

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月28日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591898

研究課題名（和文） 骨移植不要の椎間固定材料としての表面処理多孔体チタンの骨形成能の比較研究

研究課題名（英文） A comparative study of the bone forming ability of surface-treated porous titanium materials

研究代表者

根尾 昌志（NEO MASASHI）

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：80311736

研究成果の概要（和文）：

チタンの多孔体円柱を3種類の方法、つまりハイドロキシアパタイトコーティング（HA）、アルカリ温水加熱処理（AW）、アルカリ希塩酸加熱処理（HCl）のいずれかで表面処理し、日本白色家兎大腿骨顆部に埋入した。埋入後104週まで多孔体内部の骨形成量を調べたところ、AWは52週以降、HClは12週以降HAを有意に上回っていた。一方、より高い骨形成能の見込まれた混酸処理チタンの骨誘導能も調べたが、これはHClと差がなかった。

研究成果の概要（英文）：

We investigated the effect of the surface treatment on the bone forming abilities of porous titanium implant in the long term. Three types of surface treatments were applied: (a) hydroxyapatite coating (HA), (b) alkali, hot water, and heat treatment (AW), and (c) alkali, dilute HCl, hot water, and heat treatment (HCl). We then examined the amount of bone formation within the materials implanted in the femoral condyles of Japanese white rabbits at 6, 12, 26, 52, and 104 weeks. The results showed that the bone ingrowth in AW and HCl was significantly higher than in HA after 52 and after 12 weeks, respectively.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：人工材料学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学、整形外科学

キーワード：生体活性、チタン、脊椎、インプラント、固定術、骨誘導

研究開始当初の背景

近年高齢化社会の到来とともに、人工関節や脊椎固定術などの生体インプラントを用いた再建術の需要は増え続けており、優れた骨結合能をもつインプラントの開発が望まれ

ている。

セメントレス人工関節においては、周囲の骨組織との強い固定性を得るために、インプラント内に骨進入を許すことで機械的な固定性が得られる、チタンの多孔構造を表面に持つインプラントが現在主流となっている。さ

らに、早期に骨の多孔体内への進入を促進し、初期固定性を向上させる目的で生体活性セラミックス（ハイドロキシアパタイト、AWガラスセラミックス など）をその表面にコーティングしたインプラントが開発されてきた。特に溶射法を用いたハイドロキシアパタイトコーティングは1980年代より人工股関節に臨床応用され術後十数年までの優れた臨床成績が報告されており、一般に広く使用されている。しかし、ハイドロキシアパタイトコーティング層は生体内で吸収されることがあり、長期の経過でコーティング層が吸収されて無くなり、インプラントと骨との結合性が低下する可能性がある。また、手術時や吸収に伴った脱落が起こることによる **third body wear** の問題等も抱えている。多孔体金属へのハイドロキシアパタイトコーティングにより、初期の骨伝導能や接着力を向上させたという報告はこれまで多数認められるものの、長期経過による影響やコーティング層の吸収性についての報告は少ない。

一方、我々はチタンに化学熱処理を施すことで、インプラント表面に酸化チタン層が形成され、骨と直接結合する生体活性能を獲得できることを報告してきた。処理を行った多孔体チタンには優れた骨伝導能を認め、この化学熱処理多孔体チタンを表面に持った人工関節は、その治験において良好な臨床成績を示し、平成19年に本邦で市販が許可されている。化学熱処理による酸化チタン層はハイドロキシアパタイトコーティング層のような吸収性はなく、長期にわたる骨組織との結合が期待できる。さらにこの表面処理はハイドロキシアパタイトコーティングと異なり、多孔体チタンの内部まで生体活性能を付与することが可能である。多孔体内部まで生体活性化できることは、人工関節と異なり **bulk** で用いる椎体間ケージでは特に有利に働くと思われる。また、犬においては筋肉内でインプラント内に異所性骨化を引き起こす骨誘導能を持つことも確認されている。インプラント自身がインプラント内部に骨形成を引き起こす骨誘導能は、長期の骨結合や人工骨としての応用に有利に働く可能性があり、この点でも化学熱処理チタンはハイドロキシアパタイトコーティングチタンを凌駕できる可能性がある。

## 2. 研究の目的

まずハイドロキシアパタイトをフレーム溶射コーティングした多孔体チタンの生体内での早期から長期に渡る動態（多孔体内への骨進入の程度や様式、骨進入の速さ、形成された骨の吸収、リモデリング、など）を動物実験によって確認することで、臨床で用いられているハイドロキシアパタイトコーティ

ング表面処理の長期間にわたる効果について考察する。

また、化学熱処理された多孔体チタンの骨内での動態を同様に観察し、化学熱処理がハイドロキシアパタイトコーティングと比較して生体活性が長期間続くのか、また、多孔体では内部まで処理ができていないことの効果が見られるのかを検討する。そして、**bulk** として用いる椎体間スパーサーとしての臨床応用の可能性について考察する。

また、研究期間中に最もチタンの生体活性を上げる処理と考えられていたHClよりも混酸加熱処理チタンの方が、骨伝導能が優れているという報告がなされた。そこで、前臨床実験に移る前に、混酸加熱処理チタン多孔体とHCl処理チタン多孔体の骨誘導能を調べ、椎体間ケージに最も適した材料候補を選ぶ基礎データとすることにした。

## 3. 研究の方法

### (1) 実験1

日本白色家兎を用いたハイドロキシアパタイトコーティングチタンと化学熱処理チタンの多孔体内骨形成能の比較実験を行った。ウサギの大腿骨頸部に直径6mm、高さ10mmの多孔体チタン円柱を挿入した。チタン円柱はプラズマ溶射法によって作成した。使用する多孔体チタンは表面処理のないもの（コントロール）(con)、ハイドロキシアパタイトコーティングをしたもの（HA）、アルカリ温水加熱処理をしたもの（AW）、アルカリ希塩酸加熱処理をしたもの（HCl）の4種類を用いた。ハイドロキシアパタイトコーティングに関しては現在臨床で用いられている人工関節と同様の方法でフレーム溶射処理した。AWは5M NaOH溶液に60°C24時間、その後超純水に40°C24時間浸漬し、さらに600°Cで1時間加熱処理した。HClはAWのアルカリ処理の後に0.5mM HClに40°Cで24時間浸漬する工程を加えた。埋入後6, 12, 26, 52, 104週で非脱灰標本を作成し、光学顕微鏡や蛍光顕微鏡を用いて多孔構造内に進入してくる骨組織を観察し、多孔体内に形成される骨の定量的、経時的評価を行った。poreに占める新生骨の割合をbone ingrowth rate、材料表面で骨と材料が接触している部分の割合をaffinity indexと定義し算出した。

### (2) 実験2

混酸加熱処理チタン（66.3% $H_2SO_4$ +10.6%HCl 70°C1時間後超純水で洗浄、さらに600°C1時間

加熱) (MA) と HCl (この実験では 0.5mM HCl の代わりに 50mM HCl を用いた) の骨誘導能の比較実験を行った。それぞれの表面処理を行ったチタン多孔体をビーグル犬の背筋内に埋入し、6ヶ月後及び12ヶ月後に摘出して非脱灰標本を作製、気孔内に誘導された骨量を von Gieson and Stevenel's blue 染色で評価した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 実験 1

各材料、各観察期間についてのサンプル数は 4-5 であった。

各時期、各材料の Bone ingrowth rate を図 1 に、affinity index を図 2 に示す。

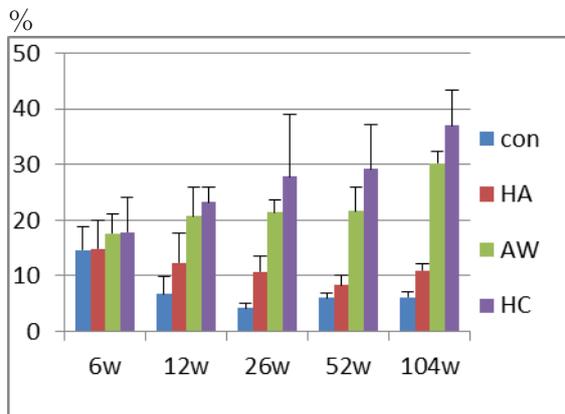


図 1 Bone ingrowth rate

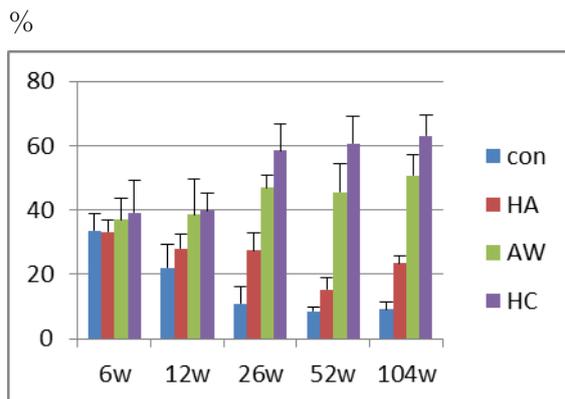


図 2 Affinity index

Bone ingrowth rate も Affinity index も同様の傾向を示した。

Bone ingrowth rate では 6 週では各群で有意差を認めなかったが、12 週、26 週では con-AW、con-HCl、HA-HCl 各間で有意差を認め、52 週、104 週では con-AW、con-HCl、HA-AW、HA-HCl 間でそれぞれ有意差を認めた。

Affinity index では 6 週で有意差を認めなかったが、12 週では con-HCl、HA-HCl 間で、26 週では con-HA、con-AW、con-HCl、HA-AW、HA-HCl 間で、52 及び 104 週では con-AW、con-HCL、HA-AW、HA-HCL 間で有意差を認めた。結局、con と HA では 6 週以降多孔体内新生骨量、材料骨接触面積が減少していくのに対し、化学熱処理チタンでは両処理とも経時的に増加していく。そして、26-52 週後には、HA よりも有意に多孔体内新生骨量、材料骨接触面積が増えるという結果であった。

ハイドロキシアパタイトコーティング層は比較的厚い非脱灰標本上では、正確な同定、定量は難しかったが、経時的に消失している印象であった。

上記結果は、現在使用されているハイドロキシアパタイトプラズマ溶射コーティング

(HA) は、多孔体内の骨形成量が無処理のものと比較して増える傾向があるものの有意に増加させるとは言い難いこと、また、術後早期に形成された多孔体内の骨量が、ハイドロキシアパタイトコーティングをしてあっても無処理のものと同じように、6 週以降は減少していくことを示し、ハイドロキシアパタイトコーティングの多孔体内骨形成増強効果に疑問を投げかけるものであった。

一方、表面化学熱処理チタン、とりわけアルカリ希塩酸加熱処理チタン (HCl) は 2 年間にわたって経時的に多孔体内の骨量が増加していき、bulk の材料でも長期の骨結合を期待できることがわかった。このことは、HA では経時的なコーティング層の剥離、吸収が懸念されるのに対し、化学熱処理チタンではそのようなことが起こらず、長期にわたって骨伝導能が保たれること、化学熱処理では、ハイドロキシアパタイトコーティングと異なり、多孔体内部までの生体活性化が可能であること、などが原因と考えられる。

以上の結果は、bulk として用い、体内で半永久的に骨との強固な結合が望まれる椎体間ケージへの応用に期待を抱かせるものである。

##### (2) 実験 2

HCl 及び MA どちらの材料内にも骨誘導による新生骨が認められた。(図 3) しかし、6 か月では、HCl  $9.1 \pm 4.2\%$ 、MA  $10.2 \pm 5.3\%$ 、12 ヶ月では HCl  $16.7 \pm 6.3\%$ 、MA  $16.0 \pm 6.4\%$  とどちらも有意差を認めなかった。

%

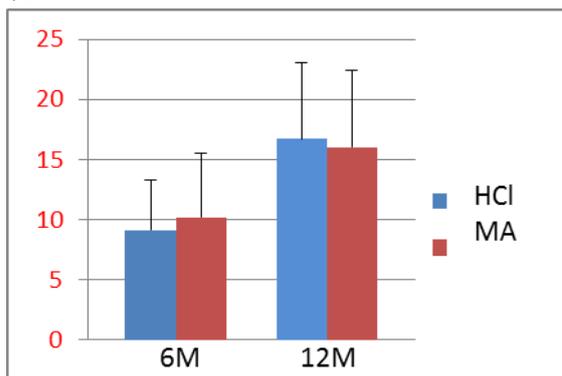


図 3

最近では、金属表面のゼータ電位が骨誘導能において重要であるという研究結果が示されているため、この2者のゼータ電位を測定してみたが差が無く、これが骨誘導能に差のない原因かもしれない。

### (3) 研究成果のまとめ

化学熱処理多孔体チタン、特にHClではHAに比べて、新生骨を長く多く気孔内に留めておく事が証明できた。これは、多孔体内部までの表面処理が容易であること、および表面処理層の安定性によると推察できた。したがって、化学熱処理チタンは、椎体間ケージなどbulkで用い半永久的に骨結合していることの求められる多孔体インプラント材料として、HAよりも優れている可能性が示唆された。多孔体内の骨形成量が多ければ、移植骨不要の椎体間ケージも夢ではなく、椎体間固定術にとっては画期的な進歩となる。しかし、この長期間大量の多孔体内骨形成・保持能力は、チタン表面での化学熱処理層の安定性にあるのか、内部までの生体活性化にあるのか、優れた骨伝導性にあるのか、骨誘導能にあるのか、等はわかっておらず、どのような化学熱処理が椎間スペーサーの材料としてベストであるのかについても、さらなる研究が必要である。

## 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1件)

- (1) K. Tanaka, M. Takemoto, S. Fujibayashi, K. Kawanabe, T. Matsushita, T. Kokubo, T. Nakamura, Long-term study of osteoconductivity of bioactive porous titanium metals: Effects of sodium removal by dilute HCl treatment, Key Engineering

Materials Vols. 396-398, 2009, pp. 353-356, 査読有  
<http://www.scientific.net>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

根尾 昌志 (NEO MASASHI)  
京都大学・医学研究科・准教授  
研究者番号：80311736

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

竹本 充 (TAKEMOTO MITSURU)  
京都大学・医学研究科・助教  
研究者番号：00456873