

骨再生のテクノロジー

改訂新版

— 骨再生の概念と臨床応用 —

菅原 明喜

Akiyoshi Sugawara

ゼニス出版

I. 骨再生材料に求められる条件とは

骨再生を果たすにあたって、材料や素材に対する問題は数多く存在するが、これらの問題点を明確に示した上で検討を行った報告は極めて少ないようである。そこで、本章では骨再生を行う上で必要と思われる基本的な条件を分類し、問題点を整理して話を進めたい。

また、ここで挙げる以外の主要条件も多々存在するが、まずは骨再生材料、すなわち移植材自体に求められる基本的な必要条件を表1のように分類した。以上の条件は骨再生を果たす上で必須であり、これらの条件をすべてクリアするために様々な試みが行われているのが現状である。

骨再生材料の必要条件

表1に示すように材料自体の安全性が高く、かつ非感染性という条件を満たすことは必要最低条件である。安全性には化学的、物理的特性の問題など種々挙げられるが、基本的に生体に為害性を及ぼすものであってはならない。しかし、生物由来の材料の中には、異種蛋白の存在や感染の危険性を完全には否定できないものも現状では存在する。一般的な手法になりつつある培養骨芽細胞や Platelet-Rich Plasma (PRP: 多血小板血漿) のような自家組織(細胞や成長因子など)を直接あるいは担体材となりうる他の材料と混合して使用する場合にも、感染の危険性は皆無とは言えず、その防止対策には当然のことながら最大の注意を払わ

表1: 骨再生材料に求められる必要条件

当然ながら、他にも必要な条件は種々存在する。本章では骨再生を主に考えた場合の条件を単純化して、このような分類とした。

骨再生材料の必要条件		
● 安全性 Safety	● 保存性 Preservability	● 操作性 Handling Property
● 非流出性 Washout Resistance	● 形状賦形性 Shape-plasticity	● 形状保持性 Shape-integrity
● 生体親和性 Biocompatibility	● 骨形成性 (骨伝導性・骨誘導性) Osteoformation (Osteoconductivity・Osteoinductivity)	

ねばならない。このように感染防止の観点からも、材料は保存性を有するものである必要性がある。一般臨床における術式や材料の市場供給性を念頭に入れると、保存性は必要な条件として取り入れられるべきものであり、また、煩雑な操作性のものは術式の複雑化に直接的につながってくるので、必要時にパッケージより開封し衛生的環境下で即座に使用できるような、簡便な操作で術式を完結できるものが望ましい。また、以上の条件を満たすだけでなく、材料や素材そのものが毒性のない生体親和性に優れたものである必要性は論ずるまでもない。さらに、生体に応用した場合に骨再生が必要とされる特定部位からの流出、溶解、移動などを起こし難い非流出性のものがある必要性がある。非流出性(Washout Resistance)には流出、溶解、移動など

による喪失を伴わないものという意味がある。

以上に述べてきた条件を厳密に適用していくと、現在汎用されている材料や素材のもので、条件をクリアするものはきわめて限られている状況である。さらに骨再生を果たす上で想像以上に難しく、かつ重要なポイントは、使用材料の形状や形態に対する賦形性であり保持性であろう。

骨伝導性・誘導性に対する認識

これまでに述べてきたような種々の条件を満たした上で、はじめて生体に応用し得る材料や素材の起点（組成・成分の性質）に立てるわけであるが、現在汎用されている材料・素材であっても、厳密に先述の条件を適用していくと、骨再生材料の分類からは除かざるを得ないものがほとんどであろう。また、先述の条件をクリアし、生体に応用可能なものであっても、本質的な骨再生を果たすには、材料・素材そのものが優れた生体親和性を示した上で、骨伝導性か骨誘導性の特性を有する必要がある。そのように考えると、残念ながらほとんどの既存材料が骨再生を果たすのに適するという目的の範疇からは消去されてしまう。

表2に材料や素材に対する生体側の反応から伝導性と誘導性を分類し、両者の特性について説明した。ご存知のように、骨伝導性とは、骨と近接する状態にある材料が結合組織の介在なしに骨組織と直接結合する性質をいう。この性質に加えて近年では、既存骨より連動して材料の周囲だけではなく、場合によっては材料内部にも骨形成が起こる場合も、骨伝導性の範疇に含まれているようである。一方で、伝導性を材料に対する生体側の反応として見るのではなく、伝導性を示すものは血餅であり材料はそれをつなぎとめる素材として存在するとの見解もあったが、材料に対する分類がさらに混乱するおそれがあったので、ここでは表2に示すような性質として分類した。

表2：骨伝導性と骨誘導性について

材料や素材に対して、生体が示す反応の違いによって分類した。なお、分類で示した材料は、一般的に十分認識されているものなので略名にて記載した。

骨伝導性

骨と近接する状態にある材料が、結合組織の介在なしに骨と直接結合する性質。

骨欠損部における挙動 ▶ 既存骨と連動して材料周囲に骨形成が起こる。

● 焼結体HA ● β -TCP ● 生体活性ガラス etc.

骨誘導性

骨の存在に関係なく、異所性に骨を誘導する性質。

骨欠損部における挙動 ▶ 既存骨と連動して周囲に骨形成を誘導・促進する。

● PRP ● 培養骨芽細胞 ● BMP etc.

以上のような伝導性の性質に対して、骨誘導性とは骨の存在に関係なく異所性に骨組織を誘導する性質のことをいうが、現在ではこの元来の意味に加えて、各種成長因子などの関与によって既存骨と連動して周囲に骨形成を誘導・促進するというニュアンスで使われている場合が多いようである。すなわち、元来の意味は、材料・素材に対する生体側の反応で表しているが、現在の意味合いとしては、骨欠損部という限局した環境での反応を示している。つまり、これらの性質の現在の定義は、骨移植材などに対する骨の反応で使用されることが多く、骨伝導性は既存骨より材料に対して骨形成が行われることを示し、骨誘導性は成長因子などを含む移植材が既存骨周囲への骨を誘導するという意味で使われているようである。

この他にも骨増殖性という表現も存在するが、意味合いとしては誘導性の範疇

に含まれるものと思われるので、今回は割愛する。

さて、骨形成性とは確立した意味での表現ではないようであるが、一般的には骨伝導性か誘導性の機序によって最終的に目的とする部位に骨の形成を誘起させる性質といえる。しかし、この骨形成性に係わるメカニズムを一概に伝導性か誘導性によるものなのかを明確に区別するのは難しく、両方の性質を具備するものも報告されている。勿論これらのいずれかの性質を有していないものでは、本当の意味での骨再生は望めないわけである。

骨再生部におけるモデリングと リモデリングの必要性と問題点

本書でいう骨形成性とは、移植材料そのものが生体内で骨そのものに転化あるいは置換されることを意味している。すなわち、材料そのものが骨のモデリング（成形）素材としての役割を果たしているわけである。また、そのような性質を有するものでなければ経時的に生じてくるはずのリモデリングに対応することは難しい。この点については改めて述べるが、骨再生に用いられる移植材がいかに親和性に優れていても、単に骨代替物として存在するだけの性質であるならば、周囲の骨が経時的にリモデリングされ新しい骨に置換されていく段階で異物と見

なされ、いずれ排泄や排除あるいは結合組織による被包化に移行する可能性が大きい。従って移植材は、骨のモデリング素材となるものであり、その後生ずるリモデリング（骨改造）にも対応して成熟骨に移行するものであることが望ましいと考えられる（Column「骨のモデリングとリモデリング」参照）。

以上のような骨形成性に加えて、これまで述べてきた種々の骨再生に必要な性質を有するものであるならば、安全で確実な骨再生を果たし得る材料であるといえよう。果たしてこのような条件を有する既存の材料や素材はあるのだろうか？

培養骨芽細胞や PRP などを応用して骨再生を図るものに、術式直後の形状

の賦形性や保持性はあるのかというと、残念ながらノーである。これに担体材（Scaffold）を加えたとしても、硬化することがない限り同様の結果である。すなわち、これらの手法により再生する骨の形態、量、範囲などを事前に予想して臨床に応用することは、極めて難しいといえる。では、非吸収性ハイドロキシアパタイト（Hydroxyapatite：HA）あるいは β -Tricalcium Phosphate（TCP）のような骨伝導性を有するといわれている材料ではどうだろうか。骨欠損部に応じた理想的形状に臨床現場で調整し、即座に応用することは可能なのだろうか。また、既存骨との形状の適合性や結合性などはどうだろう。仮に骨再生が果たされた

Column

骨のモデリングとリモデリング

骨損傷部の比較的小さな欠損間隙における修復では、軟骨細胞は介在せず骨芽細胞の直接的骨形成である膜性骨化による骨形成が生じてくる。これに対して大きな欠損間隙の修復では、先に軟骨細胞による石灰化（一次骨化中心）が生じ、次いで骨芽細胞の直接的骨形成による添加性の骨形成（二次骨化中心）が起こる内軟骨性骨化による骨形成が生じてくる。

このような修復プロセスによって形成される初期の幼若骨が線維性骨（Woven Bone：WB）であり、WBが産生されるまでの形成プロセスを骨のモデリングと呼んでいる。モデリングから形成される WB は、不規則で石灰化も低く虫食い状に形成されてくるので、虫食い状骨とも呼ばれている。ところで骨膜の内側では、骨形成が既存骨の吸収から開始するのではなく、膜性骨化により直接的に骨が連続して形成されてくる。成長期の骨格も以上の様式で大きさを増していくが、このような骨形成のメカニズムもモデリ

ングの範疇に含まれている。

しかしながら線維性骨は、いずれ破骨細胞によって吸収されて規則的な構造の成熟した層板骨に置換されていくが、この部分にも時間の経過と共にいずれ骨吸収が生じて新たな骨が形成されていく。このような既存骨の吸収・形成の一連の過程から成るメカニズムをリモデリングと呼んでいるが、正常な骨では吸収と形成のバランスが取れて一定の骨量を維持しているのである。すなわち、リモデリングとは **Basic Multicellular Unit（BMU：基本多細胞単位）** あるいは **Bone Remodeling Unit（BRU：骨リモデリング単位）** と呼ばれる Cutting Cone や Closing Cone を構成する一連の細胞群によって既存骨を吸収し、次世代の骨へと置換していく経過を辿ることによって成り立っている。言い換えるならば、BMU による WB や成熟骨の吸収・置換プロセスをリモデリングというのである。（第二章「Contact Repair」の項に関連説明）

し、素材そのものは高密度の高温型 HA であるため、緻密体、多孔体、粒子（顆粒）状、粉末状等のいかなる形態に加工したとしても、破骨細胞の産生する酸によって溶解・吸収を受けることは不可能である。このような性質を有することによって、高温型 HA は生体非吸収性 HA とも称されているのである（Column「HA コーティングインプラント表面の溶解性に対する疑問」参照）。

これに対して、低温型（Low-temperature Type HA）は、Ca/P 比を 1.67 に配合した各種リン酸カルシウムや炭酸カルシウム等の混合物が、水中・体液中で徐々に HA 結晶を析出することによって産生される。このような条件で産生される HA は、基本的に微小な結晶（Nanocrystal）であり、高温型 HA に比べて低結晶性である。また、低温型 HA は、結晶析出によって硬化体を形成するものの、その空隙率は高温型 HA の焼結体に比べて極めて大きくなる。以上のような特徴を有する低温型 HA は、破骨細胞によって吸収される性質を有するので生

表 7：HA の示す多面性

HA を高温型と低温型に分類した上で、各々が示す多面性について挙げてみた。HA は生体内で非溶解性であるが、他のリン酸カルシウム（Ca-P）は全て溶解性を示す。低温型 HA は基本的に骨置換性であるが、高結晶性・高密度になると生体非吸収性を示すようになるため非置換性に転じてくる。

高温型 HA	低温型 HA
<ul style="list-style-type: none"> • 高結晶性 • 生体非吸収性 • 骨伝導性 	<ul style="list-style-type: none"> • 低結晶性 • 生体吸収性 • 骨伝導性 + 骨置換性
etc.	etc.

体吸収性 HA とも称されている。ちなみに、骨や象牙質の HA の大きさは幅 2.5 ~ 7.5nm、長さ 10 ~ 30nm 程であるが、この程度の結晶の大きさであれば多少大きさに差異はあっても破骨細胞による吸収は十分に可能である。ただし、低温型 HA であっても結晶成長に伴いエナメル質のような高密度・高結晶性になると非吸収性を示すようになっていく。

表 7 に高温型と低温型 HA を基本とした HA の示す多面性について、大まかに分類したのでご参照いただきたい。ところで、HA が生体内で示す溶解性と吸収性の特徴については、インプラントジャ

ーナル 45 号でも詳しく解説しているのでご参照いただきたい。

ところで、生体内で産生される HA 結晶は低温型であり、基本的に極く微小な針状結晶である（図 10）。また、個々の結晶自体も凝集することはなく、基本的に密度が小さく結晶性も低い HA となっている。骨や象牙質の HA の大きさは幅 2.5 ~ 7.5nm・長さ 10 ~ 30nm 程であり、結晶成長の阻害因子がほとんど存在しないエナメル質では幅 30 ~ 120nm・長さ 30 ~ 1,000nm と大きいですが、それでも 1 μ m も満たない大きさである。しかしながら、エナメル質の HA は骨や象

Column

HA コーティングインプラント表面の溶解性に対する疑問

HA の溶解について種々の報告がなされているが、生体内の環境下でインプラントコーティングに応用される高温型・高密度 HA（Sintered HA）の溶解は生じない。HA インプラント表面性状の溶解などによる変化に関する報告も、実際には溶解に起因する形状変化ではなく、むしろ結晶析出によるものと考えるのが理論的には妥当である。HA の溶解に関する報告での大きな誤解は、他のリン酸カルシウムの溶解を HA によるものと勘違いしたこと

に起因しているものと思われる。すなわち、素材に HA 以外のリン酸カルシウムが高い比率で含まれることにより溶解が生じ、この現象によって表面の形状が変化しているものと推察されるのである。

少なくとも、著者が行った HA コーティングインプラントに対する X 線解析による分析では、HA 以外のリン酸カルシウムや他の物質がかなりの率で含まれていることが判明している。

まで促進させる作用を有するものがほとんどであり、その先はさらに別の因子が介在して、最終過程まで一つの因子で促進させることはないようである。以上のように、BMPも骨芽細胞の分化に極立った働きをすることは事実であるが、骨芽細胞の分化や機能に対する全てを調整しているわけでは勿論ない。

次に、骨形成に重要な役割をする骨芽細胞と破骨細胞の関係についても簡単に触れておく(図1)。骨芽細胞は分泌型液性因子のマクロファージコロニー刺激因子(Macrophage Colony Stimulating Factor: MCSF)を恒常的に発現し、血球系単核マクロファージから破骨細胞前駆細胞、破骨細胞への分化を誘導している。同時に全身性因子(ホルモン等)や局所性因子(アミン、サイトカイン、キニン等)によって骨吸収のシグナルを受けると、骨芽細胞は細胞接触型因子のRANKL(Receptor Activator of NF- κ B Ligand)を発現し、破骨細胞前駆細胞の膜結合型受容体であるRANK(Receptor Activator of NF- κ B)と結合し、最終的には核内転写因子のNF(Nuclear Factor)- κ Bの活性化を促進させ、一般的な破骨細胞の分化のみならず細胞融合(多核化)、細胞伸展、細胞遊走、骨吸収活性化、延命などほとんどすべての機能に関与する。RANKLは骨芽細胞だけではなく、成熟骨芽細胞でも高度に発現している。

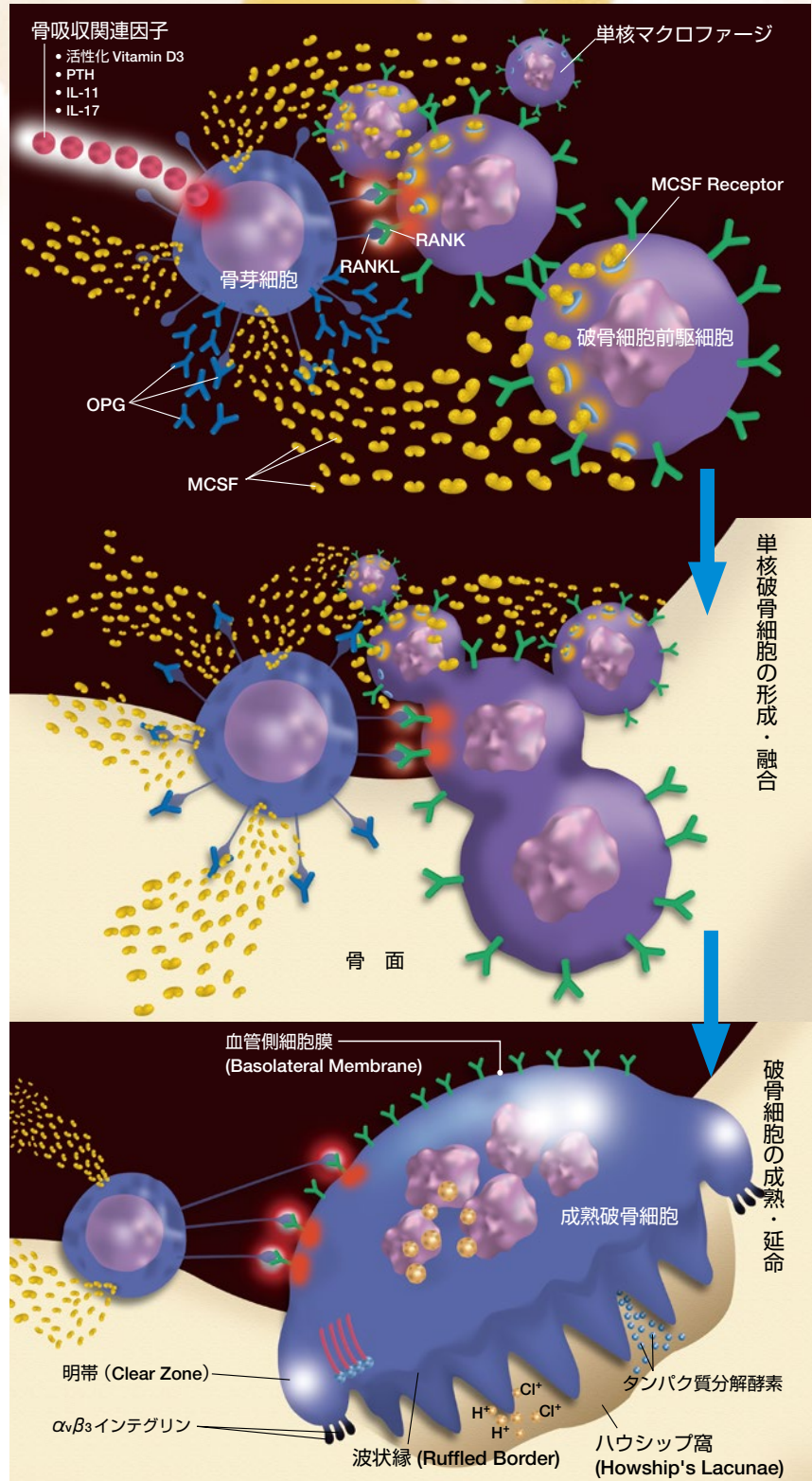


図1: 骨芽細胞の破骨細胞に対する作用

骨芽細胞が恒常的に産生する液性因子のMCSFの刺激により、単核マクロファージから破骨細胞前駆細胞が誘導されてくる。そこに骨吸収因子のシグナルを骨芽細胞が受けると、RANKLを発現し前駆細胞の受容体であるRANKと結合して、最終的に破骨細胞へと分化させる。骨芽細胞の産生するOPGは、自己の作り出す破骨細胞分化因子のRANKLと結合することにより破骨細胞形成を抑制する。

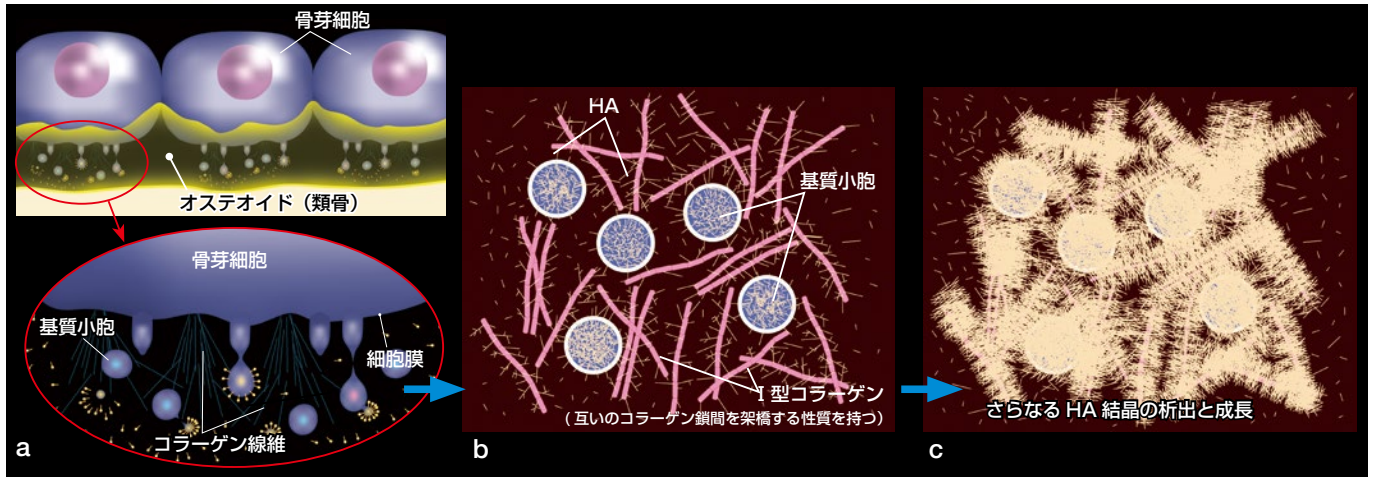


図5：骨の石灰化スキーム

- a. 骨芽細胞が産生したオステオイド（類骨）中に基質小胞は埋め込まれる。
- b. 基質小胞内で HA が結晶析出を始める。HA 結晶のさらなる析出と結晶の成長が行われてくることにより、結晶は膜外へ溢出していく。
- c. I型コラーゲンにも HA の析出が起こり、石灰化が進行していく。ALP-ase によって HA 形成の阻害物質であるピロリン酸が分解された環境下で、骨基質の石灰化は進行する。

詳細に報告されている。また、オステオイドの石灰化の速度は1日1～2μm程といわれている。

石灰化に必要なアルカリホスファターゼの作用

では、なぜ骨芽細胞が産生するオステオイドに石灰化が起こるのであろうか。骨の石灰化メカニズムには実態が不明の点もあるが、次のような過程によって行われてくるようである。すなわち、成熟骨芽細胞は活発なアルカリホスファターゼ (ALP-ase) を産生するが、ALP-ase は基質小胞のリン脂質二重膜の外膜の PI (ホスファジリノシトール) に共有結合する膜タンパクであり、他の膜貫通型のタンパクに比べて膜上を側方に容易に移動することができるため集積されやすく、膜結合部より切断 (Punch off) され可溶性の状態になって体液中に放出されていく (図6)。この

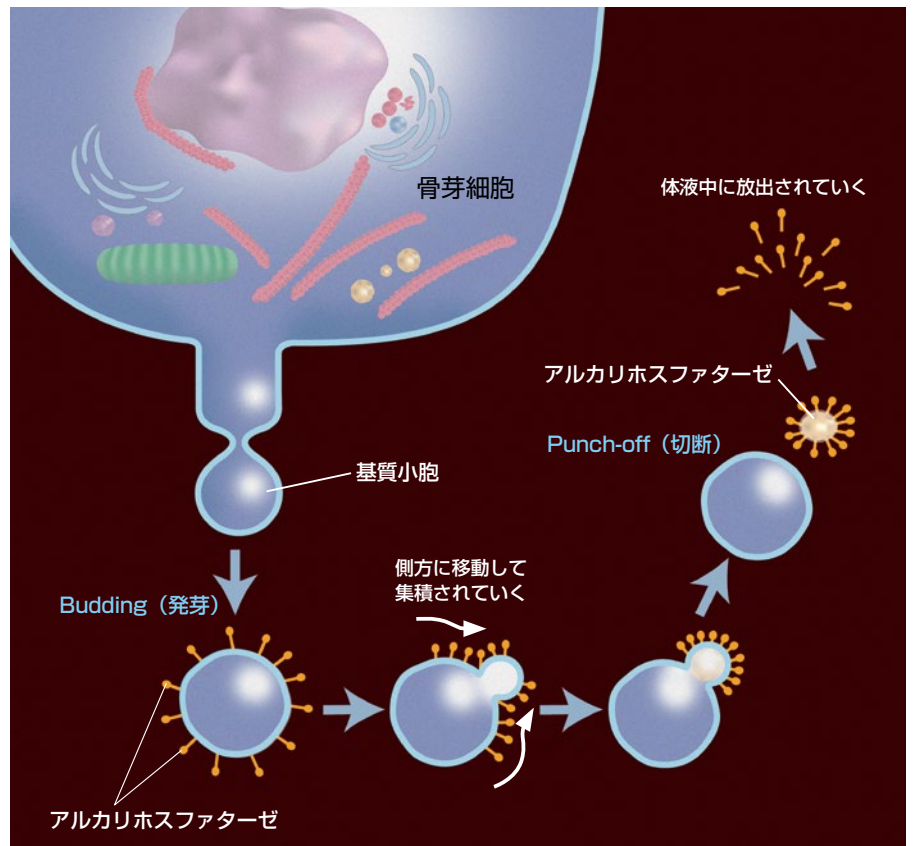


図6：アルカリホスファターゼ (ALP-ase) の集積スキーム

骨芽細胞の産生する ALP-ase は基質小胞の外膜に沿って移動し集積される。集積部分は膜接合部で切断され、可溶性の状態となって体液中に放出されていく。オステオイドには ALP-ase が高濃度で集積しているため、HA 結晶析出に適した環境となっている。

骨欠損部の前期修復プロセス

まず、通常の骨組織の創傷治癒における修復は、血餅期→肉芽組織期→仮骨期→成熟期のプロセスで進行する。すなわち、治癒の初期では血餅の形成が重要な役割を果たしており、血餅中の血小板に由来する TGF- β (Transforming Growth Factor- β)、PDGF (Platelet-Derived Growth Factor)、IGF (Insulin-like Growth Factor) などの増殖因子の放出に伴い、修復に必要な各種細胞が集合してくる。特に、血餅中のフィブリン-フィブロネクチンは、初期の創傷部修復のための細胞の移動や増殖に必要な暫定的な細胞外基質として役割を果たしている。

細胞外基質とは細胞と細胞の間を埋めている物質のことをいうが、細胞はこの基質と接することにより細胞内にそのシグナルが伝わり接着分子を発現し、これによって始めて移動や増殖などの活動が可能となってくる。このような細胞の出す接着分子の代表的なものに細胞-基質間 (Cell to Matrix) 接着分子のインテグリン (Integrin) と細胞-細胞間 (Cell to Cell) 接着分子のカドヘリン (Cadherin) があるが、細胞は接着分子を分泌することによって近くの細胞あるいは基質に接着することが可能となり、また接着することによって移動や増殖などの生物学的行動を行えるわけである。勿論これらの接着分子には、接着する基質や細胞によって種類が存在する。

以上に述べたように、細胞が修復部分の内部に入って各々の役割を果たすに

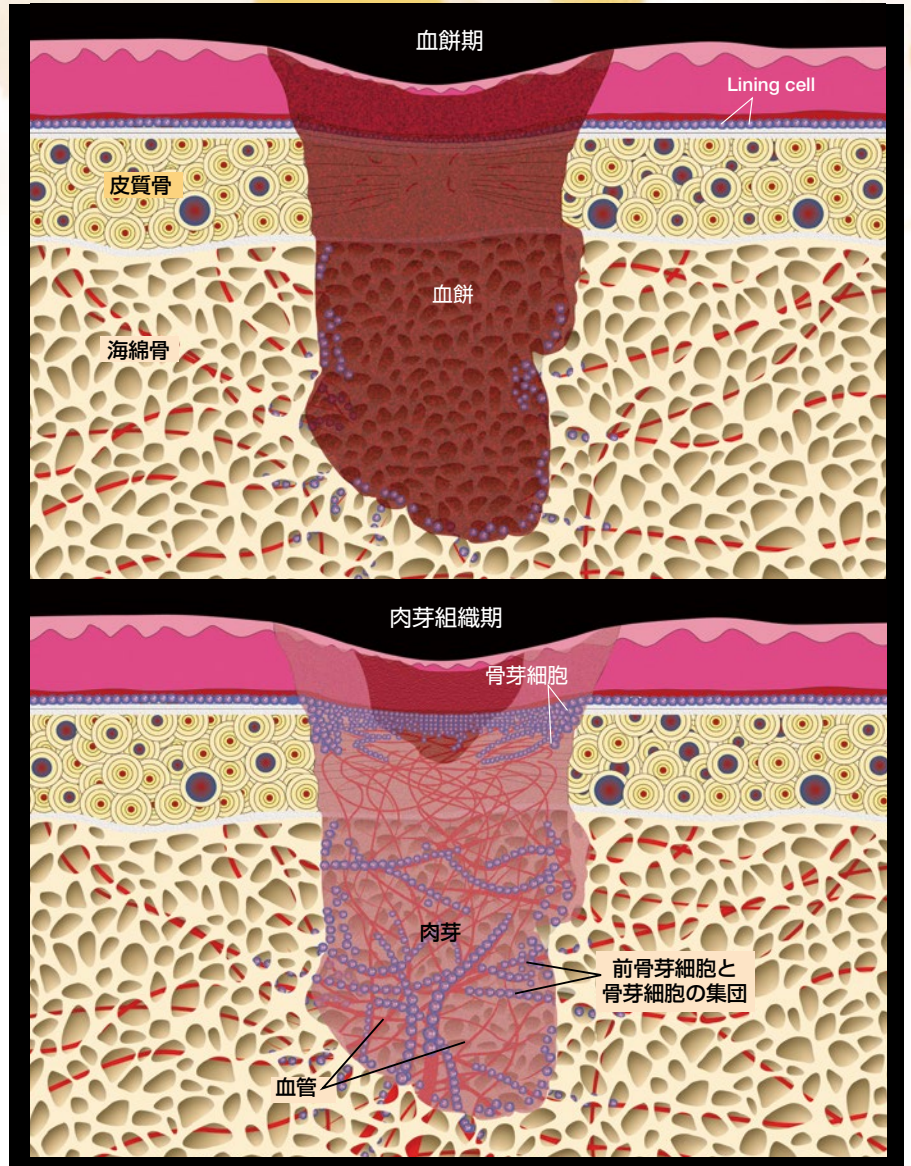


図 12：骨組織の創傷治癒（前期）

血餅期：炎症反応が起こり、血餅内には貪食細胞が遊走し壊死組織などを吸収する。また、血管の新生と共に骨芽細胞の分化と内部への進入が始まる。血餅中のフィブリン-フィブロネクチン基質は細胞の形成と内部への進入に不可欠である。血餅中には主に血小板に由来する PDGF、TGF- β 、IGF などの増殖因子も豊富に含まれる。

肉芽組織期：各種増殖因子の作用によって創傷部内部への血管内皮細胞、線維芽細胞などが形成され、内部にまで血管網とコラーゲンを主とする細胞外基質を作っていく。この時期には既にマクロファージが遊走されており、血小板に換わる骨形成に向けての各種増殖因子を分泌することにより、骨芽細胞の分化・形成も促進されてくる。

は、まず基質が形成される必要があり、その形成された基質上を細胞は接着分子を出し、形を変化させ移動していけるわけである。初期の基質を有する血餅には創傷治癒に必要な細胞、基質、増殖因子

が既に存在しており、次の修復過程にスムーズに移行するための素地も伴っている (図 12)。

次の過程の肉芽組織期では、創傷部に線維芽細胞が集合してフィブリン-フィ