

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11528

研究課題名(和文) 生体適合構造を有する新規生分解性Mg合金プレートの開発 - 頭蓋顎顔面領域への展開 -

研究課題名(英文) Development of new osteosynthetic system with biodegradable Mg alloy for craniofacial surgeries

研究代表者

今井 啓道 (Imai, Yoshimichi)

東北大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：80323012

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：強度が十分な金属製でありながら、生体吸収性をしめす新たな顔面骨用の骨接合材をマグネシウム合金を用いて開発する事を目的とした研究である。本研究では、大型動物であるブタを使って、ヒトへの応用を模擬したマグネシウム合金製の骨接合材の埋植実験を行った。結果、生体安全性と埋植後1年での完全吸収、骨折部の治癒は確認できたが、これまでの小動物を用いた研究では生じなかった吸収時に生じるガスの影響で骨の吸収が生じ、スクリューの脱落が生じることが判明し、ガス発生を抑制する必要性をあらためて確認した。ガスの影響はスクリューの形状工夫では解決されず、ブルシャイによる表面処理が有用であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨折治療を有効に施行でき、かつ抜去を要しない吸収性の金属製骨接合材の開発は、骨折治療成績の向上のみならず、手術回数の低減による医療費の削減と患者負担の軽減に繋がります。特に顔面は、骨接合材除去手術による切開を避けたい部位であり、咀嚼という大きな力がかかる部位であることから強度が十分にあり、抜去を必要としない骨接合材が求められています。本研究は、そのような理想的な顔面骨用の骨接合材を開発することを目指しています。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research is to develop a new osteosynthetic system for facial bones, which is made of metal with sufficient strength and exhibits bioabsorbability, using magnesium alloy. In the present study, we carried out an implantation of implants with magnesium alloy to pigs that were large enough to simulate the application to humans. As a result, biosafety, complete resorption one year after implantation, and fracture healing were confirmed, but bone resorption occurred due to the effect of gas generated during resorption, which did not occur in our previous studies using small animals. And, it was revealed that the screws would fall off, and it was confirmed again that the gas needs to be suppressed. The adverse effects of gas were not solved by devising the shape of the screw, then we tried to add surface treatment with brushite on the magnesium implants. Our results suggested that surface treatment with brushy is useful to suppress and control gas generation.

研究分野：形成外科学分野

キーワード：マグネシウム合金 骨接合材 生体吸収性 生体内反応 骨新生

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

形成外科領域では頭蓋顔面の先天奇形手術や骨折治療の際の骨固定材料として、チタンプレートが主に利用されてきた。チタン製デバイスは、機械的強度と生体親和性に優れる反面、金属材料は生体内に永久に残存するため、特に小児では成長のため治療後の抜去を必要とし、患者の負担が大きめという問題があった。一方、生体内吸収性の高分子材料(主としてポリ L 乳酸)のデバイスが開発されたが、強度不足によりセルフタッピングできず使用に不便が生じ、下顎骨など力がかかる部位では治療中の破損がみられるなどの問題があり、充分普及するに到っていない。そこで申請者は金属材料としての十分な機械的強度を有しながら、生体内で吸収されるマグネシウム合金(以降 Mg 合金)に注目し研究を行ってきた。Mg 合金の主原料であるマグネシウムは生体必須元素として骨や筋に多く含まれ、細胞機能に重要な役割を果たすといわれ、特に骨代謝に重要な役割を有する。

物質・材料研究機構は早い段階で医療用デバイスに特化した高強度の Mg 合金開発に成功し既存のチタンプレートに近い高強度と高延性を保ちながら顔面骨固定材としての形状を付加することに成功したが、実用段階まではまだ大きな問題がある。

特に分解により生じるガス発生が問題になることが知られている。従って極力ガス発生を抑えると同時に発生するガスの悪影響を最大限抑える必要がある。また、临床上想定される最大量の Mg 合金を移植した場合の長期経過での体内動態と生体内安全性についての検討も為されていない。

### 2. 研究の目的

臨床応用の前段階として、大型動物の顔面骨骨折モデルを作成し、開発 Mg 合金を用いた顔面骨プレートの実用性について検討を行うとともに、ガス発生を考慮した顔面骨プレートとして最適な形状について検討し臨床応用への足掛かりとしたい。

また、临床上想定される最大量の Mg 合金を移植し、長期の Mg の体内動態と生体内安全性について検討する。

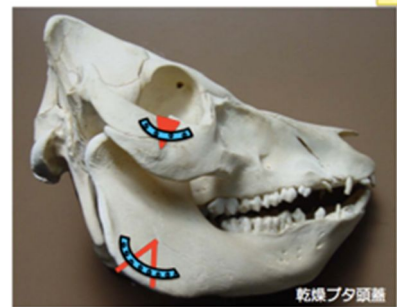
### 3. 研究の方法

#### (1) 大型動物顔面骨骨折モデルでの骨治療実験

家畜ブタ雄 6 匹を用いて顔面骨骨折モデルを作製した。骨固定デバイスは、市販されているチタン製プレートとスクリューに準じた形態とした。スクリューはチタンデバイスと同様なセルフタッピングができる形態とした。ブタの眼窩部にくさび上の骨欠損部を、下顎角部に力がかからない形態の骨折部を右図のように作成し、プレートとスクリューにて骨切り部を固定した。右側を Mg 合金デバイスで、左側をチタン製デバイスで行った。埋入後 1、2、4 週経過後に 2 匹ずつ屠殺し、埋入材料と周囲組織を一塊のサンプルとして採取し、マイクロ CT 撮影と組織学的検討を行った。また、このとき手術手技における問題点を検討した。

#### (2) 大型動物における長期埋植安全性試験

ミニブタ雄 5 匹を用いて(うち 2 匹は本研究に影響を与えない別研究に使用し、Mg 合金を埋植していない対照群として使用)研究をおこなった。3 匹に実験 1) で用いたものと同じ Mg 合金製のプレートとスクリューを写真のごとく埋植した。埋植部位と量は、前頭部に 8 穴プレート 4 枚と 32 本のスクリュー、加えて穴無しプレート 2 枚、眼窩部に 8 穴プレート 2 枚と 16 本のスクリューを左右にそれぞれ埋植、下顎部に 8 穴プレート 3 枚と 24 本のスクリューを左右にそれぞれ埋植した。5 ヶ月後に 2 匹屠殺し、12 ヶ月後に 1 匹を屠殺した。それぞれ埋入材料と周囲組織を一塊のサンプルとして採取し、マイクロ CT 撮影し検討した。また 5 ヶ月での屠殺群では、脳・肺臓・肝臓・脾臓・腎臓・大腿四頭筋・精巣を採取し、Mg 合金に含まれるマグネシウム、イットリウム、アルミニウムの濃度を計測した。

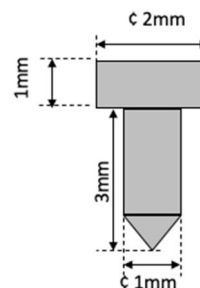


#### (3) ガスによる骨吸収予防をめざした形態改善スクリューでの短期埋入実験

埋植したスクリュー周囲に生じるガスにより、皮質骨が吸収性の変化を生じ、スクリューのルーズニングを生じる個体を多く経験したため、スクリューの中心部を管状にした中空型スクリューとスクリューの側面に縦溝を入れた竹溝付きスクリューを作成し、ミニブタの脛骨に埋植し効果を検証した。顔面骨を用いなかったのは、ブタ顔面骨の皮質はヒトと比べ多孔性構造に富み、ガス発生の影響を受けやすいと判断したため、よりヒトの骨に近い大腿骨を選択した。従来形状のスクリュー、中空型スクリュー、縦溝付きスクリューをミニブタ 2 匹の脛骨に埋植し、1 週後、4 週後に 1 匹ずつ屠殺し、マイクロ CT 撮影し検討した。

#### (4) 表面コーティング処理によるガス発生制御の実験

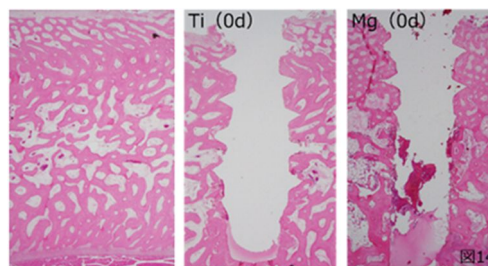
形態改善によりガスの皮下誘導効果はあったものの、ガス発生自体の問題として皮下への貯留による腫脹やプレートを置いた場合の影響も危惧されたため、ガス発生を抑制する方法が検討された。また移植デバイスは、これまでの Mg 合金とは異なり、新たに開発された希少金属を含まない三元系 (Mg-Ca-Zn) 合金を用いて作成し、形状はスクリューではなく、まずはネイル形状 (右図) のものとした。表面処理は、水酸化マグネシウム (耐蝕層) を析出させる表面処理と、耐蝕層上にリン酸カルシウム系 (化合物プルシャイト) を析出させる表面処理を準備し、表面処理を施さなかった Mg 合金、コントロールとしてチタン合金も含めて計 4 群間を比較評価した。動物は 12 羽のアウトブリード日本白色ウサギ (JW/CSK) を用い、左右の大腿骨に下穴を開けた上でネイルを 1 本ずつ埋植した。埋植後 1 週目、4 週目に 6 匹ずつ屠殺し (各屠殺時: 12 肢=各群 3 ネイル)、埋入材料と周囲組織を一塊のサンプルとして採取し、マイクロ CT 撮影を行った。得られた CT 画像データの 3 次元解析を行い、ガス発生体積、新生骨体積、ネイル金属体積を計測し検討した。



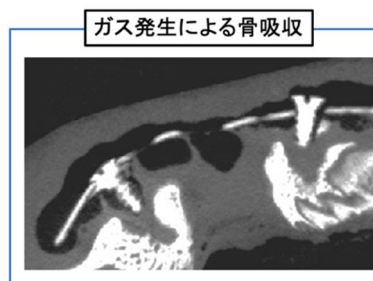
#### 4. 研究成果

##### (1) 大型動物顔面骨折モデルでの骨治癒実験

Mg 合金製のスクリューのセルフタッピング能力であるが、全スクリューでチタンスクリュー同等のセルフタッピングでの挿入が可能であった。実際のタッピング挿入後の骨の状態を右図に示す。チタン製のスクリュー (Ti) と同様のタップ溝が骨にひらけていることが確認できた。



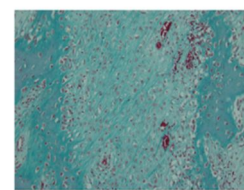
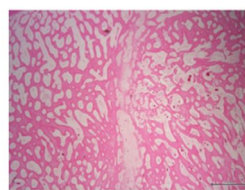
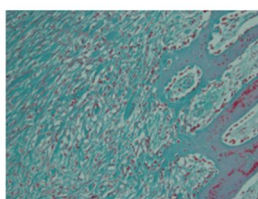
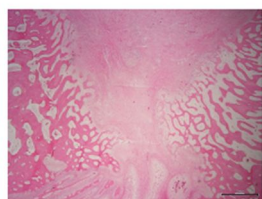
マイクロ CT 像の結果を示す。眼窩下縁の骨欠損モデルでは、1 週ではチタン群も Mg 群もともに骨形成は認めなかったが、4 週ではともに眼窩上縁に骨架橋の形成を認めた。下顎角部の骨折モデル部位では、両群とも 1 週、4 週共に骨架橋の形成は認められなかった。さらに Mg 合金群では、1 週で骨皮質に骨吸収像を認め、スライス像ではガス発生部位に一致し骨吸収とスクリューのルーズニングを認め、4 週では Mg 群のみプレートの偏位を認めた。



組織像では、4 週目の眼窩下縁の骨欠損部位で、チタン群、Mg 群ともに新生骨の形成を認めた。下顎角部骨折部でも、両群とも 4 週の時点で骨折部に骨新生を認めた。

眼窩下縁 (術後4週) Mg合金

下顎角部 (術後4週) Mg合金



Hematoxylin-Eosin 染色×12.5

Elastica-Masson染色×200

Hematoxylin-Eosin染色×12.5

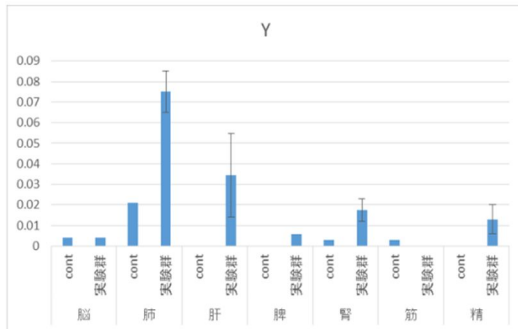
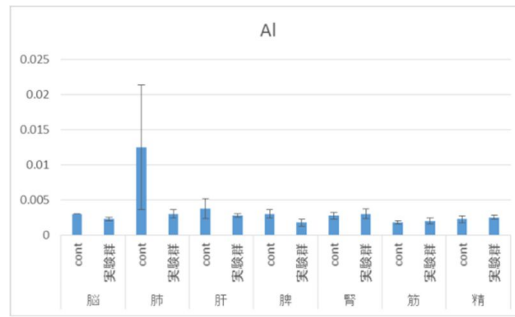
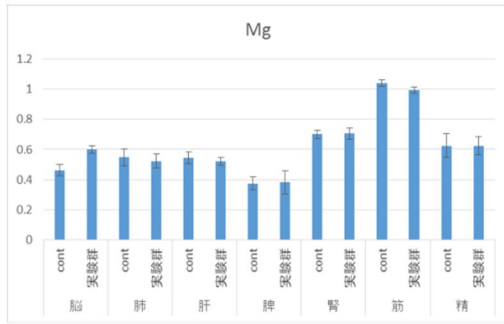
Elastica-Masson染色×200

これらの結果から、Mg 合金骨接合材は、眼窩部・下顎部でセルフタッピングが可能になる十分な強度的が得られていたが、スクリュー周囲にガス発生による骨吸収が生じるといった問題が明らかになった。

##### (2) 大型動物における長期埋植安全性試験

ミニブタの長期の健康状態では、体重増加は良好であり病的な所見は認めなかった。しかし、ほぼ全埋植部位で腫脹が遷延するとともに排膿を認め、皮膚瘻孔が発生した。組織標本においては、腫瘍臓器において、異常な炎症像や腫瘍性病変を認めなかった。標本のマイクロ CT 像では、5 ヶ月後では、ガス貯留は軽度しか認めないが、デバイス周囲の骨吸収と周囲の骨形成を認めた。12 ヶ月後では、デバイスは完全に分解し、新生骨による粗造な骨表面を呈していた。

各組織のマグネシウム、アルミニウム、イットリウム濃度を呈示する。マグネシウムとアルミニウムでは、対照群と比較し有意な変化はなかった。イットリウム：肺臓、腎臓で比較的高値を示した。



これらの結果から、Mg合金製骨接合材は想定通り1年後に完全吸収されることを確認できたが、ガス発生による皮膚障害が生じ、骨の吸収像も術後5ヵ月という長期にわたり観察されていた。やはりガス発生を抑制する必要性が示唆された。

### (3) ガスによる骨吸収予防をめざした形態改善スクリューでの短期埋入実験

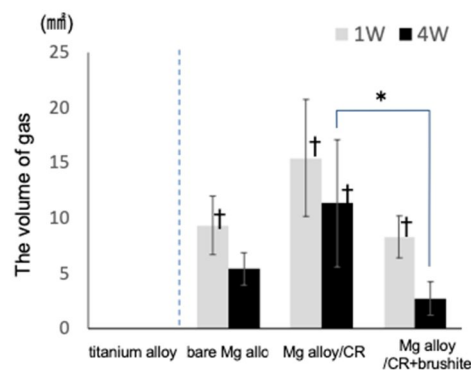
埋植後1週と4週のマイクロCT像では、従来のスクリューも含めて、ガスは皮下・骨髄内へ拡散し、常な骨吸収像は見られなかった。術後4週の時点では大部分のガスが吸収されていた。縦溝付きスクリュー、中空型スクリューでは、ガスが皮下へ誘導されている印象があった。

### (4) 表面コーティング処理によるガス発生制御の実験

3次元構築画像を用いたガス体積計測の結果を示す(右図上)。

1週における各群間の比較では、One-way ANOVAにおいて各群間に有意差を認め(p=0.0022)、post-hoc testにおいて対照群であるチタン合金と他のマグネシウム合金群において有意差を認めた(裸材群: p=0.0256、耐蝕層群: p=0.0013、ブルシャイト群: p=0.0454)。実際の体積としては、耐蝕層群で15.45 mm<sup>3</sup>と最も多い結果となった。一方、マグネシウム合金群間ではガス体積に差を認めるものの有意差は認めなかった(裸材群 vs 耐蝕層群: p=0.1538、裸材群 vs ブルシャイト群: p=0.9748、耐蝕層群 vs ブルシャイト群: p=0.0864)。

4週においてもOne-way ANOVAにおいて各群間に有意差を認めたが(p=0.0104)、post-hoc testではチタン合金群との有意差を認めたのは耐蝕層群のみであり(p=0.0083)、体積は11.34 mm<sup>3</sup>であり、1週と比較し減少していた。各マグネシウム合金群間では、耐蝕層群とブルシャイト群の間に有意差を認めた(p=0.0358)



3次元構築画像を用いたガス体積の変化  
値は平均±SDとして表しています。† \*: p 値 < 0.05, n=3

One-way ANOVAにて分析し有意差を認めた際、post-hoc法で判定した。

1週: One-way ANOVA (p=0.0022) 各群間をpost-hoc法で判定

4週: One-way ANOVA (p=0.0104) 各群間をpost-hoc法で判定

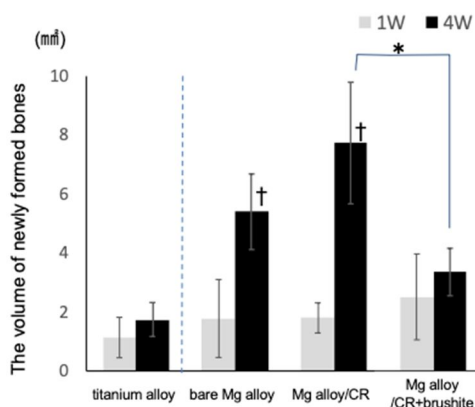
titanium alloy: チタン bare Mg alloy: 裸材  
Mg alloy/CR: 耐蝕層 Mg alloy/CR+brushite: ブルシャイト

†: チタンと同時期において有意差を認める。

\*: マグネシウム合金間での有意差を表している。

次に、3次元構築画像を用いた新生骨の体積計測の結果を示す(右図上)。

1週における比較では、One-way ANOVAにおいて各群間に有意差を認めなかった( $p=0.4839$ )。4週ではOne-way ANOVAにおいて各群間に有意差を認め( $p=0.0027$ )、post hoc testにおいて対照群であるチタン合金群と裸材群間( $p=0.0373$ )および、チタン合金群と耐蝕層群間( $p=0.0023$ )、各マグネシウム合金群間では、耐蝕層群とブルシャイト群間( $p=0.0149$ )においてそれぞれ有意差を認めた。実際の体積としては、チタン合金群 1.75 mm<sup>3</sup>、裸材群 5.40 mm<sup>3</sup>、耐蝕層群 7.73 mm<sup>3</sup>、ブルシャイト群 3.36 mm<sup>3</sup> であり、耐蝕層群で最も骨形成が認められた。



3次元構築画像を用いた新生骨量の変化  
値は平均±SDとして表しています。† \*:  $p$  値 < 0.05,  $n=3$

One-way ANOVAにて分析し有意差を認めた際、post-hoc法で判定した。

1週:One-way ANOVA ( $p=0.4839$ ) 各群間で有意差認めず

4週:One-way ANOVA ( $p=0.0027$ ) 各群間をpost-hoc法で判定

titanium alloy: チタン bare Mg alloy: 裸材

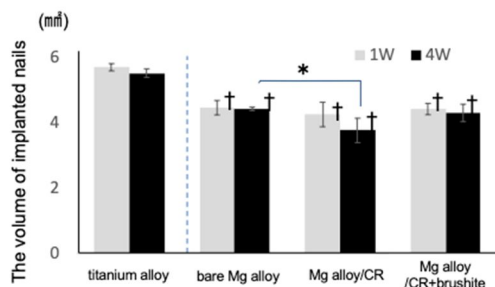
Mg alloy/CR: 耐蝕層 Mg alloy/CR+brushite: ブルシャイト

†:チタンと4週において有意差を認める。

\*:マグネシウム合金間での有意差を表している。

最後に、ネイルの吸収を経時的に比較検討するため、3次元構築画像よりネイルの体積を計算した(右図下)。

チタン合金群では体積の変化をほぼ認めなかった。1週における各群間の比較では、One-way ANOVAにおいて各群間に有意差を認め( $p=0.0003$ )、post-hoc testにおいて、移植前のネイル体積と同等と考えられるチタン合金群と裸材群( $p=0.0011$ )、耐蝕層群( $p=0.0004$ )、ブルシャイト群( $p=0.0009$ )に有意差を認めた。実際のネイル体積としては、チタン合金群 5.69 mm<sup>3</sup>、裸材群 4.46 mm<sup>3</sup>、耐蝕層群 4.25 mm<sup>3</sup>、ブルシャイト群 4.42 mm<sup>3</sup> であり(表 3)、耐蝕層群で最も吸収が認められた。各マグネシウム合金群間に有意差は認めなかった(裸材群 vs 耐蝕層群:  $p=0.7260$ 、裸材群 vs ブルシャイト群:  $p=0.9968$ 、耐蝕層群 vs ブルシャイト群:  $p=0.8375$ )。



3次元構築画像を用いたネイル体積の変化  
値は平均±SDとして表しています。† \*:  $p$  値 < 0.05,  $n=3$

One-way ANOVAにて分析し有意差を認めた際、post-hoc法で判定した。

1週:One-way ANOVA ( $p=0.0003$ ) 各群間をpost-hoc法で判定

4週:One-way ANOVA ( $p=0.0001$ ) 各群間をpost-hoc法で判定

titanium alloy: チタン bare Mg alloy: 裸材

Mg alloy/CR: 耐蝕層 Mg alloy/CR+brushite: ブルシャイト

†:チタンと同時期において有意差を認める。

\*:マグネシウム合金間での有意差を表している。

4週においても、One-way ANOVAにおいて各群間に有意差を認め( $p=0.0001$ )、post-hoc testにおいて、チタン合金群と各マグネシウム合金群間においては、裸材群( $p=0.0024$ )、耐蝕層群( $p < 0.0001$ )、ブルシャイト群( $p=0.0012$ )と有意差を認めた。各マグネシウム合金群間での比較では、耐蝕層群が裸材群( $p=0.0403$ )、ブルシャイト群( $p=0.0976$ )となり裸材群とのみ有意差を認めた。実際のネイル体積としては、チタン合金群 5.51 mm<sup>3</sup>、裸材群 4.42 mm<sup>3</sup>、耐蝕層群 3.76 mm<sup>3</sup>、ブルシャイト群 4.30 mm<sup>3</sup> であり、4週においても耐蝕層において体積の減少が顕著であった。

本研究において、表面処理の種類によってマグネシウム合金の生体内挙動が変化する事が明らかになった。これにより表面処理がマグネシウム合金の生体内挙動を制御・調整できる可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Akimitsu Sato, Yoshinaka Shimizu, Yoshimichi Imai, Toshiji Mukai, Akiko Yamamoto, Chieko Miura, Kenji Muraki, Yuya Sano, Naoko Ikeo and Masahiro Tachi	4. 巻 13
2. 論文標題 Initial organ distribution and biological safety of Mg <sup>2+</sup> released from a Mg alloy implant	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biomedical Materials	6. 最初と最後の頁 35006
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.1088/1748-605X/aaa9d5">https://doi.org/10.1088/1748-605X/aaa9d5</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤 顕光、今井 啓道、三浦 千絵子、館 正弘、他
2. 発表標題 生分解性マグネシウム合金埋入後初期のマグネシウム体内動態について
3. 学会等名 日本形成外科学会基礎学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤 顕光 今井啓道 三浦千絵子 村木健二 館正弘、他
2. 発表標題 生分解性マグネシウム合金埋入後初期のマグネシウム体内動態について
3. 学会等名 日本形成外科学会基礎学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐藤 顕光 今井啓道 三浦千絵子 村木健二 館正弘、他
2. 発表標題 シンポジウム夢の金属・Mg が作る未来の医療器機・生分解性 Mg 合金プレートの開発:顔面骨固定材料への応用に向けて
3. 学会等名 日本形成外科学会基礎学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	山本 玲子 (Yamamoto Akiko)  (20343882)	国立研究開発法人物質・材料研究機構・機能性材料研究拠点・上席研究員  (82108)	
研究分担者	清水 良央 (Shimizu Yoshinaka)  (30302152)	東北大学・歯学研究科・助教  (11301)	
研究分担者	向井 敏司 (Mukai Toshiji)  (40254429)	神戸大学・未来医工学研究開発センター・教授  (14501)	
研究分担者	三浦 千絵子 (Miura Chieko)  (80509240)	東北大学・大学病院・助教  (11301)	