

った。医師は彼女のアレルギーを決定できていない。

○ステント(2005)

報告者は、彼女の夫がTi/Ni製ステントにかかわる治験にかかわったこと、その治験で彼の左の頸動脈にステントの1つが埋植されたことを報告した。約2週間後に、患者は幻覚症状を感じ始めた。患者は多くのテストを受け、脊椎穿刺での白血球数100を除いて、すべてが陰性であった。血液検査で、患者がTiにアレルギー反応を持っていることが分かった。ステントを埋植した外科医は、摘出に専門的技術を持っていないと妻に述べた。研究プロトコルには、この機器がTiに敏感な人に使用されるべきでないと述べている。患者はTiアレルギーであるかどうかの事前のテストはされていなかった。

○生検部位マーカー(2006)

生検部位マーカーのロット・ナンバは知られていない。使用された金属マーカーはTi製であった。患者の皮膚科医はアレルギー反応の原因を決定できなかった。患者からマーカーは取り外された。

○生検部位マーカー(2006)

アレルギー専門医は、マーカーを設置した患者が紅斑とかゆみを生じた、と報告した。専門医は、生検部位マーカーのモデル番号やロット・ナンバを知ることができなかった。患者には、マーカー設置5週間後に、初期の反応があり、さらに2週後に次の反応があった。プレドニゾン等が処方され、かゆみ等は静まった。アレルギーテストが実行できるように、Ti製マーカー、一個が専門医に送られたが、テストは陰性であった。さらに、追加テストが行われる予定である。

D. 考察

【埋植した合金材料の検討】

○肉眼観察、体重、臓器重量変化

Ni埋植群では、動物の外見、開背部の肉眼での観察、組織切片での肥厚状況から、病理観察を待つまでもなく、埋植早期から炎症が激しく起こっていることが明白であり、埋植長期(8週以上)では、Ni材料が体外に排出されてしまった例もあったと考えられる。そのため、16週後では、1匹を除いて他の全てでは、体内にNi材料が存在しない状態になってしまい、外見でも膨隆していなかったと思われる。8週後でも1匹で材料の消失が見られていた。ラットのNi材料に対する回復力の強さに敬服すると共に、Niの毒性をあらためて知らされた想いがする。

なお、16週でのNi群のデータには集計や統計的な処理を施していないが、Niの体外排出の時期が明確でなく、かつ、排出時期が同一とは考えにくいことから、集計困難と見なしたためである。

Ni群以外の体重変化については群間に差は認められないが、Ni群では、他群に比べて総じて体重増加が抑制されている。特に、体内にNiが残留しているラットでは体重増加が停止、ないしは減少している。一方、Niが体外に排出されたラットでは、他の群に匹敵する増加量を示しているものもあった【図1-6】。Niが体内にあることによって、大きな悪影響を及ぼすことを示している。

臓器/体重比については、16週後でのNi群以外の群間では、Ti群の肝臓が他群に比べて有意に小さい結果を与えていた【図1-7】が、肝臓重量が他群に比べて小さいことがこの結果につながっている。8週時においても、有意差は認められないが、Ti群は、Ti/Ni群とTi-6Al-4V群より、やや小さかった。理由は明らかではない。

金属材料側の観点から見ると、Ni群では埋植周辺組織の炎症によって、大きな膨らんだ嚢胞様の組織で囲まれてしまっており、血性滲出物中に浸った状態にあったと推察される。ホルマリン固定によって材料

表面上は厚い組織で覆われ、回収後も容易には被覆を除去できなかつた。他方、体外に排出されたNi材料は、結果的に排水溝で洗浄されてしまったこと、ホルマリン固定を經ていないこと、から、金属光沢を有し、表面に組織は全く観察されなかつた。

一方、Ti/Ni合金群では、16週後でも、金属光沢がそのまま残っており、肉眼では周辺に炎症の徴候は見られなかつた。これは、純Ti群、Ti-6Al-4V合金群でも同様であった。摘出されたホルマリン固定後のこれらの材料は、薄くまばらに表面が組織で覆われているものの、金属面も出ており、炎症があまり顕著ではないことの表れと思われる。

○埋植後の組織変化

埋植後4週の結果

純Niの埋植では、壊死を生じる強い組織反応が観察されたが、純Ti、Ti/Ni合金およびTi-6Al-4Vの埋植では、いずれも線維化を示す結合組織によって被包されており、炎症細胞浸潤も殆どの症例で軽度であり、組織障害性は極めて弱いものと示唆された。しかし、Ti-6Al-4V群の1例で結合組織性被膜にリンパ球と共に好酸球の浸潤が観察され、この症例のみがアレルギー性変化を生じたものと考えられる。

埋植後8週の結果

純Niの埋植では、強い組織損傷が継続してみられたが、純TiおよびTi/Ni合金の埋植では、いずれも癒痕組織による被包がなされており、組織障害性は無いものと示唆される。Ti-6Al-4Vの埋植でも癒痕組織による被包がなされていたが、3例にリンパ球と好酸球の浸潤が観察され、軽度のアレルギー性変化を示すものと考えられる。

埋植後16週の結果

純Niの消失については、術後8週での組織の壊死の拡大に伴う嚢胞様構造の上皮下への広がり、消失例でみられた角化嚢胞様の所見と合わせ考え、純Niによる強い組織破壊で壊死が皮膚にまで及び、皮膚潰

瘍となり、材料の放出後に治癒したものと理解される。

純TiおよびTi/Ni合金の埋植では、術後4週および8週のものとは相違はみられなかつた。Ti-6Al-4Vの埋植でも同様であり、1例にリンパ球と好酸球の浸潤が観察され、Ti-6Al-4Vの埋植ではアレルギーを誘発する可能性が示唆された。

成書には、生体内からのNiの体外排出について述べられており、「感作成立後に再びNiが表皮にくると、killer T cellがこの表皮細胞を攻撃して殺し、液化してしまう。こうして小水疱(spongiosis)ができる。表皮は基底層の分裂ででき、下層→上層に進んでいくので、こうしてできた小水疱はいつか上方に押し上げられて破れ、身体は[嫌いになったNi]の体外排出に成功する。」⁶⁾という記述は、本実験の結果を肯定するものである。

【合金材料からの溶出試験】

材料からのNi溶出実験データでは、1週より3週でかなり増加する傾向はあり、Ni材料の乳酸条件では7倍になっていた。Ti/Ni材料では、Niを55%含むにも関わらず、Niの溶出は全体的に微量に留まり、純Ni材料の1/80(食塩水条件)程度であった。このNiの溶出の難易度の差が、今回の動物実験での組織反応の差に直接繋がっているものと思われる。

各材料からのTi溶出実験データからは、Tiの溶出は、Ti-6Al-4V合金の方がTi/Ni合金より多い傾向があり、残念ながら、今回は純Tiとの比較ができなかつたが、純Tiよりも溶出されやすい可能性もある。

Alの溶出は、Ti-6Al-4V合金でも認められず、Vの溶出も、Ti-6Al-4V合金でも非常に微量であった。

【チタン・アレルギー関連例】

今回、検索された事例は、必ずしも、Tiアレルギーと断定される例ばかりではなく、確定例は非常に少ないと思われる。Ti

アレルギーが周知されていない(むしろTiはアレルギー性金属ではないと認識されている)状況があることも、事例報告が少なく、見逃される原因でもあるように感じられる。Tiイオンが不安定であり、アレルギー試験に適当な試験物質(金属塩)がないこと、Ti金属自身も不動態を容易に表面に形成してしまうこと、がアレルギーの検出を非常に難しくしていることもあろう。今後、Tiインプラントが汎用されるようになると、アレルギー患者も増えてゆくかもしれないことが懸念される。

【まとめ】

今回の実験の範囲では、他の3種の金属材料には何らかの懸念点があったものの、Ti/Ni合金に懸念すべき点は認められなかった。

一方で、純Ni金属の毒性・組織溶解性、及び純Ti金属でのわずかな肝臓重量減少と共に、Ti-6Al-4V合金では、協力研究者の非常に注意深い病理観察によって、実験前は予想もしていなかった好酸球が再現性良く観察された。ラットでは寄生虫生息時以外では、好酸球の出現は稀であり、他の群では全く観察されていないことも考え合わせると、アレルギー反応を示すものと考えられる。

勿論、アレルギー反応と断定するには、周辺組織での金属含量分析、血中濃度分析など、さらなる分析が必要となろうが、Ti-6Al-4V合金が、アレルギー反応を示したとすると、どの金属に依るものか、ということになる。AlやVは、Ti-6Al-4V合金からの溶出は皆無に近く、また、両金属のアレルギー反応が接触皮膚炎専門医で問題になったことはないと聞く。

残るは、Tiに依る、ということになる。Ti-6Al-4V合金からのTiの溶出は、Ti/Ni合金より多い場合もある。特に非酸性下条件(食塩水)では、40倍程度多い。純Tiでは、アレルギー反応が見られないことから、純Tiの溶出実験で、Ti-6Al-4V合金より、Ti

の溶出が少ないという結果が出れば、さらにTiアレルギーの可能性が高くなる。純Tiは表面に不動態の被膜を形成することから特に不思議な現象とは思われない。

Tiアレルギーは起こりにくいという一般的な理解も多いが、最近では、Tiアレルギーも議論されるようになってきた。米国の不具合報告でも、ペースメーカ、人工歯根などで、Tiアレルギーと思しき報告が見られている。従来は、Tiに触れる機会が少なかったためであろうが、インプラント医療機器や、皮膚に接する家庭用品等で使用される機会が増えてゆくと、今後はTiアレルギーが増加してゆく可能性も否定はできない。

そこで、Ti-6Al-4V合金で作製された医療機器でのアレルギー反応の懸念が生ずるが、Ti-6Al-4V合金製機器でのアレルギー反応はまだ知られていない。Ti-6Al-4V合金は人工関節など、体内深部で使用されることが多く、アレルギーに関与する表皮に多いランゲルハンス細胞の寄与が少ないためということも考えられる。また、今回のアレルギー反応も、結果的に試験法が高感度であったがために検出できたのであって、あくまでも弱い反応であり、実際に問題になる可能性は少ないと思われる。

Ti/Ni合金では、好酸球が観察されなかったことから、アレルギー性は、Ti-6Al-4V合金より弱い、即ち、Ti/Ni合金でのNiによるアレルギー性も非常に弱い、という推測も成り立つ。正確には、Niを適度に溶出する金属での実証が必要とは思われるが、一つの傍証ではあり得る。一方、米国の不具合報告で、1件だけであるが、Ti/Ni合金によるTiアレルギーの疑いが報告されており、むしろTiアレルギーに留意する必要があるかもしれない。

Niアレルギーは周知されているが、純Niでは、組織反応が強すぎて好酸球出現どころではないと思われることから、今回の手法に基づく、好酸球に着目したアレルギー反応の検出方法は、軽度以下のアレルギー

を高感度で検出する上で、有効と思われる。

今回の円形板埋植試験方法は、以下の点で、感度の高いアレルギー検出法として期待できると思われる。①今回の研究材料は円形で四角形よりは周りの組織への影響が少ないこと。②形状が大きいため、ラット以上でないと実験できない一方で、検出力が高くなること。③背部皮下ということで、表皮近傍であり、アレルギー反応に関与するランゲルハンス細胞の寄与があること。などの点である。

また、アレルギー反応に関しては、Ti-6Al-4V合金からは、適度にTiが溶出し得る可能性があり、Tiの適当なパッチテスト材料が少ない現状では、Tiのパッチテスト試験材料として、Ti-6Al-4V合金が利用できるのではないかと考えている。

E. 結論

動物に埋植する金属材料円板(Ti/Ni, Ti, Ni)の製造を行い、Ti-6Al-4V合金を対照として、最大16週間の背部皮下埋植を行った。また、比較のために溶出試験との対比を行った。Niの毒性が顕著であることを再確認したが、Ti/Ni合金においては、特段の毒性現象は認められなかった。対照として捉えていたTi-6Al-4V合金では、Tiによるとと思われるアレルギー症状を観察した。これらのことから、従来検出が難しかった金属材料のアレルギーを、今回の埋植方法で検知できる可能性が示唆された。ま

た、米国の医療機器不具合報告から、Tiアレルギーに関係するものを抽出し、整理した。

F. 参考文献

1. 佐藤道夫、金属材料の物理的安全性評価手法の開発、平成16年度厚生労働科学研究報告書(2005)
2. 佐藤道夫、金属材料の安全性評価手法の開発、平成17年度厚生労働科学研究報告書(2006)
3. 伊佐間和郎、金属材料の化学的及び生物学的安全性評価手法の開発に関する研究、平成17年度厚生労働科学研究報告書(2006)
4. 小林郁夫、医療機器・医用材料の安全性評価手法開発に関する研究、平成17年度厚生労働科学研究報告書(2006)
5. 佐藤道夫、不具合に関する海外実態情報の収集と内外の比較検討、平成18年度厚生労働科学研究報告書(2007)
6. 歯科と金属アレルギー、デンタルダイヤモンド社、井上昌幸他編著(1993)、p. 4

G. 研究発表

学会発表

1. 佐藤道夫、土屋利江：医療機器の不具合報告について(2)、第43回全国衛生化学技術協議会年会(H18. 11. 2).

図1-1; 純Ni群. 4週後の外見写真。膨隆していることが明らかである。

図1-2; 純Ni群. 8週後の開背部写真。弾力のある固まりが見て取れる。

図1-3; 純Ni群. 8週後の摘出物の外見写真。

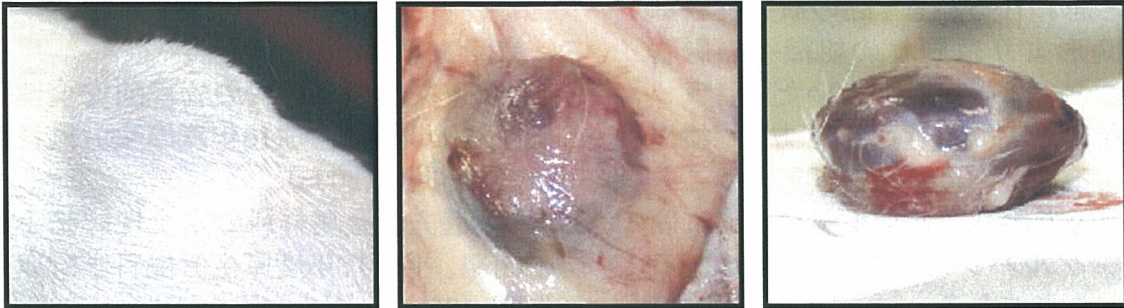


図1-4; Ti/Ni合金群. 16週後の開背部写真。金属光沢がそのまま残っており、周辺に炎症の徴候は見られない。

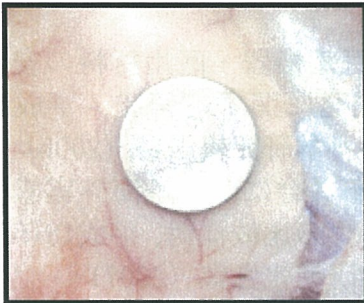


図1-5; 4週後の各群の摘出物周辺組織固定後の切片写真。Ni群のみ肥厚している。

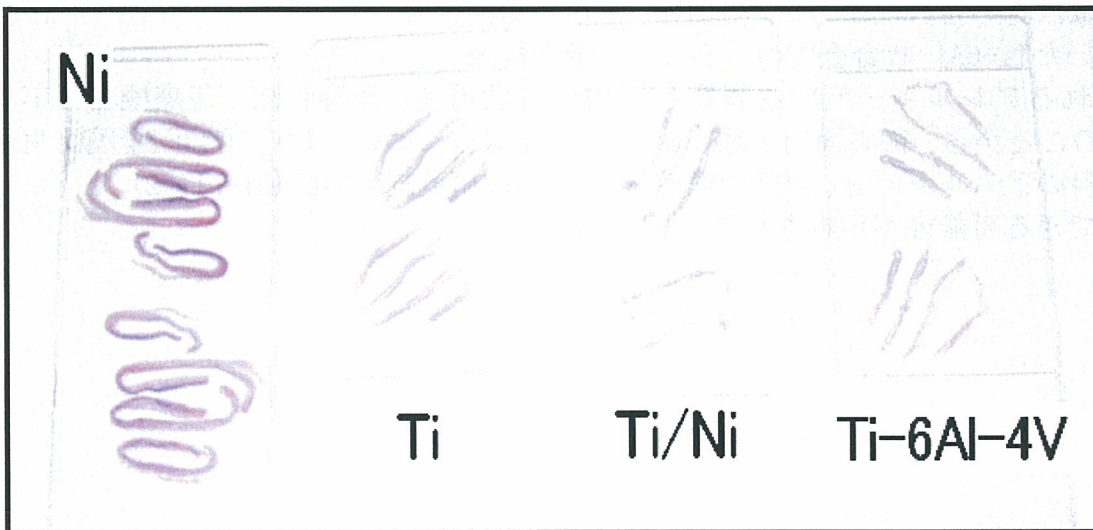


図 1-6 ; 16週埋植動物の体重変化比のグラフ

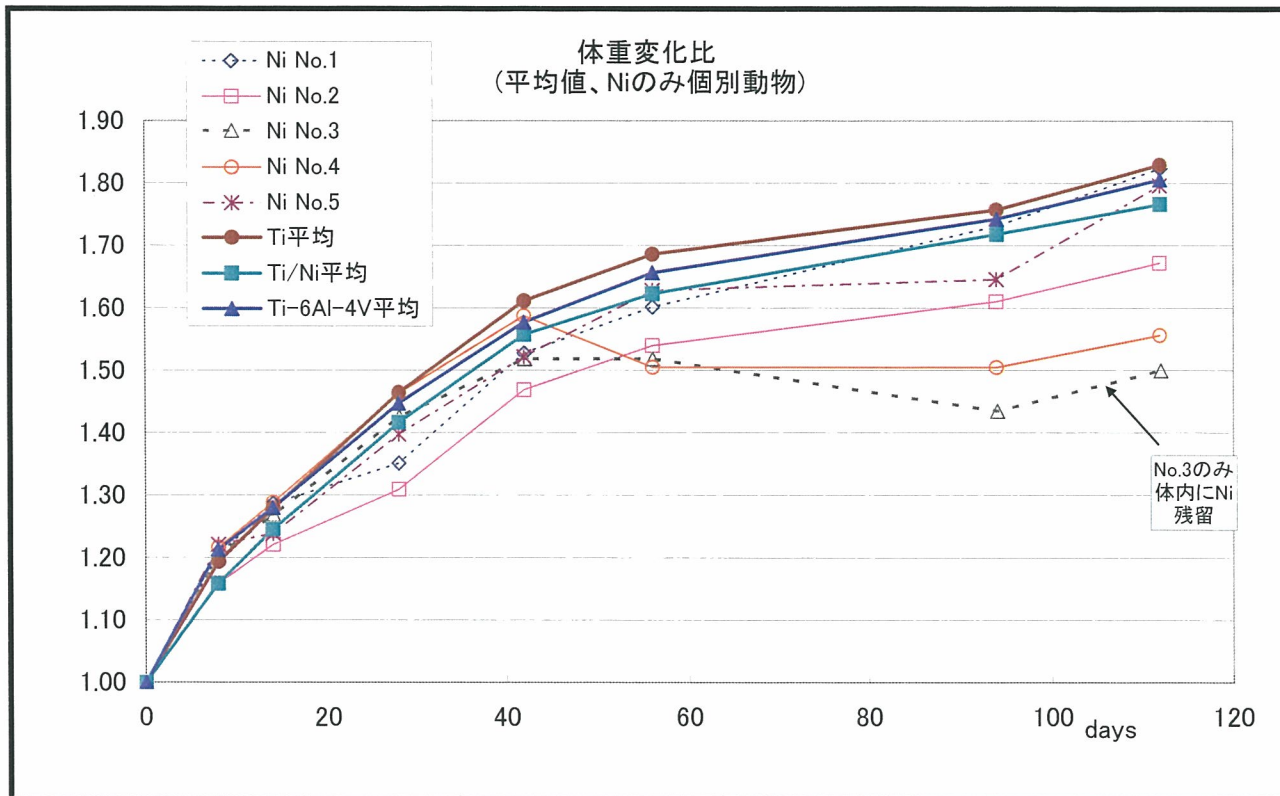
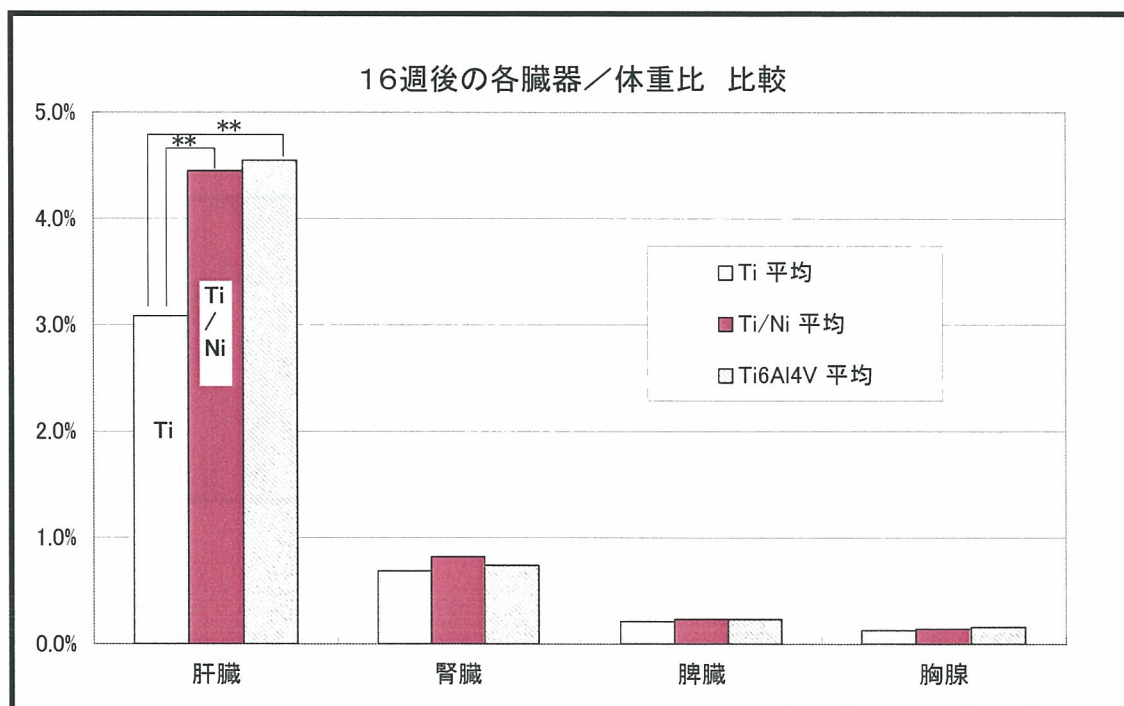


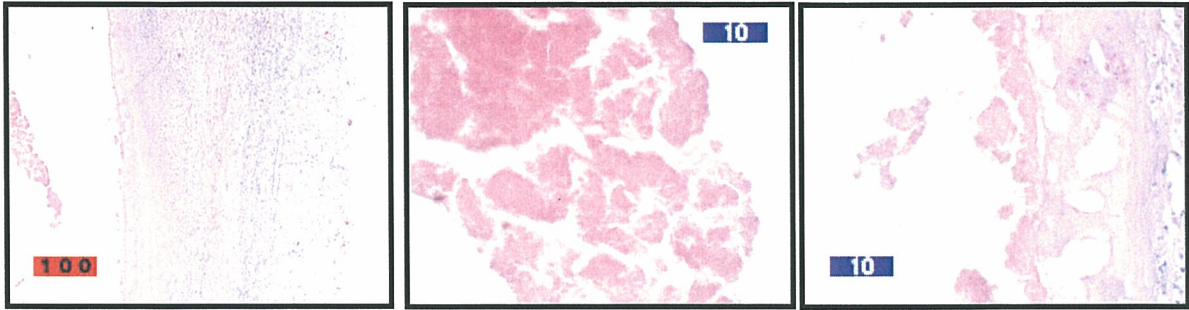
図 1-7 ; 16週後の臓器体重比の比較



埋植後4週 (倍率のScale barは、×4は100 μm、×10は50 μm、×20 と×40は10 μmを示す)

純Ni

- 図2-1; 純Ni群. ×4倍. 血性滲出物含有した壁を示す。
図2-2; 純Ni群. ×40倍. 内腔の血性滲出物で、変性した赤血球を認める。
図2-3; 純Ni群. ×40倍. 内側の線維素析出層を示す。



- 図2-4; 純Ni群. ×40倍. 崩壊した好中球を含む壊死層を示す。
図2-5; 純Ni群. ×40倍. 肉芽組織層を示す。
図2-6; 純Ni群. ×40倍. 線維化(癒痕)層を示す。

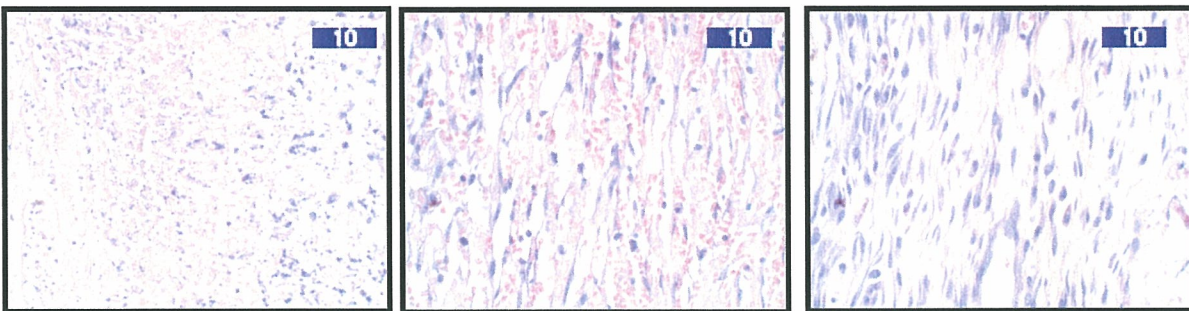
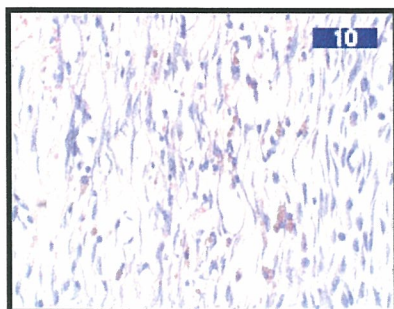


図 2-7 ; 純Ni群. ×40倍. 肉芽組織内にヘモジデリンの沈着、およびヘモジデリンを含有したマクロファージを認める。



純Ti

図 2-8 ; 純Ti群. × 4倍.

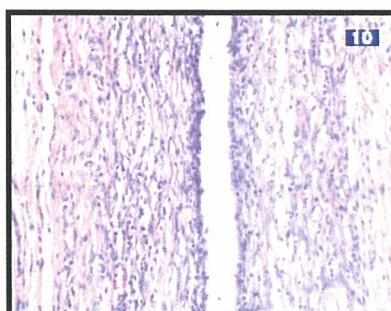
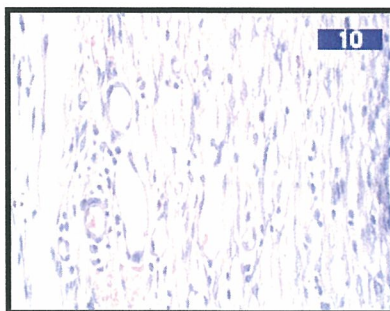
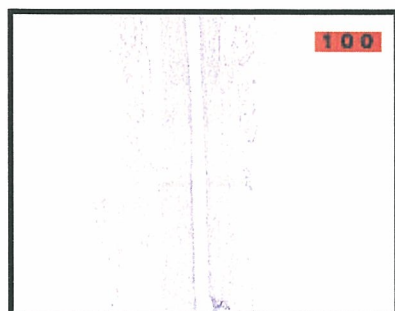
埋植材料を被包した線維化傾向を示す肉芽組織を示す。

図 2-9 ; 純Ti群. ×40倍.

肉芽組織に軽度のリンパ球浸潤を認める。

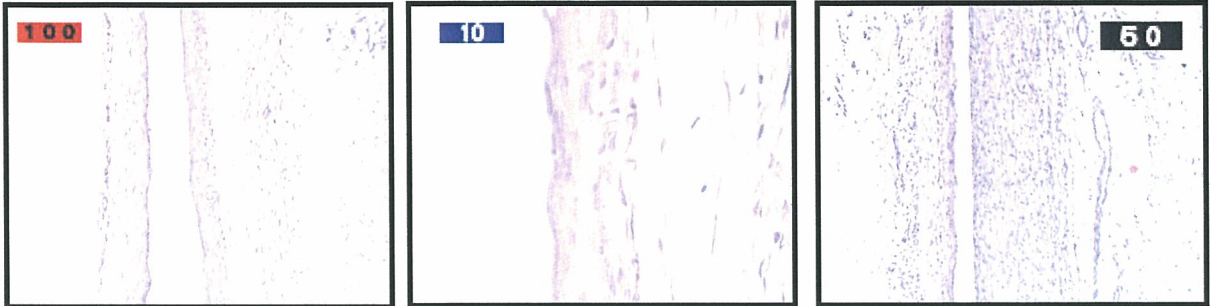
図 2-10 ; 純Ti群. ×20倍.

壁内に多数のリンパ球浸潤を認める。



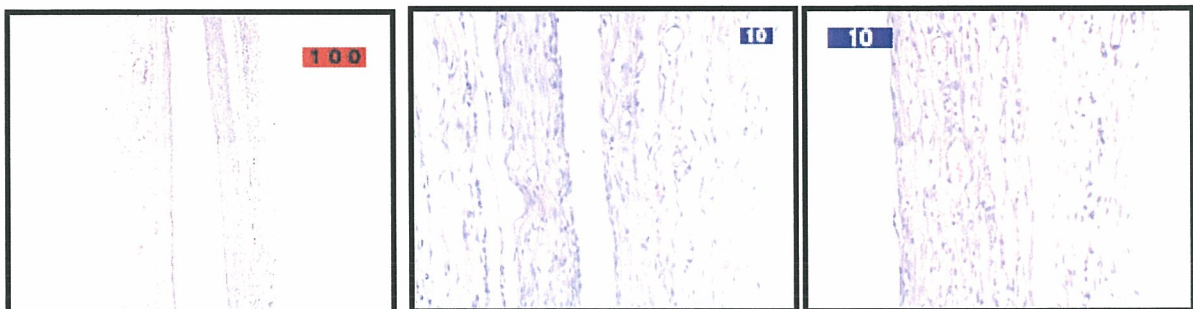
Ti/Ni合金

- 図2-11; Ti/Ni合金群. ×4倍. 厚さの異なる結合組織性被膜を認める。
図2-12; Ti/Ni合金群. ×40倍. 図2-11の拡大像。
図2-13; Ti/Ni合金群. ×10倍. 被膜内および周囲結合組織内に軽度のリンパ球浸潤を認める。

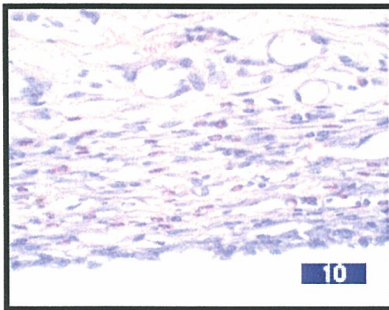
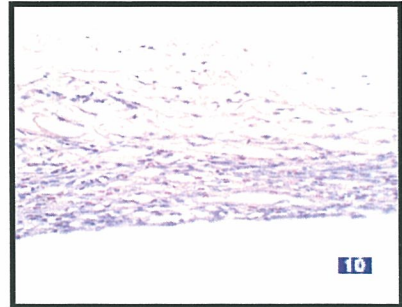
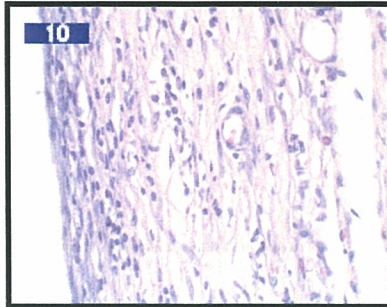
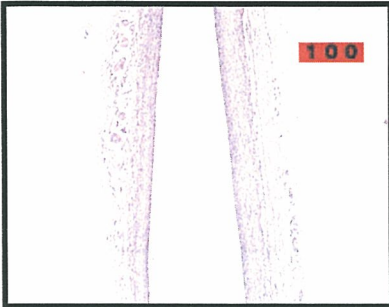


Ti-6Al-4V合金

- 図2-14; Ti-6Al-4V群. ×4倍. 図2-11と同様の所見。厚さの異なる結合組織性被膜を認める。
図2-15; Ti-6Al-4V群. ×20倍. 毛細血管の多い線維化傾向を示す肉芽組織を認める。
図2-16; Ti-6Al-4V群. ×40倍. 壁内および周囲結合組織内に軽度のリンパ球浸潤を認める。



- 図 2-17 ; Ti-6Al-4V群. × 4倍. 壁内および周囲結合組織内に多くのリンパ球浸潤を認める。
- 図 2-18 ; Ti-6Al-4V群. ×40倍. 図 2-17の拡大像。
- 図 2-19 ; Ti-6Al-4V群. ×20倍. 壁内に好酸球浸潤を認める。
- 図 2-20 ; Ti-6Al-4V群. ×40倍. 図 2-19の拡大像。



埋植後8週（倍率のScale barは、×4は100 μ m、×10は50 μ m、×20 と×40は10 μ mを示す）

純Ni

図3-1；純Ni群. ×4倍. 血性滲出物含有した壁を示す。

図3-2；純Ni群. ×10倍. 壁の壊死層を示す。

図3-3；純Ni群. ×20倍. 図3-2の拡大像。

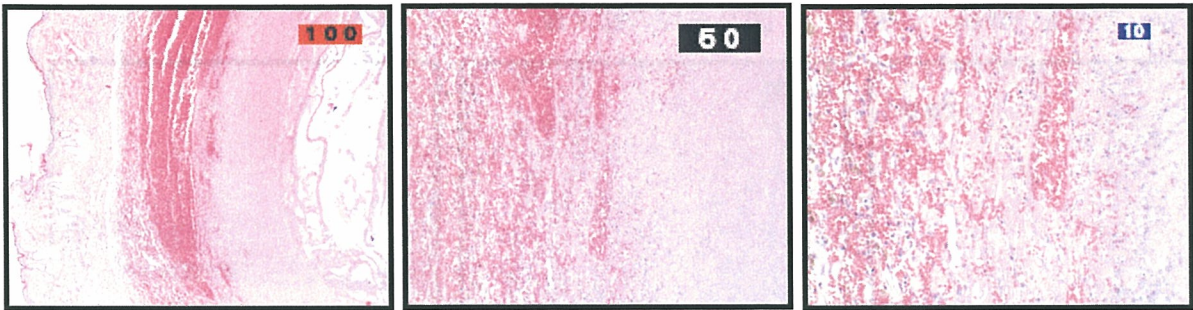
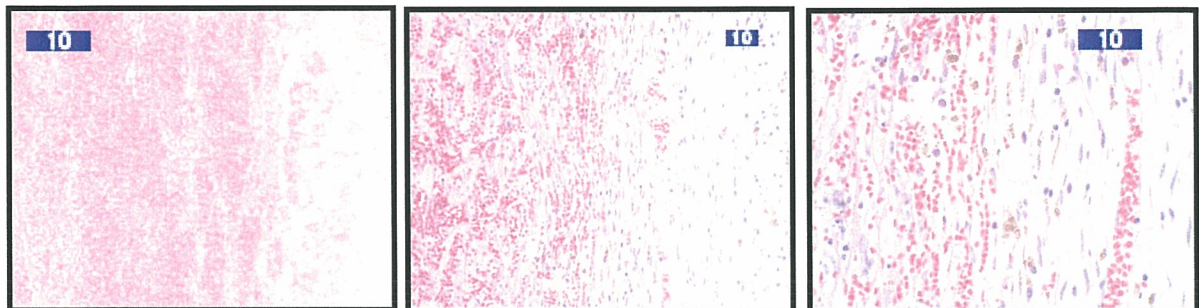


図3-4；純Ni群. ×40倍. 壊死に陥った肉芽組織で、その血管内に赤血球が充満した所見を示す。

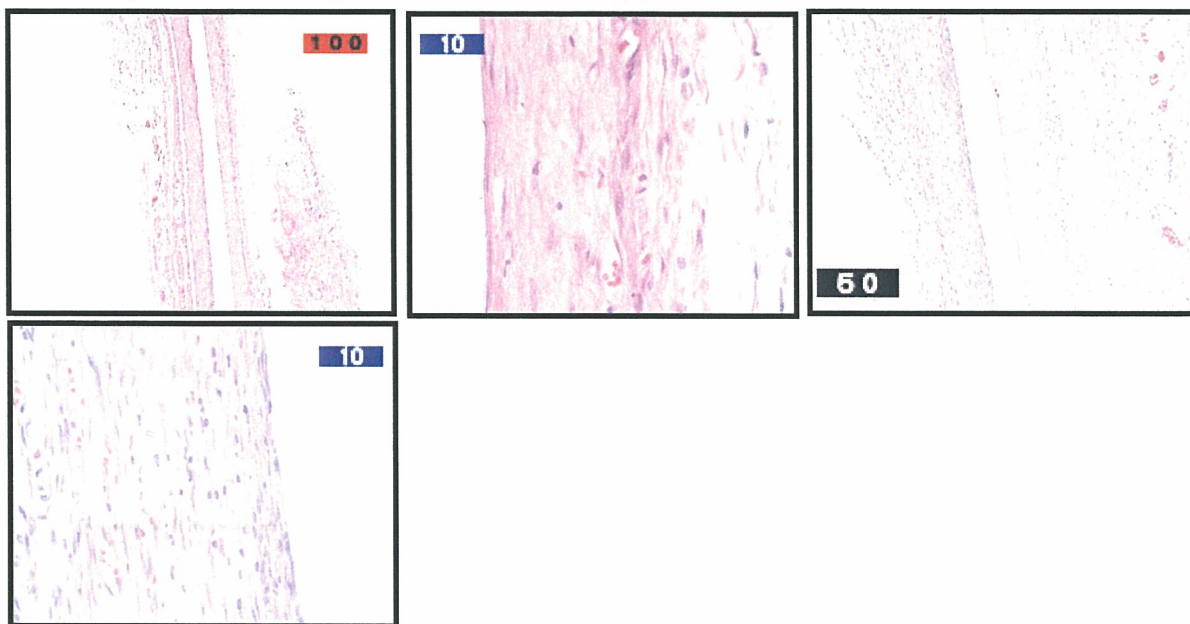
図3-5；純Ni群. ×20倍. 肉芽組織層と瘢痕層を示す。

図3-6；純Ni群. ×40倍. 図3-5の拡大像で、ヘモジデリン沈着、およびヘモジデリンを含有したマクロファージを認める。



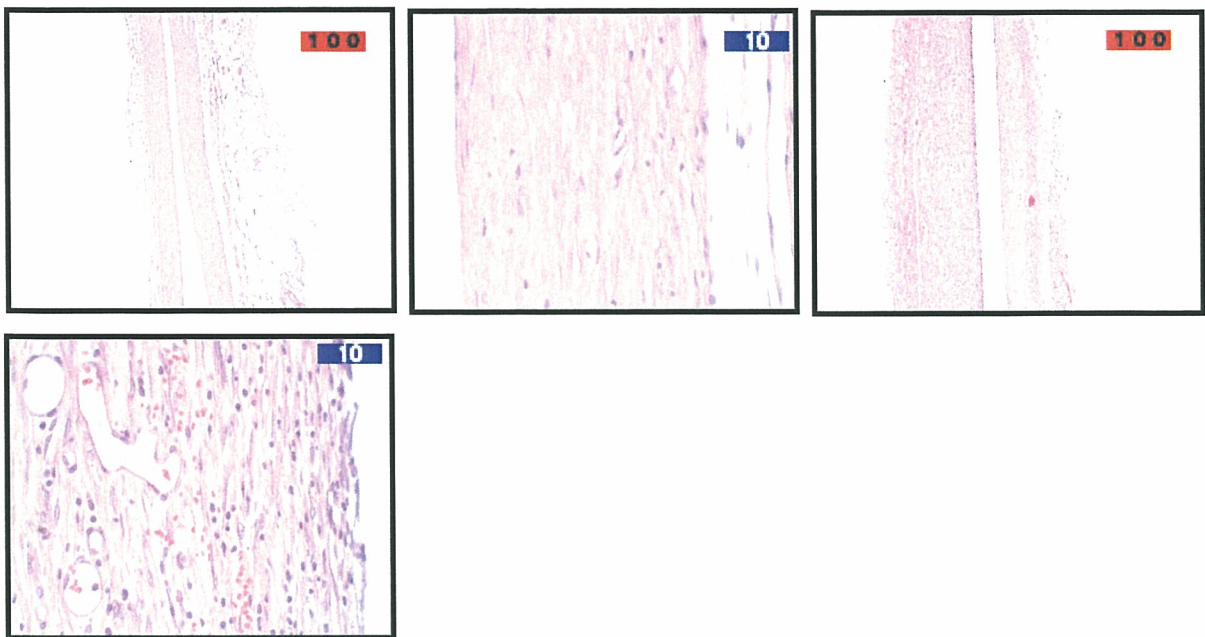
純Ti

- 図3-7; 純Ti群. ×4倍. 材料を被包した癒痕組織を示す。
図3-8; 純Ti群. ×40倍. 図3-7の拡大像。
図3-9; 純Ti群. ×10倍. 壁内に軽度のリンパ球浸潤を認める。
図3-10; 純Ti群. ×40倍. 図3-9の拡大像。



Ti/Ni合金

- 図3-11; Ti/Ni合金群. ×4倍. 図3-7と同様の所見。材料を被包した癒痕組織を示す。
図3-12; Ti/Ni合金群. ×40倍. 図3-11の拡大像。
図3-13; Ti/Ni合金群. ×4倍. 毛細血管の多くみられる被膜線維性結合組織を示す。
図3-14; Ti/Ni合金群. ×40倍. 図3-13の拡大像で、軽度のリンパ球浸潤を認める。



Ti-6Al-4V合金

図3-15 ; Ti-6Al4V群. ×4倍.

図3-7と同様の所見。材料を被包した癒痕組織を示す。

図3-16 ; Ti-6Al4V群. ×40倍.

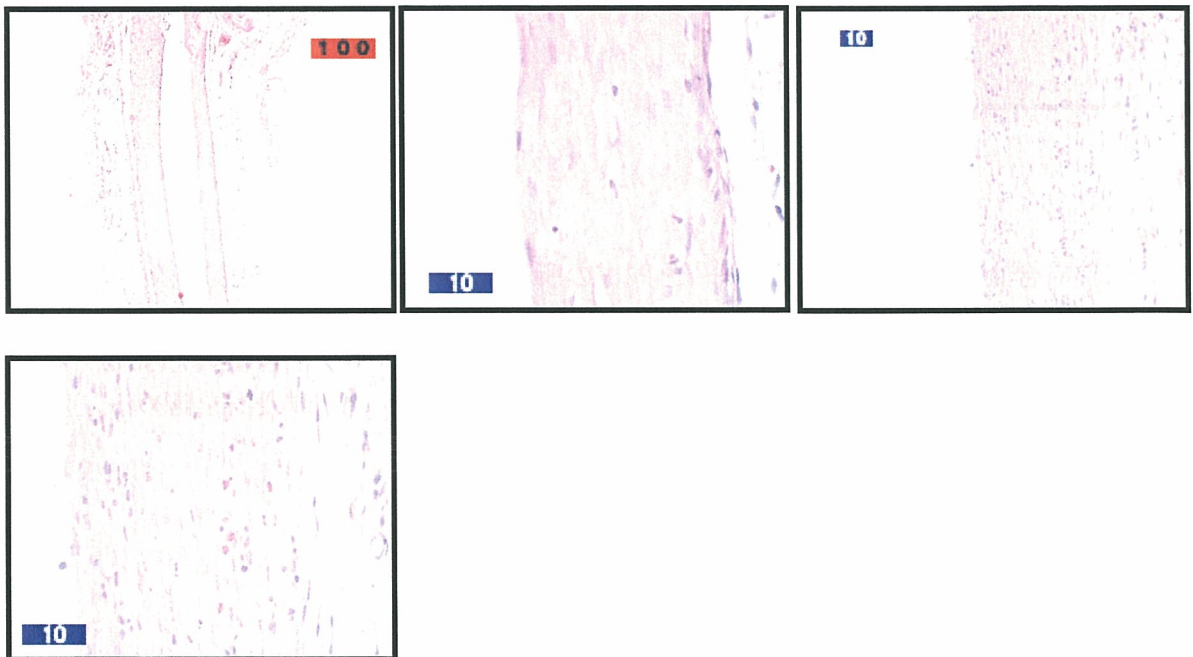
図3-15の拡大像。

図3-17 ; Ti-6Al4V群. ×20倍.

壁内に軽度のリンパ球と好酸球浸潤を認める。

図3-18 ; Ti-6Al4V群. ×40倍.

図3-17の拡大像。



埋植後16週 (倍率のScale barは、×4は100 μm、×10は50 μm、×20 と×40は10 μmを示す)

純Ni

図4-1; 純Ni群. ×4倍. 血性滲出物含有した壁を示す。

図4-2; 純Ni群. ×10倍. 壁の拡大像を示す。

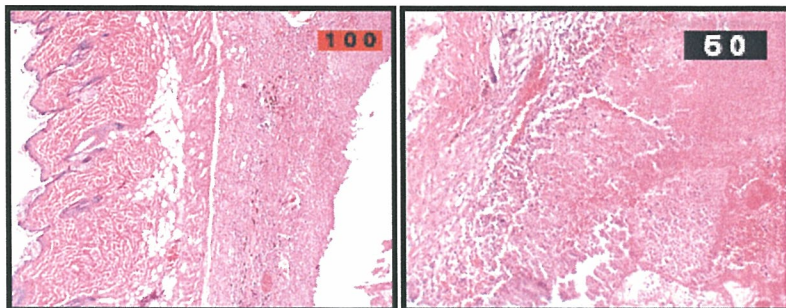


図4-3; 純Ni群. ×20倍. 結合組織にヘモジデリン沈着とヘモジデリンを含有したマクロファージを認める。

図4-4; 純Ni群. ×4倍. 埋植材料の消失した症例の真皮にみられた角化嚢胞様の構造物を示す。

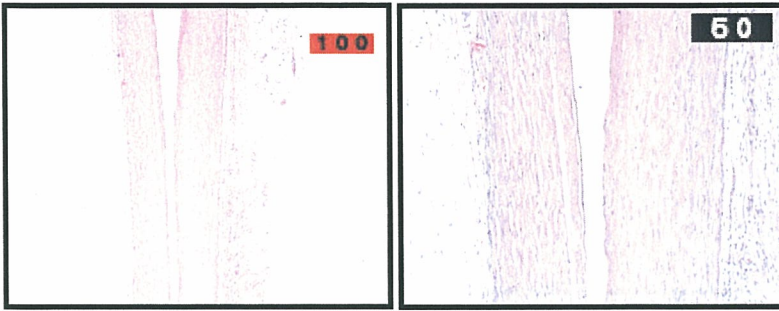
図4-5; 純Ni群. ×20倍. 図4-4の拡大像で、角化物を重層扁平上皮が裏装した所見を認める。



純Ti

図4-6; 純Ti群. ×4倍. 癒痕組織より成る被膜を認める。

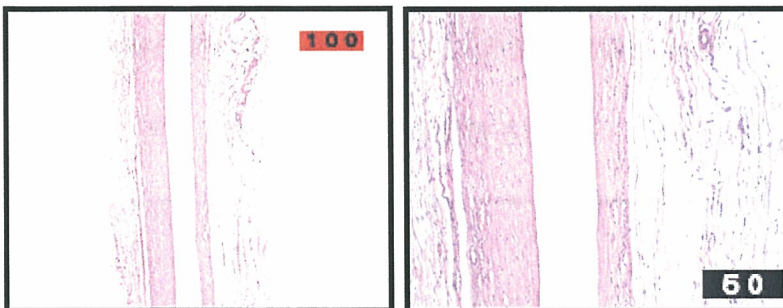
図4-7; 純Ti群. ×10倍. 図4-7の拡大像。



Ti/Ni合金

図4-8; Ti/Ni合金群. ×4倍. 図4-6と同様の所見。癒痕組織より成る被膜を認める。

図4-9; Ti/Ni合金群. ×10倍. 図4-8の拡大像。



Ti-6Al-4V合金

図 4-10 ; Ti-6Al-4V合金群. × 4倍.

図 4-6と同様の所見。癒痕組織より成る被膜を認める。

図 4-11 ; Ti-6Al-4V合金群. ×10倍.

図 4-10の拡大像。

図 4-12 ; Ti-6Al-4V合金群. ×10倍.

壁内に散在性にリンパ球と好酸球浸潤を認める。

図 4-13 ; Ti-6Al-4V合金群. ×40倍.

図 4-12の拡大像。

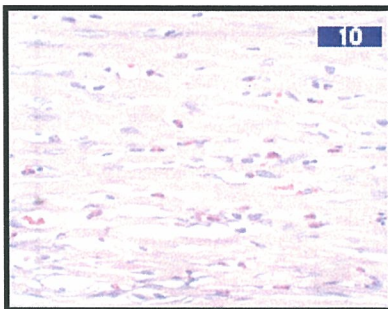
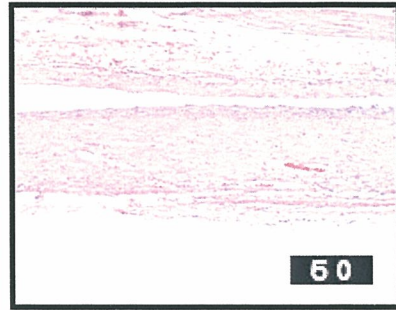
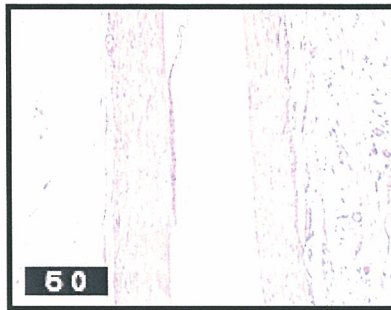
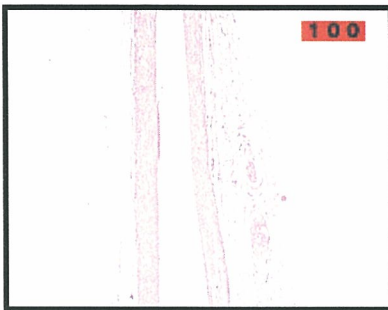


図 5-1 ; 各金属材料からの、3種の溶媒によるNiの溶出量(1週間)

図 5-2 ; 各金属材料からの、3種の溶媒によるNiの溶出量(3週間)

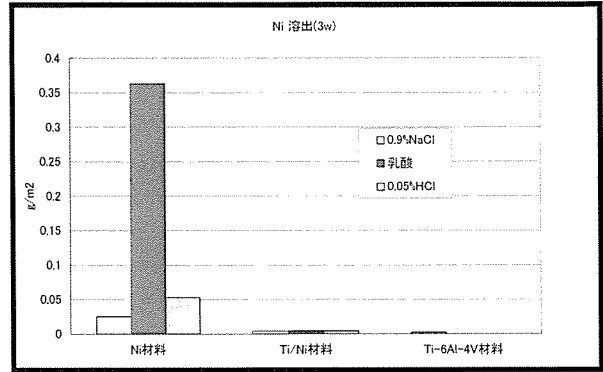
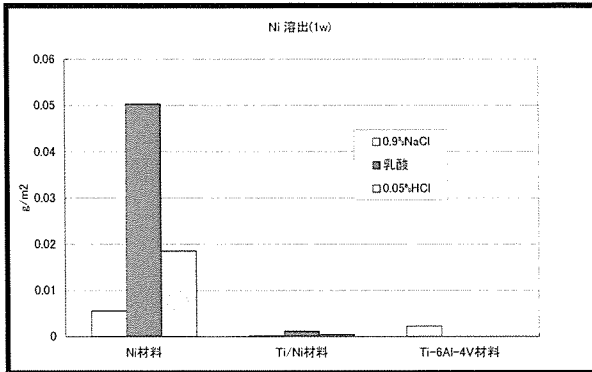
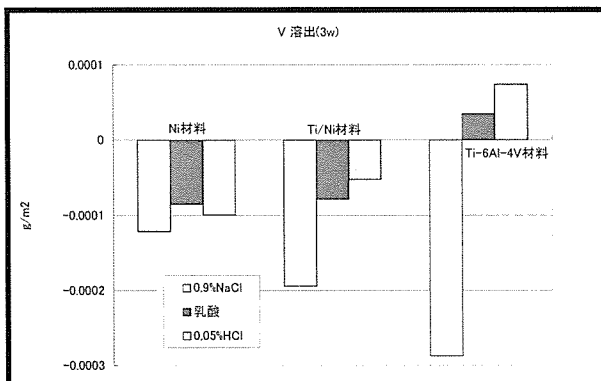
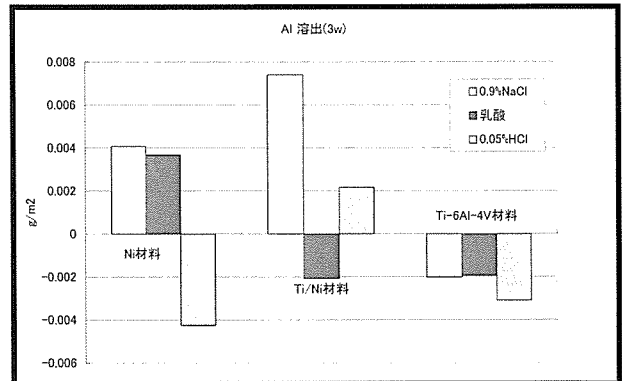
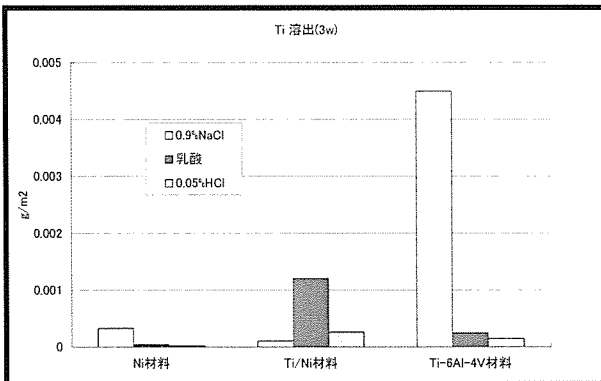


図 5-3 ; 各金属材料からの、3種の溶媒によるTiの溶出量(3週間)

図 5-4 ; 各金属材料からの、3種の溶媒によるAlの溶出量(3週間)

図 5-5 ; 各金属材料からの、3種の溶媒によるVの溶出量(3週間)



5. 金属材料の化学的安全性評価手法の開発

伊佐間 和郎

金属材料の化学的及び生物学的的安全性評価手法の開発に関する研究

分担研究者 伊佐間和郎 国立医薬品食品衛生研究所主任研究官

金属は力学的強度が高く、骨接合用品や人工関節の材料として不可欠である。特に、Ti 合金は一般的に高強度で、耐食性も高く、広範囲の埋植医療機器に応用が可能である。今年度は、Nb を添加した Ti-Zr 基合金の生物学的安全性および有効性を *in vivo* で評価するために、ラット大腿骨埋植試験を実施した。Nb 含量にかかわらず Ti-Zr 基合金は、いずれも組織に炎症反応が無く、窩洞部の骨形成も自然であった。また、純金属もいずれも組織に炎症反応がなかったが、Nb において引抜強度の増加傾向および Al において引抜強度の低下傾向がみられた。埋植試験における試料の引抜強度は、*in vitro* 試験の直接接触法による繊維芽細胞 V79 のコロニー形成率および正常ヒト骨芽細胞 NHOst の石灰化物生成量と相関した。直接接触法による細胞毒性試験および骨芽細胞を用いた適合性試験の有用性が確認された。Nb を添加した Ti-Zr 基合金は、構成元素の純金属も含めて、いずれも炎症反応を起こさず、また、骨組織適合性にも全く問題がなかった。Ti-Zr-Nb 合金は力学的性質にも特徴があり、生物学的安全性および有効性の高い金属材料として有望である。

A. 研究目的

金属材料は現在用いられている医用材料の中でも最高レベルの強度を持ち、人工関節や骨固定材、人工歯根などのような高い力学的強度が要求される埋植医療機器の材料として無くてはならない。これらの用途に使用される医用金属材料としてステンレス鋼 (Ni-Cr-Mo 鋼)、Co-Cr 合金、Ti 合金などがあるが、構造の複雑化や使用期間の長期化など様々な要因によって、不具合の報告件数は年々増加傾

向にある^{1,2)}。そのため、力学的強度や耐腐食性能を高めるための研究が活発に展開されている。しかしながら、生物学的安全性や有効性を向上させることを目的とする研究は十分に進んでいないのが現状である。特に近年、優れた力学的特性を持つ医用金属材料が数多く開発され、臨床実態を反映するような生物学的安全性および有効性評価手法の確立が強く望まれている。

埋植された医療機器が組織的・構造的

のみならず機能的にも生体組織の一部となり得るためには、材料に接触する細胞や組織がその機能を維持することが重要である。金属材料が生体に埋入されると、溶出する金属イオンおよび材料表面そのものが、材料近傍の細胞や組織の機能に影響を及ぼすと考えられる。金属塩については、細胞毒性や骨芽細胞の機能に及ぼす影響が系統的に評価されてきた^{3,5)}。しかしながら、金属材料そのものについては、十分な生物学的評価が行われていない。

従来から埋植医用機器に使用される Ti 合金としては、Ti-6Al-4V が一般的に使用されてきた。しかしながら、構成元素のひとつである V に強い細胞毒性があることから³⁾、最近ではその安全性が疑問視されている⁶⁾。我々は様々な金属塩の正常ヒト骨芽細胞の増殖および分化に及ぼす影響を評価した^{4,5)}。その結果、V 塩は骨芽細胞の増殖を最も強く阻害する金属塩のひとつであった。さらに、Al 塩は、骨芽細胞の増殖には全く影響を及ぼさない濃度で、分化を強く阻害することが明らかになった。これらの結果から、Ti-6Al-4V は、V による骨芽細胞の増殖阻害に加え、Al による分化阻害を起こす可能性が強く示唆された。

近年、構成元素に V を含まない Ti 合金や、V と Al を両方とも含まない Ti 合金が開発されている。さらに、骨芽細胞の増殖および分化を促進させるような元素を配合すれば、Ti-6Al-4V より骨組織適合性を向上させることも可能だろう。

我々は、培地に添加した Nb 塩が正常ヒト骨芽細胞の分化を促進させることを明らかにした^{4,5)}。さらに、ハイドロキシアパタイトに添加した Nb イオンが、骨

芽細胞のアルカリホスファターゼ (ALP) 活性を促進させることも確認した⁷⁾。一方、Nb を添加した Ti-Zr 基合金が最近開発され⁸⁾、特に Nb を 8 mol% 以上添加した β 型 Ti-Zr-Nb 合金は、Ti 系金属材料としては弾性率が小さく、生体用金属材料として力学的に興味がある⁹⁾。

我々は、各種チタン合金の細胞毒性および骨芽細胞適合性について検討してきた^{10,11)}。昨年度の研究では、直接接触法によるコロニー法を用いた細胞毒性試験において、Ti-6Al-4V に弱い細胞毒性が認められたが、Nb 含量にかかわらず Ti-Zr 基合金にはいずれも細胞毒性が認められなかった。また、純金属の Ti、Zr および Nb には細胞毒性が認められなかったが、Al に非常に弱い細胞毒性が認められた。さらに、試料の上で直接培養した正常ヒト骨芽細胞の増殖および分化を指標とする骨芽細胞適合性試験において、Nb 含量にかかわらず Ti-Zr 基合金は、Ti-6Al-4V と比べて、いずれも骨芽細胞の増殖および分化を促進させた。純金属の Ti、Zr および Nb も骨芽細胞の増殖および分化を促進させた。一方、Al は骨芽細胞の増殖を抑制し、分化を顕著に阻害した。Ti-Zr-Nb 合金は、構成元素の純金属も含めて、いずれも細胞毒性が無く、従来から使用されている Ti-6Al-4V と比べて骨芽細胞適合性にも優れていることを確認した¹¹⁾。

今年度は、Ti-Zr-Nb 合金の生物学的安全性および有効性を *in vivo* で評価するために、ラット大腿骨埋植試験を実施し、炎症反応、骨組織適合性および引抜強度について検討を行った。