

学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	西田 恭博
<p>学位論文題目</p> <p>早期の骨伝導効果をもたらす新規金属表面処理技術GRAPE® technology と アルカリ加熱処理における機械的、組織学的比較検討</p> <p>北海道医学雑誌 92巻第1号 平成29年5月 掲載予定</p> <p>研究目的</p> <p>近年、関節の機能を失った場合、人工関節置換術によりその機能を再獲得する治療が一般的となり良好な臨床成績が報告されている。人工関節の骨への固定法の1つとしてセメントレス人工関節があり、セメント固定での弛みの発生を防ぐためにセメントを使用せず、人工関節の表面に多孔質を設け、骨伝導を利用し多孔質内へ新生骨が侵入して人工関節と骨組織を固定させる方法である。より短期間でセメントレス人工関節をより強固に骨に固定するために、人工関節表面に沿って新生骨の成長を促す骨伝導を付与する技術が開発されてきた。</p> <p>本邦で開発されたチタン合金へのアルカリ加熱処理は、従来の人工関節表面へのハイドロキシアパタイトコーティングなどに比べ、新たなコーティングを施す事無く早期の骨伝導効果があり、2000年より人工関節表面への臨床使用が開始された非常に期待されている技術である。</p> <p>近年、純チタンやチタン合金などの表面に溝・多孔質がある場合に熱酸化するだけでチタン表面にルチル型TiO₂が形成され、擬似体液中に浸漬しておくことアパタイトが金属表面に形成されると報告されており、簡便な処理により金属表面と骨が直接結合する可能性を示唆している。この新しい金属表面改質はGRAPE® Technologyと呼ばれている。</p> <p>本研究の目的は、動物実験において機械的試験と組織学的試験により、新たなコーティングを施さず金属の表面改質により早期の骨伝導効果のあるGRAPE® Technologyとアルカリ加熱処理の骨伝導の比較を行うことである。</p>			

材 料 ・ 方 法

18羽の骨格の成熟した、オスの日本白色家兎（体重3.5kg～4.0kg）を使用した。インプラントは、純チタン製で長さ25mm、直径4.5mmの円柱形ロッドを使用した。表面には、ピッチ2.5mm、幅0.5mm、深さ0.5mmのラウンドボトムの溝を作製した。GRAPE® Technologyとアルカリ加熱処理の表面処理を行った、2種類のインプラントを作製した。インプラントは、 γ 線滅菌法で滅菌処理した。

GRAPE® Technology処理として、インプラントを空气中で400℃、1時間の熱酸化した。アルカリ加熱処理は、インプラントを60℃の5MのNaOH水溶液に24時間浸漬しアルカリ処理を行い、40℃の蒸留水で48時間の温水処理、その後600℃で1時間の加熱処理を行った。

麻酔は、ハロセン吸入後に、塩酸ケタミン（80mg/kg）とキシラジン（8mg/kg）を筋肉内注射した。清潔操作で、インプラントを兎の両大腿骨の遠位側髓腔に挿入した。右側にはGRAPE® Technology処理のインプラント、左側にはアルカリ加熱処理のインプラントをプレスフィットで挿入した。手術直後にX線写真を撮影し、インプラントの位置と大腿骨骨折の有無を確認した。この試験は、旭川医科大学の動物実験委員会の承認を得て実施した。

機械的試験は、インプラントと骨のインプラント界面の結合強度を、引き抜き試験で評価した。兎を術後3、6、12週目で各4羽を安楽死させ、両大腿骨を取り出した。大腿骨顆部を削り、インプラント遠位端を露出させた。大腿骨は、引っ張り試験機に取り付けた。インプラントの引っ張り速度は、2mm/秒で行った。

インプラントと骨のインプラント界面を観察するために、組織学的試験を行った。兎を術後3、6、12週目で機械的試験とは別に各2羽を安楽死させ、両大腿骨を取り出し、非脱灰標本を作製し、トルイジンブルー溶液で染色した。標本を近位・中位・遠位の3部分で作成し、インプラントと骨の界面の観察を行い、また、インプラント周囲における骨の接している部分の割合であるBone affinity indexを計測した。1つのインプラントにつき3部分、近位・中位・遠位のBone affinity indexの平均値を計測した。

t検定を用いて、データを解析した。統計学的解析は、STATMATEⅢ(アトムス、東京)を用いて行われた。p値<0.05を統計学的優位差とした。

成 績

(a) 機械的試験

引き抜き強度の平均値は、術後3週はGRAPE® Technology群 423 ± 83 N, アルカリ加熱処理群 559 ± 45 N ($p=0.45$) で、術後6週はGRAPE® Technology群 664 ± 78 N, アルカリ加熱処理群 573 ± 62 N ($p=0.38$) で、術後12週はGRAPE® Technology群 875 ± 95 N, アルカリ加熱処理群 978 ± 84 Nであった ($p=0.55$)。全ての期間で有意差を認めなかった。

(b) 組織学的試験

非脱灰標本での組織観察では、術後3週で、両群ともに類骨の形成が認められた。術後6週では、両群ともに更なる新生骨の増生が認められた。GRAPE® Technology群でも、溝内だけでなく新生骨を足場にインプラントの溝以外の部分の表面を覆うように新生骨の増生が見られた。術後12週ではともに成熟した骨組織が観察された。

Bone affinity indexの結果は、術後3週でGRAPE® Technology群 $39.9 \pm 9.6\%$, アルカリ加熱処理群 $40.7 \pm 10.2\%$ ($p=0.33$) で、術後6週はGRAPE® technology群 $57.0 \pm 8.8\%$, アルカリ加熱処理群 $57.9 \pm 7.9\%$ ($p=0.21$) で、術後12週はGRAPE® technology群 $61.5 \pm 11.2\%$, アルカリ加熱処理群 $62.3 \pm 7.6\%$ であった ($p=0.62$)。全ての期間で有意差を認めなかった。

考 案

本研究の結果より、GRAPE® Technologyはアルカリ加熱処理と比べて骨との機械的固着力と組織学的な骨との接触が同程度であったと言える。

GRAPE® Technologyはアルカリ加熱処理に比べ、その工程が非常に単純であり、水溶液を用いた化学的な手法を用いる事無く、溝加工と熱処理だけでチタン金属に骨伝導を付与することができる。更に、GRAPE® Technologyによって金属表面に形成されるのは界面の存在しない酸化層であるので非常に強固な表面である事が特徴であると言える。その早期の骨伝導の機序としてSuginoらは以下の3つを挙げている。

(1) アパタイトの核形成に好適な結晶相 (ルチル相) の形成, (2) Ti-OH基の残存, (3) 局所的なイオン濃度変化および表面電荷を可能とする微小空間の実現, である。

アルカリ加熱処理における骨類似アパタイト層が形成の機序は、金属表面処理層から Na^+ が溶出するのに伴い金属表面に $\text{Ti}\cdot\text{OH}$ 基が生成され、その $\text{Ti}\cdot\text{OH}$ 基に体液中のプラスに帯電したカルシウムイオンが反応し、非晶質のチタン酸カルシウムが形成される。これと体液中のリン酸イオンが反応してリン酸カルシウムが形成される。この時に体液中の炭酸イオンやマグネシウムイオンが取り込まれ、生体骨の無機成分とほぼ同じ成分のアパタイト層、骨類似アパタイトとなり、剥離しにくい生体活性処理層となるとされている。

組織学的試験では、GRAPE® Technology群とアルカリ加熱処理群ともに、術後3週でインプラント周囲に新生骨が見られている。ともにインプラント表面と新生骨の間には線維組織がなく、直接固着していることが分かった。

本研究の限界として、①インプラントを髄腔内に埋入しているため、インプラントにほとんど負荷のかからない環境下での実験モデルである事、②機械的試験では引き抜き強度は経時的に増大しているが、12週でもプラトーに達していない可能性がある事、③術後3、6、12週の各々において機械的試験の検体数、組織学的試験の検体数が少ない事、が挙げられる。①、②に関しては、他報告でもインプラントの非荷重モデルが用いられている事や12週位までの評価が用いられている事から、今回の実験モデルでの結果を報告した。③に関しては、今後は更に検体数を増やし、また、臨床使用における研究が必要である。

結 論

今回我々は、チタン合金表面骨伝導を付与する近年開発されたGRAPE® technologyを、兎を用いた動物実験で機械的試験、組織学的試験におけるアルカリ加熱処理との比較を行った。本研究では、機械的試験、組織学的試験ともに、GRAPE® technologyとアルカリ加熱処理に差は無かった。チタン合金表面に溝などによる空間を設け、熱処理を施すだけで簡便に骨伝導を付与するGRAPE® technologyは、臨床的にも人工関節の生産においても非常に有用である可能性がある。




引 用 文 献

1 Kokubo T, Kim HM, Kawashita M. Nobel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials* 2003; 2161-2175.

2 Sugino A, Ohtsuki C, Tsuru K, Hayakawa S, Nakano T, Okazaki Y, Osaka A. Effect of spatial design and thermal oxidation on apatite formation on Ti-15Zr-4Ta-4Nb alloy. *Acta Biomaterialia* 2009; 298-304.

3 Sugino A, Uetsuki K, Kuramoto K, Hayakawa S, Shirotsaki Y, Osaka A, Tsuru K, Nakano T, Ohtsuki C. GRAPE® Technology or bone-like apatite deposition in narrow grooves. *Advance in Bioceramics and Porus Ceramics* 2010; 57-62.

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏名	西田 恭博
<div style="text-align: right; margin-bottom: 10px;"> 審査委員長 大田 哲生  </div> <div style="text-align: right; margin-bottom: 10px;"> 審査委員 国澤 卓之  </div> <div style="text-align: right;"> 審査委員 船越 洋  </div>			
学位論文題目			
<p>早期の骨伝導効果をもたらす新規金属表面処理技術 GRAPE® technology とアルカリ加熱処理における機械的、組織学的比較検討</p> <p>北海道医学雑誌に掲載予定</p>			
<p>本研究は、人工関節置換術に際し、セメントレス人工関節を強固に骨に固定させるための効率的な金属表面処理技術を開発し、この技術が有効であるか否かを確認するために行われている。</p> <p>対象は 18 羽のオスの日本白色家兎を用い、純チタン製のインプラントを両大腿骨遠位側髓腔に挿入して、術後 3 週、6 週、12 週でのインプラントの引き抜き強度と、組織学的な骨の増生を検討した。インプラントは片側に、筆者らが開発した GRAPE® technology と呼ばれる、短時間の熱酸化処理を施した純チタンを用い、もう片方には従来使用されているアルカリ熱処理を施した純チタンを使用し、両者を比較した。</p> <p>引き抜き強度は 3 週、6 週、12 週のいずれにおいても GRAPE® technology と従来のアルカリ熱処理において有意差を認めなかった。組織学的検討では、術後 3 週で両群とも類骨の形成を認め、術後 6 週では両群とも更なる新生骨の増生を認めた。インプラント周囲の骨に接する部分の割合より求めた Bone affinity index による評価では、3 週、6 週、12 週のいずれにおいても GRAPE® technology と従来のアルカリ熱</p>			

処理において有意差を認めなかった。

本研究の結果より GRAPE® technology はアルカリ熱処理と比べて骨との機械的固着力と組織学的な骨との接触が同程度であることが示された。

GRAPE® technology により金属表面に形成されるのは界面の存在しない酸化層であり、非常に強固な表面形成であること、また、従来のアルカリ熱処理に比して処理の工程数が少なく、短時間で簡便に製作可能であることを考慮すると、本法は非常に有用な技術であると考えられた。

本論文では、インプラントを髄腔内に埋入しているため負荷がかからない環境下での実験モデルであること、12週以降の検討がなされていないこと、各週の検体数が少ないことなど、本研究における限界も十分に考察されているとともに、論文提出者は各審査員の質問に対して的確に答えることができ、関連領域についての諮問にも適切に答えられており、当該学問分野における十分な学力を有していることが示された。したがって、審査委員会は本論文を学位論文として適切なものであると判断した。