

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 4 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462298

研究課題名(和文) 表面コーティングによる人工関節の感染防御と骨再生能促進

研究課題名(英文) New Implant Coating Technology with Phosphopullulan Bioadhesive Materials

研究代表者

香川 洋平 (Kagawa, Yohei)

岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号：90584962

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：整形外科領域の手術においてはインプラントと骨との早期固定が重要である。セメントレスのインプラント表面にはハイドロキシアパタイト(以下HA)がコーティングされることが多いが、コーティング方法は様々で確立されたひとつの方法があるわけではない。本研究においては多糖誘導体リン酸化プルラン(以下PP)を基材として、HAをインプラントにコーティングし骨新生の促進を得た。力学強度試験、元素分析および組織学的評価のいずれの実験結果においてもPP+HA群において有意に優れた結果が得られた。HAを添加することでより優れた骨伝導を期待でき、PPはインプラントをコーティングする基材として有用であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：In the orthopaedic surgery, the early fixation due to the new bone formations around the implant is important. Hydroxyapatite (HA) is often coated on the cementless implant surface. A variety of coating methods have been used, but the best coating procedure still remains controversial. A purpose of this study is to get promotion of the new bone formations by coating HA on implants with phosphopullulan (PP) as matrix. In the mechanical examination, in the quantitative elemental analysis, and in the histological examination, there was evidence of bone neoformation on the surface of the implants in PP+HA groups than in any other groups. The PP has little harm to the living body, and does not remain in the body as an alien substance to be absorbed in vivo. The PP coating had a beneficial effect on interfacial shear strength and peri-implant new bone formation in rabbit femurs during the early stages of bone healings.

研究分野：生体材料

キーワード：リン酸化プルラン インプラントコーティング

1. 研究開始当初の背景

整形外科領域の手術においては、インプラント周囲の骨イングロースによる早期固定が重要である。セメントレスのインプラント表面にはハイドロキシアパタイト(以下HA)がコーティングされることが多いが、イナートガス・シールドアーク溶射法や減圧アーク溶射法、プラズマ溶射法などそのコーティング方法は様々で、確立されたひとつの方法があるわけではない。リン酸化プルランは安全性が高いプルランが基材であり、澱粉同様、使用制限がなく、各種安全性試験(単・復経口投与と毒性試験等)で安全性が確認されている物質である(図1)。

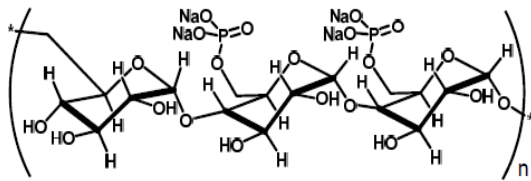


図1. リン酸化プルランの構造

2. 研究の目的

多糖誘導体リン酸化プルラン(以下PP)を基材として、HAをインプラントにコーティングすることで骨新生の促進を得ること。

3. 研究の方法

直径5mm、長さ15mmの円筒状のチタン合金製インプラント(Ti-6Al-4V)を作製した(図2)(Electron Beam Melting System, S12, Arcam AB)。



図2. チタン合金インプラント

またCaCl₂をバッファとして1%のPP溶液とPP+HA溶液を作製した。その後インプラントに満遍なく溶液をコーティングした(Precision Coating System, ASAHI SUNAC)。全身麻酔下に雌NZ白色家兔(3.0~3.6kg)の大腿骨顆部に、関節面に平行な直径5.2mmの骨孔を作製し、インプラントを埋入した(図3)。埋入インプラントの種類によりコーティングなしのコントロール群(C群、33肢)、PPコーティング群(PP群、35肢)、PP+HAコーティング群(PP+HA群、33肢)の3群に分類した。術後2週および4週で屠殺し大腿骨を切り出し、インプラントの押し抜き力学強度試験を行った(Universal testing machine,

Model 5982, Instron Japan Co. Ltd.)。



図3. ウサギ大腿骨骨孔にインプラントを埋入

また4週で取り出した検体におけるインプラント表面の元素分析およびインプラント周囲の組織学的評価を行った。力学強度試験では、インプラントが3mm移動する間の最大力学強度を計測した(図4)。

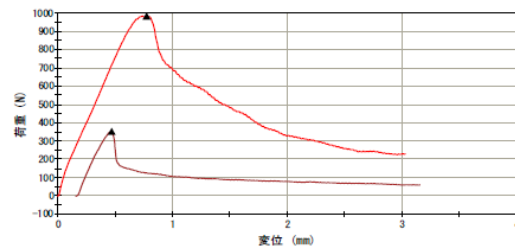


図4. 押し抜き力学強度試験(最大力学強度を示す)

元素分析では、Hitachi S4800 scanning electron microscope (SEM)を用いてインプラント表面の元素カウントを行い検討した(図5)。

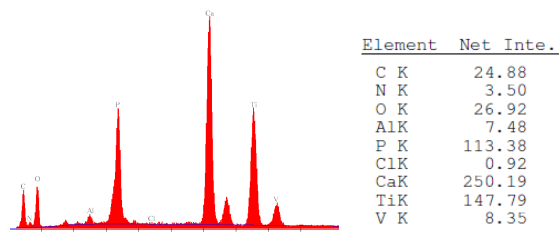


図5. インプラント表面における元素カウント

PP溶液のバッファとしてCaCl₂を使用するため、新生骨の評価はCa元素ではなくP元素で行った。また組織学的評価では、インプラントの長軸方向に対して垂直な断面で評価を行い、インプラント内への進入骨量およびインプラントと骨の接触距離を計測した。研究対象の内訳は表1に示す。

TABLE 1. Demographics of the study group

	Mechanical examination (legs)		The amounts of P element (fields of vision)		Histological examination (slides)	
	2w	4w	Pre-op	Post-op	Bone area	BIC length
C	15	17	21	21	12	12
PP	17	17	21	21	12	12
PP+HA	15	17	21	21	12	12

P indicates phosphorus; w, weeks; op, operation; BIC, bone-implant contact; C, control; PP, phosphorylated pullulan; HA, hydroxyapatite.

表 1 . 研究対象の内訳

4 . 研究成果

押し抜き力学強度試験では、術後 2 週においては C 群 687 N (217 ~ 1175 N)、PP 群 737 N (394 ~ 1132 N)、PP+HA 群 860 N (478 ~ 1400 N) であり 3 群間に有意な差はなかった。一方、術後 4 週においては C 群 929 N (546 ~ 1272 N)、PP 群 1045 N (775 ~ 1629 N) に対して、PP+HA 群は 1139 N (968 ~ 1898 N) であり C 群に比較して有意に高い値であった (図 6)。

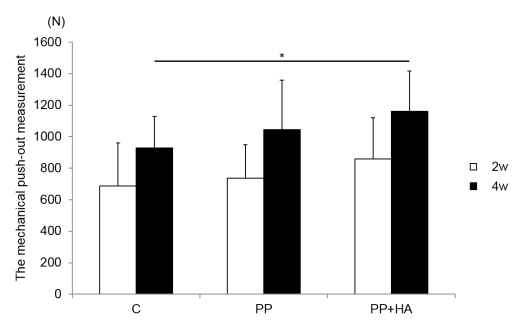


図 6 . 押し抜き力学強度試験

元素分析ではインプラント表面の P 元素が、C 群よりも PP 群で有意に多く、PP+HA 群は PP 群よりも有意に多かった (図 7, 8)。

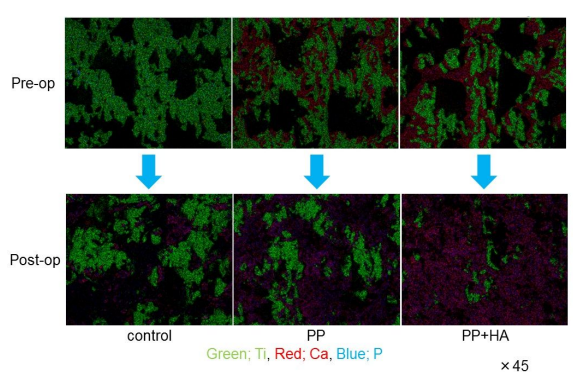


図 7 . 元素分析

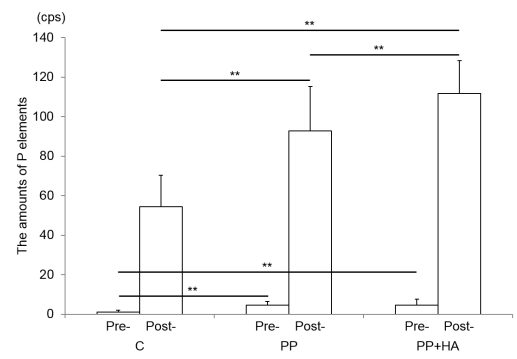


図 8 . P 元素量の比較

組織学的評価ではインプラントへの進入新生骨量の面積が C 群 25%、PP 群 45%、PP+HA 群 59% であり、PP 群と PP+HA 群において C 群よりも有意に大きかった (図 9a、図 10)。インプラントと新生骨間の接触長は C 群 32%、PP 群 37%、PP+HA 群 50% であり、PP+HA 群において C 群と PP 群よりも有意に長かった (図 9b、図 11)。研究結果のまとめは表 2 のごとくであり、PP+HA 群では全項目において C 群よりも優れた結果が得られた。今回われわれが使用したリン酸化プルランは、岡山大学とクラレメディカルが共同で開発した新規生体材料である。当院歯科では 2009 年から臨床試験実施中の素材であり、生体への害が少なく、生体内で吸収される。そのため異物として体内に残存することがなく、HA や TCP など をコーティングすることで、より優れた骨伝導を期待できる。本研究の結果から、PP はインプラントをコーティングする基材として有用であると考えられた。

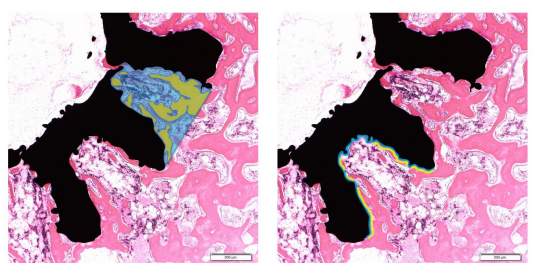


図 9 a, b . 新生骨量評価

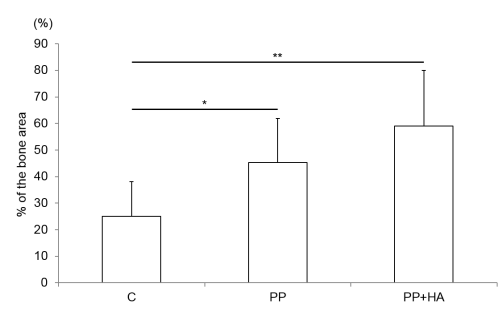


図 10 . 新生骨量面積

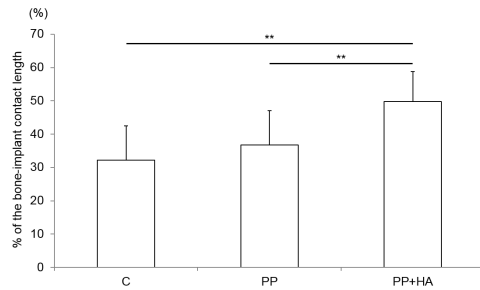


図 1.1 . インプラントと新生骨間の接触長

TABLE 2. Summary of the Mechanical Examination, the Elementary Analysis and the Histological Examination Results in Three Groups by One-way ANOVA Test at 4 Weeks after Implantation

Groups	Mechanical strength (N)	The amounts of P element (cps)		Bone area (%)	BIC length (%)
		Pre-op	Post-op		
C	929 (546-1272)	1.09 (0-3.42)	54.5 (27.5-83.8)	25 (6-47)	32 (20-54)
PP	1045 (775-1629)	4.55 (1.5-9.72) *	92.8 (61.6-143.4) *	45 (16-70) *	37 (21-56)
PP+HA	1139 (968-1898) *	4.51 (0.45-11.71) *	111.8 (62.9-140.4) * **	59 (19-82) *	50 (39-69) * **

*Statistically significant compared with C group.

**Statistically significant compared with PP group.

N indicates Newton; P, phosphorus; cps, count per second; op, operation; BIC, bone-implant contact; C, control; PP, phosphorylated pullulan; HA, hydroxyapatite.

表 2 . 埋入インプラント力学強度試験と組織学的評価のまとめ

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)

[学会発表](計 5 件)

香川洋平ほか、新規生体材料リン酸化プルランによるインプラントコーティング技術の開発、第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会、2016 年 10 月 13-14 日、福岡国際会議場(博多)

Yohei KAGAWA et al. New Implant Coating Technology with Phosphopullulan Bioadhesive Materials. Orthopaedic Research Society 2016 Annual Meeting. 2016.3.5-8. Orlando (Florida)

香川洋平ほか、新規生体材料によるインプラントコーティング、第 30 回日本整形外科学会基礎学術集会、2015 年 10 月 22-23 日、富山国際会議場(富山)

Yohei KAGAWA et al. Implant Coating Technology by New Biomaterials. Orthopaedic Research Society 2015 Annual Meeting. 2015.3.28-31. Las Vegas (Nevada)

香川洋平ほか、新規生体材料によるインプラントコーティング技術、第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会、2014 年 10 月 9-10 日、城山観光ホテル(鹿児島)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

香川 洋平 (KAGAWA, Yohei)
 岡山大学 医学部 客員研究員
 研究者番号 : 90584962

(2)研究分担者

尾崎 敏文 (OZAKI, Toshifumi)
 岡山大学 医歯薬学総合研究科 教授
 研究者番号 : 40294459

松川 昭博 (MATSUKAWA, Akihiro)
 岡山大学 医歯薬学総合研究科 教授
 研究者番号 : 90264283