

200917012A

厚生労働科学研究費補助金
医療技術実用化総合研究事業

テーラーメイド型運動器デバイスの技術開発および
探索的臨床応用研究

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 中村 孝志

平成 22 (2010) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
医療技術実用化総合研究事業

テーラード型運動器デバイスの技術開発および
探索的臨床応用研究

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 中村 孝志

平成 22 (2010) 年 3 月

目 次

1. 総括研究報告

- テーラーメイド型運動器デバイスの技術開発および探索的臨床応用研究…………… 1
研究代表者 中村孝志

2. 分担研究報告

- 1) 選択的レーザー溶融法を用いた Rapid prototyping によるチタン製三次元構造体の…………… 7
骨伝導、骨誘導に関する研究
研究分担者 藤林俊介
- 2) 新しい表面化学処理を施したチタンの生体活性度に関する研究…………… 15
研究分担者 藤林俊介
- 3) テーラーメイドデバイス造形技術の確立に関する研究…………… 19
研究分担者 竹本 充
- 4) 動物病院と連携したシミュレーション（疾病犬の治療）に関する研究…………… 29
研究分担者 竹本 充
- 5) プロトコル作成 三次元プリンターを用いた骨欠損修復に対するテーラーメイド…………… 33
医療シミュレーションのためのパイロット研究
研究分担者 中山富貴
- 6) 歯科用インプラントの開発に関する研究…………… 37
研究分担者 中山富貴
- 7) 選択的レーザー溶融で作成した純チタン棒材の疲労強度に関する研究…………… 41
研究分担者 松下富春
- 8) 新しい表面化学処理技術に関する研究…………… 45
研究分担者 松下富春

3. 研究成果の刊行に関する一覧・別刷…………… 53

1. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
総括研究報告書

テーラーメイド型運動器デバイスの技術開発および探索的臨床応用研究

研究代表者 中村孝志 京都大学大学院医学研究科整形外科 教授

研究要旨 平成 21 年度は動物実験による基礎的データの収集及び、SLM 造形材の強度試験、精度評価を行った。これらの結果をフィードバックして造形パラメーターの最適化をすすめた。また、デバイスの表面化学処理技術の高精度化及び効率化を行った。並行して進めた動物病院と連携した疾病動物治療や、石膏による骨モデルを使用したテーラーメイドデバイスの手術シミュレーションを通して、臨床試験における問題点や課題を明らかにするとともに臨床試験プロトコルの作成を行った。全体として本年度の研究目標は十分に達成されており、平成 22 年度以降の臨床試験開始に向けての準備は整ったといえる。

研究分担者

藤林 俊介

京都大学大学院医学研究科整形外科 助教

竹本 充

京都大学大学院医学研究科整形外科 助教

中山 富貴

京都大学大学院医学研究科整形外科 講師

松下 富春

中部大学生命健康科学部 教授

A. 研究目的

疾病あるいは外科的手術に伴って生じる骨欠損により運動器機能は著しく障害される。われわれはこのような患者に対し、即時に欠損部位の骨修復および運動器機能再建を可能とする新しい治療方法を開発した。本プロジェクトでは生体材料開発におけるこのような基礎研究の成果を迅速に臨床現場に応用することを目的とする。

治療に難渋する大きな骨欠損を生じた骨盤骨や下肢骨の修復治療の新しい術式を確立するとともに、患者が失う運動機能の即時的な再建を達成し、患者個々の状態に応じた適切な手

術手技を確立することで、臨床的・社会的意義は大きいと考える。

B. 研究方法

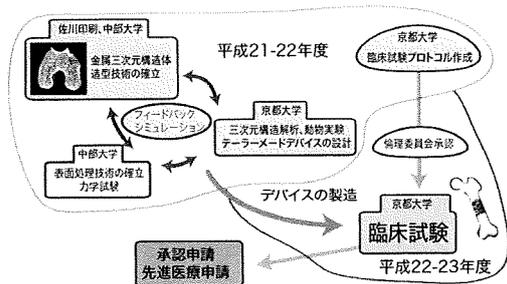
われわれの開発した技術は高性能レーザーを用いてチタン粉末を溶融し(選択的レーザー溶融法、Selective laser melting 法、以下 SLM)、三次元的構造を自由に造形する高速プロトタイプング技術である。患者の病変部の CT データを画像解析し、外部形状および内部の微細構造を三次元 CAD にてデザインし、SLM にてテーラーメイドデバイスを造形する。顔面骨や骨盤、脊柱などの大きな骨欠損をミクロン単位の微細な骨構造まで正確に再現し、さらにチタン表面を化学処理により骨と直接結合する材料に改変する。この高強度チタンデバイスを用いることで骨欠損部を生理的に再建することが可能となる。本研究は以下の年次計画に従って遂行されるものである。

年次計画

・テーラーメイドデバイスの造形技術の確立
(平成 21-22 年度)

・臨床試験プロトコルの作成と学内の倫理委員会からの承認（平成 21-22 年度）

・ 臨床試験の開始と臨床評価（平成 22-23 年度）



研究体制

（倫理面での配慮）

臨床試験施行にあたっては患者同意書を含めたプロトコル作成を行い、医の倫理委員会での厳格な選定を受ける。試験施行においては参加者には試験内容を十分に説明し、試験参加により得られる利点を可能性のある不利益についての十分な理解を得る。同時に患者プライバシーの保護を徹底し、有害事象が生じた場合の対応なども独立したモニタリング委員会や臨床効果評価委員会の設置などによる客観的評価により対応する。

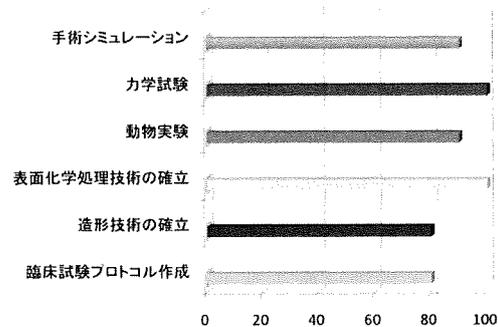
動物実験および臨床評価においては、関係各省庁の定めた以下の指針及び京都大学における動物実験の実施に関する規程に基づいて実施する。

- ①臨床研究に関する倫理指針(厚生労働省)
- ②動物の愛護及び管理に関する法律、実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準(環境省)、動物の処分方法に関する指針(総理府)
- ③研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針(文部科学省)、厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関

する基本指針(厚生労働省)又は農林水産省の所管する研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針(農林水産省)

C. 研究結果

平成 21 年度目標達成度



平成 21 年度はほぼ計画通りに研究を進めることができた。さらに、研究を進める中で Bionic 社や愛媛大学医学部口腔外科など新たな共同研究体制も整った。

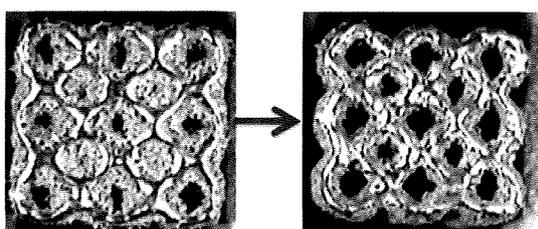
課題 1) 臨床試験プロトコル作成

課題 6 の手術シミュレーションについての臨床試験プロトコル(課題名:三次元プリンターを用いた骨欠損修復に対するテーラーメイド医療シミュレーションのためのパイロット研究)を作成し、倫理委員会に提出し承認を得た。それに基づいて行った手術シミュレーションや疾病動物治療の結果を反映し、臨床試験プロトコル(人工股関節手術、脊椎固定術、顎骨再建手術)の作成を行っている。

課題 2) テーラーメイドデバイス造形技術の確立

SLM により作成した三次元構造体の微細構造の造形精度の向上と、緻密部の高密度化、高強度化をターゲットにした造形パラメーターの最適化を行った。具体的には造形可能な壁厚、

細枝径、孔径がそれぞれ 340 μm 、150 μm 、200 μm となり、従来と比較して 30~50%程度向上した。緻密部の造形誤差は 50 μm 以下、密度は 99%以上と満足出来るものであったが、疲労強度の劣化の原因となる微細な空隙や未溶着部がわずかながら残存しており今後の課題である。動物治療用インプラント、手術シミュレーション用インプラントの作成を繰り返す過程で、造形の効率化や高速化も行った。

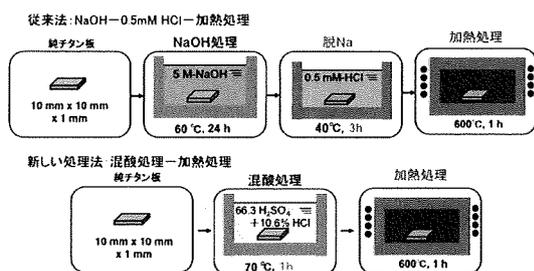


照射モードの変更による微細構造造形精度の向上

課題 3) 表面化学処理技術の確立

三次元構造体への生体活性化表面処理技術の高精度化、効率化、高速化を行った。本プロジェクトで採用したアルカリ、希塩酸、加熱処理においては、高い生体活性を有する酸化チタン層を、処理開始から 3 日間でデバイス表面に付与可能となった。

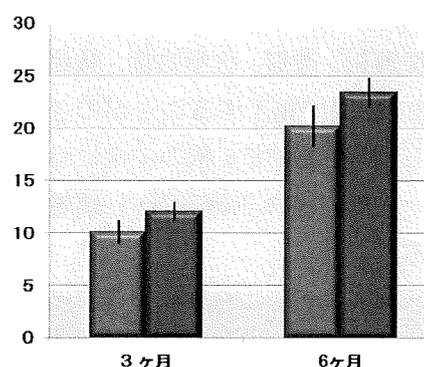
さらに、新たに混酸（硫酸+塩酸）を用いた処理を開発した。この処理方法により処理時間の大幅な短縮が期待できる。



課題 4) 動物実験

犬・兎を用いた埋入試験を行い、基礎的動物実験データを収集した。深部まで骨侵入が必要

となる大きなデバイスでは、径 1200 μm 程度の連通孔を有することが好ましく、孔内の骨形成には孔径 500 μm ~600 μm 程度かそれ以下が望ましいことなどが明らかになった。また、骨内及び筋肉へ 26 週から 52 週と長期に埋入したインプラントの組織学的評価においても有害な炎症反応などを起こさないことが確認された。



ビーグル犬骨内でのインプラント内部の骨形成(%) : 経時的に増加している。
左柱=海綿骨構造、右柱=幾何学的構造

新規表面処理である、混酸加熱処理についての in vivo で評価では、日本白色家兎脛骨内に埋入し術後 4、8、12、16 週での骨と処理チタンの結合強度を測定した。混酸+加熱処理を行ったチタンは従来法に比べ、in vivo での骨との結合強度も飛躍的に向上していた。

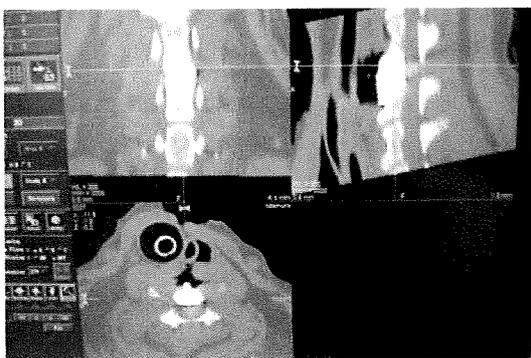
課題 5) 力学試験

SLM により成形した純チタン棒材の静的および動的強度を調査した。延性及び表面構造を向上させる 1300 $^{\circ}\text{C}$ 加熱処理を行った SLM 材は、市販の鍛造・焼鈍材とほぼ同等の引張り強度を有するが、疲労強度はやや劣ることが判明した。疲労強度低下はレーザー溶融時に生ずる空隙や未溶着部に起因すると考えられた。

課題6) 手術シミュレーション

臨床 CT データから三次元プリンターを用いて石膏モデルを作成し、手術シミュレーションを行った。また、動物病院と連携した疾病動物治療を、テーラーメイド型運動器デバイスを用いて実際に行い、臨床応用に向けたシミュレーションを重ねている。

現在ではテーラーメイドデバイスのオーダーから画像解析、造形、化学処理、滅菌までを約 1 週間の期間で完了することができるまで技術向上した。現在まで 6 例のイヌにおけるテーラーメイドデバイス手術を行い、慎重に経過をみている。



術後CT: 正確なインプラント設置および適合

課題7) 歯科用インプラントの開発

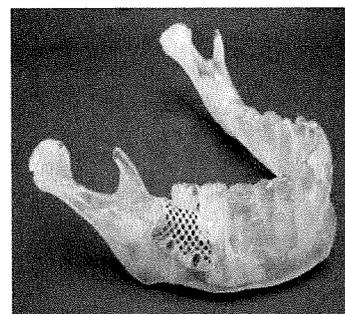
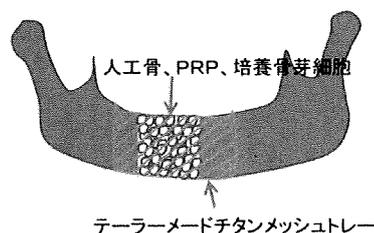
下顎歯肉腫などに対する手術は下顎の区域切除およびプレートによる固定が行われているが、問題点として

1. プレートのみでの固定の場合は強度不足
2. 骨移植を行う場合は新たな侵襲
3. 感染やプレートの露出
4. 骨癒合まで長期間を要する
5. 審美的な再建が劣る

などが挙げられる。本研究成果を応用することでこれらの多くの問題を解決することが可能になる。CT 撮影により得られた DICOM データから、3 次元モデルを作製し、あらかじめ予

想される区域切除範囲と同じ形態を付与したテーラーメイドチタンメッシュトレーを作製し、再建に使用する。

これにより、形態的（審美的）、強度的に優れたトレーの作製が可能となる。本課題は設計および販売を担当する予定で Bionic 社、動物実験および臨床試験を担当する予定で愛媛大学医学部口腔外科が新たに参画した。すでに臨床試験プロトコル作成を終了し、倫理委員会にて審査中となっている。

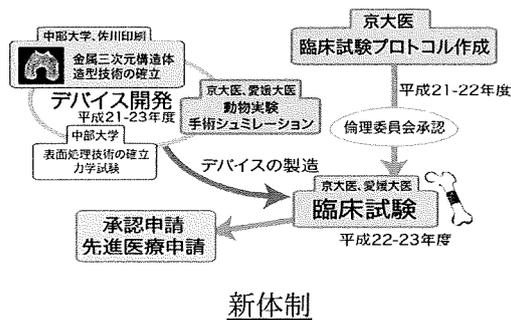


SLM法により作成した試作品

D. 考察

本年度は動物実験による基礎的データの収集及び、強度試験、精度評価や SLM 造形パラメーターの最適化、表面化学処理技術の効率化を行った。疲労強度の改善、処理時間のさらなる短縮、画像処理技術の効率化など、次年度以降にも継続する課題は残っているものの、全体として本年度の研究目標は十分に達成できたと考えられる。疾病動物治療や、石膏による骨モデルを使用した手術シミュレーションを通して、臨床応用への問題点や課題が明らかになっ

てきており、それらを反映した臨床試験プロトコルの作成を進めている。次年度には臨床試験プロトコルの提出と学内倫理委員会からの承認と臨床試験の開始を目指す予定である。また、研究を進める過程で、Bionic 社及び愛媛大学医学部口腔外科が新たに研究体制に加わり、歯科口腔外科分野での臨床応用をすすめる新体制となった。



新体制

E. 結論

平成 21 年度はほぼ計画通りに研究を進めることができた。動物実験による基礎的データの収集、SLM 造形材の強度試験、精度評価、造形パラメーターの最適化、デバイスの表面化学処理技術の高精度化及び効率化を行った。並行して進めた疾病動物治療や、手術シミュレーションを通して、臨床試験における問題点や課題を明らかにし、臨床試験プロトコルの作成を行った。平成 22 年度以降の臨床試験開始に向けての準備は整ったといえる。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fujibayashi S, Neo M, Yoshida M, Miyata M, Takemoto M, Nakamura T, Neck Muscle Strength Before and After Cervical Laminoplasty Relation

to Axial Symptoms, J Spinal Disord Tech, 23(3), 197-202, 2010

- 2) Fujibayashi S, Neo M, Miyaki K, Nakayama T, Nakamura T, The value of palliative surgery for metastatic spinal disease: satisfaction of patients and their families, The Spine Journal, 10, 42-49, 2010

- 3) Ise K, Kawanabe K, Tamura J, Akiyama H, Goto K, Nakamura T, Clinical Results of the Wear Performance of Cross-Linked Polyethylene in Total Hip Arthroplasty, The Journal of Arthroplasty, 24 (8), 1216-1220, 2009

- 4) Akiyama H, Kawanabe K, Ito T, Goto K, Nangaku M, Nakamura T, Computed Tomography-Based Navigation to Determine the Femoral Neck Osteotomy and Location of the Acetabular Socket of an Arthrodesed Hip, The Journal of Arthroplasty, 24 (8), 1292.e1-1292.e4, 2009

- 5) Goto K, Akiyama H, Kawanabe K, So K, Morimoto T, Nakamura T, Long-Term Results of Cemented Total Hip Arthroplasty for Dysplasia, With Structural Autograft Fixed With Poly-L-Lactic Acid Screws, The Journal of Arthroplasty, 24 (8), 1146-1151, 2009

- 6) Ito H, Neo M, Sakamoto T, Fujibayashi S, Yoshitomi H, Nakamura T, Subaxial subluxation after atlantoaxial transarticular screw fixation in rheumatoid patients, Eur

Spine J, 18, 869-876, 2009

- 7) Neo M, Asato R, Fujibayashi S, Ito H, Takemoto M, Nakamura T, Navigated Anterior Approach to the Upper Cervical Spine After Occipitocervical Fusion, SPINE, 34 (22), E800-E805, 2009
- 8) Akiyama H, Kawanabe K, Iida H, Haile P, Goto K, Nakamura T, Long-Term Results of Cemented Total Hip Arthroplasty in Developmental Dysplasia With Acetabular Bulk Bone Grafts After Improving Operative Techniques, The Journal of Arthroplasty, Epub Ahead of print, 2009

2. 学会発表

- 1) A. Fukuda, M. Takemoto, S. Fujibayashi, D.K. Pattanayak, T. Matsushita, K. Sasaki, N. Nishida, T. Kokubo, T. Nakamura. Bone Ingrowth into Pores of Lotus-type Bioactive Titanium Fabricated Using Rapid Prototyping Technique, Bioceramics 22, Daegu, Korea, 2009.10.26-29

H. 知的財産権の出願・登録状況

特願 2009-130246, “犬の頸部腹側減圧術および該頸部腹側減圧術において使用するインプラント”, 井尻篤木, 中村孝志, 藤林俊介, 竹本 充, 松下富春他

特願 2009-19081, “骨修復材料とその製造方法”, 小久保正, 松下富春, Deepak K Pattanayak.

2. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
分担研究報告書

選択的レーザー溶融法を用いた Rapid prototyping によるチタン製三次元構造体の
骨伝導、骨誘導に関する研究

研究分担者 藤林俊介 京都大学大学院医学研究科整形外科 助教

研究要旨 選択的レーザー溶融法を使用し、人工骨として臨床に使用する最適気孔構造モデルのサンプルとして、海綿骨様モデルと幾何学状モデル、円筒状インプラントを作製した。作製した三次元構造体（海綿骨様、幾何学状、円筒状）を用いて動物実験を施行し、その骨伝導と骨誘導を評価検討した。三次元構造体チタン材料に生体活性処理（アルカリ加熱処理）を施すことで良好な骨誘導能と骨伝導能を有することが確認できた。これらのデータをもとに最適気孔構造モデルを作製していく予定である。

A. 研究目的

チタン金属は、高い破壊靱性のため荷重面でも使用できる生体材料として有用である。我々は、プラズマ溶射ポラスチタン、粉末チタンと発泡材を使用する焼結ポラスチタン等を作成し、各々に生体活性処理（アルカリ加熱処理）を行うことで優れた骨誘導能と骨伝導能を得る事に成功してきた。従来の製法ではある程度の全体の構造の制御は可能であるが、内部構造のコントロールは困難であり、テーラーメイド化を考えると不十分である。テーラーメイド化にはさらなる精密な構造制御、外部構造と異なった内部構造の作製など、個々の異なった部分に合わせた構造体の作製が必要になる。現在は、多孔構造制御とテーラーメイド化を目的として選択的レーザー溶融法（以下 SLM 法）を用いた Rapid prototyping（以下 RP）によるポラスチタン材料の開発を進めている。今回の研究では、SLM 法を使用し、人工骨として臨床に使用する最適気孔構造モデルのサンプルとして、海綿骨様モデル（cancellous like model: 以下 C 材）と幾何学状モデル（geometric implant: 以下 G 材）を作製した。またその最

適気孔構造の基礎となる最適気孔サイズの検討のモデルとして円筒状インプラント（cylinder hollow implant: 以下 CH 材）を作製した。作製した三次元構造体（海綿骨様、幾何学状、円筒状）を用いて動物実験を施行し、その骨伝導と骨誘導を評価検討した。

B. 研究方法

(1) 材料

直径 45 μ m の純チタン粒子を使用して SLM 法（Electro Optical Systems GmbH 社製 EOSINT M270 装置）にて、以下のサンプルを作製した。
①直径 3.3mm で高さ 15mm の円筒状インプラント（CH 材）（500 μ m, 600 μ m, 900 μ m, 1200 μ m と 4 つの違う大きさの孔を持つ）
②家兎直径 6mm 高さ 15mm と犬用直径 10mm 高さ 20mm の海綿骨様インプラント（C 材）（48 歳女性の踵骨の CT から CAD にて作製）。気孔率は 69%
③家兎直径 6mm 高さ 15mm と犬用直径 10mm 高さ 20mm の幾何学状インプラント（G 材）（一辺 2.8mm の 6 面体の繰り返し構造）気孔率 75%（図 1 ①-③）。

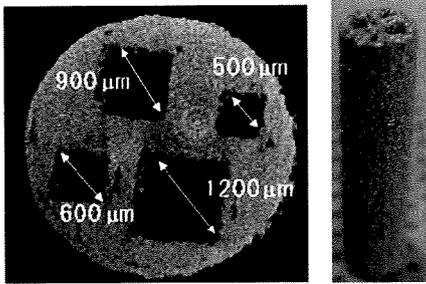


図1-① 円筒状インプラント (CH 材) : 左 ; 断面 (500μm. 600μm. 900μm. 1200μm の孔)、右 ; 全体像 (直径 3.3mm で高さ 15mm)

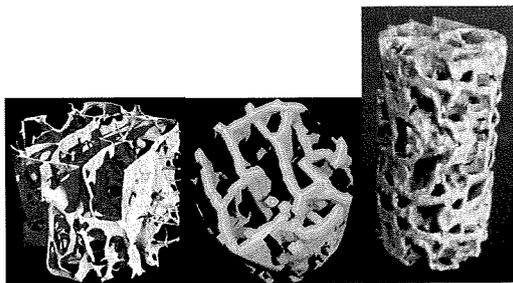


図1-②海綿骨様インプラント(C材) : 左 ; 48歳女性の踵骨のCT、中 ; 造型条件に合わせたCADデータ画像、右 ; 実際のインプラント全体像 (家兎用 ; 直径 6mm 高さ 15mm、犬用 ; 直径 10mm 高さ 20mm) 気孔率 69%

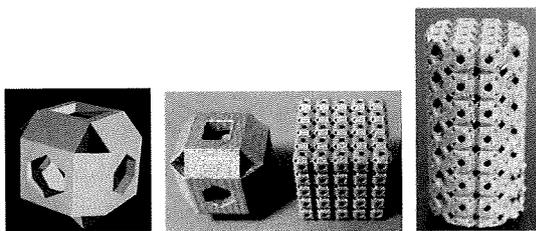


図1-③幾何学状インプラント(G材) : 左 ; 一辺 2.8mm の 6 面体の μCT 画像、中 ; 作製した 1unit とその繰り返しインプラント、右 ; 実際のインプラント全体像 (家兎用 ; 直径 6mm 高さ 15mm、犬用 ; 直径 10mm 高さ 20mm) 気孔率 75%

(2) 生体活性処理

作製した三次元構造体 (CH 材・C 材・G 材) は、強度を増すために 1300 度の Ar で焼結し、

生体活性処理を行った。まず 5M の NaOH 水溶液 60 度に 24 時間浸け、続いて 0.5mM の希塩酸水溶液 40℃に 3 時間、室温の純水に 24 時間浸けることで洗い流し、最後に大気中にて 600℃加熱 1 時間施行した。生体活性処理をしないものはコントロールとし、焼結のみとした。

(3) 動物実験

日本白色家兎の手術は静脈麻酔下 (ネンブターール 0.6~0.7ml/kg) に、局所麻酔を十分利かせた上で施行し、屠殺は静脈麻酔下 (ネンブターール 2.0~3.0ml/kg) で安楽死させた。ビーグル犬の手術は筋肉注射 {ケタラール、セラクター (筋肉内注射 : 各 3ml)} にて麻酔をかけ、静脈路を確保し、抗生剤と生理食塩水をゆっくり点滴し、局所麻酔を十分利かせた上で施行した。屠殺は、筋肉注射 {ケタラール、セラクター (筋肉内注射 : 各 3ml)} にて麻酔をかけ、静脈麻酔下 (ネンブターール 2.0~3.0ml/kg) で安楽死させた。

CH 材は、骨伝導試験として、ビーグル犬の大腿骨・脛骨の骨髄、日本白色家兎の大腿骨骨髄へ挿入した (図 2)。生体活性処理ありとなしで左右別々の足に挿入した。ビーグル犬は計 6 匹、日本白色家兎は 24 羽使用した。ビーグル犬・日本白色家兎各々 6W、12W、26W で取り出した。

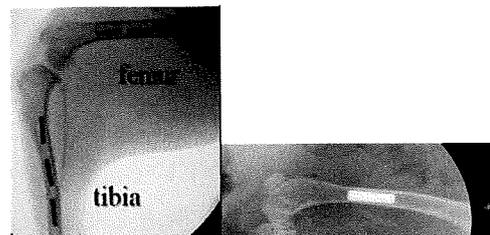


図2 左 ; ビーグル犬の大腿骨・脛骨挿入後の X-P 像、右 ; 日本白色家兎大腿骨挿入後の X-P 像

骨誘導試験として、ビーグル犬の背筋に生体活性処理ありと無しのインプラントを2本ずつ、4匹に挿入した。各々16W・26W・52Wで取り出した。

C材とG材は、骨伝導試験として、ビーグル犬の大腿骨顆部・上腕骨大結節、日本白色家兎の大腿骨顆部へ挿入した(図3)。C材とG材を左右別々の足に挿入し、共に生体活性処理のあるものだけを使用した。ビーグル犬は3カ月、6カ月で取り出し、日本白色家兎は3週、6週、12週、26週、52週で取り出した。ビーグル犬は計8匹、日本白色家兎は25羽を使用した。



図3 左;ビーグル犬上腕骨大結節挿入モデル、中;ビーグル犬大腿骨顆部挿入モデル、右;日本白色家兎の大腿骨顆部挿入後のX-P像

組織学的評価

各標本は、取り出した後、10%ホルマリンに1週間から2週間、エタノール(70%, 80%, 90%, 99%, 100%, and 100% v/v)にそれぞれ3日浸漬させ、続いてポリエステルレジンにて包埋した。作製した硬組織のCH材はband saw (BS-3000CP, EXACT cutting system, Norderstedt, Germany)にて1mmずつ輪切りし、grinding-sliding machine (Microgrinding MG-4000, EXACT)にて40~50 μ mの標本とした。C材とG材は、band sawにて3mm毎に輪切りし同様の標本作製した。それらの標本をStevenel's blueとVan Gieson'sで二重染色し、光学顕微鏡と蛍光顕微鏡を使用して観察評価した。

評価方法

CH材の骨伝導は、骨侵入として両端からどこまで骨が進入したか(距離)を全長15mmの何%を占めるかで評価した(図4)。また骨形成として各断面のporeの内どれだけ骨が占めるか(面積)を%で各々のpore size毎に計測した(図5)。今回は実際インプラントは直径6mm程度であるため、一番骨形成が必要とされる端から3mmの部位を計測した。それらをビーグル犬、日本白色家兎別々に計測した。骨誘導評価は、骨形成の広がりとして全長15mmの何%まで骨ができているか(距離)を各pore毎に計測した(図6)。C材とG材の骨伝導評価は、骨形成として各断面のporeのうちどれだけ骨が占めるか(面積)を%で計測し(図7)、そのC材とG材とで比較検討した。

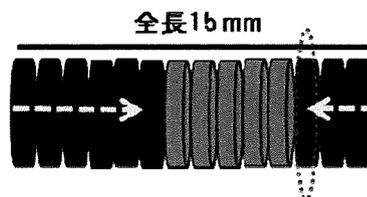


図4 骨侵入: 端からの骨侵入の模式図

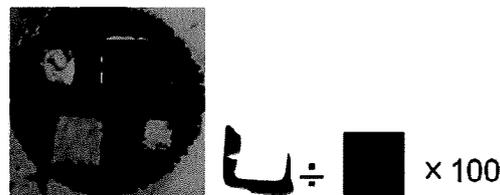


図5 骨形成: 断面像と面積の計算式の模式図(正方形は気孔面積)

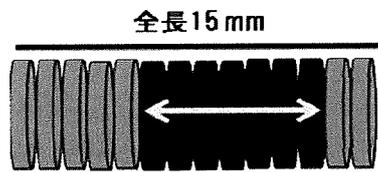


図6 骨形成の広がり：インプラントの内部に生じた骨誘導の模式図



図7 骨形成：各断面(左=C材、右=G材)(骨は赤の面積、poreはインプラント断面全面積)

(倫理面での配慮)

本研究は京都大学大学院医学研究科動物実験委員会の承認のもとに行われている。

C. 結果

CH材の日本白色家兎の骨伝導(骨侵入)は、生体活性処理有る無しに関わらず、6週、12週、26週全てにおいて1200 μ mが良好であった(図8)。また全体的に生体活性処理ありが未処理と比較して、有意に骨侵入が優れていた。CH材のビーグル犬の骨伝導(骨侵入)は、生体活性処理あり未処理共に、6週、12週、26週間で差はみらなかった(図9)。生体活性処理有りに関しては、骨誘導的な影響も考えられた。CH材の端から3mmの部位での骨伝導(骨形成)は、6週、12週、26週全てにおいて500 μ mと600 μ mが良好であった(図10)。CH材の骨誘導(骨形成の広がり)については、今までの見解から、比較的閉ざされた空間にできやすいことがわかっており、この結果もそれを支持するように全行程で500 μ mと600 μ mが良好であった

(図11)。未処理のインプラントでは6週、12週、26週全てにおいて骨誘導はみられなかった。

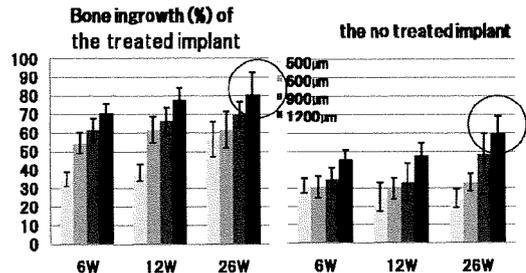


図8 日本白色家兎の骨伝導(骨侵入) 左；生体活性処理有り、右；未処理

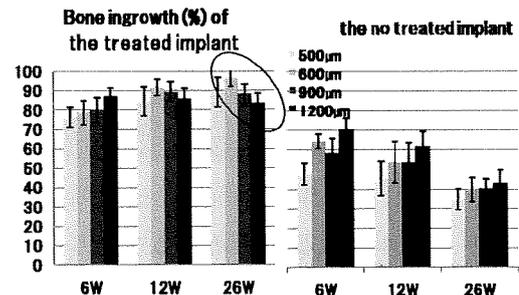


図9 ビーグル犬の骨伝導(骨侵入) 左；生体活性処理有り、右；未処理

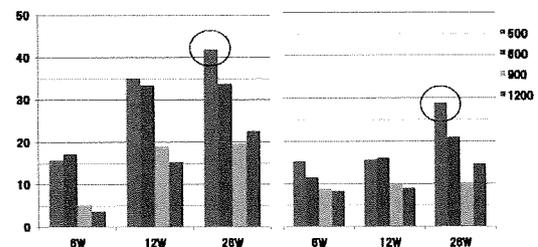


図10 インプラント両端から3mmの部位での骨伝導(骨形成)%：左；日本白色家兎 右；ビーグル犬

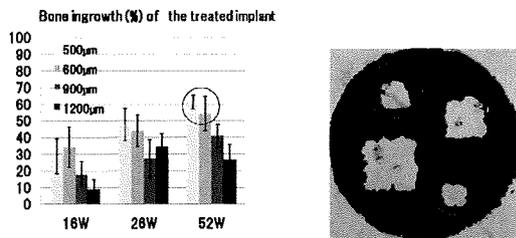
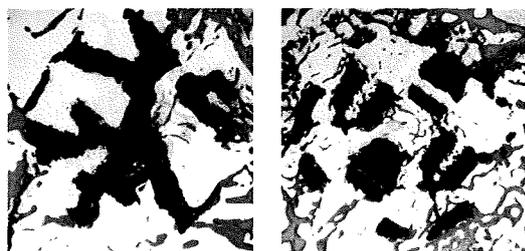
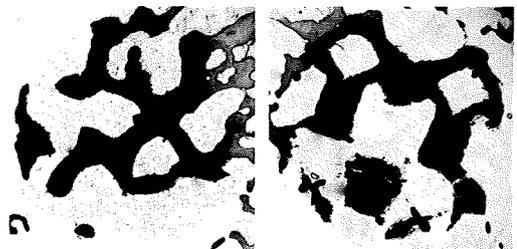


図 11 ビーグル犬の骨誘導（骨形成の広がり）
右；16 週の代表標本（500 と 600µm に良好な骨
誘導が確認できる）

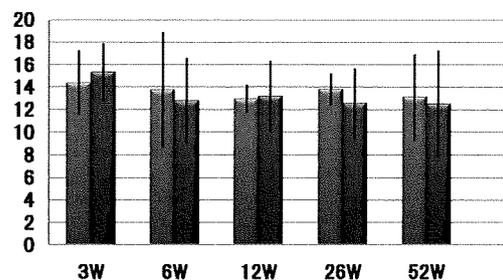
3 週での C 材・G 材の日本白色家兎での骨伝導
（骨形成）は、共に比較的良好な骨形成が見ら
れた。チタンに沿った骨もみられるが、多くは
未熟な骨組織が観察された（図 12）。また 52
週での骨形成は、両インプラントともに骨量と
してあまり変わらなかった。しかし両インプラ
ント共、骨の多くがチタンに沿っており、また
形成された骨組織は非常に成熟した層状の骨
であった。良好な骨伝導が確認できた（図 13）。
しかし経時的にみると、C 材・G 材とも骨形成
の量は、わずかに減少していった。



（図 12）3 週での日本白色家兎における骨伝導
（骨形成）： 未熟な骨が多くみられる。 左；
C 材、右；G 材 Stevenel' s Blue - Van Gieson
染色

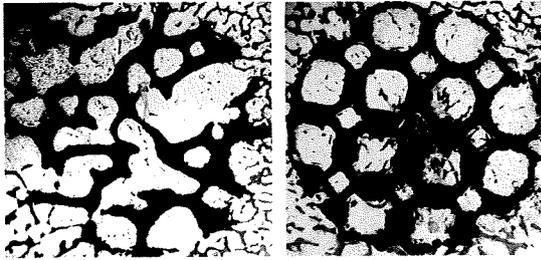


（図 13）52 週での日本白色家兎における骨伝
導（骨形成）： 骨量としては増えていないが、
チタンに沿った骨が多い。左；C 材、右；G 材
Stevenel' s Blue - Van Gieson 染色

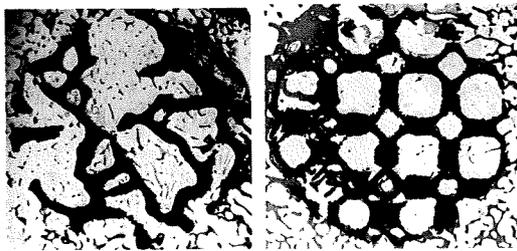


（図 14） 日本白色家兎での骨伝導（骨形
成）%： 経時的に骨量はわずかに減少してい
る。左柱=C 材、右柱=G 材

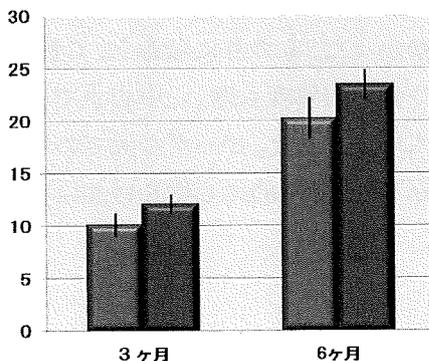
3 か月での C 材・G 材のビーグル犬での骨伝導
（骨形成）は、共に比較的良好な骨形成が見ら
れたが、インプラントの中心まではあまり骨侵
入は見られなかった。6 カ月になると、C 材・G
材共に骨量や骨の成熟度も増し、中心まで十分
な骨量が進入形成された。ビーグル犬での骨量
を統計的にみると、経時的に C 材 G 材共に有意
に増加した。



(図 15) 3 カ月でのビーグル犬における骨伝導 (骨形成): 径 10mm のインプラントの中心まではあまり骨侵入は見られない。左; C 材、右; G 材 Stevenel' s Blue - Van Gieson 染色



(図 16) 6 カ月でのビーグル犬における骨伝導 (骨形成): 径 10mm のインプラントの中心まで良好な骨侵入骨形成が見られる。左; C 材、右; G 材 Stevenel' s Blue - Van Gieson 染色



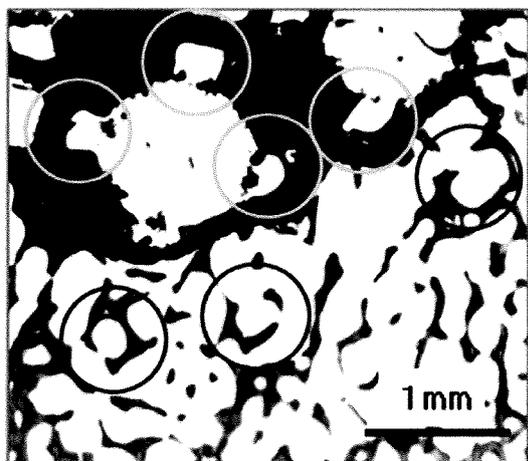
(図 17) ビーグル犬での骨伝導 (骨形成) %: 経時的に増加している。左柱=C 材、右柱=G 材

D. 考察

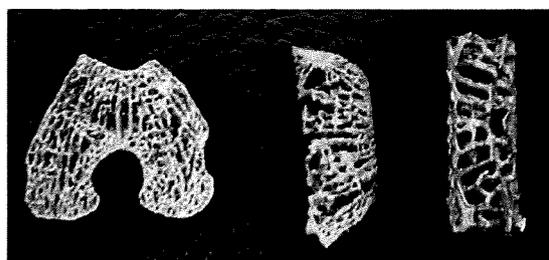
CH 材の骨伝導 (骨侵入) をみると、日本白色家兎では 1200 μ m が良好であり、ビーグル犬では差は見られなかった。この結果から考えると骨侵入としては 1200 μ m が有利と考えられる。しかし、ビーグル犬では差がないため、そこには種による違い (細胞の大きさ、骨梁の大きさや血管の大きさの違い) が影響すると考えられる。また骨伝導の骨形成から考えると、その骨の定着度としては、家兎・ビーグル犬共に 500 μ m と 600 μ m が良好であった。この結果から通常動物実験に使用するインプラント (約 6mm 程度) では 500 μ m と 600 μ m の大きさの pore size が有利であると考えられる。ここには種の違いは見られなかった。次に骨誘導をみると、家兎では見られないため犬でのみの考察となるが、500 μ m と 600 μ m が良好であった。つまり進入してからの内部構造としては 500 μ m と 600 μ m を基本に構造を作製すると骨誘導的な影響も加えられることでさらに良好な骨形成が期待できると考える。しかし骨伝導は骨侵入があつての話なので、進入が 1200 μ m 有利との結果を考えるとある程度の大きさのインプラントが必要で、その外部構造の孔や連通孔もある程度の大きさが必要となる。さらにそこには種の違いも影響する。

C 材 G 材の骨伝導 (骨形成) をみると、同じ構造のインプラントで家兎は経時的な減少を認め、犬では増加を認めた。ここでも種による違い (細胞の大きさ、骨梁の大きさや血管の大きさの違い) がみられる結果となった。そこでビーグル犬 6 カ月の標本を見ると、良好な骨形成のみられる pore size は、周りの骨梁の大きさと近く約 500 μ m であることが判明した (図 18)。それは C 材 G 材共にみられる現象であつ

た。しかしビーグル犬の骨梁が 500 μm とは限らず、部位によっても違ってくる。また家兎の骨梁は、犬と比較すると全体に粗の印象であるが、一概にそうは言えず、密な部分も部位によっては多く存在する。つまりこの 500 μm が骨梁の大きさと近いのは、一つの参考程度にすぎず、すべて含めて種やその母床部位の違いが影響すると考えられる。以上を踏まえて考察すると、例えば家兎の骨梁をそのまま模したものが家兎用の最適多孔構造 implant で犬では犬の骨梁を模したものが最適多孔構造 implant となるかもしれない (図 19)。



(図 18) ビーグル犬 6 カ月の G 材： 良好な骨形成のみられる pore size は、周りの骨梁の大きさと近い。計測の結果約 500 μm Stevenel's Blue - Van Gieson 染色



(図 19) 作製した純チタンの積層物： 左；

日本白色家兎の大腿骨顆部を micro CT にて撮影しそのまま再現したモデルの断面、中；その動物実験用に作製した径 6mm で高さは顆部そのままの距離、右；本実験の家兎用 C 材

E. 結論

SLM 法を用いた RP で作製した三次元構造体チタン材料に 生体活性処理 (アルカリ加熱処理) を施すことで良好な骨誘導能と骨伝導能を有することが確認できた。

深くまで骨進入が期待される大きなインプラントでは、連通孔径は大きい傾向があり、骨伝導 (骨形成) にとっては 500 μm ~600 μm 程度もしくはそれ以下が望ましい、ただし、種の違いの影響がありうる。これらのデータをもとに最適気孔構造モデルを作製していきたいと考えている。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

- 1) A. Fukuda, M. Takemoto, S. Fujibayashi, D. K. Pattanayak, T. Matsushita, N. Nishida, T. Kokubo, T. Nakamura, Development of porous bioactive titanium by rapid prototyping, 22nd European Conference on Biomaterials, LAUSANNE, 2009/9/9
- 2) A. Fukuda, M. Takemoto, S. Fujibayashi, D. K. Pattanayak, T. Matsushita, K. Sasaki, N. Nishida, T. Kokubo, T. Nakamura, Bone Ingrowth into Pores of Lotus-type Bioactive Titanium Fabricated Using Rapid Prototyping Technique, Bioceramics 22th,

Daegu, 2009/10/27

- 3) 福田 明伸、竹本 充¹、藤林 俊介¹、中村 孝志¹、松下 富春²、D. K. Pattanayak²、小久保 正²、佐々木 清幸³、西田 伸克、Rapid prototyping で作製した生体活性処理レンコン状チタン材料の各孔における bone ingrowth 評価, 第 31 回日本バイオマテリアル学会大会, 京都(京都テルサ), 2009/11/16
- 4) 福田 明伸、竹本 充¹、藤林 俊介¹、中村 孝志¹、松下 富春²、D. K. Pattanayak²、小久保 正²、佐々木 清幸³、西田 伸克、Rapid prototyping 法による生体活性チタン三次元構造インプラントの開発, 第 31 回日本バイオマテリアル学会大会, 京都(京都テルサ), 2009/11/17

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

なし

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
分担研究報告書

新しい表面化学処理を施したチタンの生体活性度に関する研究

研究分担者 藤林俊介 京都大学大学院医学研究科整形外科 助教

研究要旨 チタン材料表面に簡便かつ短時間の化学処理で生体活性を付与する方法を検討した。チタン材料を 66.3% H_2SO_4 +10.6% HCl の混酸溶液を用いて 70°C、1h の化学処理を行った後、600°C加熱することにより、その表面は早期から家兎生体骨との高い結合性を示した。これは混酸処理後に 600°C加熱することにより表面のゼータ電位がプラスになることに起因する。これまで開発してきた $NaOH$ -0.5m $MHCl$ -加熱処理法においては化学処理に 48h を要していたが、混酸使用によりチタン材料表面の化学処置に要する時間を大幅に短縮できる可能性がある。

A. 研究目的

チタン金属は優れた生体親和性を持ちインプラント材料として広く臨床使用されている。しかし、チタン金属自体は骨との直接結合能（生体活性能）を持たないため、骨結合能を付与する様々な方法が報告されている。チタン金属をアルカリ溶液処理したのちに加熱処理する方法（アルカリ加熱処理）は簡便で安全に生体活性能を付与すること可能であり、セメントレス人工股関節として 2007 年より製造販売承認されている。本研究ではこのアルカリ加熱処理をさらに発展させ、より簡便に短時間でチタン金属に高い生体活性能を付与することを目標に、新しい処理方法を開発した。それらについて疑似体液 (SBF) 内でのアパタイト形成能、in vivo での骨結合能を評価することである。

B. 研究方法

(1) 材料

チタン材料は大きさ 15 x 10 x 2 mm³ の純

チタンを使用した。行う化学処理の方法を ① $NaOH$ -0.5m $MHCl$ 、② $NaOH$ -50m $MHCl$ 、③混酸-加熱、④混酸-非加熱の 4 群に分けた。①純チタンを 60°C の 5m $NaOH$ 溶液に 24h 浸漬した後、脱 Na のため 40°C の 0.5m $MHCl$ 溶液に 24h 浸漬する。その後超純水で洗浄し、大気中で 600°C、1h の加熱処理を行う。②では純チタンは①の処理における 0.5m $MHCl$ を、50m $MHCl$ へと変更した処理を行った。③では純チタンを、66.3% H_2SO_4 (w/w) 溶液と 10.6% HCl (w/w) 溶液を 1 : 1 に混合した混酸溶液を 70°C に加熱し、その中に 1h 浸漬した。その後、超純水で洗浄し、大気中で 600°C、1h 加熱し、炉冷した。④では純チタンを、66.3% H_2SO_4 (w/w) 溶液と 10.6% HCl (w/w) 溶液を 1 : 1 に混合した混酸溶液を 70°C に加熱し、その中に 1h 浸漬した。その後、超純水で洗浄し、その後加熱処理を行わなかった。

(2) 生体活性の評価

(1) で述べたそれぞれの方法で処理したチタンの活性を、日本白色家兎の脛骨に埋