

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10934

研究課題名(和文) 分解性高分子を配合した生体内で多孔化する骨置換型リン酸カルシウムセメントの開発

研究課題名(英文) Development of self-hardening calcium phosphate cement containing the degradable polymer

研究代表者

豊田 宏光 (Toyoda, Hiromitsu)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：50514238

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：リン酸カルシウムセメント(Calcium Phosphonate Cement; CPC)は骨補填材料として広く用いられている。生体内で多孔化しながら分解することが可能となれば、生体との親和性、骨再生に有利に働くのではないかと考え、分解性高分子を含有させたCPCの開発と生体特性の検討を行った。本研究では、分解性高分子としてキトサンを取り上げ、白色家兎大腿骨に直径4mmの骨孔を作成し、2種類の硬化液を用いたCPCを骨孔に充填し、X線学的、組織学的評価を行ったところ、キトサン含有CPCは正常な骨組織を融解させていることが判明した。キトサンを溶解させるための硬化液の改良を行ったが結果は同じであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

リン酸カルシウムセメント(CPC)は骨補填材料として整形外科や歯科口腔外科、脳神経外科領域で広く用いられている。理想的な骨補填材料は、取り扱いやすいペースト状の形状で、重合熱を発生することなく生体内で速やかに最強強度まで硬化し、荷重等の負荷がかかっても崩壊せず、生体内で異物として認識されることがなく骨組織と直接結合することができるマテリアルであると考え。従来のCPCに分解性高分子を配合することで、生体内で経時的に多孔化する新規骨補填材料が開発されれば高機能化が図れると考え、分解性高分子やその硬化液の探索的研究を行った。

研究成果の概要(英文)：Calcium Phosphonate Cement (CPC) is widely used as a bone substitute material. We consider that if self-hardening calcium phosphate cement containing the degradable polymer can become porous and spongy during decomposing, it may have an advantageous effect on bone regeneration. In this research, we selected chitosan as a degradable polymer and conducted an animal experiment. We created a bone defect in the white rabbit femur and harvested CPC containing chitosan. X-ray and histological evaluations were performed for evaluation. Radiographically, there was a gap between the chitosan-containing CPC and host bone tissue, and histologically, new bone formation and nucleated cells were not found in the harvested area. Although we improved liquid to dissolve chitosan several times, the biocompatibility of chitosan-containing CPC was poor. However, we found other degradable polymers that are highly biocompatible.

研究分野：整形外科、脊椎脊髄病、骨再生

キーワード：リン酸カルシウムセメント 骨補填材料 骨再生 高分子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会の到来に伴い骨粗鬆症の有病者数は1000万人を超え、増加の一途をたどっている。また、高齢化率の上昇に伴う要介護高齢者の増加は早急に対策を要する社会問題である。骨粗鬆症性椎体骨折は、骨粗鬆症による脆弱性骨折のうち最多で、有病率は60歳代8-13%、70歳代30-40%と報告され¹⁾、骨折後の平均臥床日数は42日、日常生活動作が制限された平均日数は242日と報告されている²⁾。しかし、長期間保存治療を行っても骨癒合が得られずにそのまま寝たきりとなる予後不良症例が存在し、当教室で行った多施設前向き研究では、一般的な保存治療を行っても骨癒合不全が約15%に発生することが判明している³⁾。これらの症例は難治性の病態に移行しやすく、継続する激しい疼痛のために歩行や座位保持が困難となり、遅発性神経障害を併発することが知られている。そのような症例に対しては手術加療が適応となるが、近年本邦でもBalloon kyphoplastyを含む椎体形成術が日常的に取り入れられるようになり、従来の侵襲の大きい手術と一線を画す低侵襲手術としての治療の選択肢が広がってきている。椎体形成術は、変形した骨折部に骨補填材料を経皮的に充填し、圧潰した椎体高を復元させて安定化させる低侵襲手術である(図1)。骨充填材料としては、リン酸カルシウムペースト(calcium phosphate cement; CPC)、ハイドロキシアパタイトブロック、骨セメント(polymethyl metacrylate; PMMA)が一般的に用いられている。椎体骨折に用いる骨充填材料としては、重合熱を発生することなく椎体内で速やかに最強強度まで硬化し、荷重等の負荷がかかっても崩壊せず、生体内で異物として認識されることがなく骨組織と直接結合することができる材料が理想的であると考えられる。現在、椎体骨折に使われているCPCは骨伝導能や生体親和性があるが、早期に粉砕化する例や周囲の骨組織との直接結合が達成されず再手術を余儀なくされる例も存在する(図2)。この欠点を補うために、我々の共同研究者の横川らはCPCに早期固化性、非崩壊性の付与、非脆弱性の獲得のためキトサンを硬化液に付加した。またin vitroの実験において、硬化液のアルギン酸の添加量の配合比の検討を行っており、配合比における最適量の検討ができています。アルギン酸は生体分解性があるのでCPC内で早期に分解されることによりセメントにマクロ孔が発生しin vitroで細胞が早期にマクロ孔に侵入していることを確認している。

我々は2003年以降、椎体骨折後骨癒合不全症例に対して、積極的に椎体形成術を行っており、その臨床成績を学会や専門誌で報告している(豊田宏光 他 脊椎脊髄ジャーナル 2012)(豊田宏光 他 臨床雑誌整形外科 2013)。医工連携を図り、当教室の椎体形成術に対する知識・技術と当大学工学部で開発された骨補填材料の研究を併せることで医療に役立つ新しい材料を創造することが可能になると考える。また、現状の問題点を解決できる材料の研究は、椎体骨折のみならず、高齢者の外傷治療体系に大きな光明を与える研究になると考える。

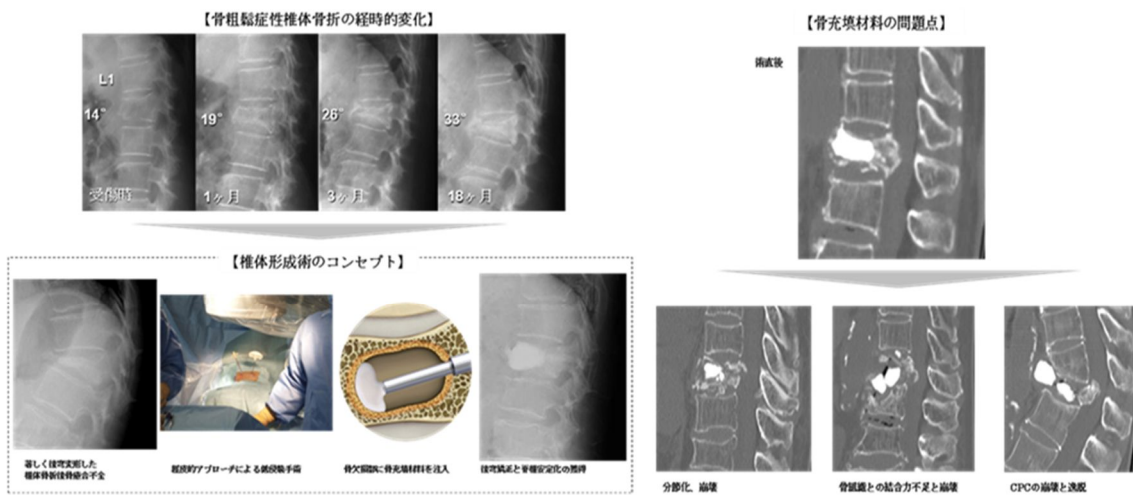


図1

図2

2. 研究の目的

本研究の目的は、キトサンを最適な配合で添加した硬化液を使用したCPCの生体骨内でのセメント特性を調べることであり、本研究で用いる硬化液は当大学の工学部で開発されたものであり、当研究室のみで行うことができる。硬化液にキトサンを添加することで、既存のCPCにはない力学的特性を与えている。特にひずみに対する特性は、既存のCPCの問題点である術後早期破断という弱点を補い、セメントにマクロ孔が発生し内部に生体骨の新生が認められれば椎体内での固定力強化につながると考える。生体内条件下でこれらの現象が有意に生じることが証明できれば、臨床応用として有用であることが予想される。

3. 研究の方法

この研究計画の目的は、キトサンを最適な配合量で添加した硬化液を用いた CPC の生体骨でのセメント特性を調べることである。

リタイアモデルの白色家兎大腿骨の遠位顆部に骨孔を作成し、セメントを骨孔に留置するモデルを用いて X 線学的評価、組織学的評価、力学的評価を行う。

ウサギ大腿骨骨孔作成モデル作成

リタイアモデルの白色家兎大腿骨モデルを作成する。全身麻酔下に、大腿骨外顆部を展開し、大腿骨遠位端より 1 cm 近位に直径 1mm 2mm 直径 4mm の順に顆部に貫通する骨孔を作成し、生理食塩水で骨孔を十分に洗浄する。シリンジを用いてセメントを骨孔に充填し、両側の骨穴より 1 分間圧力を加える。手術後 2 週、4 週、6 週で屠殺し、大腿骨の遠位部を一塊に採取、大腿骨顆部の軟部組織を可能な限り除去し、固定、脱灰を行う。キトサンの有無が異なる 2 種類のセメントで組織学的検討を行う。

X 線学的評価

手術直後及び屠殺時に行う。骨形成の評価や、セメントの漏出がないかを確認する。

組織学的評価

大腿骨とセメントとの境界を中心に評価を行う。H-E 染色、masson-torhichrome 染色、TRAP 染色などを行い、CPC の溶解度や CPC 内の破骨細胞の浸潤評価やマクロ孔の評価を行う。

4. 研究成果

本研究ではキトサン含有中性硬化液を用いたリン酸カルシウムセメントを使用した実験を行っている。In vitro では生体吸収性、生体親和性のあるキトサンを硬化液に添加することでセメントがゲル状となり今までにない操作性を獲得し、疑似体液内中では、キトサンが溶け出す事により CPC 内に多孔性を確認する事が確認できた。キトサンを溶解するには酸性環境が必要となる、最も初期の段階ではリンゴ酸を溶媒とし、キトサンを融解した後に実験を行っていたが、酸性状態では骨を溶かしてしまうため中性にする必要が生じた。そこで硬化液にリン酸カリウム、コンドロイチン硫酸を配合することにより、酸性化でキトサンを溶解させた後に中性化する事で酸による骨融解を防ぐ事に成功した。しかし、キトサン含有量が減少してしまうことがわかった。そこで、ポリオールリン酸塩を溶液に追加することで、透明性があり、生理的な pH で、キトサン含有量を増加させることができた。これまでに親和性を高めるために 10 種類以上の硬化液を作製し、その最適な硬化液の配合の考察をすすめている。疑似体液中のキトサン含有 CPC の挙動が白色家兎内の生体内でも同様な挙動をするものと仮定し、リタイア白色家兎の大腿骨でキトサン含有 CPC を埋める事による実験を行ったが、X 線学的にはキトサン含有 CPC と正常骨組織に間隙がみられ (図 3)、組織学的には骨孔に新生骨、有核細胞を全く認めず (図 4)、生体親和性がないことが考えられた。多孔質という以前にあらゆる細胞との親和性が得られていないと考えられる。これは予想外の展開であり、キトサン自体の骨親和性が確立できていないことが疑われた。

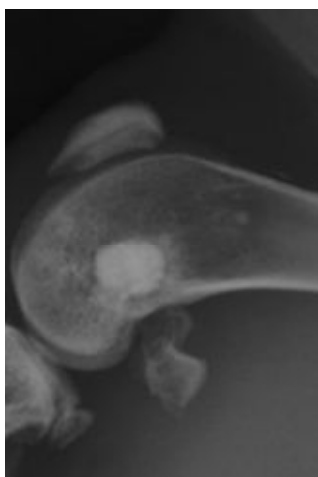


図 3 術後 6 週の X 線画像

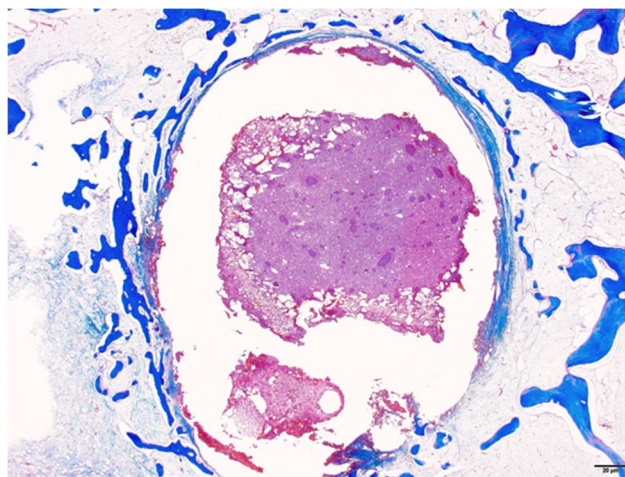


図 4 masson-torhichrome 染色 20 倍

< 引用文献 >

- 1) Kitazawa A, Kazuhiro K, Kaoru Y, Tetsuo I. J Bone Miner Metab. 19: 115-118 (2001)
- 2) Nevitt MC, Thompson DE, Black DM, Rubin SR, Ensrud K, Yates AJ, Cummings SR. Arch Intern Med. 10:160(1): 77-85(2000)
- 3) Tsujio T, Nakamura H, Terai H, Hoshino M, Namikawa T, Matsumura A, Kato M, Suzuki A, Takayama K, Fukushima W, Kondo K, Hirota Y, Takaoka K. et al. Spine. 1;36(15):1229-35(2011)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5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 Yokogawa Yoshiyuki, Fujii Kentaro, Izumiki Ryota, Shibata Seiya, Takayasu Tasuku, Toyoda Hiromitsu, Ogi Kumi, Hirakawa Yoshihiro, Shimatani Akiyoshi	4. 巻 782
2. 論文標題 Neutral Liquid Containing Chitosan and Polyol for Calcium Phosphate Cement	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Key Engineering Materials	6. 最初と最後の頁 9~14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.782.9	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 -
1. 著者名 Hoshino Masatoshi, Takahashi Shinji, Yasuda Hiroyuki, Terai Hidetomi, Watanabe Kyoei, Hayashi Kazunori, Tsujio Tadao, Kono Hiroshi, Suzuki Akinobu, Tamai Koji, Ohyama Shoichiro, Toyoda Hiromitsu, Dohzono Sho, Kanematsu Fumiaki, Hori Yusuke, Nakamura Hiroaki	4. 巻 44
2. 論文標題 Balloon Kyphoplasty Versus Conservative Treatment for Acute Osteoporotic Vertebral Fractures With Poor Prognostic Factors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 SPINE	6. 最初と最後の頁 110~117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/BRS.0000000000002769	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 -
1. 著者名 Takahashi Shinji, Hoshino Masatoshi, Yasuda Hiroyuki, Terai Hidetomi, Hayashi Kazunori, Tsujio Tadao, Kono Hiroshi, Suzuki Akinobu, Tamai Koji, Ohyama Shoichiro, Toyoda Hiromitsu, Dohzono Sho, Kanematsu Fumiaki, Hori Yusuke, Nakamura Hiroaki	4. 巻 44
2. 論文標題 Cost-effectiveness of Balloon Kyphoplasty for Patients With Acute/Subacute Osteoporotic Vertebral Fractures in the Super-Aging Japanese Society	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 SPINE	6. 最初と最後の頁 E298~E305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/BRS.0000000000002829	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 -
1. 著者名 Takahashi Shinji, Hoshino Masatoshi, Terai Hidetomi, Toyoda Hiromitsu, Suzuki Akinobu, Tamai Koji, Watanabe Kyoei, Tsujio Tadao, Yasuda Hiroyuki, Kono Hiroshi, Sasaoka Ryuichi, Dohzono Sho, Hayashi Kazunori, Ohyama Shoichiro, Hori Yusuke, Nakamura Hiroaki	4. 巻 23
2. 論文標題 Differences in short-term clinical and radiological outcomes depending on timing of balloon kyphoplasty for painful osteoporotic vertebral fracture	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Orthopaedic Science	6. 最初と最後の頁 51~56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jos.2017.09.019	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 -

1. 著者名 Takahashi Shinji, Hoshino Masatoshi, Yasuda Hiroyuki, Hori Yusuke, Ohyama Shoichiro, Terai Hidetomi, Hayashi Kazunori, Tsujio Tadao, Kono Hiroshi, Suzuki Akinobu, Tamai Koji, Toyoda Hiromitsu, Dohzono Sho, Sasaoka Ryuichi, Kanematsu Fumiaki, Nakamura Hiroaki	4. 巻 19
2. 論文標題 Development of a scoring system for predicting adjacent vertebral fracture after balloon kyphoplasty	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Spine Journal	6. 最初と最後の頁 1194 ~ 1201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.spinee.2019.02.013	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2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 紫田誠也、泉木亮太、高安匡、横川善之
2. 発表標題 生分解性高分子を含むリン酸カルシウムセメントの自己硬化挙動
3. 学会等名 バイオインターフェース先端材料の創生第8回シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 柴田誠也、泉木亮太、高安匡、横川善之
2. 発表標題 生分解性高分子を含むリン酸カルシウムセメントの自己硬化挙動
3. 学会等名 バイオインターフェース先端材料の創生第8回シンポジウム
4. 発表年 2018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	横川 善之 (Yokogawa Yoshiyuki) (20358310)	大阪市立大学・大学院工学研究科・教授 (24402)	

6. 研究組織（つづき）

	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	折田 久美 (Orita Kumi) (40748597)	大阪市立大学・大学院医学研究科・博士研究員 (24402)	