

日本医療研究開発機構 医療分野研究成果展開事業
戦略的イノベーション創出推進プログラム(S-イノベ)
研究開発テーマ「革新的医療を実現するためのバイオ機能材料の創製」
事後評価報告書



I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 革新的硬組織再生・再建システム創製
(英語) Creation of innovative hard tissue regeneration and reconstructive systems

研究開発実施期間: 平成24年11月14日～令和4年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 石川邦夫
(英語) Kunio Ishikawa

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 国立大学法人九州大学・大学院歯学研究院・教授
(英語) Professor, Faculty of Dental Science, Kyushu University

II 研究開発の概要

超高齢社会の到来に伴い骨格系再生・再建システムの革新的技術の創製が社会的急務である。他の組織と同様に、骨格系欠損組織の理想的な治療は再生である。一方で、再生治療が困難な部位もあり、当該部位においては再建が求められる。本研究開発では骨格系の中でも骨(硬組織)に重点を絞り、「革新的硬組織再生・再建システム創製」を目指した。

骨再建システムにおいては、ポリエーテルエーテルケトン(PEEK)への骨伝導性付与を目指した。PEEKは力学特性が骨に類似し、X線透過性、非磁性(MRIに求められる性質)などから次世代の骨再建材料として期待され、臨床応用も始まっている。しかしながら、ポリマーであり骨伝導性(母床骨に近接して埋植すると材料表面に骨が形成される性質)を示さない。そのため、骨組成に類似したセラミックスであり骨伝導性を示すため人工骨として用いられている水酸アパタイトを添加して骨伝導性確保を目指した医療機器もすでに実用化されている。しかしながら効果は極めて限定的で、臨床的に有効な骨伝導性の獲得には至っていない。本研究開発においては、骨伝導性機序に着目した。骨伝導性の発現の一翼を担うリン酸基をPEEK表面に修飾することに成功し、当該修飾によってPEEKが骨伝導性を獲得することを見出した。リン酸基修飾PEEKと骨との接着力はチタン以上である。ポリマー材料への骨伝導性付与は世界初のイノベーションである。

骨再生システムにおいては、炭酸アパタイト多孔性人工骨を研究開発した。骨の無機組成は炭酸基を

6-9%含む炭酸アパタイトであるが、一般的なセラミックスの調製方法である焼結法では熱分解を受けるため、1970年代に炭酸アパタイトから炭酸基を除去し、熱的に安定な水酸アパタイト焼結体が人工骨として臨床応用された。しかしながら、水酸アパタイトの骨伝導性は限定的であり、新しい骨にも置換されないため、水酸アパタイト焼結体人工骨の臨床応用は限定的であり、自家骨移植が骨再生術の第一選択であった。自家骨移植においては、健全部からの移植骨の採取が不可欠である。骨は比較的再生能力に優れた組織であり、人工骨の機能向上による自家骨移植からの脱却は喫緊の課題である。

研究開発代表者は、炭酸カルシウムブロックを前駆体として用い、リン酸塩水溶液に浸漬すると、溶解析出型の組成変換反応が進行し、形態を維持したまま、組成が炭酸アパタイトに変換されることを見出した。顆粒状炭酸アパタイト人工骨は、AMEDの支援を受け、多施設治験を経て世界初の骨組成人工骨として臨床応用されている。骨組成である炭酸アパタイト人工骨は、骨と同様に破骨細胞に吸収されるため、新しい骨に置換され、水酸アパタイト人工骨などと比較して圧倒的に高い骨伝導性を示す。

しかしながら、溶解析出反応は表面から反応が進行するため、ブロックが大きいと芯が残るといった課題があった。本研究開発ではブロックを多孔体化することによってサイズが大きいブロック状の炭酸アパタイト人工骨の創製を目指した。

多孔体として一次元連通性多孔体および三次元連通性多孔体を検討した。一次元連通性多孔体はいわゆるハニカムである。ハニカム金型を通して炭酸カルシウムとバインダーの混合物である原料を押出し、原料ハニカムを製造する。次に、原料ハニカムを脱脂（ハニカム原料に含まれるバインダー成分を除去する工程）して炭酸カルシウムハニカムとする。炭酸カルシウムハニカムは一次元連通性多孔体であるため、ブロック内部からも溶解析出反応による組成変換が進行する。そのため、炭酸カルシウムハニカムをリン酸塩水溶液に浸漬すると一次元連通多孔体構造であるハニカム構造を維持したまま、組成が炭酸アパタイトに変換され、炭酸アパタイトハニカム人工骨が調製できることを見出した。

炭酸アパタイトハニカム人工骨は、組成が骨組成（炭酸アパタイト）であるため、水酸アパタイトブロックなどと比較して圧倒的な骨伝導性を示し、新しい骨にも置換されることが確認された。また、既承認品人工骨や顆粒状炭酸アパタイト人工骨では対応できなかった垂直的骨造成や長管骨の再生にも対応できることがわかった。これは炭酸アパタイトハニカム人工骨が一次元連通性多孔体であることに起因すると考えられる。すなわち、外側性骨欠損においては、母床骨からの骨伝導だけでなく、周囲の結合性組織（組織）からの組織侵入が競争的に進行する。一般的に結合性組織の侵入は骨組織より早く、多孔体の気孔部に結合性組織が侵入すると骨組織は伝導されない。炭酸アパタイトハニカム人工骨の場合は、母床骨に接する部位には開口部が存在するが、結合性組織に接する部位は隔壁を備えており、結合性組織が気孔に侵入できない。炭酸アパタイトハニカム人工骨の構造は、いわゆる細胞遮断膜を用いる組織誘導再生法の原理と同じであり、結合性組織を排除して、骨組織のみがハニカム構造内部の気孔を伝導するため、垂直的骨造成や長管骨再生が可能になったと考えられる。COVID-19の影響による研究開発の中断のため、炭酸アパタイトハニカム人工骨の薬事申請には至らなかったが、連携企業等による薬事申請が予定されている。

炭酸アパタイト人工骨は、破骨細胞による炭酸アパタイトの吸収と骨芽細胞による新しい骨の形成で骨置換される。したがって、骨置換の観点からは一次元連通多孔体構造とするより、三次元連通多孔体構造とする方が好ましい。一般的に、三次元連通性多孔体は焼結時に焼却されるポリマー気孔形成材を混入して製造される。炭酸アパタイト人工骨は水溶液中で製造されるため、塩化ナトリウムなどの水溶性気孔形成材を原料に混入する手法を検討したが、連通性を確保すると機械的強度が著しく低下する課題が残った。硬化性を示す硫酸カルシウム（石膏）顆粒を用い、溶解析出反応で硫酸カルシウム多孔体から炭酸カルシウム多孔体に組成変換、さらに炭酸カルシウム多孔体を炭酸アパタイトに組成変換する手法等も検討したが、連通性と機械的強度のバランス調製は極めて困難であった。三次元連通性多孔体

調製法の中で酸化カルシウムの消化（水を加えて水酸化カルシウムにする反応）を用いる手法は、他の手法に比較して優位性が高い。酸化カルシウム顆粒は消化する際に体積膨張し、三次元連通性水酸化カルシウムが形成される。この三次元連通性水酸化カルシウムを二酸化炭素に暴露すると三次元連通性炭酸カルシウムとなり、三次元連通性炭酸カルシウムはリン酸塩水溶液中で三次元連通性炭酸アパタイト人工骨に組成変換される。本手法で調製した三次元連通性炭酸アパタイト人工骨も機械的強度に課題が残るが、ウサギ大腿骨欠損に埋入すると4週で新しい骨に置換されるという極めて有用な骨置換性能を示すことがわかった。

人工骨の機能は、組成だけでなく、構造によっても支配される。S イノベによる研究開発の成果を基盤として、一次元連通性炭酸アパタイト人工骨だけでなく、三次元連通性炭酸アパタイト人工骨が実用化されることが強く望まれる。

Due to progress of the aged society, creation of innovative hard tissue regeneration and reconstructive systems is highly requested. Similar to other tissues, ideal treatment of the hard tissue is its regeneration. On the other hand, regeneration of hard tissue is sometimes difficult. Therefore, both regeneration and reconstruction of the hard tissue, i.e. bone, were studied in this project.

For the reconstruction of bone, creation of osteoconductive PEEK, poly ether ether-ketone, has been studied. Phosphate group are known to play important roles for the osteoconductivity. Therefore, surface modification of the PEEK with phosphate group has been studied in this project. Sulfonation of the PEEK was easy. On the other hand, simple phosphotization of the PEEK was impossible. Therefore, we paid attention to the presence of reactive ketone group in the PEEK. First, ketone group was reduced to form hydroxyl group. Then, phosphotization of the hydroxyl group was performed. Surface phosphatized PEEK thus fabricated up-regulated differentiation to osteoblasts. Animal studies revealed bone contact ratio to the surface phosphatized PEEK increased significantly. It was also found that bone bonding strength to the surface phosphatized PEEK was higher even when compared with that to titanium.

As an artificial bone, sintered hydroxyapatite has been used in clinics as a typical artificial bone since 1970s. However, sintered hydroxyapatite demonstrate much lower osteoconductivity than autograft, and no replacement to a new bone is observed. Therefore, autograft is the golden standard for the regeneration of bone defect even though invasion to healthy site is indispensable for the collection of autograft. Although hydroxyapatite is claimed as bone composition, it is not true. Bone contains 6-9mass% of carbonate in its crystal structure. However, due to the presence of carbonate, carbonate apatite or bone apatite cannot be sintered. Historically, in 1970s, hydroxyapatite which does not contain carbonate and can be sintered, was developed and became typical artificial bone. We have previously found that bone composition artificial bone or carbonate apatite artificial bone can be fabricated by compositional transformation through a dissolution-precipitation reaction in phosphate salt aqueous solution using calcium carbonate block as a precursor. Carbonate apatite granules is resorbed by the osteoclasts leading replacement to a new bone. Moreover, carbonate apatite artificial bone demonstrated much higher osteoconductivity than sintered hydroxyapatite artificial bone. Carbonate apatite granules became clinically available after multi-center clinical trials where AMED supported clinical trials.

Unfortunately, dissolution-precipitation reaction occurs from the surface, thus large carbonate apatite block cannot be fabricated, i.e, core remain unreacted even after the dissolution-precipitation reaction. In this project, larger size carbonate apatite block was fabricated by fabricating porous calcium carbonate block as a precursor. As porous carbonate apatite blocks, both one and three-dimensional interconnected porous blocks were fabricated. As one-dimensional interconnected porous block, honeycomb carbonate apatite artificial bone was fabricated as

follows. First, raw materials, i.e, a mixture of calcium carbonate and binder, is extruded through honeycomb die. Then, raw materials honeycomb was debindered, followed by dissolution–precipitation reaction in a phosphate salt solution, leading fabrication of the carbonate apatite honeycomb artificial bone. Histological studies using experimental animals revealed that vertical bone augmentation and long bone regeneration was possible using the carbonate apatite honeycomb artificial bone. This is thought to be caused by the principle of guided tissue regeneration using a cell barrier membrane. In short, invasion of connective tissue would be prevented by the peripheral wall of the honeycomb.

Three-dimensional interconnected porous carbonate apatite artificial bone was also fabricated by several methods. The three-dimensional interconnected porous carbonate apatite artificial bone was found to be replaced to a new bone as quick as 4 weeks after surgery when rabbit femoral bone defect was reconstructed with the artificial bone. Unfortunately, mechanical strength of the three-dimensional interconnected porous carbonate apatite artificial bone was limited.

Ability of the artificial bone is governed not only by its composition but also by its structure. Clinical use of not only one-dimensional but also three-dimensional interconnected porous carbonate apatite artificial bone is awaited based on the results obtained in this project.

III 事後評価総合所見

研究開発の過程で、原料転換問題や製造スケールアップに伴う諸々の問題が発生したが、企業と九州大学で緊密に協力して問題を解決した。最終的に、炭酸アパタイトハニカム顆粒については、COVID-19の影響を乗り越えて薬事申請の目処を付け、ブロックについても非臨床 POC 取得という一定の成果を得るに至っており評価できる。また、企業はS-Iノベ終了後自社負担による実用化研究を継続している点も評価に値する。

選択と集中の結果、顆粒タイプの炭酸アパタイトハニカム骨補填材に研究資源を集中させたことは良かったと思われる。

工場移管から薬事申請スケジュールに COVID-19 の影響が残るが、競合動向や世界戦略も視野に置いて、速やかな上市と製品の多様化に努めて欲しい。