

令和 2 年 4 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16671

研究課題名（和文）新規低弾性チタン合金であるTi-Nb-Sn合金を用いた骨折治療インプラントの開発

研究課題名（英文）Development of the novel implant for fracture treatment using a TiNbSn alloy with a low Young's modulus

研究代表者

上村 雅之（Kamimura, Masayuki）

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：80758962

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：骨折の手術治療に最適なインプラントの開発を目指して、東北大学金属材料研究所が開発した低弾性合金であるチタン-ニオブ-スズ合金（TNS合金）を用いて骨折治療用インプラントを作成し、動物実験モデルによる骨折治癒の評価を行った。ウサギ脛骨骨折モデルにTNS合金製の髓内釘固定を行い、従来臨床で使用されているチタン合金製のインプラントと比較して骨折部仮骨の体積増大と力学的特性の改善が確認された。続いてTNS合金製の骨折治療用プレートを作成し、同骨折モデルにおける骨折治癒の評価を組織学的・放射線学的・力学的に行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨折に対する手術治療の目的は、受傷者や社会に対する損失を最小限に抑えるために早期に適切な骨癒合を得ることであるが、一部の症例は癒合不全に陥り治療に難渋する。本研究ではTNS合金製の骨折治療インプラントを開発するにあたり、TNS合金のヒト皮質骨に近い低弾性という特性が骨折治癒の促進や骨癒合部の力学的促進の改善につながることを確認された。実際の骨折治療において成績改善に貢献するインプラントの開発が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Titanium-niobium-tin (TiNbSn) alloy, which was developed by Tohoku University Institute for Material Research, has a low Young's modulus close to that of human cortical bone. With the goal of developing the novel implant with TiNbSn alloy for fracture treatment, the effects of the elastic property of TiNbSn alloy implants on fracture healing were evaluated compared with conventional Ti-6Al-4V implants using a rabbit tibial osteotomy model. TiNbSn alloy nails showed significantly larger callus volume in micro-CT images and higher maximum load in mechanical testing. Next, TiNbSn alloy plates were prepared and their effects on fracture healing were evaluated using the same experimental animal model in histologic, radiographic and mechanical analyses.

研究分野：整形外科学

キーワード：骨折治療 インプラント 合金

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨折は受傷患者に対して疼痛や機能障害をもたらすだけでなく、社会に対しても医療コストや治療期間の休職による経済的損失をもたらす。従って早期に適切な骨癒合を得るための骨折治療の意義は大きく、ギプス固定に代表される保存治療で適切な骨癒合が期待できない場合は手術治療の適応となる。手術治療の目的は、インプラント固定によって骨折部に変形を残さないよう整復状態を維持しながら、早期に骨折治癒過程が進行するような力学的・生物学的環境を構築することである。骨折部における軸方向への微小な動きが骨折治癒を促進することは広く知られている。骨折治療インプラントの金属材料として現在最も広く用いられているTi(titanium)-6Al(aluminium)-4V(vanadium)合金のヤング率(110GPa)はヒトの皮質骨(30GPa)と比較して高値である。インプラントと皮質骨のヤング率の乖離が骨折癒合不全の一因と考えられており、近年、より低いヤング率を有するβチタン合金の開発が進められている。一方で、この条件を達成するために骨折治療インプラントの金属材料に求められる至適な弾性率はいまだ明らかになっていない。

東北大学金属材料研究所において開発されたTi-Nb(niobium)-Sn(tin)合金は低いヤング率と優れた骨親和性を有し、さらに加熱処理で剛性とヤング率を調整することが可能な傾斜機能材料である。Ti-Nb-Sn合金を素材として作成した骨折治療インプラントを使用し、骨癒合を促進する分子生物学的メカニズムの解明、インプラントの至適なヤング率の検討が可能になれば、実際の骨折治療において成績改善につながる新たなインプラントの開発が期待できる。

2. 研究の目的

(1) 新規のβ型チタン合金Ti-Nb-Sn合金の低い弾性率が骨癒合に与える影響を、ウサギ脛骨骨切り・髓内釘固定モデルを用いて評価し、従来から使用されているチタン合金であるTi-6Al-4V合金と比較する。

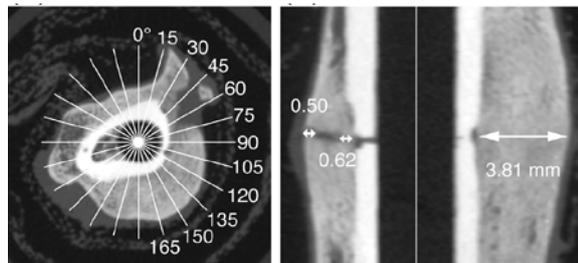
(2) Ti-Nb-Sn合金プレートモデルで骨折部における骨折治癒促進分子の発現を評価し、骨折部への適度な力学的負荷が骨癒合促進に関わっているかを確認する。加熱処理によってヤング率を変えた複数のTi-Nb-Sn合金でプレートを作成し、プレート固定による骨折治療モデルで骨折治癒の評価を行い、至適なプレートのヤング率を検討する。

3. 研究の方法

(1) 2種類の金属、β型Ti-Nb-Sn合金(ヤング率: 37 GPa)とα+β型Ti-6Al-4V合金(ヤング率: 110 GPa)で髓内釘(直径3.2mm, 長さ95mm)を作成した。ウサギの脛骨を骨切りした後、髓内釘で固定を行った。

術後3週時点で組織形態計測評価(HE染色, Alcian blue染色)を行い、骨切り部を中心とした20mm長の範囲で仮骨面積(mm²), 軟骨面積(mm²), 仮骨面積に対する軟骨面積の割合(%)を画像解析ソフトウェア・Image Jを用いて計測した。

術後4, 8, 16週時点で、マイクロCTによる評価と、3点曲げ試験を行った。マイクロCT撮影は骨切り部を中心とした20mmの範囲内で撮影し、DICOM画像ソフトウェア・OsiriX MDを用いて、骨軸を中心とした放射状の画像再構成を行い、15°刻みに計12枚の縦断面像を得た。得られた画像を観察し、骨癒合過程の時期による仮骨の変化を記述した。術後4週において、線維性骨による仮骨の架橋を定量的に評価した(右図)。各画像の皮質骨外の領域を観察し、線維性骨による架橋の幅を骨軸に対して垂直に計測し、12枚の縦断面像全ての領域で計測を行い、合計した数値を仮骨架橋幅・callus bridging width (CBW; mm)と定義した。2mm間隔の8スライスで得られた仮骨体積(mm³)と仮骨骨密度(mg/cm³)の計測値から、骨切り部を中心とした18mm長の範囲内での仮骨体積と仮骨骨密度を算出した。



術後8週においては、応力遮蔽について評価するため、脛骨近位部の骨密度を計測した。腓骨頭レベルから遠位に向かって2mm間隔で9枚の撮影を行った。脛骨近位部18mm長における骨密度(mg/cm³)を計測した。健側である左脛骨についても計測を行い、健側比を算出した。New cortical shellは、線維性骨が層板骨に置き換えられて、元の皮質骨の外側に形成される厚い層板骨の外殻である。術後8週と16週において、骨切り部を中心とした18mmの範囲内で、new cortical shellの体積(mm³)と、仮骨領域全体に対する割合(%)を算出した。解析にはOsiriX MDとImage Jを用いた。

骨癒合過程にある脛骨骨切り部の強度を、3点曲げ試験によって評価した。電気機械式万能試験機・Instron Model 5566を用いて、術後4, 8, 16週時点で試験を行った。骨切り部に圧子を当て、前から後ろの方向へ荷重をかけた(右図)。荷重は2mm/分の速度でかけ、検体が破断した時点で終了した。荷重-変位曲線を記録した。健側である左脛骨も同様に測定して対照とした。最大荷重(N)を記録した。



剛性 (N/mm) を荷重-変位曲線における初期の直線部分 (線型領域) の傾きとして算出した。右脛骨の最大荷重と剛性の、左脛骨 (健側) に対する比率 (健側比) を算出した。

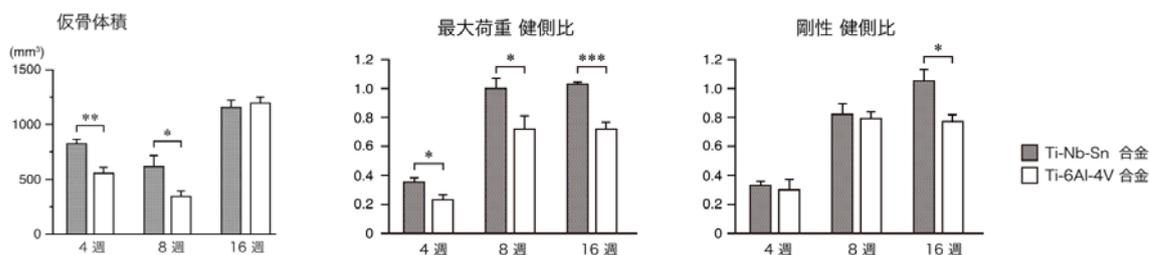
(2) 東北大学金属材料研究所にて Ti-Nb-Sn 合金の一部をクォーツ (石英) チューブ内に封印して加熱処理し、ヤング率を変化させた複数の Ti-Nb-Sn 合金を作成する。それぞれの Ti-Nb-Sn 合金のヤング率を自由共鳴振動法を用いて測定する。これらの Ti-Nb-Sn 合金および市場で入手可能な Ti-6Al-4V 合金を用いて、同形状の骨折固定用のプレートを作成する。ウサギ脛骨骨折モデルを用いて脛骨の横断骨切りを行い、プレート中心を骨切り部に一致させて螺子固定を行う。骨折後 1, 2, 4, 8, 16 週の時点で脛骨を回収し、脛骨からプレートを抜去して抜去前後に単純 X 線写真を撮影する。マイクロ CT を撮影し TRI/3D-BON ソフトウェアを用いて仮骨の体積、骨梁密度などの構造解析を行い、DICOM ソフトウェアと Image J を用いて層板骨の形成を定量的に計測する。

テトラサイクリンを投与して骨塩のラベリングを行った脱灰標本を作成し、HE 染色、Alcian blue 染色、TRAP 染色を行い骨折部での修復反応を共焦点顕微鏡で観察し、Image J を用いて組織形態計測を行う。骨に加わった力学的負荷は骨細胞によって感知され、Wnt/ β -catenin 伝達経路を阻害する Dkk1 やスクレロスチンといった蛋白の産生を調節し、骨芽細胞の分化・活性化を介して骨形成を制御している。切片に Dkk1 およびスクレロスチンの免疫染色を行い、発現している骨細胞数を計測する。蛍光標識した骨において骨芽細胞の石灰化量を計測する。さらに、骨折部仮骨を粉碎して mRNA を抽出し real-time PCR で *Dkk1*, *Sost* の発現量を計測する。

力学的評価においては、術後 4, 8, 16 週の脛骨を用いて骨癒合過程にある骨切り部の強度を 3 点曲げ試験で評価する。Instron Model 5566 を用いて荷重-変位曲線を記録し、骨切り部の最大荷重と剛性を記録する。ヤング率の異なる各プレートでそれぞれ上記の評価を行い、早期骨癒合を得るための至適なヤング率を検討する。

4. 研究成果

(1) 4 週, 8 週時点のマイクロ CT において、仮骨の体積が Ti-Nb-Sn 合金群で有意に大きかった。骨密度はいずれの時期においても両群間に有意差はなかった。3 点曲げ試験では、全ての時期において、最大荷重が Ti-Nb-Sn 合金群で有意に大きかった (下図)。Ti-Nb-Sn 合金製脛内釘の適度な弾性により、骨癒合の初期からリモデリング期まで骨癒合部の力学的特性が改善したと考えられる。

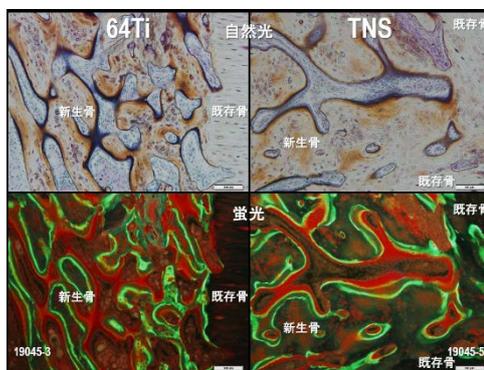


(2) 作成した Ti-Nb-Sn 合金のヤング率を測定した結果、37GPa であった。市販の Ti-6Al-4V 合金製プレートと同型 (42x5x1mm) のプレートを作成し、ウサギ脛骨近位に横骨切りとプレート固定を行い、マイクロ CT、組織形態計測、3 点曲げ試験にて骨折癒合の評価を行った。

組織学的評価においては、TNS 合金において骨折仮骨の新生骨面積が大きい傾向がみられ (右図)、今後定量的評価を行う予定である。

マイクロ CT における仮骨の体積、骨密度、仮骨の骨梁数および骨梁幅、3 点曲げ試験における骨折部仮骨の剛性と最大荷重においては、両群間に明らかな差はみられなかった。脛骨形状とプレート形状の適合性の観点から、骨切り位置を脛骨中央よりも近位に設定していたが、脛骨近位での骨切りは近位脛腓関節による安定性の影響を受けている可能性がある。そのため、今後は近位脛腓関節の影響を受けない脛骨中央～遠位寄りでの骨切りモデルで再度評価を行い、免疫染色を用いた組織学的評価と骨折部仮骨から抽出した骨形成制御遺伝子の mRNA 発現量評価を行いたい。

また近年、骨折治療においてスクリューヘッドとプレートとの間にロック機構をもつロッキングプレートの使用が普及しており、本研究においてもプレートに同機構を備えることで金属材料のヤング率の違いを骨折部の動きにより大きく反映させることが可能となる。Ti-6Al-4V 合金製のロッキングプレートはすでに市販されているため、同型の Ti-Nb-Sn 合金製のロッキングプレートの作成に向けて企業と打ち合わせを進める予定である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Kogure Atsushi, Mori Yu, Tanaka Hidetatsu, Kamimura Masayuki, Masahashi Naoya, Hanada Shuji, Itoi Eiji	4. 巻 107
2. 論文標題 Effects of elastic intramedullary nails composed of low Young's modulus Ti-Nb-Sn alloy on healing of tibial osteotomies in rabbits	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials	6. 最初と最後の頁 700 ~ 707
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.b.34163	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 Fujisawa Hirokazu, Mori Yu, Kogure Atsushi, Tanaka Hidetatsu, Kamimura Masayuki, Masahashi Naoya, Hanada Shuji, Itoi Eiji	4. 巻 106
2. 論文標題 Effects of intramedullary nails composed of a new -type Ti-Nb-Sn alloy with low Young's modulus on fracture healing in mouse tibiae	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials	6. 最初と最後の頁 2841 ~ 2848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.b.34064	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 Kunii Tomonori, Mori Yu, Tanaka Hidetatsu, Kogure Atsushi, Kamimura Masayuki, Mori Naoko, Hanada Shuji, Masahashi Naoya, Itoi Eiji	4. 巻 9
2. 論文標題 Improved Osseointegration of a TiNbSn Alloy with a Low Young 's Modulus Treated with Anodic Oxidation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-50581-7	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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----