

学 位 論 文 題 名

Supersonic modification of a crystal surface by
partial dissolution-precipitation treatment improves
bioabsorbability of synthetic hydroxyapatite

(超音波部分溶解・再析出処理合成ハイドロキシアパタイトの生体吸収性)

学位論文内容の要旨

Even though synthetic hydroxyapatite (HAp) has a chemical composition similar to the mineral phase of bone, it is minimally absorbed and replaced by bone tissue. This could be because HAp is composed of compactly arranged apatite crystals with homogenously large grains. In this study, the surface and non-stoichiometry of synthetic HAp crystals was modified using supersonic partial dissolution-precipitation (PDP) method, and partially dissolved and precipitated HAp (PDP-HAp) was developed. PDP-HAp possessed a microstructure that differs from that of the original synthetic HAp. Nano-crystals were precipitated on the PDP-HAp grains, wherein numerous micropores and microcracks were formed. *In vivo* implantation using a rabbit bone defect model revealed that PDP-HAp was gradually absorbed and replaced by bone tissue beginning 8 weeks postsurgery, whereas HAp was not absorbed even at 16 weeks. More osteoclasts were induced in PDP-HAp than in HAp. The amount of bone formation in and around the material at 4 weeks was similar in both PDP-HAp and HAp, but it remained unchanged in PDP-HAp in contrast to its decrease in HAp at 16 weeks. Consistent with the *in vivo* results, *in vitro* osteoclastogenesis demonstrated that more osteoclasts were induced when cultured on PDP-HAp compared with HAp, indicating that PDP-HAp was absorbed through the stimulation of osteoclastic activity. These results suggest that the PDP technique may have clinical utility to modify synthetic HAp for use as a superior bone graft substitute.

学位論文審査の要旨

主査	教授	鎧	邦	芳
副査	准教授	遠	山	晴一
副査	教授	三	浪	明男
副査	教授	安	田	和則

学位論文題名

Supersonic modification of a crystal surface by partial dissolution-precipitation treatment improves bioabsorbability of synthetic hydroxyapatite

(超音波部分溶解・再析出処理合成ハイドロキシアパタイトの生体吸収性)

ハイドロキシアパタイト (HAp) は優れた生体親和性と骨伝導能を持つ人工骨であり、整形外科領域で最も広く使用されている。しかし、高温で焼成された化学合成 HAp には、生体骨の HAp とは異なり、物理化学的に安定性が高く置換が起こりにくいという欠点がある。申請者が行った研究の目的は、超音波部分溶解・再析出処理合成ハイドロキシアパタイト (PDP-HAp) の生体吸収性を評価し、骨組織補填剤としての可能性を検討することである。

申請者は、超音波部分溶解・再析出処理により HAp 表面微細構造を変化させた PDP-HAp を作製し、ウサギ大腿骨の骨欠損モデルを用いて、HAp による置換モデルと比較して生体吸収性を評価した。HAp はほとんど吸収されなかったのに対し、PDP-HAp は 4 週から 16 週の間 24% 程度吸収された。両群とも材料内部と周囲に良好な骨形成を認めたが、16 週時には PDP-HAp で骨形成が有位に多かった。材料内部の破骨細胞数は経時的に減少したが、術後 4 週では PDP-HAp において HAp より多くの破骨細胞が観察された。また、破骨細胞が材料表面を直接吸収している像も観察された。In vitro 実験では、PDP-HAp で TRAP 活性は高い傾向があり、破骨細胞に関連する遺伝子は RANKL の発現亢進に伴って上昇していた。すなわち、PDP-HAp は破骨細胞の活性を亢進させた。PDP-HAp 吸収の機序としては、破骨細胞による吸収や化学的溶解が考えられた。一方で PDP-HAp 内部には豊富な骨進入も観察されたことから、部分溶解・再析出処理は HAp の吸収と骨への置換を促す有用な材料加工技術となり得ると考えられた。

審査にあたり副査遠山准教授から PDP-HAp の吸収に関し、4 週の新脱灰組織標本の写真では、

材料の表面に破骨細胞の多数が吸着したが、材料の吸収開始は 8 週からであったことに対する質問があった。これに対し申請者は、本実験で、コントロールとしての HAp の表面に破骨細胞の吸着は多数であったが 16 週まで、吸収が観察されなかったのに対し、PDP 処理 HAp では表面微細構造の変化により吸収性が改善し 8 週から吸収された、と回答した。また、HAp の吸収には、主に二つのメカニズム、すなわち、*dissolution* と破骨細胞の吸収があると考えられているが、生体内での HAp の吸収過程は複雑で、長期間を要するであろうと答えた。次いで副査安田教授からハイドロキシアパタイトの生体力学に関する質問があった。それに対し申請者は、この研究のリミテーションの一つは生体内で PDP-HAp の力学強度の変化が調査されなかったことであるが、共同研究者赤沢の研究は、PDP 処理により HAp の強度が約 30%減少した結果をだしており、大阪大学整形外科グループの Apaceram-AX HAp の力学強度の変化に関する研究は、HAp の強度は骨欠損モデルに埋没した 1 週後に強度は低下し、2 週後から回復して、5 週には 8-10MPa に上がったことを示した、と回答した。次いで副査三浪教授から、理想的な骨代替材料に必要とされる生体吸収性に関する質問があった。申請者は、理想的には骨新生とバランスが取れた生体吸収性が必要である。例えば、 β -TCP の *in vivo* 研究では、材料の吸収が速すぎて強度を低下させた。本実験では、PDP 処理により製造された PDP-HAp は骨形成とバランスが取れた生体吸収性を持ち、骨代替材料として臨床使用が十分可能と考えられると回答した。最後に主査鑑教授から、PDP-HAp の臨床応用に関する質問があった。申請者は、PDP-HAp は圧縮強度が低く、*non-weight bearing* 骨欠損に限り臨床使用可能が高いが材料の緻密性を高めることにより、ある程度の荷重に耐用しうる予測できると回答した。いずれの質問に対しても申請者は、自己の研究結果と文献的考察に基づいて概ね妥当な回答を行った。

本研究は合成ハイドロキシアパタイトの生体吸収性の劣ることに注目し、超音波部分溶解・再析出処理技術を用いて合成ハイドロキシアパタイト(Hap)の表面微細構造を変化させ、その生体吸収性を高め、同処理合成ハイドロキシアパタイト(PDP-Hap)は骨代替材料として臨床使用が期待されることを示した。審査員一同は臨床応用が期待される有用な研究と高く評価し、大学院過程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士(医学)の学位を受ける資格を有すると判定した。