

令和元年9月5日現在

機関番号：81404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10804

研究課題名(和文)チタン製インプラント形状と骨再生に関する研究

研究課題名(英文)Shape of the titanium implants and bone ingrowth

研究代表者

菅原 卓 (Sugawara, Taku)

秋田県立脳血管研究センター(研究部門)・医工学研究部・研究部長

研究者番号：80241660

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)：チタン製インプラントの形状と骨再生の関係につき、in vitroとin vivoで研究を行った。in vivo実験では様々なサイズのメッシュ孔を穿った6-4チタン製プレート的人工体液中に1週間浸漬し、表面の結晶の析出・X線回折による同定を行い、骨誘導能を評価した。また、同様のチタンプレートをビーグル犬の頭頂骨、腸骨に移植してCTでフォローし、3か月後にプレートを骨ごと摘出し、視診・触診・高解像度CT・走査電顕により骨再生を評価した。その結果、最も骨再生を促進するメッシュ孔は直径2mm前後であり、今後のインプラント開発に応用できると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

チタン製インプラントは骨補強・補填のためにひろく使用されているが、どのような形状が骨再生を促すかは十分な研究がされていなかった。今回、様々な形状のチタンプレートにおける骨再生をin vitroとin vivoで検証した。その結果、直径2mmの円形のメッシュ構造が最も骨再生を促すことが判明し、今後インプラント形状の決定において重要な知見と考えられる。

研究成果の概要(英文)：The relationship between the shape of the titanium implants and bone ingrowth was examined. Various sizes/shapes of mesh structure of the titanium alloy (Titanium 6Al 4V) implant are tested for in vitro and in vivo studies. Titanium plates were immersed in the artificial body fluid for 1 week and the crystals on their surface were identified by X-ray diffraction. The similar titanium plates were implanted on the cranium and ilium in Beagle dogs and followed by CT scanning for 3 months, and finally excised and underwent visual inspection, high-resolution industrial CT and scanning electron microscope. In conclusion, mesh plates with 2mm round-shaped holes were the best bone ingrowth enhancing structure.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：インプラント形状 チタン合金 骨再生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本では近年急速に高齢化が進み、65歳以上の高齢者が人口の約25%を占めている。国民の高齢化に伴い、頚椎症や腰部脊柱管狭窄症などの脊椎変性疾患が増加し、2015年現在で患者数は国内で400万人以上と推定されている。脊椎変性の進行により、すべりや亜脱臼などが生じると、脊柱管の狭窄をきたして重篤な神経症状を引き起こす。このような脊椎の不安定性を伴う病態に対しては、チタン製スクリューとロッドを用いた脊椎固定術がひろく行われている。しかし、従来のスクリューとロッドを用いた脊椎固定術においては、スクリュー刺入部位のずれによって血管・神経・内臓を損傷する危険がある。また、スクリューによる固定は固定力が弱く、骨粗しょう症や脊椎変形の強い患者では引き抜ける可能性がある。文献的にはスクリュー誤刺入や引き抜けなどの合併症は15-40%で起こっている。

われわれはこれらの欠点を解決するため、スクリューを使用せずに、椎骨の最も強固な構造である骨皮質に密着する新しいインプラント「脊椎カバー」の開発を行っている。このカバーは装着後早期に脊椎と一体化することが求められるが、チタン製インプラントの構造と骨との癒合促進に関する研究は少ない。本研究では、インプラント形状や骨再生促進物質により、骨癒合を促進する方法について検討する。

2. 研究の目的

われわれが開発したインプラント「脊椎カバー」は2011年に国内特許申請を行い(特願2011-136665)、JST支援対象に採択されて研究を行い、国内・国外特許を取得した。これまでにpilot studyとして、「屍体頚椎を利用した引き抜き強度試験」、「動物を使用した安定性試験」を行い、良好な結果を得た。本研究では、脊椎カバーの性状の最適化に関する検討を行う。平成28年度には動物にチタン製脊椎カバーのメッシュ構造を数種類設定して骨再生促進作用を観察し、メッシュ構造を骨再生に適したものに決定する。平成29年度以降には決定されたメッシュ構造に骨再生促進物質を充填して骨再生を観察、促進物質の優劣を検討する。これらの実験により脊椎カバーの三次元構造と骨再生促進物質の最適化が可能となり、早期に脊椎に強固に固定されるインプラントの基礎データが得られる。

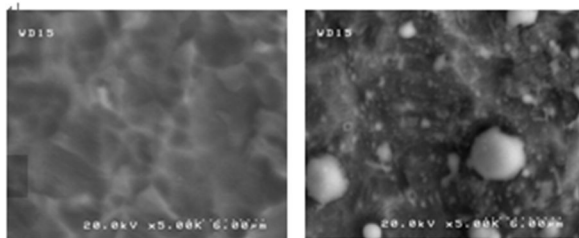
3. 研究の方法

平成28年には過去の力学試験のデータをもとに、強度に問題のない椎弓カバーの形状(メッシュ孔の形とサイズ)を数種類作成し、動物脊椎に装着して骨再生・癒合の評価を行う。平成29年以降には平成28年の実験データ上、骨癒合を最も促進する椎弓カバーの形状を使用し、メッシュ孔に各種骨誘導物質を充填し、骨再生・癒合がどの程度促進されるかを観察する。この2段階の条件決めにより、脊椎に早期に強固に癒合するインプラントの性状の基礎データが蓄積できる。平成28年には3Dチタンプリンターを用いて脊椎カバーを6-4チタンで作成する。椎弓カバーのメッシュ構造を1mmメッシュ、1.5mmメッシュ、2mmメッシュの3種類に設定しビーグル犬(3匹、脊椎カバーを2個ずつ装着)に移植、1,2,3か月後にCTを撮影して骨癒合を観察する。また、3か月後に脊椎を摘出してカバーごと脊椎を横断、ヘマトキシリン-エオジン-トルイジンブルーO染色を行い、インプ

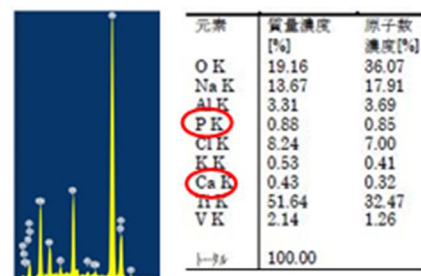
ラント内に再生した trabecular bone を観察する。平成 28 年の実験で骨再生を最も促進したメッシュ孔の条件でのメッシュ構造を決定する。平成 29 年以降には、メッシュ孔に骨再生を促進する物質 (hydroxyapatite, b-tricalcium phosphate, bone morphogenetic protein) をそれぞれ充填し、ビーグル犬に移植 (6 匹、カバーを 2 個ずつ装着) その効果を平成 28 年度と同様に観察する。この結果、骨再生促進物質の優劣が判明する。平成 28 年のメッシュ孔サイズを、平成 29 年以降の骨再生物質をそれぞれ検討することにより、骨再生・癒合のためのインプラント性状を最適化する。現在までの予備実験の結果から、最適条件下では 1 か月以内のインプラントへの骨再生、椎骨への固定が可能であると予想している。

4. 研究成果

平成 28 年度には厚さ 1.5mm のメッシュプレートに直径 2, 3mm のメッシュ孔を穿ち、ビーグル犬 3 頭 (成犬) の頭頂骨、腸骨に合計 12 個のメッシュ孔 (2, 3mm) 付チタンプレートを装着した。装着直後、1,2,3 か月時に CT を撮影し、3 か月時にチタンプレートを骨ごと摘出し、視診・高解像度 CT・触診・走査電顕によりメッシュ孔内の骨再生を評価した。移植したすべてインプラントで明らかな骨再生を認めたが、グレード 3 以上の旺盛な骨再生を認めたのは頭頂骨の 2mm メッシュ孔で 10%、3mm メッシュ孔で 43%、腸骨の 2mm メッシュ孔で 82%、3mm メッシュ孔で 80%であった。走査電顕でメッシュ孔を通過した明らかなトラベクラーボーンが観察された。統計学的検討では 2mm メッシュより 3mm メッシュで、頭頂骨より腸骨で、それぞれ骨再生が有意に良好であった。これらの結果をもとに平成 29 年度に CT 画像から作成したテーラーメイド脊椎カバー (厚さ 1.5mm) を作成し、1.5mm、2.0mm のメッシュ孔を穿ち、ビーグル犬 3 頭に装着した。1,2,3 か月時に CT を撮影し、3 か月時にチタンプレートを骨ごと摘出し、視診・高解像度 CT・触診・走査電顕によりメッシュ孔内の骨再生を評価した。その結果、移植したすべてインプラントで明らかな骨再生を認めたが、2.0mm メッシュ孔の群でより旺盛な再生が観察された。平成 30 年度には直径 1.5, 2.0, 3.0mm メッシュ孔を穿った 64 チタン板 (厚さ 1.5mm) を人工体液中に 37 度で 1 週間浸漬し、骨誘導能を比較した。それぞれの条件でチタン板上に少量の結晶が観察され、これらの結晶は X 線回折によりハイドロキシアパタイトと同定された。しかし、3 群間での有意な差はみられず、平成 28-29 年度でみられた生体内での骨再生能を in vitro で再現することは困難であると考えられた。



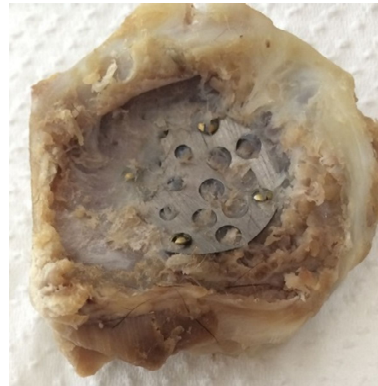
SEM写真 (×5000) : 左は結晶形成なし、右はあり



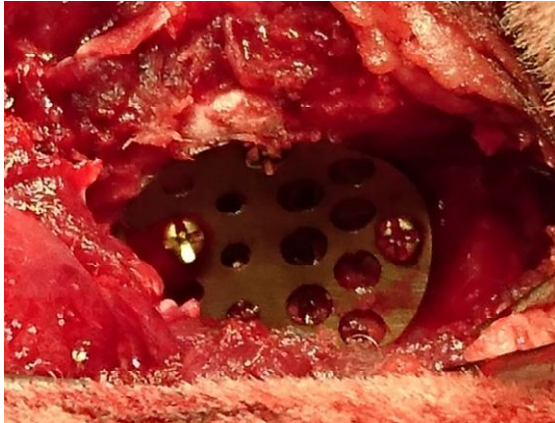
EDX分析結果 : アパタイト形成あり



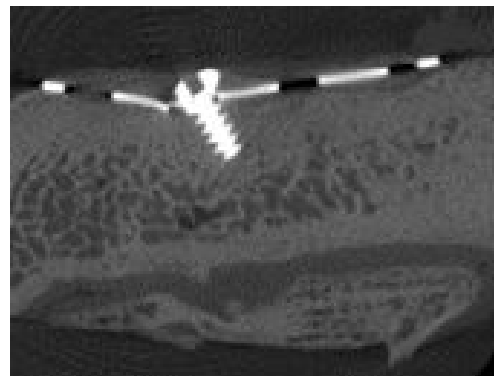
チタン板



摘出標本



3 か月後



高解像度 CT

チタン板移植 3 か月後に直径 2mm のメッシュ孔に旺盛に骨再生がみられた

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

Clinical application of 3D printing technology to the surgical treatment of atlantoaxial subluxation in small breed dogs.

Kamishina H, **Sugawara T**, Nakata K, Nishida H, Yada N, Fujioka T, Nagata Y, Doi A, Konno N, Uchida F, Maeda S.

PLoS One. 2019 May 3;14(5):e0216445.

A novel patient-specific drill guide template for stabilization of thoracolumbar vertebrae of dogs: cadaveric study and clinical cases.

Fujioka T, Nakata K, Nishida H, **Sugawara T**, Konno N, Maeda S, Kamishina H.

Vet Surg. 2019 Apr;48(3):336-342. doi: 10.1111/vsu.13140.

Prospective Multicenter Study of a Multistep Screw Insertion Technique Using Patient-Specific Screw Guide Templates for the Cervical and Thoracic Spine.

Sugawara T, Kaneyama S, Higashiyama N, Tamura S, Endo T, Takabatake M, Sumi M. Spine (Phila Pa 1976). 2018 Dec 1;43(23):1685-1694.

Neurologic Complications in Managing Degenerative Cervical Myelopathy: Pathogenesis, Prevention, and Management.

Sugawara T.

Neurosurg Clin N Am. 2018 Jan;29(1):129-137.

High dose of antibiotic colistin induces oligomerization of molecular chaperone HSP90.
Togashi S, Takahashi K, Tamura A, Toyota I, Hatakeyama S, Komatsuda A, Kudo I, Sasaki
Kudoh E, Okamoto T, Haga A, Miyamoto A, Grave E, **Sugawara T**, Shimizu H, Itoh H.
J Biochem. 2017 Jul 1;162(1):27-36.

Accurate and Simple Screw Insertion Procedure With Patient-Specific Screw Guide
Templates for Posterior C1-C2 Fixation.

Sugawara T, Higashiyama N, Kaneyama S, Sumi M.
Spine (Phila Pa 1976). 2017 Mar 15;42(6):E340-E346.

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称：脊椎制動具
発明者：菅原卓
権利者：秋田県立循環器・脳脊髄センター
種類：特許
番号：2011-136665
出願年：2011年
国内外の別：国内、国外

取得状況(計1件)

名称：脊椎制動具
発明者：菅原卓
権利者：秋田県立循環器・脳脊髄センター
種類：特許
番号：6044961
取得年：2016年
国内外の別：日本、米国、ドイツ、スイス

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。