

# 微小人工骨ユニットの集積による自由な人工骨の設計と製造

## モザイク人工骨の提案

先進製造プロセス研究部門 生体機構プロセス研究グループ  
寺岡 啓

### はじめに

再生医療の台頭により、人工骨は補綴物というよりも、生命現象を積極的に享受するためのインターフェイスとして期待されるようになってきました。再生医療に込め得る人工骨として、セラミック多孔体が最も注目されています<sup>1)</sup>。

多孔質人工骨の体内における理想的な作用機序は、細胞や細胞増殖因子などの生体由来因子を気孔(細孔)内部に取り込み、組織に転化させ、最終的には材料自身が消失して生体組織に置換されることです。多孔質人工骨の気孔の形状、大きさ、分布といった幾何学的要素が骨再生速度に大きく影響を与えることは広く知られているものの、一般的な多孔体中の気孔は、さまざまな幾何学的要素で構成されているため、どの要素が骨再生に寄与しているか、その因果関係は未だに明らかになっていません。また、気孔の連通性(つながり)に関する明確な製品保証はなく、ロット間のばらつきが大きいことも問題です。さらに、多孔体に限らずセラミックスは、賦形性に制限があるな

ど、一般的に使い勝手が悪いことも、実用化を阻む大きな問題です。

私たちは、これらの問題を解決するために、“モザイク人工骨”形成法という新しい製造プロセスを開発しました。このプロセスの特徴は、1)微小な人工骨ユニットを集積化することにより、人工骨を望みの形状にデザインできる、2)集積体内部に人工骨ユニット間隙からなる連通空間ネットワークを構築できる、という点にあります。このときの連通空間の形状は、用いる人工骨ユニットの形状を選択することによって、制御することが可能です。また、骨形成を促進する構造、いわゆる“骨伝導構造”を、人工骨ユニット内部に導入することにより、人工骨ユニットを確実に機能する最小単位とすることができます。例えば、1ユニットに骨伝導構造を1つ導入した場合、モザイク人工骨には“1個/ユニット体積”の骨伝導構造分布が保証されます。モザイク人工骨形成法は、人工骨の形状と骨伝導空間構造を人工的にデザインするためのプラットフォームなのです。

### 球状アパタイトビーズを利用したモザイク人工骨の作製

ここでは、モザイク人工骨の具体的な作製方法を紹介します。モザイク人工骨は、図1に示すように、骨伝導構造として円柱状の貫通孔(約300 $\mu\text{m}$   $\phi$ )を有する球状の水酸アパタイトビーズ(以下、HAビーズと示します。約1mm  $\phi$ )を、円柱状のセル(5mm  $\phi$  × 高さ5mm)の中に充填することにより作製します<sup>2)</sup>。

球は集積時に閉鎖間隙を作らないので、ビーズ間隙と粒子内部に導入した貫通孔より構成される、いわゆる“完全連通孔ネットワーク”を構築することができます。マイクロフォーカスX線CTにより見積もったこのモザイク人工骨のマクロ気孔率は47.7 $\pm$ 1.9%でした。この完全連通孔ネットワークには、生体由来因子が容易に侵入することができるため、良好な骨形成が期待できます。また、HAビーズは注射針から比較的容易に吐出することができるため、注入療法的な手法により、モザイク人工骨を構築することも可能です。

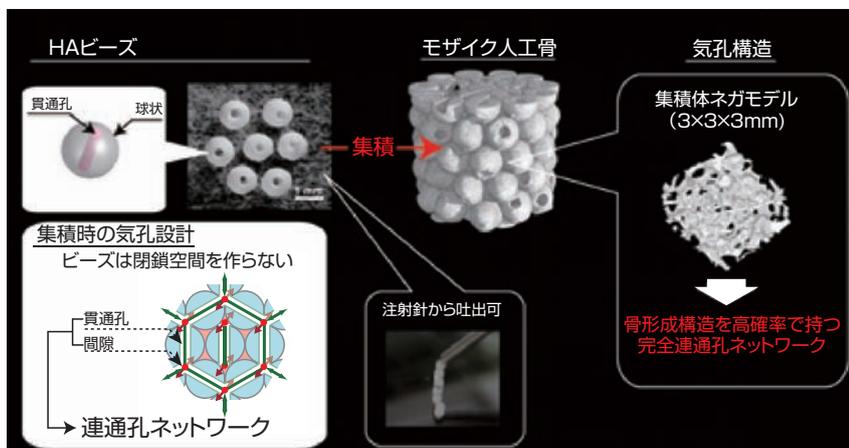


図1 球状人工骨ユニット (HA ビーズ) を利用して作製したモザイク人工骨  
HAビーズは任意の形状に集積することができ、そのとき、完全連通孔ネットワークを形成する。また、1mm  $\phi$  の HAビーズは16Gの注射針から吐出することができる。HAビーズ集積体の画像は、マイクロX線CTデータに基づく3D-CGモデルである。

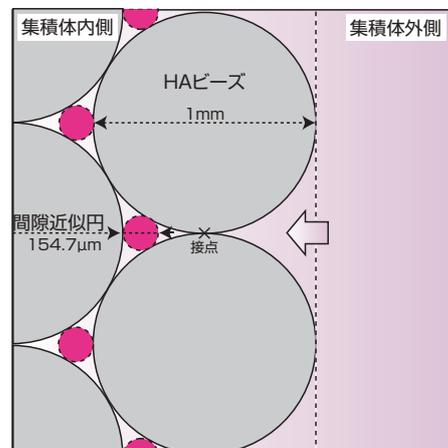


図2 直径1mm  $\phi$  のHAビーズの最密充填状態の模式図

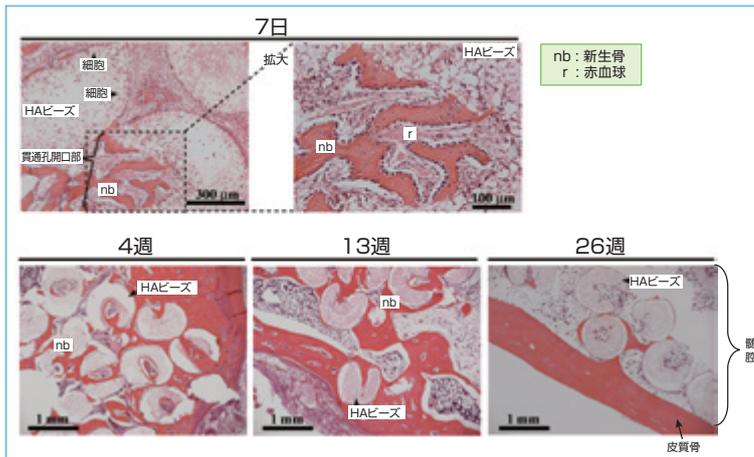


図3 貫通孔およびHAビーズ間隙の骨伝導を示す組織標本  
健康雄SPFウサギ(12週齢)の脛骨近位端に形成した直径5mmφ×高さ5mmの骨欠損部位に、HAビーズを充填することにより、ビーズ間隙と貫通孔からなる完全連通孔ネットワークを形成した。HAビーズを集積体に固定することも可能である。

このモザイク人工骨においては、貫通孔に加えて、ビーズ間隙が人工骨内マクロ空間構造の設計・解釈・理解のよりどころとなります。最密充填構造のHAビーズ間隙模式図を図2に示します。HAビーズ同士の接点に向かってだんだんすぼまっていく間隙構造が、従来の人工骨にない特徴です。また、例えば、間隙を内接する円として考えると、HAビーズ直径が1mmの場合、間隙内接円の直径は154.7μmとなります。ビーズ径を変えることにより、この間隙内接円もマクロからナノスケールで調整することができます。

HAビーズ集積体を用いて動物実験を行い、その骨伝導性を調べた結果を図3に示します。ウサギ脛骨近位端埋入7日後、貫通孔内部に骨の自然治癒過程の特徴である膜性骨化と判断できる新生骨(nb)組織と血管新生を示唆する赤血球(r)が観察されました。またHAビーズ内部でも細胞の侵入が認められました(7日)。4~13週にかけては、新生骨の形成が広範囲で認められ、特に13週後の組織には、骨髓の貫入による皮質骨と髓腔の境界が形成されつつありました。

#### HAビーズ貫通孔径の評価

前項では直径300μmの貫通孔の骨伝導機能を確認しましたが、最適貫通孔径を

示したわけではありません。研究者の間では、200~300μmがよいとされていますが本当でしょうか？

私たちは、骨再生に最適な貫通孔サイズを決定するため、HAビーズを用いて骨伝導性能を評価する手法を検討しています。貫通孔径の異なる種々のHAビーズを用いて、モデル空間を作製し、その空間内での骨伝導性を評価するものです。具体的には、細胞懸濁液に異なるサイズの貫通孔径を有するHAビーズを浸漬し、貫通孔に取りこまれる細胞数と、その後の増殖・分化の状態から、貫通孔径と骨伝導との相関関係を調べます。

これまでのところ、貫通孔径226μmφのHAビーズを用いた場合、顕著な細胞増殖が確認できました。このビーズは、浸漬後5日目に、全サンプルの中で最も高い細胞密度(細胞数/HAビーズの表面積)を記録しました。また5日間以上培養を続けた場合、貫通孔をふさぐように細胞凝集塊が形成されました(図4)。これらの結果は、直径226μmφの貫通孔内の細胞増殖が、内壁に沿う方向だけではないことを示唆しています。例えば、貫通孔内に付着した細胞が近くのもの同士で架橋し、新たな細胞増殖の足場を提供するような増殖機序を考えることができます。

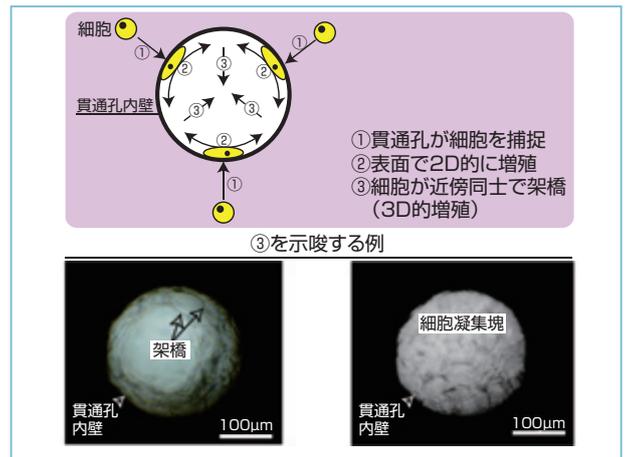


図4 貫通孔内で考えられる細胞増殖機序およびそれを示唆する貫通孔内の細胞画像

#### まとめ

「人工骨のユニット化」をコア・コンピタンスとした人工骨(モザイク人工骨)と周辺技術について、私たちの最近の研究を紹介しました。本製造プロセスによれば、人工骨を、あたかもブロックのごとく任意形状に作り上げること、および製造プロセス的に完全連通孔を保證することができます。また、本手法は、注入療法による人工骨形成へも応用することが可能です。さらに、人工骨ユニットを、気孔と骨伝導の相関を追求するための試金石として提案することができました。

再生医療の成立には多分野にわたる協力が必要ですが、とりわけ足場材料への不満が再生医療の臨床応用を遅らせているという見解に信憑性を感じます。今後、人工骨研究を通してそれらの不満に応えながら、材料開発による再生医療の発展を目指したいと考えています。

#### 参考文献

- 1) C. Klein, P. Patka and W. den Hollander, Biomaterials 10, 59-62 (1989).
- 2) K. Teraoka, Y. Yokogawa and T. Kameyama, J. Ceram. Soc. Japan, 112, 863-864 (2004).