

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 25 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861300

研究課題名(和文) ヨード担持チタン製抗菌インプラントの骨伝導能・骨誘導能の解析

研究課題名(英文) Osteoconduction and osteoinduction of antibacterial iodine-supported implants

## 研究代表者

加藤 仁志 (Kato, Satoshi)

金沢大学・大学院・助教

研究者番号：30584841

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：当施設で開発した抗菌インプラントであるヨード担持チタンの骨伝導能について、動物実験を用いて研究を行った。

イヌの腰椎椎体に刺入したチタン製、陽極酸化処理のみ施行したチタン製、ヨード担持チタン製のscrewについて、引き抜き強度試験と組織学的検討を行った。引き抜き試験、組織学的検討いずれにおいても各群間に有意な差は認めなかった。この結果は、ヨード担持チタンがチタンの優れた骨伝導を妨げることなく抗菌効果を持ち得ることを示唆するものであった。

研究成果の概要(英文)：The antibacterial iodine-supported titanium implants has been developed in our institute and have been observed in a clinical trial. We conducted animal experiment about an osteoconductivity of the iodine-supported titanium.

A biomechanical testing of pull out strength and a histological examination of the 3 kinds of screws inserted to lumbar vertebral bodies of dogs were investigated. They were titanium screws, anodically-oxidized titanium screws, and iodine-supported titanium screws. In the both the pull out strength and histological osteoconduction, no significant differences were observed between any two of 3 types of screws. The osteoconduction of iodine-supported titanium was equivalent to that of titanium.

研究分野：脊椎脊髄外科

キーワード：抗菌インプラント ヨード担持チタン 骨伝導能 力学試験 組織学的検査 脊椎

1. 研究開始当初の背景

近年、骨関節領域や歯科領域において、損傷または欠損した骨の再建に金属製インプラントは必要不可欠なものになっている。感染症は整形外科手術における重大な合併症の一つであり、当施設では土屋、白井らが千葉工業大宅の高谷教授とともに抗菌作用を有するチタン表面ヨード担持技術を開発してきた(土屋 弘行、白井 寿治. 整・災外. 53: 1175-1180, 2010)。

ヨード担持チタンの抗菌性は基礎実験により示されている。in vitro において金属プレート上で黄色ブドウ球菌や大腸菌の培養を行った際、ステンレス製、チタン製いずれのプレートと比較しても、ヨード担持チタン製のプレート上では有意にコロニー形成が少なかったことが示されている。また、in vivo において、ウサギの大腿骨にハーフピンを刺入した際、ヨード担持チタン製のハーフピン周囲の炎症性、感染性変化がステンレス製、チタン製いずれのハーフピンよりも有意に少なかったことが報告されている。

ヨード担持チタンはチタン表面を陽極酸化処理することで形成された微細な孔にポビドンヨードを封入することにより作製される(図1)。以前より、チタンやチタン合金の表面を陽極酸化処理したものはその微細孔が骨芽細胞を刺激することから骨伝導能が高いという報告がある(Kim KH et al, Dent Mater J. 28(1): 20-36, 2009)。陽極酸化チタンの表面には軟部組織を介さず骨が形成されており、ウサギ脛骨における引きはがし試験で未処理のチタンよりも強い結合を示したとの報告もある(Bojian L et al, Biomaterials. 24: 4959-4966, 2003)。一方でポビドンヨードが金属周囲の骨形成にどのように作用するかは報告はない。

ヨード担持チタンは、in vitro では、金属プレート上における線維芽細胞の培養においてステンレス製、チタン製プレートと比較してもコロニー数に差がないことが示されており、in vivo でもステンレスと比較して優れた骨伝導能を持つことが報告されている。

ヨード担持チタンが優れた抗菌作用のみではなく、優れた骨伝導能をも有するのであれば、その有用性はさらに広がり、強固な固定を感染の危険性を減らしながら行えることになる。

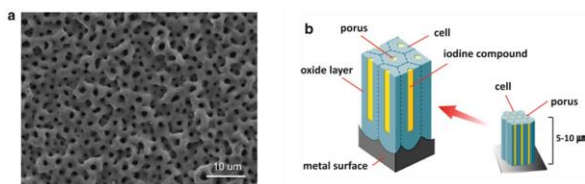


図1 ヨード担持チタンの表面

2. 研究の目的

当科で開発した抗菌作用を有するヨード担持チタン製インプラントの骨伝導能と骨誘導能について、チタン製インプラント、陽極酸化処理チタン製インプラントと比較しながら解析を行い、動物実験を用いてその作用機序を解明すること。

チタン、陽極酸化チタン、ヨード担持チタンを用いることにより、表面の微細な孔ができること、そこにポビドンヨードが封入されることのそれぞれによる骨伝導能と骨誘導能への影響について検討する。

3. 研究の方法

メスのビーグル犬 18 頭を 6 頭ずつチタン群 (Ti 群)、陽極酸化チタン群 (AO-Ti 群)、ヨード担持チタン群 (Ti-I<sub>2</sub>群) の 3 群に分けた。

全身麻酔下で、成犬の胸腰椎の椎体に Ti 群ではチタン製、AO-Ti 群では表面を陽極酸化処理したチタン製、Ti-I<sub>2</sub>群では表面を陽極酸化処理し、ポビドンヨードを封入したチタン (Ti-I<sub>2</sub>) 製のスクリューを各個体の第 1 腰椎から第 6 腰椎まで刺入した。各群とも術後 4 週で 3 頭、8 週で 3 頭を屠殺し、検体を摘出した(図2)。

各個体において第 1～第 5 腰椎は力学試験に用い、第 6 腰椎は組織学的検討に用いた(図3)。

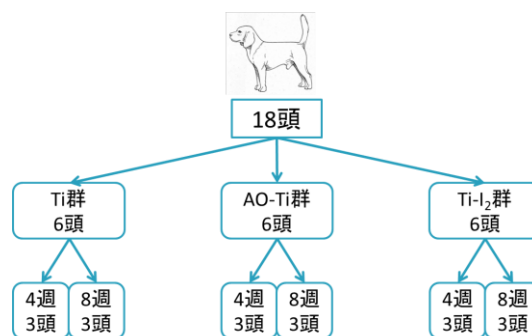


図2 各群の振り分け

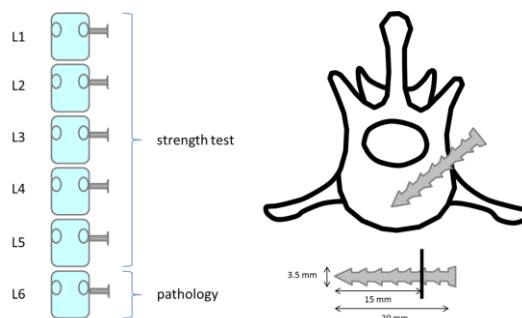


図3 スクリューの刺入方法

(1) 力学試験ではスクリューの引き抜き強度を計測した。計測には、油圧サーボ式万能試験機 UH-1000kNI (島津製作所) を使用した。screw を長軸方向に 10mm/min の速度で牽引を行い、screw の引き抜き強度のピーク値を記録した (図 4)。

(2) 組織学的評価では摘出した検体をホルマリン固定した後、メタクリル酸メチルで包埋、スクリューごと研磨し、非脱灰標本を作成した。染色は自然光、蛍光、偏光などで骨形態や性質を評価しやすい Villanueva bone 染色を行なった。スクリュー全長のうち、骨と直接接している部分の長さが占める割合を過去の報告 (Y. Yonekura et al. J Bone Joint Surg [Br]. 93(5): 644-649, 2011) に基づいて Rate of bone formation on thread (RBFT) とし、骨伝導能の指標とした (図 5)。



図 4 スクリューの引き抜き試験

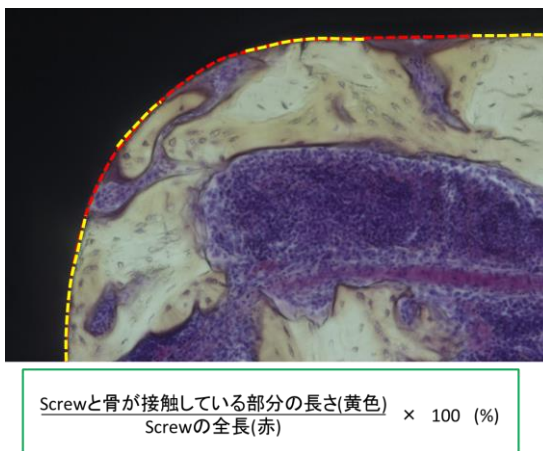


図 5 RBFT の計測

#### 4. 研究成果

スクリューの刺入位置不良や試験中の検体破損のため、サンプル数は予定よりも少なくなった。Ti 群ではスクリュー刺入後 4 週で取り出した検体が 3 椎体、8 週で取り出した検体が 10 椎体あった。AO-Ti 群では 4 週で取り出した検体が 6 椎体、8 週で取り出した検体が 4 椎体だった。Ti-I2 群では 4 週で取り出した検体が 6 椎体、8 週で取り出した検体が 4 椎体だった。

(1) スクリューの引き抜き強度は、Ti 群では 4 週の検体で平均 1080N(884-1411)、8 週の検体で平均 1098N(842-1432) だった。AO-Ti 群では 4 週の検体で平均 1080 N (845 - 1354)、8 週の検体で平均 1007 N (887-1220) だった。Ti-I2 群では 4 週の検体で平均 1166 N (942 - 1465)、8 週の検体で平均 1127 N (969-1341) だった。4 週、8 週いずれの検体においても 3 群間に有意な差は認めなかった (図 6)。

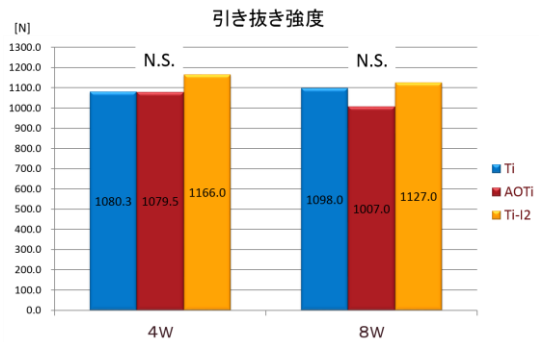


図 6 screw の引き抜き強度

(2) 組織学的検査は、定量的な評価はできていないが、4 週の検体において AO-Ti 群と Ti-I2 群では、Ti 群よりも類骨や新生骨が多い傾向にあった (図 7、8)。スクリュー表面における骨とスクリューの接し方について、軟部組織の介在や類骨の増生など、各群で特定の所見を認めることはなかった。

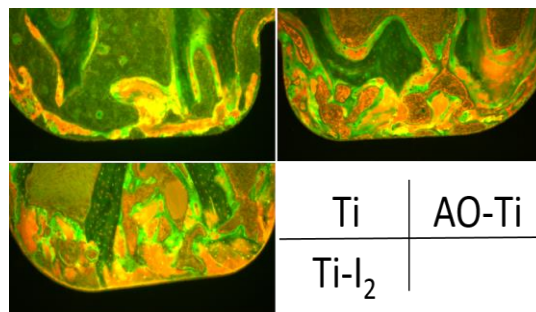


図 7 screw 周囲の骨形成

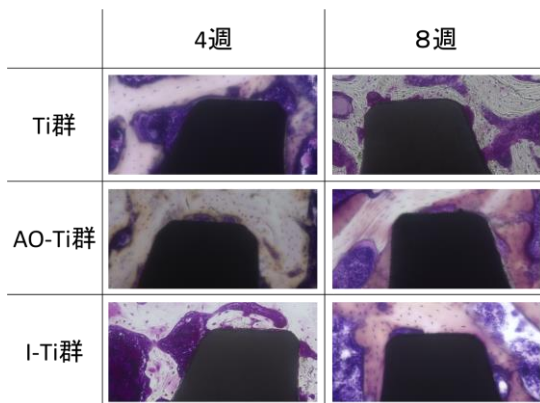


図8 スクリューと骨の接触面

RBFT は、Ti 群では 4 週の検体で平均 53.0%(49.1-56.9)、8 週の検体で平均 57.7%(55.7-59.8)だった。AO-Ti 群では 4 週の検体で平均 61.9%(60.9-62.9)、8 週の検体で平均 66.0%(64.8-66.7)だった。Ti-I2 群では 4 週の検体で平均 61.6%(60.6-62.8)、8 週の検体で平均 61.6%(61.1-62.1)だった(図9)。各群間においてRBFT に有意な差は認めなかった。4 週、8 週とも、AO-Ti 群、Ti-I<sub>2</sub>群で、Ti 群より RBFT が高い傾向は認められた。

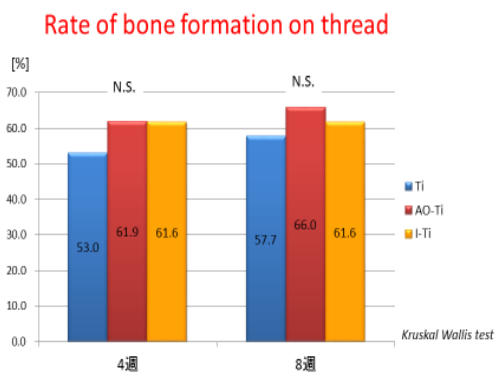


図9 RBFT の比較

力学的検討、組織学的検討いずれにおいても各群間において有意な差は認めなかったが、組織学的検討では AO-Ti 群、Ti-I<sub>2</sub>群で、Ti 群より骨伝導能が高い傾向は認められた。

この結果は、チタンを陽極酸化処理することにより骨伝導能が高まるという、従来の報告と同様の傾向を示すものであった。また、陽極酸化チタンの微小な孔にポビドンヨードを封入しても骨伝導が低下しない可能性も示唆した。ポビドンヨードの毒性による骨伝導への影響は非常に軽度なものであったと考えられた。

ヨード担持チタンが優れた抗菌効果に加えて、優れた骨伝導能をも有するのであれば、ヨード担持チタン製インプラントは感染症の予防や治療に対する有用性の他に、骨脆弱

性を有する患者に対する内固定材としての有用性も持つことになる。

脊椎感染症は高齢者に発症することも多く、骨粗鬆症が合併していることも少なくない。優れた抗菌効果と骨伝導能は脊椎感染症に用いるインプラントとして非常に有用な性質である。

本研究の結果では、ヨード担持チタンがチタンの優れた骨伝導を妨げることなく抗菌効果を持ち得ることが示唆された。これはヨード担持チタン製インプラントの新たな有用性を示すものである。ヨード担持チタンが、骨粗鬆症患者の骨関節領域における感染症治療や、易感染性を有する患者の手術時の感染症予防に重要な位置を持つインプラントになり得ることが示された。

## 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 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

① 2015年10月22日、23日  
第30回日本整形外科学会基礎学術集会(富山市)【発表予定】

「ヨード担持チタン製 screw の骨伝導能」  
太田 敬、村上 英樹、出村 論、加藤 仁志、吉岡 克人、林 寛之、井上 啓、新村 和也、横川 文彬、土屋 弘行

② 2014年10月9日、10日  
第29回日本整形外科学会基礎学術集会(鹿児島市)

「イヌの椎体に刺入したヨード担持チタン製 screw の骨伝導能」  
太田 敬、村上 英樹、出村 論、加藤 仁志、吉岡 克人、林 寛之、新村 和也、横川 文彬、石井 孝佳、五十嵐 峻、土屋 弘行

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等 なし

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 仁志 (KATO, Satoshi)

金沢大学・大学病院・助教

研究者番号：30584841

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし

(4)研究協力者

土屋弘行 (TSUCHIYA, Hiroyuki)

村上英樹 (MURAKAMI, Hideki)

白井寿治 (SHIRAI, Toshiharu)

太田敬 (OTA, Takashi)