



Title	ストロンチウム徐放型バイオアクティブガラスの創製と歯科材料への応用
Author(s)	佐々木, 淳一; 今里, 聡
Citation	大阪大学歯学雑誌. 2020, 64(2), p. 5-9
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/78306
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

ストロンチウム徐放型バイオアクティブガラスの創製と 歯科材料への応用

佐々木 淳一*, 今里 聡*

(令和2年2月15日受付)

はじめに

骨や歯などの硬組織の欠損は、生活の質（QOL）の低下に直結することから、これら硬組織を修復、あるいは再生させるための新規材料の開発は、近年ますます注目されている^{1,2)}。硬組織のための医用材料としては、無機系材料、金属系材料、高分子材料が用いられるが、とくに、リン酸系無機材料は硬組織と組成が近似しており、他の材料と比較してその再生に有利であると考えられている³⁾。さらに、このリン酸系無機材料のうち、非晶質材料であるガラスは、組成変化を与えても液体のように均一な性状が得られるため、種々の物質を添加することが可能である。

ところで、ストロンチウムは、化学的に第2族元素に分類され、周期表ではカルシウムの直下に位置することから、カルシウムに類似した性質を示す。骨粗鬆症の薬に使用されるランネル酸ストロンチウムは、前骨芽細胞のカルシウム受容体を刺激することで骨芽細胞への分化を促進させる。さらに、骨芽細胞への分化によって、細胞からのオステオプロテグリン産生を誘導し、RANKLを介した破骨細胞分化を抑制する⁴⁾。ストロンチウムは、このようなメカニズムで結果的に生体内において骨量を増加させるといわれている。

これらを背景として、筆者らは、ストロンチウムを徐放するバイオアクティブガラス（BG）を作製すべ

ば、硬組織の再生を積極的に誘導する材料として利用でき、歯科領域においては骨補填材、逆根管充填材や仮封材として応用できるのではないかと着想し、研究をスタートさせた。本稿では、これらの研究成果⁵⁾の概略を紹介する。

ストロンチウム徐放型 BG の作製と イオン溶出特性

二酸化ケイ素を主成分とするガラスに五酸化二リンや酸化カルシウムを加えた45S5バイオガラスは、骨組織と親和性に優れるため様々な医療分野で使用されている⁶⁾。そこで本研究では、ストロンチウムを徐放するBGを作製するために、45S5バイオガラスに酸化ストロンチウムを導入することを試みた。45S5バイオガラスの原料となる二酸化ケイ素等の粉末に、重量比で6%あるいは12%の酸化ストロンチウムを加え、1200℃で2時間の処理を行うことでガラス焼結体を作製した（Sr6, Sr12）。酸化ストロンチウムを添加した試料の特性をX線光電子分光法、およびX線回折法によって調べたところ、これら粉末は仕込み比に準じた組成をもつ非晶質物質であることが分かった。そこで、得られた焼結体をボールミルによって粉砕し、以降の実験には粒径10 μm以下の粉末をストロンチウム含有BGとして用いた。また、酸化ストロンチウムを加えていな

* 大阪大学大学院歯学研究科顎口腔機能再建学講座（歯科理工学教室）

本総説の内容の一部は、令和2年1月23日に開催された大阪大学歯学会第129回例会において、令和元（2019）年度弓倉奨励賞の受賞講演（対象論文：Sasaki JI, *et al.*, Fabrication of strontium-releasable inorganic cement by incorporation of bioactive glass, *Dent Mater* **35**, 780-788, 2019.）として発表した。本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金（基盤（C）：16K11623, 17K11778）のもとで行われた。

表1 本研究で用いた BG の原料と仕込み比 (wt%)

	Na ₂ O	CaO	SrO	SiO ₂	P ₂ O ₅
Sr0	24.5	24.5	0	45	6
Sr6	24.5	18.5	6	45	6
Sr12	24.5	12.5	12	45	6

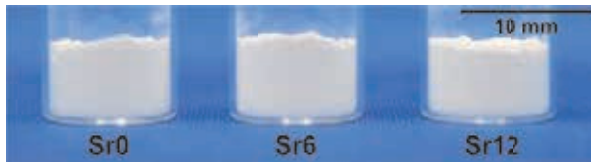


図1 本研究で用いた BG

い 45S5 バイオガラスを Sr0 として実験に供した (表1, 図1)。

BG は生体内に移植すると, カルシウムイオンやケイ素を溶出することで骨芽細胞の機能を促進し, 骨組織と結合することが知られている⁶⁾。そこで, 作製した BG からの溶出成分を誘導結合プラズマ法で最長 21 日間評価したところ, Sr6 と Sr12 からストロンチウムが持続的に徐放されることが明らかとなった。また, カルシウムとケイ素については, いずれの BG からも持続的に徐放されていることが分かり, これらのことから, 45S5 バイオガラスに酸化ストロンチウムを導入することでストロンチウム徐放型 BG を作製できることが示された。

ストロンチウム徐放型 BG 含有セメントの試作

BG は単体では賦形性に乏しく, 機械的強度を有する

硬化体を形成することが困難であるため, ストロンチウム徐放型 BG 粉末のみでは歯科材料として応用しづらい。そこで, ストロンチウム徐放型 BG を従来型ガラスアイオノマーセメントと組み合わせることで, 臨床応用可能な新規無機セメントの開発を試みた。具体的には, 市販の従来型ガラスアイオノマーセメント (ベースセメント, 松風) の粉末に Sr0, Sr6 または Sr12 が 20 wt% となるように添加し, 液材であるポリアクリル酸と練和して硬化させるセメントを試作し, 以下の実験に供した。

BG 含有セメントの機械的性質

BG の添加によるセメントの機械的強度や硬さへの影響を検討するために, 蒸留水に 24 時間浸漬後のセメント硬化体を用いて圧縮試験, 三点曲げ試験, ならびにビッカース硬さ試験を行った (図2)。圧縮試験に関しては, ISO9917-1 に準じ, 直径 4 mm, 高さ 6 mm の円柱状試料を用いて, クロスヘッドスピード 1 mm/min で圧縮強さを測定した。その結果, いずれの BG を添加したセメントも, BG 非添加のコントロール (142.15 ± 26.03 MPa) と比較して圧縮強さが低下する傾向がみられたものの, 有意差は認められなかった。また, BG 含有セメントの圧縮強さの平均値は, 修復用セメントの要求性能である 100 MPa を上回っていた。さらに, 三点曲げ試験や硬さ試験においても, BG を添加したセメントは, 機械的性質の有意な低下を示さなかった。これらの結果から, ストロンチウム徐放型 BG 含有セメントは, 機械的性質の点において臨床的に問題なく使用できることが分かった。

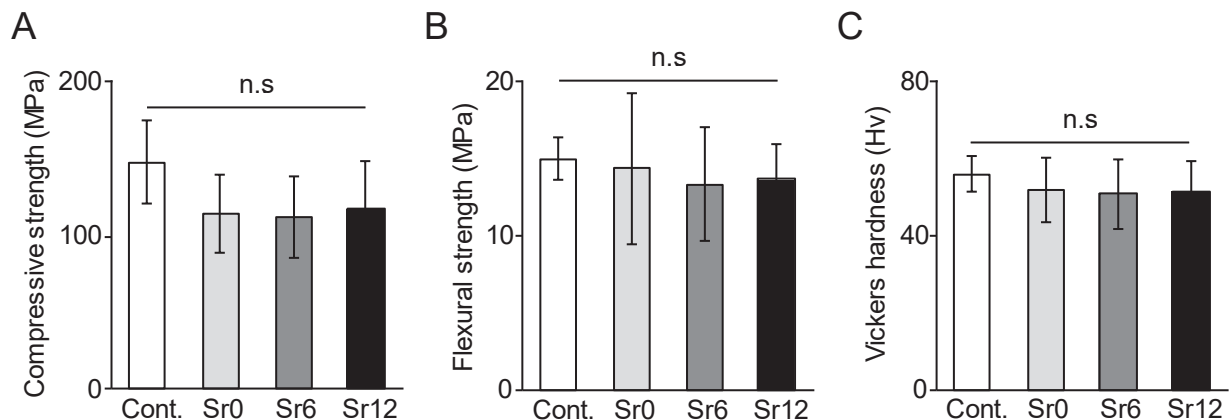


図2 BG 含有セメントの機械的性質

(A) 圧縮強さ, (B) 曲げ強さ, (C) ビッカース硬さ, Cont.: コントロール, n.s.: 有意差なし ($p > 0.05$)

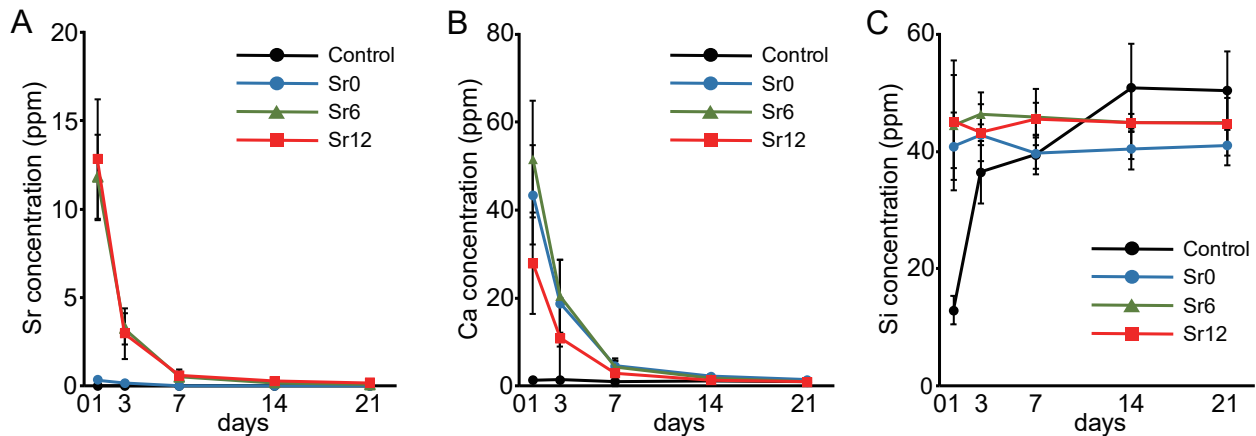


図3 BG含有セメントのイオン徐放挙動
(A) ストロンチウム, (B) カルシウム, (C) ケイ素

BG含有セメントのイオン徐放能

BGからの溶出成分を検討した手法と同様にして、BG含有セメントから徐放されるイオンを誘導結合プラズマ法で評価した（図3）。

まずストロンチウムについては、Sr6、Sr12を添加した試料からは、蒸留水への浸漬直後から溶出が始まり、その後、経時的に溶出量が減少し、浸漬14日目には検出限界以下となることが分かった。コントロールおよびSr0含有セメントにおいては、当然ながらストロンチウムの溶出は検出されなかった。

カルシウムについては、浸漬1日目のSr6含有セメントにおいて、Sr12含有試料よりも有意に溶出量が多かった。これは、Sr6の酸化カルシウムの仕込み比がSr12よりも多いことが影響した結果であると考えられた。なお、本研究で使用したベースセメントの粉末にはフッ化カルシウムが含まれているが、本実験環境ではコントロールからのカルシウムの溶出は認められず、BG含有セメントからのカルシウムの溶出は、添加したBGによるものであることが示された。

一方、ケイ素の徐放については、浸漬1日後、BG含有セメントではコントロールよりも溶出量が多い結果となった。ただし、浸漬3日目には、コントロールでもBG含有セメントと同様の徐放量まで増加し、それ以降、いずれの試料も近似したケイ素の徐放量を示した。このことは、BGからケイ素が徐放されるものの、もともとのガラスアイオノマーセメントに含まれるフルオロアルミノシリケートガラスからもケイ素が徐放され、さらには、それらが蒸留水中において飽和量に達

したことを示している。

以上のことから、市販のガラスアイオノマーセメントにストロンチウム徐放型BGを添加することで、ストロンチウムやカルシウムを徐放する無機セメントを作製できたことが示された。

BG含有セメントが骨芽細胞に与える影響

つづいて、骨補填材や逆根管充填剤等への応用を見据え、作製したBG含有セメントが骨芽細胞様細胞（MC3T3-E1）に与える影響を検討した。

まず、ISO10993-5を参考にして細胞毒性の評価を行った。各セメント硬化体を細胞培養培地に24時間浸漬することで試験試料の抽出液を得た。この抽出液を100%とし、6.25%となるまで培地で段階的に2倍希釈した各溶液を用いて、MC3T3-E1を24時間培養した。その結果、いずれの抽出液をどの希釈割合で培養した場合でも、抽出液非添加の培地で培養した試料と比較して、細胞数に有意差は認められなかった（図4）。さらに、BG含有セメントからの溶出成分がMC3T3-E1の細胞増殖に与える影響を、カルチャーインサートを用いた間接培養系で評価したところ、いずれの試料間においても培養7日目までの細胞数において有意差は認められなかった。このことから、BG含有セメントが高い生体親和性を示すことが確認された。

次に、MC3T3-E1の分化に与える影響を検討することを目的として、細胞増殖と同様の間接培養後にアルカリフォスファターゼ（ALP）染色を行った。その結果、Sr6、およびSr12含有セメントと培養した場合は、Sr0

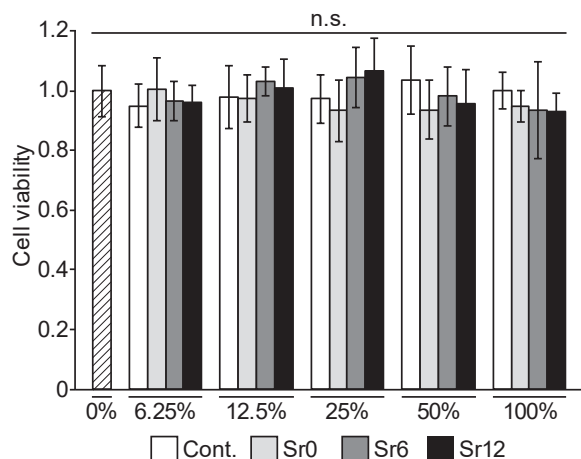


図4 BG含有セメントの細胞毒性評価

Cont.: コントロール, n.s.: 有意差なし ($p > 0.05$)

含有試料に比べて有意に高いALP活性を示した(図5)。一方、コントロールで培養した細胞は染色されず、Sr0含有試料と比較しても有意に低いALP活性を示した。これらのことから、ストロンチウム徐放型BG含有セメントが骨芽細胞の分化を促進する可能性が示された。

おわりに

本研究の結果、新規に開発したストロンチウム徐放型BGを市販のガラスアイオノマーセメントと組み合わせることで、機械的強度に優れ、硬組織誘導能を有した新規の無機セメントを創製できることが明らかになった。

本稿では、BGの高機能化と歯科材料への応用を目指して、ストロンチウムを徐放するBGの作製を試み、さらに、それを歯科材料に応用する研究プロジェクトの一端を紹介したが、現在、筆者は、高分子や細胞を用いたさまざまな新規の生体材料・歯科材料の創製に取り組んでいる⁷⁻¹¹⁾。これら新規材料を社会実装し、臨床の現場に届けることを目指して研究を進めていきたいと考えている。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、本研究の遂行に対して、多くのご助言をいただきました大阪大学大学院歯学研究科顎口腔機能再建学講座(歯科理工学教室)騎馬和歌子元招聘教員に心より感謝申し上げます。また、同教室の教員各位、および基礎配属実習の期間中に共に

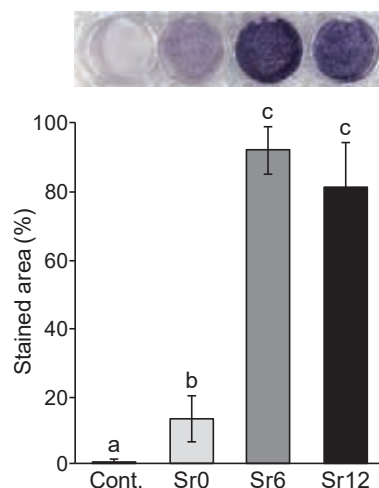


図5 BG含有セメントが骨芽細胞様細胞のALP活性に与える影響

Cont.: コントロール, a, b, c: 異符号間で有意差あり ($p < 0.05$)

本研究に取り組んでいただきました学生の皆様に厚くお礼申し上げます。

参考文献

- 1) Sasaki, J., Matsumoto, T., Egusa, H., Nakano, T., Ishimoto, T., Sohmura, T. and Yatani H. (2010): *In vitro* engineering of transitional tissue by patterning and functional control of cells in fibrin gel. *Soft Matter*, **6**, 1662-1667.
- 2) Sasaki, J.I., Matsumoto, T., Egusa, H., Matsusaki, M., Nishiguchi, A., Nakano, T., Akashi, M., Imazato, S. and Yatani, H. (2012): *In vitro* reproduction of endochondral ossification using 3D mesenchymal stem cell construct. *Integr Biol*, **4**, 1207-1214.
- 3) Matsumoto, T., Okazaki, M., Nakahira, A., Sasaki, J., Egusa, H. and Sohmura, T. (2007): Modification of apatite materials for bone tissue engineering and drug delivery carriers. *Curr Med Chem*, **14**, 2726-2733.
- 4) Pilmane, M., Salma-Ancane, K., Loca, D., Locs, J. and Berzina-Cimdina, L. (2017): Strontium and strontium ranelate: Historical review of some of their functions. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, **78**, 1222-1230.
- 5) Sasaki, J.I., Kiba, W., Abe, G.L., Katata, C., Hashimoto, M., Kitagawa, H. and Imazato, S. (2019): Fabrication of strontium-releasable inorganic cement by incorporation of bioactive glass. *Dent Mater*, **35**, 780-788.
- 6) Hench, L.L. and Polak, J.M. (2002): Third-generation biomedical materials. *Science*, **295**, 1014-1017.
- 7) Yoshimoto, I., Sasaki, J.I., Tsuboi, R., Yamaguchi, S., Kitagawa, H. and Imazato, S. (2018): Development of layered PLGA membranes for periodontal tissue

- regeneration, *Dent Mater*, **34**, 538-550.
- 8) Itoh, Y., Sasaki, J.I., Hashimoto, M., Katata, C., Hayashi, M. and Imazato, S. (2018): Pulp regeneration by three-dimensional dental pulp stem cell constructs, *J Dent Res*, **97**, 1137-1143.
 - 9) Sasaki, J.I., Katata, C., Abe, G.L., Matsumoto, T. and Imazato, S. (2019): Fabricating large-scale three-dimensional constructs with living cells by processing with syringe needles. *J Biomed Mater Res A*, **107**, 904-909.
 - 10) Sasaki, J.I., Yoshimoto, I., Katata, C., Tsuboi, R. and Imazato, S. (2020): Freeze-dry processing of three-dimensional cell constructs for bone graft materials, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, **108**, 958-964.
 - 11) Sasaki, J.I., Zhang, Z., Oh, M., Pobocik, A.M., Imazato, S., Shi, S., Nör, J.E. (2020): VE-cadherin and anastomosis of blood vessels formed by dental stem cells, *J Dent Res*, **99**, 437-445.