

機関番号：10101

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20591734

研究課題名 (和文) 人工椎間板の臨床応用と新規ハイブリッド型再生椎間板の開発

研究課題名 (英文) Clinical application of artificial intervertebral disc and development of novel hybrid type regenerative disc

研究代表者

小谷 善久 (KOTANI YOSHIHISA)

北海道大学・北海道大学病院・講師

研究者番号：40312368

研究成果の概要 (和文)：本臨床治験は厚生労働省面談をすでに終了し、治験開始許可をすでに得ているが、共同企業との調整に時間を要している。現在米国企業との最終交渉を行いつつ、大学内TRセンターと自主臨床研究について検討している。一方、椎間板移植細胞の選定と再生椎間板作成の基礎技術の確立においては、間葉系幹細胞やサイトカイン処理した培養髄核細胞を選定候補とし、細胞移植の足場として生体内吸収性材料を特殊繊維化し、これを三次元立体織物形状に採型した。

研究成果の概要 (英文)：For clinical application of artificial disc, we received the starting approval from PMDA and continued the negotiation with US company. For the regenerative disc research, we selected mesenchymal stem cell or cultured nucleus cell for regenerative cells. The bioabsorbable microfiber was fabricated into the three-dimensional configuration for three-dimensional scaffold.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学

キーワード：脊椎脊髄病学、生体材料、椎間板、再生医学

## 1. 研究開始当初の背景

临床上、欧米で先行している従来の人工関節を応用した金属-ポリエチレン型人工椎間板は、デバイスの脱転や摩耗による合併症が表面化し、特に腰椎では収束の方向に向かっている。われわれが開発してきた人工椎間板は生体親和性ポリマーを主体として形状を自在に変化させることで、世界的にも初めての試みである同時神経除圧が可能な腰椎後

方分割置換と頸椎前方置換を臨床応用の大きな柱としている。厚生労働省の許可を得て本邦初の多施設臨床試験を1年以内に開始する予定である他、米国と欧州での大規模臨床治験の開始準備が進んでいる。一方、これらの人工椎間板に関する研究蓄積を応用した次世代型再生椎間板の開発は、近年の組織再生技術を応用して椎間板髄核と線維輪の一部を再生し、高強度生体内吸収材料との複合

により、生体に近い再生椎間板を開発することを目的としている。生体椎間板は大きな三次元的可動性と支持性を合わせ持つ組織であり、椎間板構成細胞の組織再生による椎間板再生、特に支持性が破綻した老化椎間板の再生には困難を極めてるのが現状である。本研究では生体内吸収性材料によりこの支持性を補って、有効な椎間板機能を再生しようと意図するものである。

## 2. 研究の目的

人工椎間板治験は患者エントリー期間1年、臨床データ収集2年間を予定しており、本申請期間内に終了見込みである。脊椎固定術に代わる本デバイスの新規性としての椎間可動性や椎体界面との安定性についてX線とMRIを用いた評価を行い、その有効性を確認する。また临床上の合併症の発生は既存の人工関節型人工椎間板では大きな問題となっており、特に界面安定性を反映したデバイスの移動や脱転発生の有無を含めた調査を行う。患者を主体としたQOL評価や疾患特異的な評価基準により手術の中期的な有効性についても評価を行う。

一方、次世代型再生椎間板の開発においては、移植細胞およびその起源と足場となる生体内吸収性材料の選定が第一段階の作業となる。移植細胞としては幹細胞由来の培養細胞を、移植基盤には当研究組織が開発した三次元立体織物技術を生体内吸収性材料に応用し、生体椎間板が有する異方性を再現した可動的 Scaffold の開発を計画している。

## 3. 研究の方法

人工椎間板の臨床応用では平成20年度は治験患者のエントリーおよび人工椎間板置換手術を行い、経時的な臨床データを蓄積する。平成21年度以降はこれら臨床データを引き続き収集すると共に、厚生労働省への認可申請および承認を得る。また並行して欧州、米国における臨床治験を進めていく。一方、ハイブリッド型再生椎間板の開発では、平成20年度は移植細胞の選定と細胞培養、生体内吸収性材料による三次元立体織物作成の基礎技術の確立を目指す。平成21年度以降は前年度で確立した技術を基に基礎モデルの作成を行い、これを生体外および小動物の生体内で評価する。生体外試験では圧縮—伸延、捻りによる生体力学特性と疲労特性の評価を行う。生体内試験では移植細胞の経時的な生着状況の評価とともに、生体内吸収性材料の分解による力学的・組織学的変化について検討する。

平成20年度

### (1) 臨床応用のデザインと検討項目

本臨床応用では移植形式を頸椎前方置換と腰椎後方分割置換とする。症例数と治験エントリー期間はそれぞれ30例、1年を予定し、本治験項目による各患者の経過観察は術後2年まで行う。これにはX線学的計測、臨床的スコアリング、合併症の収集を含む。Inclusion criteriaとして、年齢30-75歳、保存治療に1ヶ月以上抵抗性の頑固な腰痛または頸部痛で、かつ上下肢痛を持つ患者とする。頸椎前方置換の適応は、1) 脊髄または神経根障害を呈する頸椎症、頸椎椎間板ヘルニア(1椎間病変)で、脊髄症については日本整形外科学会頸髄症判定基準(JOA score) 13点以下とする。神経根障害については1ヶ月以上の保存治療(薬物、牽引を含む理学療法)が無効な例とする、2) 前方または後方固定後の隣接椎間変性(脊髄または神経根障害を呈するもの)で、X線像におけるすべりやアライメント異常が小さく、椎間不安定性が大きくないものとする。腰椎後方分割置換の適応としては、1) 神経根または馬尾障害を呈する腰部脊柱管狭窄症または再発ヘルニア症例で、屈曲時に8度以下の後方開角またはMyerding分類I度のすべりを伴う軽度不安定椎間、2) 腰椎変性迂り症例でMyerding分類I度のすべりを伴う軽度不安定椎間、3) 神経根または馬尾障害を呈する腰椎固定後隣接椎間変性で、立位X線像におけるすべりやアライメント異常が小さく、椎間不安定性が大きくないものとする。Exclusion criteriaは、術後リスクを明らかに増加させる重篤な循環器、呼吸器系疾患を持つ患者、卵巣摘出後の女性、高度肥満(正常体重より1SD以上の肥満)、高度な骨粗鬆症(DEXA測定で若年成人平均値の50%以下)、習慣性のある薬物常用者あるいは高度喫煙者、脊椎骨折、脊椎感染症、脊椎分離症、脊椎腫瘍の存在である。検討項目として、単純X線正面、側面像を術前4週以内、術後0週、1週、4週、8週、24週、48週に、側面機能撮影を術前4週以内、術後8週、24週、48週に、末梢血液生化学的検査を術前4週以内、0週、1週、8週、48週に予定する。日常生活における機能評価項目としてOswestry disability scoreを、頸部痛、腰痛、または上下肢痛の評価としてVisual analogue score (VAS)を使用し、これらを術前4週、術後4週、8週、24週、48週に評価する。術前から術後48週までの鎮痛剤使用の状況を調査し、脊椎MRI撮影は術前4週以内、術後4週、24週、48週

に行う予定である。

## (2) 人工椎間板置換手術

頸椎前方置換では、前方椎間板切除、椎体部分掘削による神経除圧の後に移植母床を平滑に作成、トライアルを用いた術中計測の後に、専用の Distracter 兼 Inserter を用いて implant を挿入する。Distraction を解除すると HA/PLLA pin は椎体に強固に固定されることが、人屍体および Baboon 移植実験で確認されている。腰椎後方分割置換では、原則として後方神経除圧に後方進入の人工椎間板移植を併用する。椎間関節切除は両側または片側 2 分の 1 以下とする。片側または両側の外側線維輪開窓により十分な髄核および内側線維輪切除を行った後、トライアルを用いた椎間板高さの術中計測を行い、専用の Distracter 兼 Inserter を用いて 2 個または 3 個の implant を挿入する。移植後の早期脱転を防ぎ、かつ有効な椎間運動を獲得するために、椎間を十分に拡大して適切なサイズのインプラントを挿入することが重要である。

## (3) 椎間板移植細胞の選定と再生椎間板作成の基礎技術の確立

間葉系幹細胞やサイトカイン処理した培養髄核細胞を選定候補とし、これに部分的な線維輪組織構築を加える。細胞移植の足場として生体内吸収性材料を特殊繊維化し、これを三次元立体織物形状に採型する。可動性と支持性の均衡を得るために、圧縮-引っ張り、捻り試験と疲労試験を行い、至的な繊維密度、配向比、繊維方向を検討し、調節を加える。この三次元立体織物に生体外で細胞移植の上培養し、基剤への生着を試みる。

平成21年度以降

## (4) 臨床データの収集と解析

患者の個人データ（身長、体重、現病歴、既往歴、服薬状況）や末梢血血液生化学検査結果、Oswestry scale, Visual analogue scale, 鎮痛剤使用記録は、各治験施設より治験本部に郵送される。これをデータ表としてコンピューター入力し、経時的に記録する。X線検査およびMRI検査は撮像後治験本部に郵送され、X線側面像および側面機能撮影像から、移植前の椎間板高および椎間板角、人工椎間板の移植位置のパラメーター測定値、椎間板可動域について測定し、経時的にデータ保存を行う。全身的合併症の発生や、臨床症状の経時的変化についても詳細に記録する。これらのデータは2004年にFDA認可されたSB Charite人工椎間板の臨床データと直接比較

することで、その有効性について検討する。

## (5) 再生椎間板の生体内移植実験

試作したハイブリッド型再生椎間板に細胞移植し、これを生体外培養し生着させる。これを家兎の背部皮下に移植し、経時的変化について検討する。家兎を2週から24週の観察群に振り分け、それぞれの時期で屠殺、摘出後、組織学的評価と生体力学試験に割り当てる。組織学的評価では、基剤と移植細胞の生着状況、それぞれの時期における生体内吸収性材料の分解の程度について検討する。一方生体力学試験では圧縮-引張、捻り負荷における静荷重非破壊試験を行い、これら試験における力学特性と組織学的パラメーターの相関について検討する。上記の結果からハイブリッド型再生椎間板の基礎モデルを確立する。

## 4. 研究成果

平成22年度までに臨床治験開始が遅れている人工椎間板の臨床治験を開始する予定で準備を進めてきた。本治験は厚生労働省面談をすでに終了し、臨床治験開始許可をすでに得ているが、米国企業との調整に時間を要していた。米国M社は本人工椎間板を国際治験の候補材料としてFDA基準をクリアする方向で生体外評価を行った。研究代表者自身も米国で数度の直接会議と必要な再評価試験の結果等につき同社と検討を進めてきた。治験前試験では、生体外試験、特に疲労試験のASTM基準が金属型または金属-ポリマー複合型の形状に設計されており、本人工椎間板のような全体に柔軟性のある材料では試験基準が存在しないことが問題であった。現在米国他社との最終交渉を行いつつ、大学内TRセンターと自主臨床研究について検討している。

可動的 Scaffold を模擬した三次元立体織物の疲労特性では、生体内で30年相当のCycle数までの繰り返し試験を行った結果、Stress-strain curve の変化はほとんどなかった。この三次元立体織物を生体内吸収性材料で作成するにあたり、PGA（ポリグリコール酸）、PLLA（ポリ乳酸）、HA/PLLA（水酸アパタイト/ポリ乳酸）複合体を候補材料とし、編物の試作を行った。その結果、椎間板 Scaffold としての力学特性に耐えうる材料としてHA/PLLAを選択した。HA/PLLA 細繊維を専用に開発した三次元織機を用いて3軸三次元立体織物として試作した。繊維の粘性のためZ軸方向のweavingに改良が必要な状態であるが、動物用の試作品を用いて以下の実

験を行った。

動的 Scaffold に移植する細胞として、サイトカインにより活性化された髄核細胞を選択した。これを三次元立体織物全体に分布させ、かつ生体内吸収性繊維との結合を増すための細胞移植直後の動的処理と培養細胞の表面処理について、さらなる検討を加えた。

#### 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)

[雑誌論文] (計 12 件)

- 1 Shikinami Y, Kawabe Y, Yasukawa K, Tsuta K, Kotani Y, Abumi K. A bimimetic artificial intervertebral disc system composed of a cubic three-dimensional fabric. The Spine Journal 10 :142-52, 2010. 査読有
- 2 Hojo Y, Ito M, Abumi K, Kotani Y, Sudo H, Takahata M, Minami A. A late neurological complication followig posterior correction surgery of severe cervical kyphosis. Eur Spine J 2010 (Epub ahead of print) 査読有
- 3 Kotani Y, Abumi K, Ito M, Terae S, Hisada Y, Minami A. Neurological recovery after surgical treatment of giant cervical pseudomeningoceles extending to lumbar spine associated with previous brachial plexus injury. Eur Spine J S206-10, 2010. 査読有
- 4 Ito M, Abumi K, Kotani Y, Takahata M, Sudo H, Hojo Y, Minami A. Simultaneous double-rod rotation technique in posterior instrumentation surgery for correction of adlescent idiopathic scoliosis. J Neurosurg Spine 12 :293-300, 2010. 査読有
- 5 Sudo H, Ito M, Abumi K, Kotani Y, Takahata M, Hojo Y, Minami A. One-stage posterior instrumentation surgery for the treatment of osteoporotic vertebral collapse with neurological defects. Eur Spine J 19 :907-15, 2010. 査読有
- 6 小谷善久、鏡 邦芳、伊東 学、三浪明男。脊椎脊髄外科における Motion Preservation Technology : 脊椎可動性温存技術の現状と本邦発の人工椎間板臨床応用への取り組み  
Journal of Spine Research 1:8-16, 2010. 査読有
- 7 Sudo H, Abumi K, Ito M., Kotani Y, Takahata M, Minami A. Spinal cord compression by ligamentum flavum hematoma in the thoracic spine. Spine 34 E942-4, 2009. 査読有
- 8 Ito M, Sudo H, Abumi K, Kotani Y, Takahata M, Fujita M, Minami A. Minimally invasive surgical treatment for tuberculous spondylodiscitis. Minim Invas Neurosurg 52 :1-4, 2009. 査読有
- 9 Kotani Y, Abumi K, Ito M, Sudo H, Takahata M, Ohshima S, Hojo Y, Minami A. Minimum two-year outcome of cervical laminoplasty with deep extensor muscle preserving approach: Impact on cervical spine function and quality of life. Eur Spine J 18:663-71, 2009. 査読有
- 10 Kotani Y, Ito M, Abumi K, Yasui K, Minami A. Neurological recovery from pentaplegia after surgical treatment of sacral plasmacytoma presenting POEMS syndrome. Case report. J Neurosurg Spine 10:324-28, 2009. 査読有
- 11 小谷善久、鏡 邦芳、三浪明男。脊椎脊髄外科における Motion Preservation Technology (総説)  
日本腰痛学会雑誌 15:86-94, 2009 (日本腰痛学会優秀論文賞受賞) . 査読有
- 12 Takahata M, Ito M, Abumi K, Kotani Y, Sudo H, Minami A. Clinical results and complications of circumferential spinal cord decompression through a single posterior approach for thoracic myelopathy caused by ossification of

posterior longitudinal  
ligament. Spine. 33:1199-208, 2008.  
査読有

三浪 明男 (MINAMI AKIO)  
北海道大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：20133738

[学会発表] (計 3 件)

(3) 連携研究者  
なし

- 1 小谷善久、鑑 邦芳、三浪明男  
Development and clinical application  
of biomimetic artificial interverte-  
bral disc with the unique structure  
of three-dimensional fabric.  
第 13 回脊椎と神経を語る会、2009 年 3 月  
14 日、横浜市
- 2 小谷善久  
脊椎脊髄外科におけるバイオメカニクス  
と最近の知見 第 4 回大阪バイオメカニク  
ス研究会、2009 年 3 月 7 日、大阪市
- 3 小谷善久、脊椎脊髄外科における Motion  
Preservation Technology  
第 16 回日本腰痛学会、2008 年 11 月 1 日  
於：東京 (日本腰痛学会優秀論文賞受賞)

[図書] (計 3 件)

- 1 Abumi K, Ito M, Kotani Y  
Occipitocervical stabilization. In  
the Cranivertebral junction, Goel A,  
Cassiola F, ed. Pp110-128, 2011,  
Thieme-Stuttgart, New York.
- 2 Abumi K, Ito M, Kotani Y  
Cervical pedicle screw fixation.  
Chapter 21, 2010 American Academy of  
Orthopaedic Surgeons, ppl-11, 2010.
- 3 Abumi K, Kotani Y, Ito M, Vaccaro A.  
Subaxial injuries : Pillar (Pedicule  
and lateral mass) fractures.  
In Cervical Spine Truma, Vaccaro A and  
Andersson P, ed., Rothman institute,  
Philadelphia, pp409-419, 2009

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小谷 善久 (KOTANI YOSHIHISA)  
北海道大学・北海道大学病院・講師  
研究者番号：40312368

### (2) 研究分担者

鑑 邦芳 (ABUMI KUNIYOSI)  
北海道大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：00159419