 mm、直径 4 mm の金型にペーストを注入し、圧縮試験機で測定した。pH の測定は 12 g の硬化体を 80 mL の生理食塩水中に浸漬し、pH メーターを用いて測定した。溶出元素の測定は pH を測定した溶液を用いて ICP により分析した。浸漬した試験片の表面観察と生体反応について検討した。

図1 pHの測定結果

図2 カルシウムの溶出量

ITO, Michio 松本歯科大学歯科理工学講座 (399-0781 塩尻市広丘郷原 1780)・教授、歯学博士。1971年 関西大学大学院工学研究科金属工学修士課程修了。専門は歯科理工学、生体材料学。

Self Hardening Osteogenesis Materials with Chitosan Bonded

図3 C99の浸漬前後の表面状態
a: 浸漬前の表面, b: 浸漬8週間後の表面

3. 結果および考察

C85の硬化時間は4分であり、C99は5分であった。両者とも練和から充填までの作業時間は十分であると考えられる。生理食塩水中に1日浸漬後のC85の圧縮強さは約13 MPaであり、C99は約3 MPaであった。7日後から両者の強さは減少し、C85は約2 MPaであり、C99は約1 MPaであった。両者とも浸漬後の強さが減少することが明らかとなった。図1にpHの測定結果を示す。C85の1日後のpHは6.5であり、7～56日後は7.5前後であった。一方、C99は1日後は6.8であり、7～56日後は7.5と両者のpHは差が認められなかった。pHが4.5以下になると細胞は死滅することや骨を破壊し、吸収する破骨細胞の活性を増すことが報告されている。したがって、硬化体のpHは早期に中性化することが望まれる。

図2は生理食塩水中に浸漬した硬化体からのCaの溶出量を示す。C85、C99ともに溶出が認められ、その差はC99の28日後を除いて大差は認められなかった。Caイオンが増加することにより、pHが増加する。また、骨を形成する骨芽細胞の活性が得られ、骨の再生が進行するものと考えられる。Pの溶出量は浸漬時間が長くなるほどわずかに増加する傾向であった。Pの溶出量が多くなると、骨吸収が生じるため少量であることが望まれる。次に、ZnについてはわずかにC85の硬化体からの溶出が多く認められた。Znは70 kgの成人で約2.3 g含まれている、その1/4から1/3は骨に含有されている。Znの毒性は健常者の4倍の血漿濃度でも毒性がないことが認められている³⁾。また、欠乏することにより骨形成ができなくなる。

図4 ラットの脛骨内におけるC99の反応
M: C99を示す, B: 新生骨を示す

図3aは生理食塩水中に浸漬する前、bは8週間浸漬したC99の表面状態である。C99の硬化体は浸漬前から空隙が多く認められており、C85より圧縮強さが小さい原因であると思われる。両者ともに浸漬後は空隙が多く認められており、この空隙は硬化体に血管が侵入し、骨芽細胞などの細胞の増殖が得られ骨が形成される。ただし、200～300 μmの血管が侵入するだけの大きさの空隙が必要である。

図4はラットの脛骨に欠損部位を作製し、C99を充填した8週間後の組織である。C99は骨を伝導し、骨と置換している結果が得られた。しかし、C85は骨伝導が得られなかった。

4. 結 論

今後は生体内で早期に骨と硬化体が置換することができる材質に改良することが必要であると考えられた。

文 献

- 1) 矢吹 稔, ほか: キチン, キトサン最後のバイオマス, 技報堂出版, 1988, p. 29
- 2) 矢吹 稔, ほか: キチン, キトサンの応用, 技報堂出版, 1990, p. 106
- 3) 桜井 弘, ほか: 生体微量元素, 廣川書店, 1994, p. 196