

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 19 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390451

研究課題名(和文) 生体活性金属イオンの長期徐放を可能にする分解制御型合金デバイスの開発

研究課題名(英文) Development of degradation controlled alloy with long-term release of bioactive metallic ion

研究代表者

清水 良央 (SHIMIZU, Yoshinaka)

東北大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：30302152

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円、(間接経費) 4,170,000円

研究成果の概要(和文)： 生体内分解性のマグネシウム合金の生体内分解挙動のメカニズム解明とマグネシウムの骨形成への効果を検討するため、動物の皮下および骨内に移植して組織学的に観察を行った結果、合金の組成の違いにより分解挙動が異なると同時に、治癒との関連付けられる周囲の組織反応の器質化への速度に違いが生じることが明らかになった。また骨内では分解と同時に合金周囲に骨形成がみられた。新生骨形成量は分解挙動で異なり、分解の遅いものはゆっくりと骨を形成するが、分解の速いものは比較的早期に形成されるが一定期間を過ぎると減少した。また合金と新生骨は、高い接触率を示したことから、マグネシウム合金が高い骨神話背を有していると思われた。

研究成果の概要(英文)： Biodegradation mechanism and effect of new bone formation of magnesium alloys were examined by animal implant experiments. In subcutaneous implant model, Two magnesium alloys of different composition showed different degradation rate. Magnesium alloy of slow rate degradation revealed rapid organization of surrounded tissue. In intraosseous implant model, magnesium alloys showed similar degradation behavior to subcutaneous implant model. New bone was formed around magnesium alloys. New bone formations showed gradual increase in magnesium alloy with high rate degradation. In magnesium alloy with slow rate degradation, bone showed initial increase and afterwards gradual decrease. Magnesium alloys showed high contact rate with bone. Magnesium alloy were demonstrated the high compatibility to bone tissue.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学

キーワード：生体材料 再生歯学 歯学

1. 研究開始当初の背景

近年、機械的強度を有しながら生体内で分解する新しい生体材料として Mg 合金の医療応用の可能性が注目され、市場の大きい既存のステントや骨折固定用プレートに代わる新しい材料としてドイツなどと競争的に研究開発が進められている。我々は、既存の工業用 Mg 合金の医療応用を行うことが多い他国と異なり、早い段階で医療用に特化した Mg 合金開発を進めてきた。結果として開発合金は、特殊な組織構造を有し医療応用に適した生体安全性と生体内吸収特性をもつ材料であることが確認された。一方、これまでの研究から本材料に骨形成の効果があることがわかってきた。Mg 合金を埋入したウサギ脛骨 24 週後のマイクロ CT 像では、ある組成の Mg 合金を移植した脛骨周囲に隆起状に新生骨の形成が確認された。未だ Mg の骨形成に関するメカニズムは不明な点が多いものの、Mg 系合金が、新たな特性として骨形成の誘導など生体活性能を有する全く新しい多機能性生体金属材料であることが判明した。そこで本研究では、骨形成を促進する可能性があるマグネシウムを生体活性能を有する金属イオンとして利用することを考え、徐放制御可能な材料としての開発を目指している。この材料を応用することで、骨量不足でインプラントを植立できない顎骨や骨性疾患に伴って欠損した部位の骨増生のための低侵襲的に利用することができる全く新しい骨増生用金属製デバイスとして利用できると考えられる。さらに本材料は機械的強度や分解時間の調整が可能であることから顎顔面領域だけでなく、骨粗鬆症で損傷を伴う椎骨や全身各所の骨折部の強化用材料など様々な領域で利用でき広く医科で応用される材料となる。

2. 研究の目的

そこで本研究では、生体活性能を有する金属イオンを生体内分解によって徐放制御する合金として利用することができる。特に骨増生が必要な部位に低侵襲的に刺入、停留する針状の生体用金属材料を作製し、骨増生を誘導する新しい治療用デバイスとして応用することを目的として、その基礎データから応用までを検討することを目的としている。本材料は金属であることから機械的強度にすぐれ針状形態に調整することで低侵襲で骨への刺入ができると考えられ、その応用範囲は広い。また組成を変えることで、生体内で分解を制御することができることから、生体活性能を有するイオンを分解時間の制御を行って放出、拡散することが可能となるため、組成の違いによる分解挙動と骨形成能について、検討を行う。

3. 研究の方法

(1) ラット皮下における分解挙動に関する病理組織学的

ラットを用い皮下および、脛骨骨内に埋入し(図3) 全身的、局所的観察を行った。材料は、分解速度の比較的早い ZK60 と分解速度の遅い WE43 を用いた。各種材料を脛骨皮下に移植し、その分解挙動をマイクロ CT および組織標本を作製して確認する。

(2) ラット脛骨骨内移植における合金の分解挙動と骨形成の検討

骨形成に関する調査を中心とする。ラットおよびウサギ脛骨に針先状に加工した材料を埋入する。埋入約 2,4,8,16,24,48 週後に過剰麻酔にて屠殺し、マイクロ CT 撮影後、樹脂標本を作製する。金属を含む樹脂標本の薄切は研究グループで開発した独自の方法で行う。Mg 合金の分解挙動として重要な循環体液量での違いを調べるため、動物種すなわち体重(体液量)での比較を行い、骨形成では体重の荷重量での違いについて検討する。樹脂標本、パラフィン標本を用いて、骨形成関連マーカーを *in vitro* 系と同様に免疫組織化学などで検討する。さらに樹脂包埋標本は EPMA を用いてイオンの拡散と取り込みを骨形成に関連づけて検討を行う。

4. 研究成果

(1) マグネシウム合金の分解挙動と組織反応メカニズム

マグネシウム合金の移植部周囲の組織反応は、生体内において周囲に種々の大きさの空孔を形成しながら分解した。周囲組織反応については、合金と直接する部位と、空孔に面した部位で異なる組織反応が確認された(図1)。周囲組織は全体として炎症性細胞浸潤は軽度な肉芽組織および線維性組織の形成がみられ、周囲組織の筋の変性や壊死、また骨組織の異常吸収などの病理学的な異常所見はみられなかった。マグネシウム合金は、組織学的にも分解の速さを断面積として確認でき、分解が進むにつれ、合金表面が粗造になり、腐食生成物と思われる無構造物質の析出が認められた。

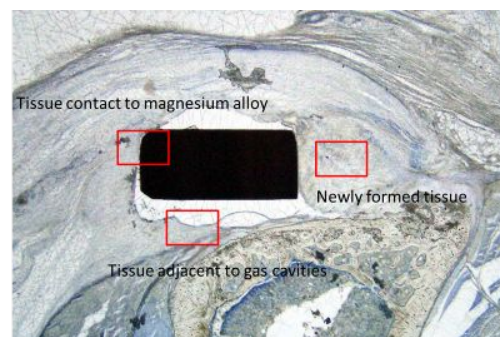


図1. マグネシウム合金の周囲組織

分解速度の異なる2種類御材料を比較したところ、ZK60 は周囲組織の器質化が遅く、WE43 は、比較的器質化が早いことがわかった。(図2)

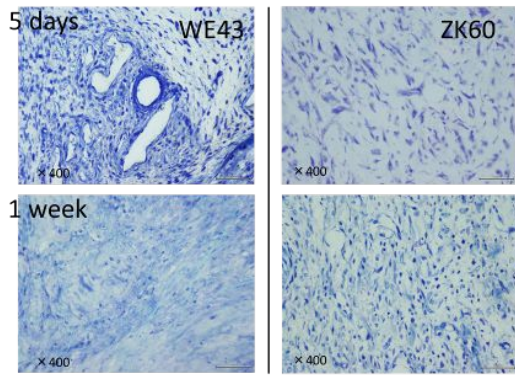


図2．合金周囲の組織像
PTAH染色にて、空孔に面する組織表面にはフィブリンの析出があり、感染を伴わない潰瘍面と同様の組織構築樽であると考えられた(図3)。

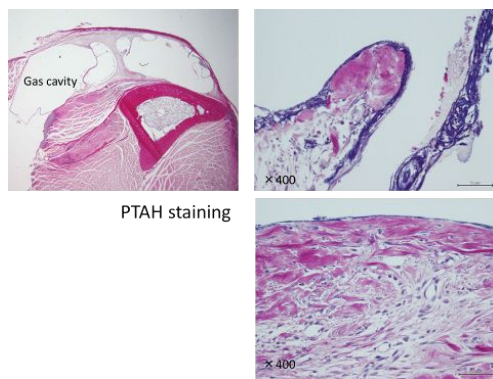


図3．空孔周囲の組織所見

また合金表面の観察では、WE43は合金表面に腐食生成物はみられなかった。しかしZK60では分解に伴って腐食生成物が観察された(図4)。

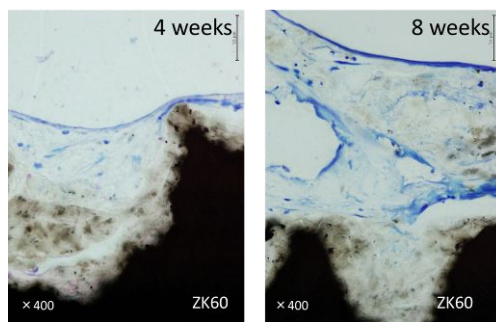


図4．合金表面の腐食生成物

一方、周囲組織には内にはむ構造物質の蓄積が認められた。無構造物質は、ZK60において比較的早期にみられた(図5)。これらは合金表面から剥離した腐食生成物であると思われる。大きさは不規則で、大きいものから小さい小顆粒状のものまで様々であった。また断面が近接する金属表面と一致するものがみられ、剥離によって離れたものであると思われる。

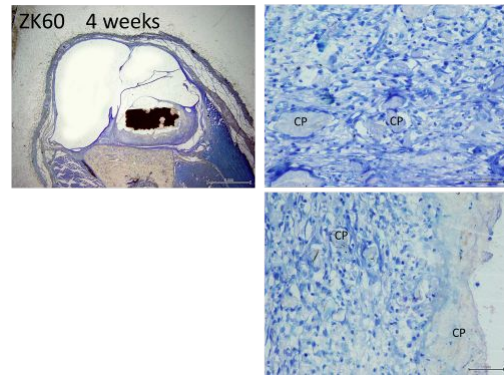


図5．空孔壁内の無構造物質

(2)ウサギ脛骨内のマグネシウム合金に対する分解挙動と骨形成

ウサギの脛骨に移植したカルシウム系マグネシウム合金について、樹脂包埋、研磨標本より組織学的観察および形態計測を行った。

移植したマグネシウム合金は、時間とともに分解を示したが、組成によって分解速度は大きく異なった。2元系の合金では、比較的分解が遅く(図6)、3元系の合金では、比較的早い分解挙動を示した(図7)。組織学的にマグネシウム合金周囲には著明な炎症性細胞浸潤などはみられなかったが、分解挙動の速い合金周囲には顕著な空孔形成が認められた。また合金周囲には種々の厚さの新生骨形成が認められ、合金周囲表面と接触していた。新生骨は層板構造、骨細胞などを有し正常な構造を示していた。

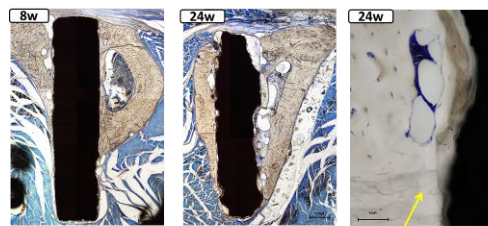


図6．2元系合金の組織像

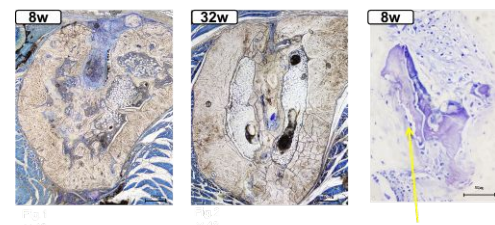


図7．3元系合金の組織像

合金材料の残存量について、断面での計測結果を図8に示す。合金の残存量は組織学的観察に一致して、2元系が遅く、3元系が早い結果を示した(図8)。

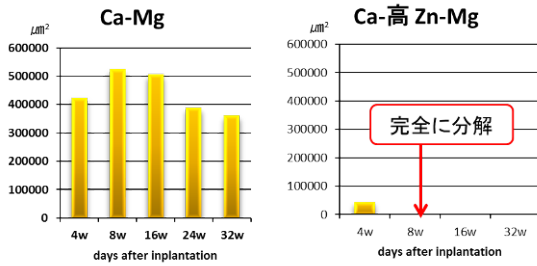


図 8 . 合金の残存量

また合金表面に析出する腐食生成物は、材料によって異なる動態を示した。腐食生成物の析出は、分解挙動でまったく異なる挙動を示し、分解の遅い2元系では、経過観察を行った範囲で徐々に増えていくのに対し、分解の速い3元系では、早期に形成され、徐々に減少する傾向を示した(図9)。腐食生成物週には組織学的に多核の細胞がみられ、言って時間経過するとこれらの細胞によって分解される可能性が示唆された。

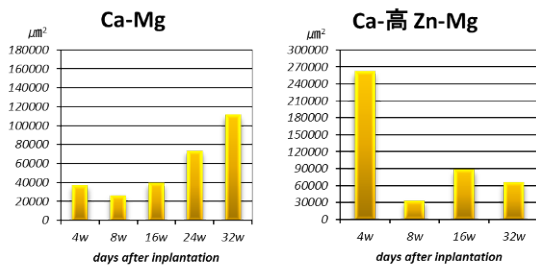


図 9 . 腐食生成物の形成量の動態

移植部位の一定範囲における新生骨の形成量については、2元系では徐々に増加したが、3元系では、初めは増加したが16週をピークとしてその後減少した(図10)。

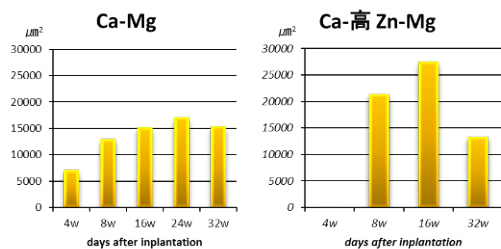


図 10 . 新生骨形成量の変化

次にマグネシウム合金と新生骨の接触率についての結果を示す。マグネシウム合金に対して、図のように種々の厚さを示す腐食生成物を介在させ接触しており、多くは金属との直接の接触を示していないと思われた。マグネシウム合金は、すべての合金で高い骨接触を示した(図11)。

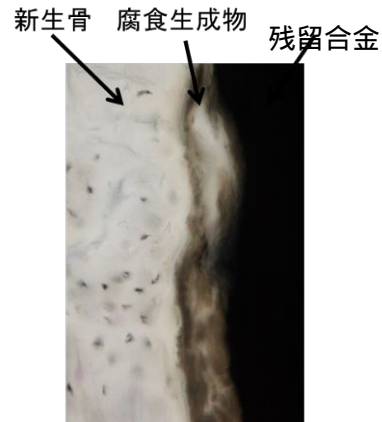


図 11 . 腐食生成物を介在する骨の接触

計測結果では、骨の接触率はほぼ100%を示した。分解速度の速い材料では、分解によって周囲組織が変化することから、骨接触率の評価が困難であったが、実際には分解によって周囲組織が変化するために骨接触率は見かけ上低下することが予測された(図12)。

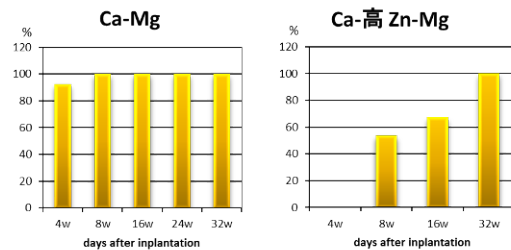


図 12 . 骨接触率の経時変化

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計4件)

今川千絵子、今井啓道、澁谷暢人、舘正弘、清水良央、生体分解性マグネシウム合金を利用した骨内インプラントの生体内分解挙動と骨反応、日本形成外科学会、平成25年11月7、8日、新潟市

佐藤工、清水良央、熊本裕行、高橋哲、骨片固定用マグネシウム合金の生体各所における分解挙動、日本口腔外科学会、平成25年10月11-13日、福岡市

清水良央、山本玲子、向井敏司、熊本裕行、医療用デバイスのための生体吸収性マグネシウムの開発、東北大学歯学会、平成24年12月7日、仙台市

清水良央、今井啓道、Histopathological observation of in vivo behaviors of biodegradable magnesium alloys、日本バイオマテリアル学会、平成24年11月27日、仙台市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

清水 良央 (SHIMIZU YOSHINAKA)
東北大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号：30302152

(2) 研究分担者

山本 玲子 (YAMAMOTO AKIKO)
独立行政法人物質・材料研究機構・ナノスケール材料部門 (国際ナノアーキテクトゥクス研究拠点-MANA)・グループリーダー
研究者番号：20343882

向井 敏司 (MUKAI TOSHIJI)
神戸大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号：40254429

熊本 裕行 (KUMAMOTO HIROYUKI)
東北大学・歯学研究科・教授
研究者番号：70215028

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