

2-2-4. 試験結果及び考察

ASTM F2077 規格を準用した純 PEEK 及び 7%CNT 添加 PEEK の静的圧縮及び静的回旋試験を実施した結果を表 2-3、2-4、2-5、2-6、図 2-8、2-9 に示す。表 2-3、2-4 より、静的圧縮試験では、弾性領域最大荷重平均値として明確な値が算出できなかったが、暫定値として純 PEEK が 8822 N、7%CNT 添加 PEEK が 9110 N であった。これらの数値の解析に関しては今後再検討をおこなう。また、図 2-8 に示すように、40 kN では欠損しなかった。表 2-5、2-6 より、静的回旋試験では、弾性領域最大トルク平均値として純 PEEK が 4735 N・mm、7%CNT 添加 PEEK が 5016 N・mm であった。また、図 2-9 より純 PEEK では回旋角度 30 deg で破損が見られなかったが、7%CNT 添加 PEEK では

全ての検体において 5~10 deg 付近で破損が見られた。

静的圧縮試験時に弾性領域最大荷重値が純 PEEK よりも 7%CNT 添加 PEEK が大きくなった原因として、材料そのものの圧縮特性が異なるためと考えられる。2-1. 機械的特性試験に記載した圧縮試験結果より、CNT 添加により圧縮特性が向上している。このことより、静的圧縮試験時に 7%CNT 添加 PEEK の最大荷重値が純 PEEK に比べ大きくなったと考えられる。また、静的回旋試験時に純 PEEK は破損しなかったが、7%CNT 添加 PEEK が破損した原因について、もともとの PEEK グレードが異なるためと考えられるが、詳細に関しては今後の検討課題である。

表 2-3 純 PEEK 材料における静的圧縮試験結果

試作ケージ 純 PEEK	弾性領域	
	最大荷重(N)	最大変位(mm)
検体 1	8938	0.58
検体 2	8797	0.58
検体 3	8731	0.56
平均値	8822	0.57
標準偏差	106	0.01

表 2-4 7%CNT 添加 PEEK 材料における静的圧縮試験結果

試作ケージ 7%CNT/PEEK	弾性領域	
	最大荷重(N)	最大変位(mm)
検体 1	8890	0.54
検体 2	9288	0.58
検体 3	9152	0.58
平均値	9110	0.57
標準偏差	202	0.02

表 2-5 純 PEEK 材料における静的回旋試験結果

試作ケージ 純 PEEK	弾性領域		最大トルク (N・mm)	最大角度 (deg)
	最大トルク(N・mm)	最大角度(deg)		
検体 1	4490	2.09	12636	11.43
検体 2	4579	2.17	12634	11.13
検体 3	5135	1.79	12694	10.21
平均値	4735	2.02	12655	10.92
標準偏差	350	0.20	34.06	0.64

表 2-6 7%CNT 添加 PEEK 材料における静的回旋試験結果

試作ケー 7%CNT/PEEK	弾性領域		最大トルク (N・mm)	最大角度 (deg)
	最大トルク(N・mm)	最大角度(deg)		
検体 1	5267	2.40	11450	7.13
検体 2	5218	2.55	12557	8.20
検体 3	4563	2.68	12295	8.03
平均値	5016	2.54	12101	7.79
標準偏差	393	0.14	578	0.57

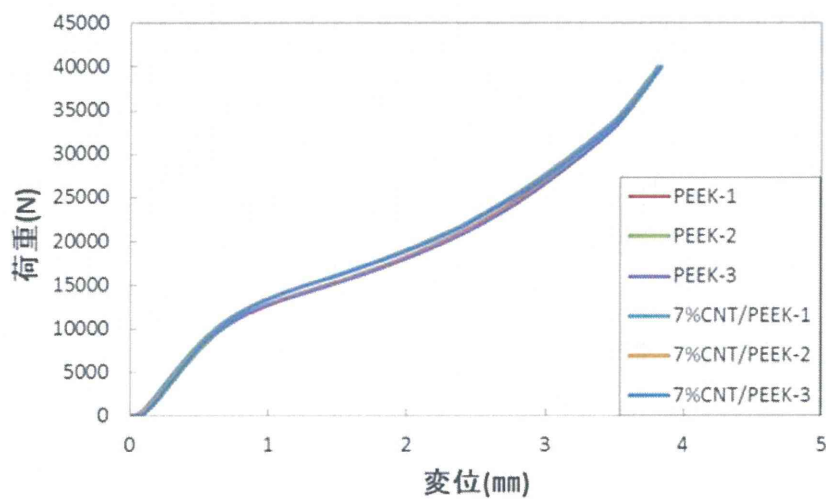


図 2-8 静的圧縮試験変位-荷重曲線

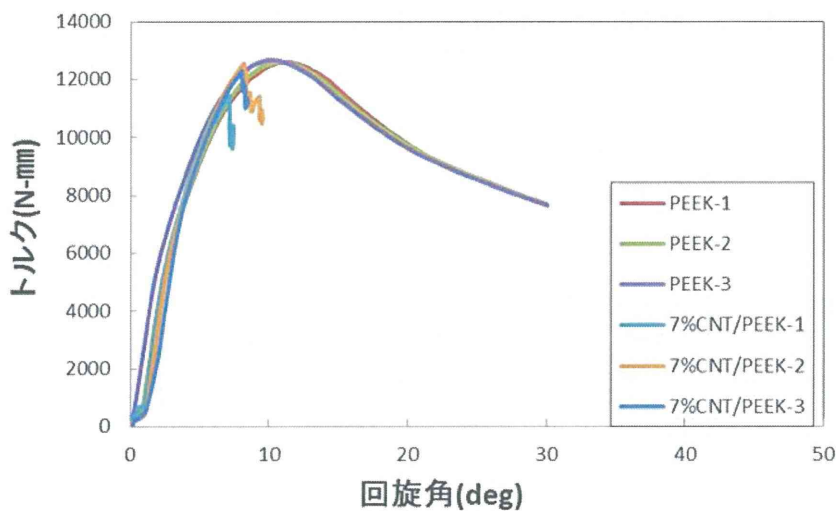


図 2-9 静的回旋試験回旋角-トルク曲線

3. 生物学的安全性評価

3-1. 評価試験の選定

製品化に関して製造販売承認申請、認証申請及び届出に際して必要となる生物学的安全性評価試験を本年度より実施している。評価試験としてはガイドライン（薬食機発0301第20号「医療機器の製造販売承認申請

等に必要な生物学的安全性評価の基本的な考え方について」平成24年3月1日）に示される評価試験を参照し細胞毒性、感作性、刺激性/皮内反応、急性全身毒性、亜急性全身毒性、遺伝毒性、埋植試験を選定した。表3-1にガイドラインに記載されている要求事項を示す。

表 3-1 ガイドラインで示される要求事項

医療機器の分類	接触期間（累積）	生物学的安全性評価項目									
接触部位	A：一時的接触 （24時間以内）	細胞 毒 性	感 作 性	刺 激 性 / 皮 内 反 応	急 性 全 身 毒 性	亜 急 性 全 身 毒 性	遺 伝 毒 性	発 熱 性	埋 植	血 液 適 合 性	
	B：短・中期的接触 （24時間を超え 30日以内）										
	C：長期的接触 （30日を超える）										
体内植込み機器	組織/骨	A	○	○	○						
		B	○	○	○	○	○	○		○	
		C	○	○	○	○	○	○	○	○	
	血液	A	○	○	○	○	○		○	○	○
		B	○	○	○	○	○	○	○	○	○
		C	○	○	○	○	○	○	○	○	○

※赤枠内を選定した。

3-2. 実施した評価試験

表 3-2 に CNT/PEEK 複合材料に関する GLP 試験項目を示す。本年度は、「医療機器の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」[平成 17 年 3 月 23 日厚生労働省第 37 号(一部改正 平成 20 年 6 月 13 日 厚

生労働省令第 115 号)]に準拠した細胞毒性、感作性、復帰突然変異、染色体異常、皮内反応、急性全身毒性、骨内埋植(埋植期間 4 週、12 週)、亜急性毒性試験を実施した。骨内埋植試験(埋植期間 26 週)及び亜慢性試験は次年度実施の予定である。評価試験は一般財団法人食品分析センターに委託した。

表 3-2 CNT/PEEK 複合材料に関する GLP 試験項目

試験実施状況	試験項目
本年度実施	培養細胞を用いる細胞毒性試験
本年度実施	モルモットを用いる感作性試験
本年度実施	細菌を用いる復帰突然変異試験
本年度実施	培養細胞を用いる染色体異常試験
本年度実施	ウサギを用いる皮内反応試験
本年度実施	マウスを用いる急性全身毒性試験
本年度実施	ウサギを用いる骨内埋植試験(埋植期間4週)
本年度実施	ウサギを用いる骨内埋植試験(埋植期間12週)
本年度実施	ラットを用いる亜急性毒性試験
次年度実施予定	ウサギを用いる骨内埋植試験(埋植期間26週)
次年度実施予定	ラットを用いる亜慢性毒性試験

3-3. 評価結果

本年度実施した評価試験に関して、受領し

た各試験結果を表 3-3 に示す。本年度実施した試験は、問題なく終了した。

試験項目	試験結果
培養細胞を用いる細胞毒性試験	細胞毒性なし
モルモットを用いる感作性試験	感作性を有さない
細菌を用いる復帰突然変異試験	遺伝子突然変異誘発性陰性
培養細胞を用いる染色体異常試験	染色体異常誘発性陰性
ウサギを用いる皮内反応試験	刺激性は「ない又は無視できる程度」
マウスを用いる急性全身毒性試験	急性全身毒性なし
ウサギを用いる骨内埋植試験(埋植期間 4 週)	組織傷害性はなく、骨伝導性を持つことが示唆された
ウサギを用いる骨内埋植試験(埋植期間 12 週)	組織傷害性はなく、骨伝導性を持つことが示唆された
ラットを用いる亜急性毒性試験	明らかな全身毒性は発現しない

4. 構造解析

4-1. インプラントの数値解析

CNT/PEEK 材を脊椎スペーサーとして用いるためには、設計法を確立するための力学的評価が必要となる。脊椎ケージのような複雑な形状を有するインプラントの力学的評価においては、3D-CAD データに基づく数値解析が有効である。ここでは、PEEK 製脊椎ケージの力学的評価を行うために、一軸単縮試験を実行した。脊椎ケージの 3D-CAD 形状データを用いて、実験と同条件の圧縮解析を実行し、ケージ内の応力分布を評価した。また、圧縮試験時に赤外線サーモグラフィを用いて計測したケージ表面の応力分布と解析結果とを比較し、得られた応力分布の妥当性を検証した。赤外線サーモグラフィによる応力測定は、非接触での測定が可能であり、応力分布が画像化されるた

め、応力集中部位の評価に有用であることから、圧縮試験時におけるケージ表面の応力分布を実測する手法として採用した。

4-1-1. 方法

1) 圧縮試験

試験は図 4-1 に示す万能試験機（インストロン社製、AG-E, 100kN）を用い、脊椎椎間固定機器の試験規格（ASTM F2077 規格）に準用した一軸圧単縮試験を行った。試験料として図 4-1 (b) に示す PEEK 製の箱型脊椎ケージを、その形状に合わせた PPSU（ポリフェニルサルフォン）製の固定治具で挟んで用いた。圧縮は、骨表面とのアンカリングのための波状突起のある表面を上面及び底面とした軸方向に沿って与えた。上方治具の上面に周波数 2 Hz, 337.5 N—3375 N の周期的圧縮力を与えた。

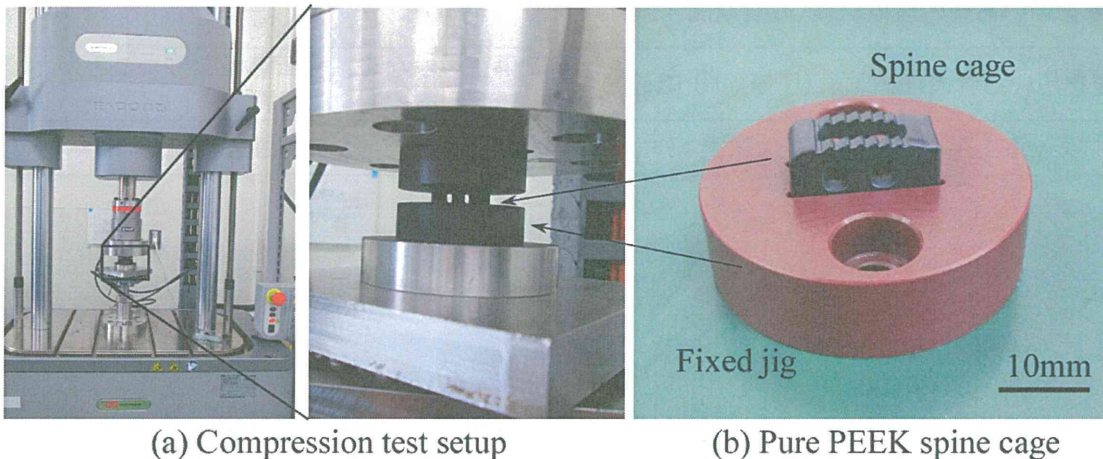


図 4-1 圧縮試験機と試験片

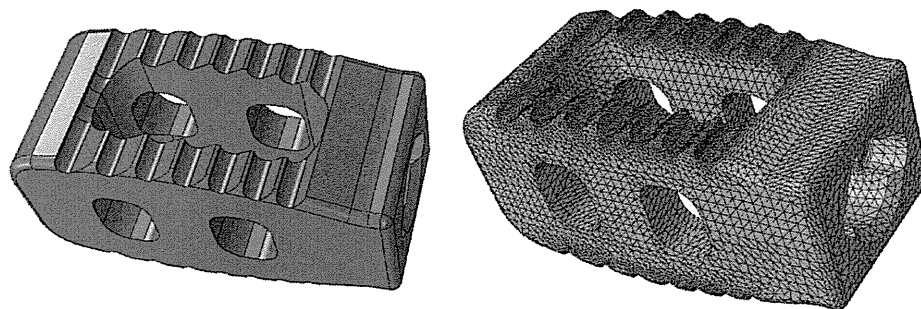
2) 有限要素解析

脊椎ケージを固定治具で挟んだ一軸単縮圧縮試験を有限要素法によりシミュレートした。脊椎ケージ圧縮試験解析は、脊椎ケージおよび固定治具の 3D-CAD 形状データを有限要素解析ソフト Abaqus (ver. 6.13, SIMULIA) に読み込み実行した。これら脊椎ケージと固定治具を、10 節点四面体要素を用いてそれぞれ離散化した (図 4-2(a)および(b))。

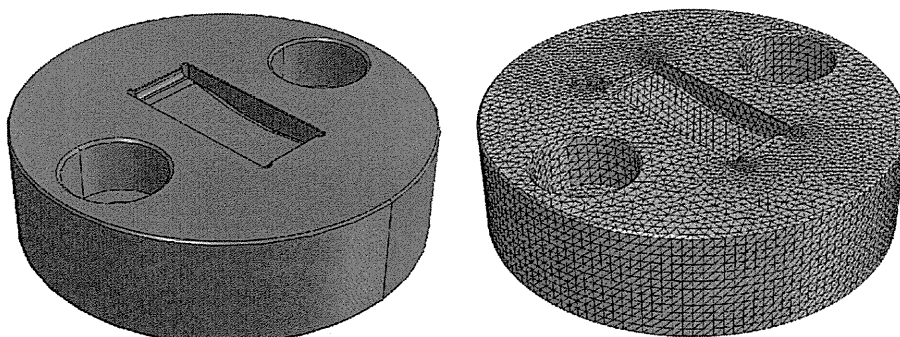
解析対象の材料特性として、ケージおよび治具はともに等方線形弾性体と仮定した。

脊柱ケージの材料特性は、PEEK を用いた静的力学試験の結果を参考にヤング率 3368 MPa、ポアソン比 0.4 を与えた。治具の材料特性は、PPSU の物性値を参考にヤング率 2350 MPa、ポアソン比 0.4 を与えた。

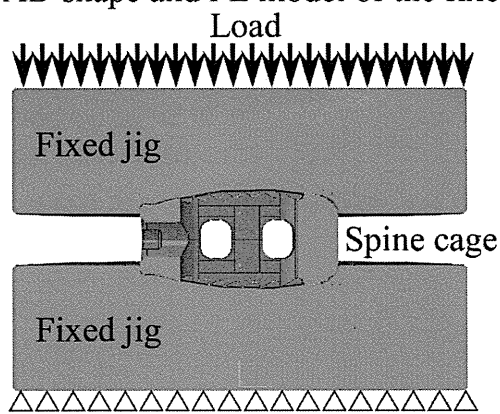
圧縮試験の境界条件は、図 4-2 (c) に示す下方治具の下面を完全固定し、上方治具の上面に実験と同条件の圧縮力を負荷した。脊椎ケージと固定治具のアセンブリにおいて、ケージと治具が接する領域を接触表面とし、接触相互作用特性として摩擦係数 0.2 の接触条件を設定した。



(a) CAD shape and FE model of the spine cage



(b) CAD shape and FE model of the fixed jig



(c) Boundary conditions (Cross-section)

図 4-2 圧縮試験の有限要素モデルと境界条件

3) 赤外線サーモグラフィ応力測定

得られた応力解析結果の妥当性を評価するために、温度と応力の比例関係を表す熱弾性論に基づき、赤外線サーモグラフィで計測したサンプル表面の温度分布から求めた応力測定結果と、解析によるケージ表面の応力分布結果との比較検討を行った。固体である対象物体に、引張応力を作用させると応力変動に比例した温度が降下し、逆に圧縮応力を作用させれば温度が上昇する熱弾性現象が起きる。サンプル表面の温度変化 ΔT は等方均質な線形弾性材料においては次式に示す通り主応力の総和の変化量 $\Delta \sigma$ に比例する。

$$\Delta T = -K \cdot T \cdot \Delta \sigma \quad (1)$$

ここで T は絶対温度、 K は熱弾性係数である。熱弾性現象に基づく脊椎ケージの応力測定において、PEEKの熱弾性係数は $1.13 \times 10^{-12} \text{ Pa}^{-1}$ とした。計測時には対象物表面の放射率を均一にするために、つや消し黒色塗料をケージおよび固定治具表面に塗布した。

4-1-2 結果および考察

解析により得られた最大圧縮負荷時における脊椎ケージ表面の相当応力分布を図4-3に示す。脊椎ケージ平面図における波状突起部分、側面図の貫通孔内側およびその上部に応力の集中が見られた。

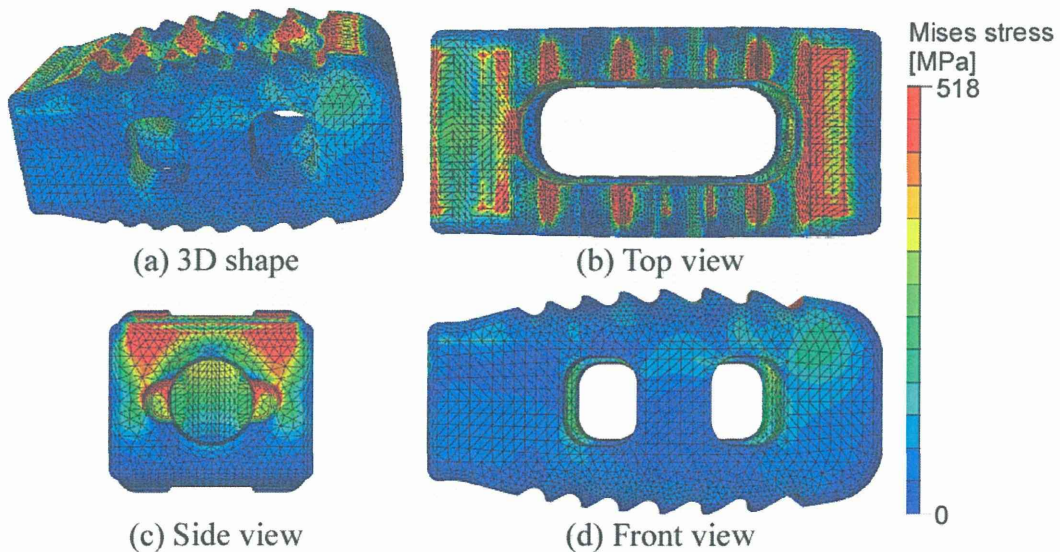


図 4-3 脊椎ケージのミゼス応力分布

赤外線サーモグラフィ応力測定結果との比較を行うために、脊椎ケージの主応力の総和の分布を調べた。温度分布から求められた脊椎ケージ表面の応力分布と、解析によって求められた主応力の総和の分布図を図 4-4 および図 4-5 に示す。正面図において、赤外線サーモグラフィ応力計測では貫通孔内側に圧縮が見られ、後方（左側面図

側）に引張が見られた。解析で得られたケージ貫通孔内側での主応力和でも圧縮、後方に引張が見られた。また、左側面図において、赤外線サーモグラフィ応力計測では、貫通孔の上下に引張、左右に圧縮が見られた。左側面図の主応力和も、孔の上下に引張が見られた。

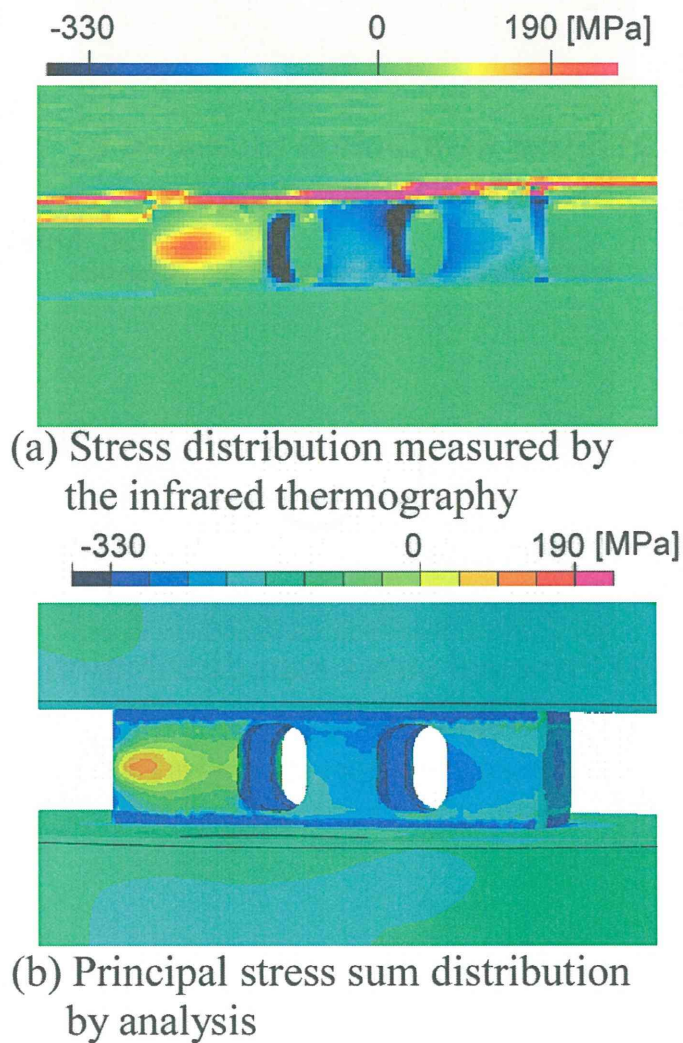
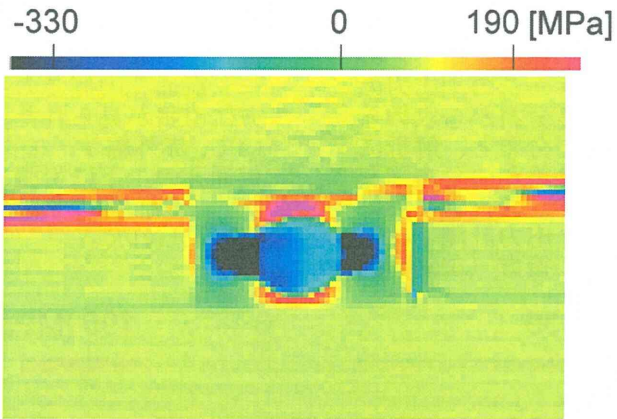
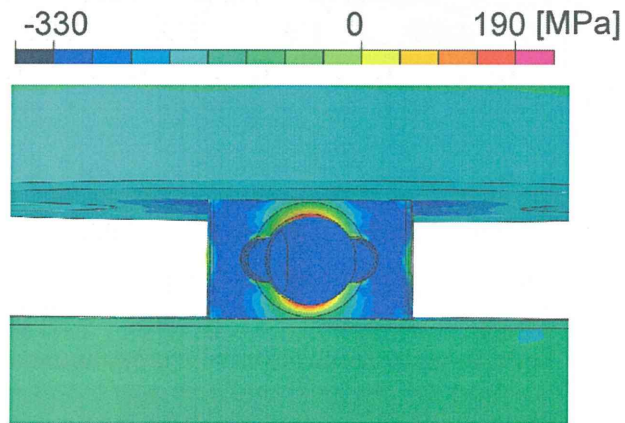


図 4-4 赤外線サーモグラフィにより測定された応力分布と主応力和の分布（正面）



(a) Stress distribution measured by the infrared thermography



(b) Principal stress sum distribution by analysis

図 4-5 赤外線サーモグラフィにより測定された応力分布と主応力之和の分布（側面）

赤外線サーモグラフィによる応力計測では、正面図において貫通孔内側、および左側面図において穴の左右に圧縮が見られた。解析結果においてケージ貫通孔内側での主応力の総和でも圧縮であり、赤外線サーモグラフィによる温度分布測定から推察される応力と、圧縮部位が一致した。また、正面図における貫通孔後方部位、および左側面図における貫通孔の上下に引張応力が発生していた。赤外線サーモグラフィによる応力分布と有限要素解析による主応力分布とを比較した結果、ケージ表面の引張・圧縮部位が類似していた。この比較から、解析により得られたケージ表面の応力分布は妥当なものと思われる。

左側面図の貫通孔周囲の応力分布、正面図においてケージ後方に引張が見られた理由を考察するために圧縮によるケージの変形を調べた。図4-6に左側面図におけるケージの圧縮前と最大負荷時の形状を示す。圧縮前の形状はワイヤーフレームで図示した。圧縮を受ける上面および底面がたわみ、横方向に膨らんでいた。左側面図における孔の上下に見られる引張は上底面のたわみが原因と考えられる。また、正面図における後方の引張応力が発生した位置は、左右横方向に膨らんで変形した位置であることから、引張が起きていると考えられる。ケージ表面の応力分布において、引張が見られた位置は、ケージの変形から見ても妥当なものといえる。



図4-6 脊椎ケージの変形

赤外線応力測定装置により計測される力学量は、応力の第1不変量である主応力の変動量である。したがって、赤外線応力測定法は、各応力成分を分離して直接計測できない。3D-CADデータに基づいた有限要素解析による応力分布と整合を図ることにより、赤外線応力測定装置では見えない裏側や内部の応力分布などが推定表示でき、各応力成分について検討することが可能となる。赤外線カメラの視野に入らないため測定では応力状態が不明なケージ上面と底面の波状突起部分は、図4-3の相当応力分布では高い応力が確認された。このように赤外線応力測定と有限要素解析とを組み合わせた応力評価は、設計において重要な指標となる相当応力なども

正確に評価できる可能性がある。

4-1-3 まとめ

脊椎ケージの3D-CADデータに基づいた圧縮試験の有限要素シミュレーションを行い、ケージ表面および内部の応力分布を評価することができた。脊椎ケージ表面の主応力分布は、赤外線サーモグラフィによるケージ表面の温度分布測定から推察される応力分布と圧縮・引張箇所が一致した。計測と解析による応力分布の整合性が取れば、赤外線カメラ視野外のケージと治具との接触領域や内部の応力に対し、有限要素解析を通して評価できる可能性が示唆された。

5. インプラントの生物学的試験（細胞試験）

5-1. CNT 添加 PEEK 材の細胞親和性

5-1-1. 目的

CNT 添加 PEEK 材 (CNT/PEEK) を生体材料として使用するための安全性を評価するため、CNT/PEEK 上での細胞培養を行い、その増殖性を評価した。

5-2. CNT/PEEK への細胞接着・増殖試験

一般的な細胞親和性試験に使用されるチャイニーズハムスター由来の線維芽細胞系 cell line で

ある V79 細胞を用い、CNT/PEEK 上での細胞接着・増殖能を評価した。

5-2-1. CNT/PEEK への細胞接着・増殖試験

径 10mm (図 5-1) の CNT/PEEK をエタノールに数時間漬けて滅菌し、incubator で 24 時間乾燥させた。24well plate に CNT/PEEK と V79 細胞を入れ、10%FBS 含有 MEM 培地中で 1 日間培養して接着させ、細胞増殖能を Alamar blue assay と、蛍光顕微鏡による形態観察により評価した。CNT/PEEK の CNT 含有量は 0wt%、3wt%、5wt%、7wt% で、細胞を入れない well を control とした。



図 5-1 CNT 添加 PEEK 材 (CNT/PEEK) 左 3% 中 5% 右 7%

5-2-2. 結果

Alamar blue assay では細胞増殖能に CNT の有無、含有量による統計学的な有意差は認められなかった (図 5-2)。蛍光顕微鏡による形態観察では、各群で細胞の形態に差を認めず、良好な細胞接着性を確認した (図 5-3)。解析条件として、脊椎ケージは等方線形弾性体と仮定し、その材料特性は steel

の物性値を参考に縦弾性係数 209GPa、ポアソン比 0.3 を与えた。圧縮試験の境界条件は、図 4-7 に示すケージ下面を完全固定し、ケージ上面に 50MPa の圧縮圧力を与えた。外力として一軸の圧縮力を与えた時に発生するケージ表面、あるいは内部に発生する圧力の伝播状態をみるために、構造物強度に対する評価指標である応力の分布を表示させた。

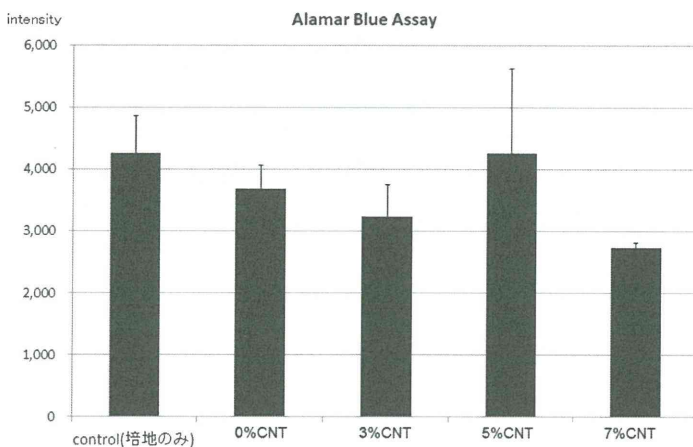


図 5-2 Alamar blue assay では細胞増殖能

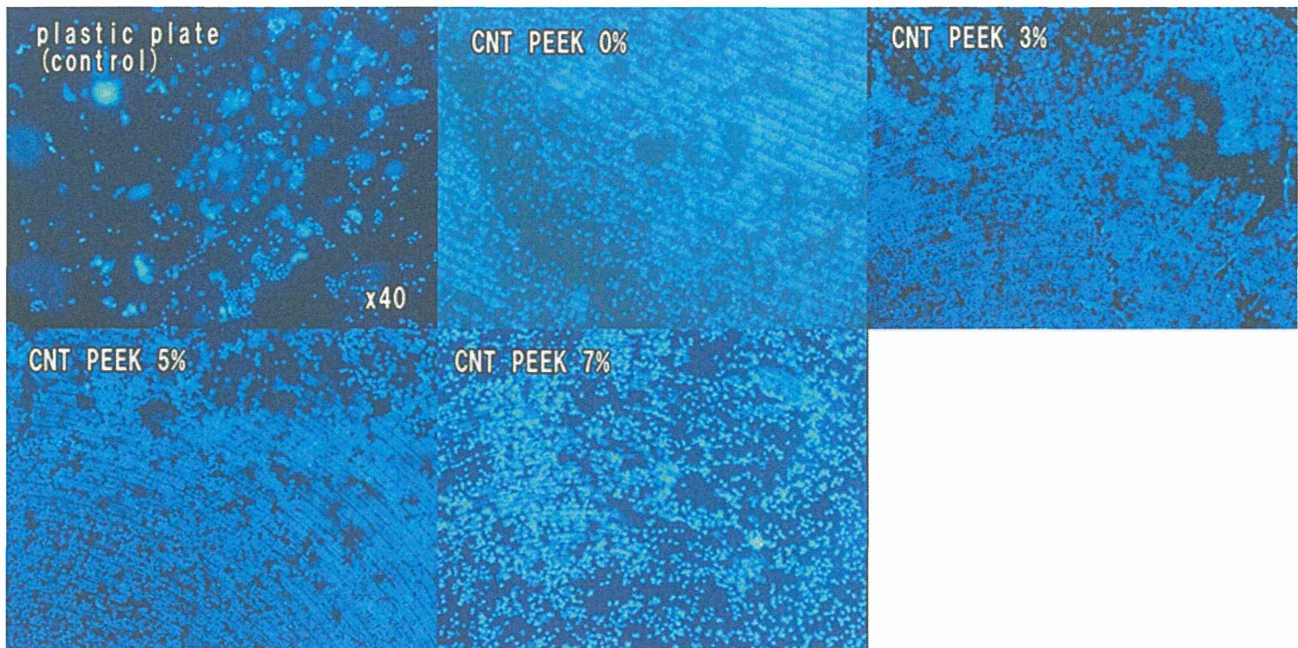


図 5-3 蛍光顕微鏡による形態観察

5-3. CNT/PEEK への骨芽細胞の反応

マウス骨芽細胞系 cell line である MC3T3-E1 細胞を CNT/PEEK 上で培養し、その増殖性、細胞形態を観察した。

5-3-1. 方法

CNT/PEEK をエタノールに数時間漬けて滅菌し、incubator で 24 時間乾燥させた。24well plate に ϕ 14mm の CNT-PEEK (図 5-4) と MC3T3-E1 細胞を入

れ、10%FCS 含有 α MEM 培地を加え、37°C で 24 時間抽出して抽出原液を調製。CNT/PEEK 上および CNT/PEEK からの溶出液上で培養した。day1 および day4 に Alamar blue assay を行い、day4 に形態観察 (核および細胞質染色・走査型電子顕微鏡 (SEM) による観察) を行った。CNT/PEEK の CNT 含有量は 0wt%、3wt%、5wt%、7wt% で、トルエン耐性プラスチックシート (Wako ϕ 14mm) を positive control、ZDBC 処理ポリウレタンを negative control とした。



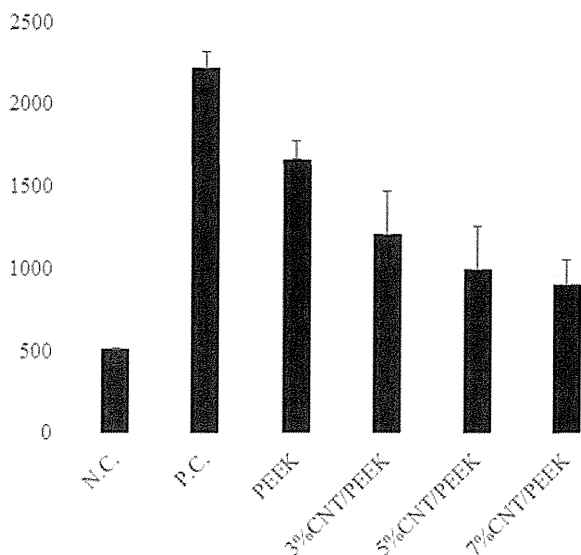
図 5-4 ϕ 14mm の PEEK (左) と 7% CNT-PEEK (右)

5-3-2. 結果

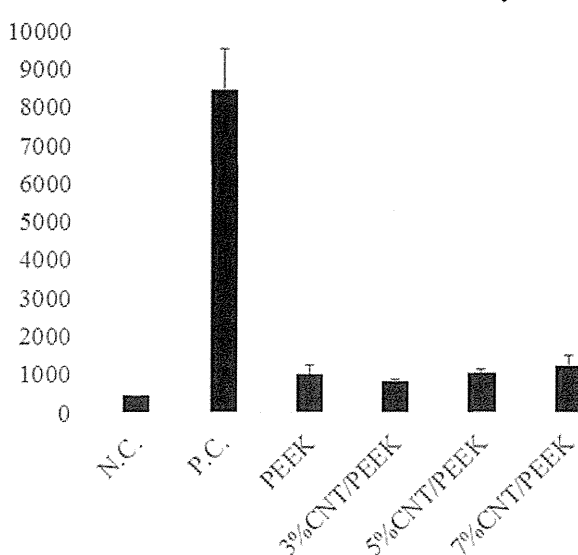
培養後 Day1 の Alamar blue assay では、PEEK/CNT では CNT の割合が増えると徐々に細胞増殖性が低下する結果となった。Day4 では positive control に比較し、PEEK 群では細胞増殖が著明に低下する結果となった(図 5-5)。PEEK 群の中では、CNT の有無、含有量による細胞増殖性の差は認められなかった。蛍光顕微鏡による形態観察では、0%CNT/PEEK の凹凸には一部であるが細胞が張り付いている部分があった。CNT 含有量 3%、5%、7%は細胞が乏し

いか、あっても小さく、変形がみられた(図 5-6)。SEM 観察では、0%CNT/PEEK の表面が粗く波打っており、細胞はあまり貼り付いていなかった。3%CNT/PEEK では 0%PEEK に比べると、表面は滑らかであったが凹凸が認められた。細胞は少しだけ貼り付いていた。細胞に比べ、突出している CNT の大きさはとても小さく見えた。5%および 7%CNT/PEEK の表面にも凹凸が見られ、細胞はあまり観察されなかった(図 5-7)。

intensity CNT/PEEK細胞増殖性試験-day1

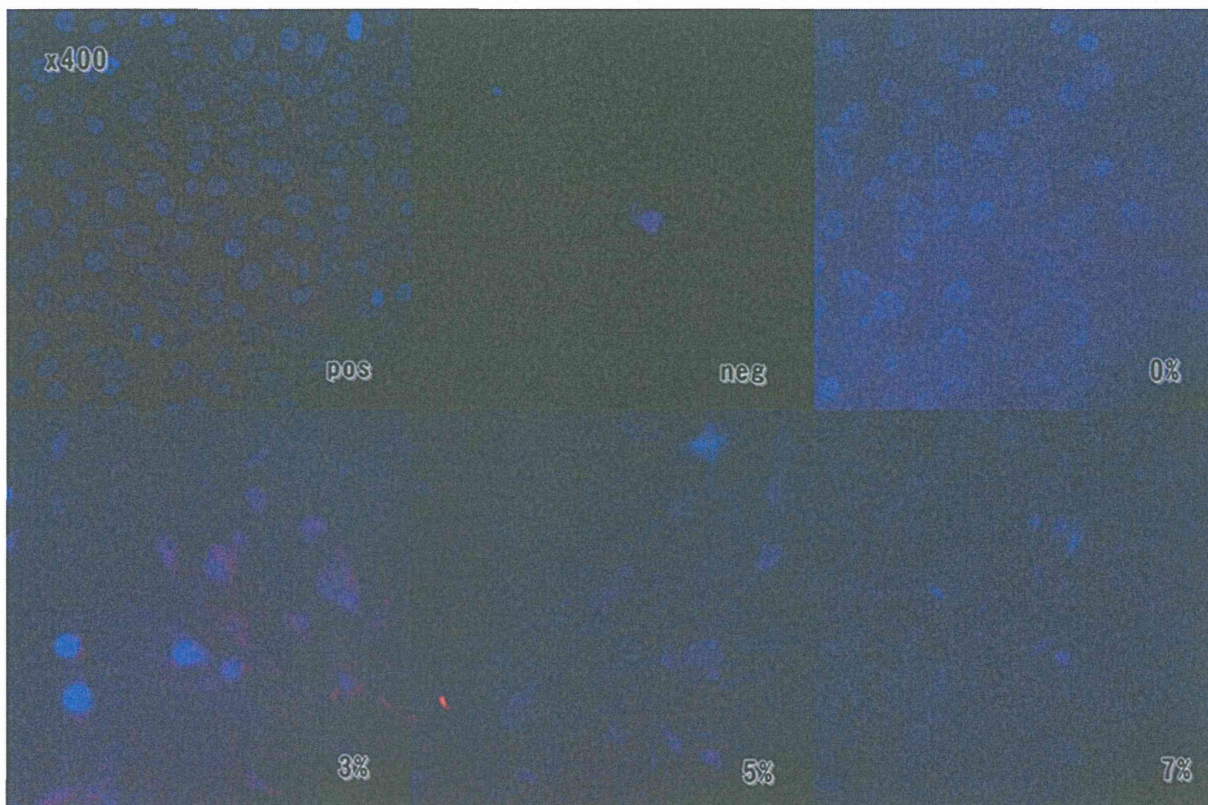


intensity CNT/PEEK細胞増殖性試験-day4



N.C.:Negative Control , P.C.:Positive Control

図 5-5 培養後 1 日と 4 日の PEEK および CNT/PEEK 上での細胞増殖性



Pos : positive control , neg : negative control , 0-7% : 0-7%CNT/PEEK

図 5-6 蛍光顕微鏡による形態観察

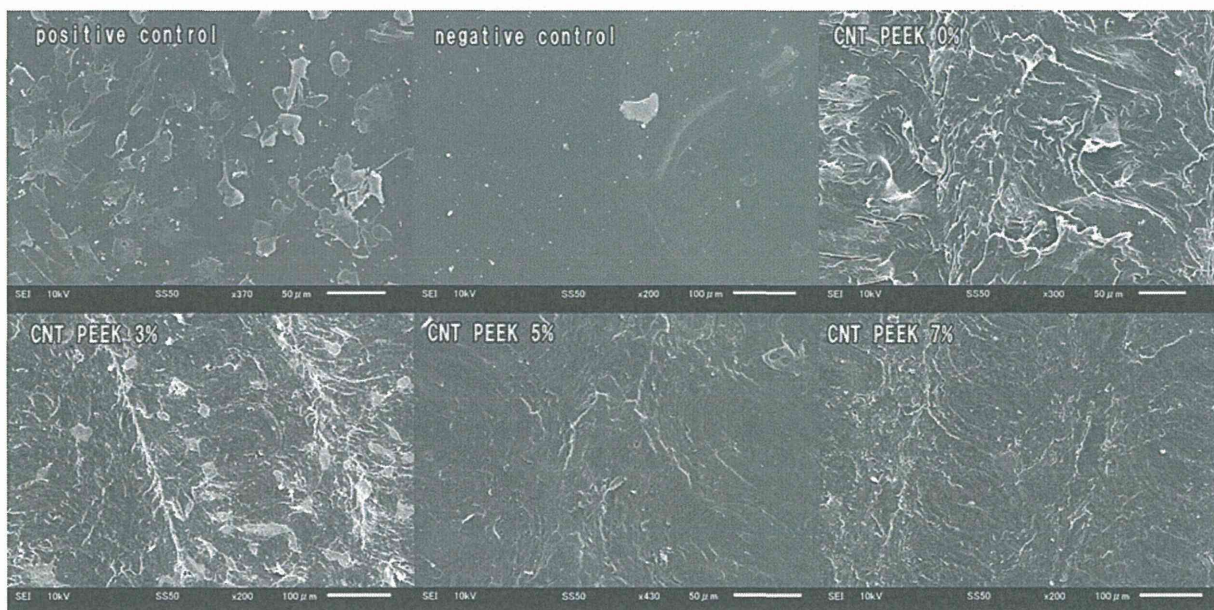


図 5-7 SEM による形態観察

5-4. CNT/PEEK 溶出液による細胞への影響

CNT/PEEK を培養液に浸漬させて溶出液を作成し、CNT/PEEK 溶出液による細胞培養への影響を評価した。

5-4-1. 方法

24well plate に CNT-PEEK を入れ、10%FCS 含有 MEM 培地を加え、37°C で 24 時間溶出して溶出原液を調製。CNT/PEEK 上および、CNT/PEEK からの溶出液上で V79 細胞を培養した。day1 および day4 に Alamar blue assay を行い、day4 に形態観察（核染色・SEM 観察）を行った。CNT/PEEK の CNT 含有量は 0wt%、3wt%、5wt%、7wt% で、トルエン耐性プラスチックシート (Wako φ14mm) を positive control、ZDBC 処理ポリウレタンを negative control とした。

5-4-2. 結果

V79 細胞の増殖は、溶出液を加えない試験片上での培養では control に比べて CNT/PEEK で増殖能が低下していた。溶出液で培養した細胞に関しては増殖能に明らかな差はみられなかった (図 5-8)。蛍光顕微鏡による形態観察では、CNT-PEEK の表面に生着した細胞は control より少なかったが (図 5-9)、SEM 観察では個々の細胞が CNT/PEEK 表面に対し突起を付着させている像がみられた (図 5-10)。PEEK 剤表面に波打つような凹凸がみられ、これが生着性に関連している可能性も考えられた。

5-5. 細胞試験まとめ

CNT/PEEK 上での細胞培養の結果、その増殖性は線維芽細胞 (V79 細胞) は control と各 PEEK 材の間に差を認めず、骨芽細胞 (MC3T3 細胞) は control 上で培養するよりも増殖能は劣るが、PEEK 材の中では CNT の有無、含有量による差を認めなかった。

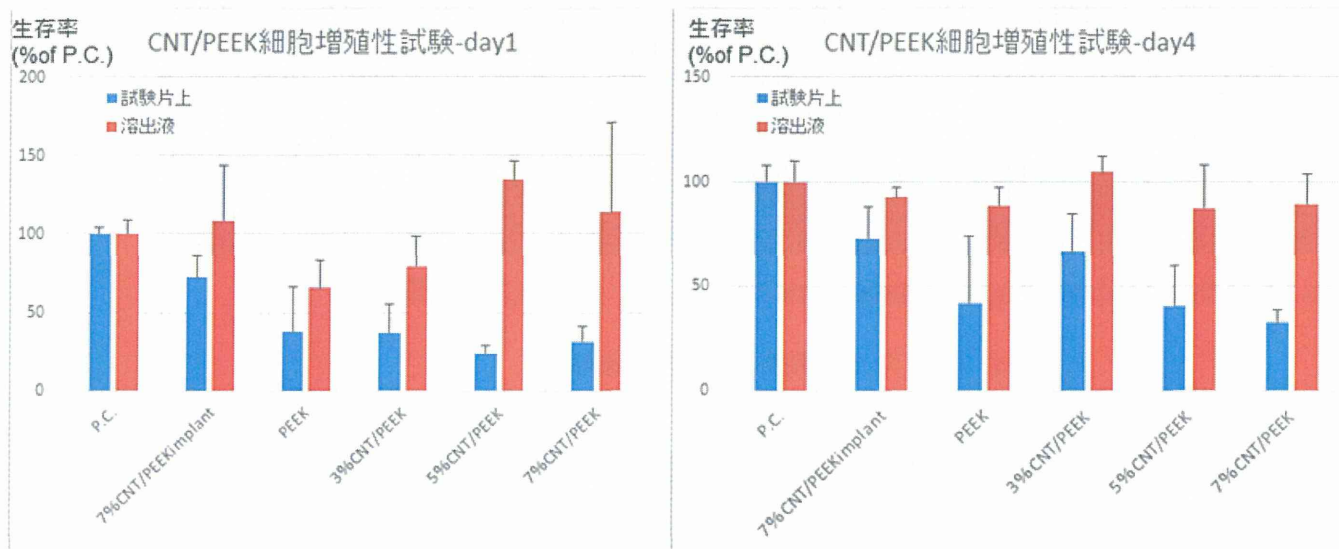


図 5-8 CNT/PEEK からの溶出液上の V79 細胞増殖能

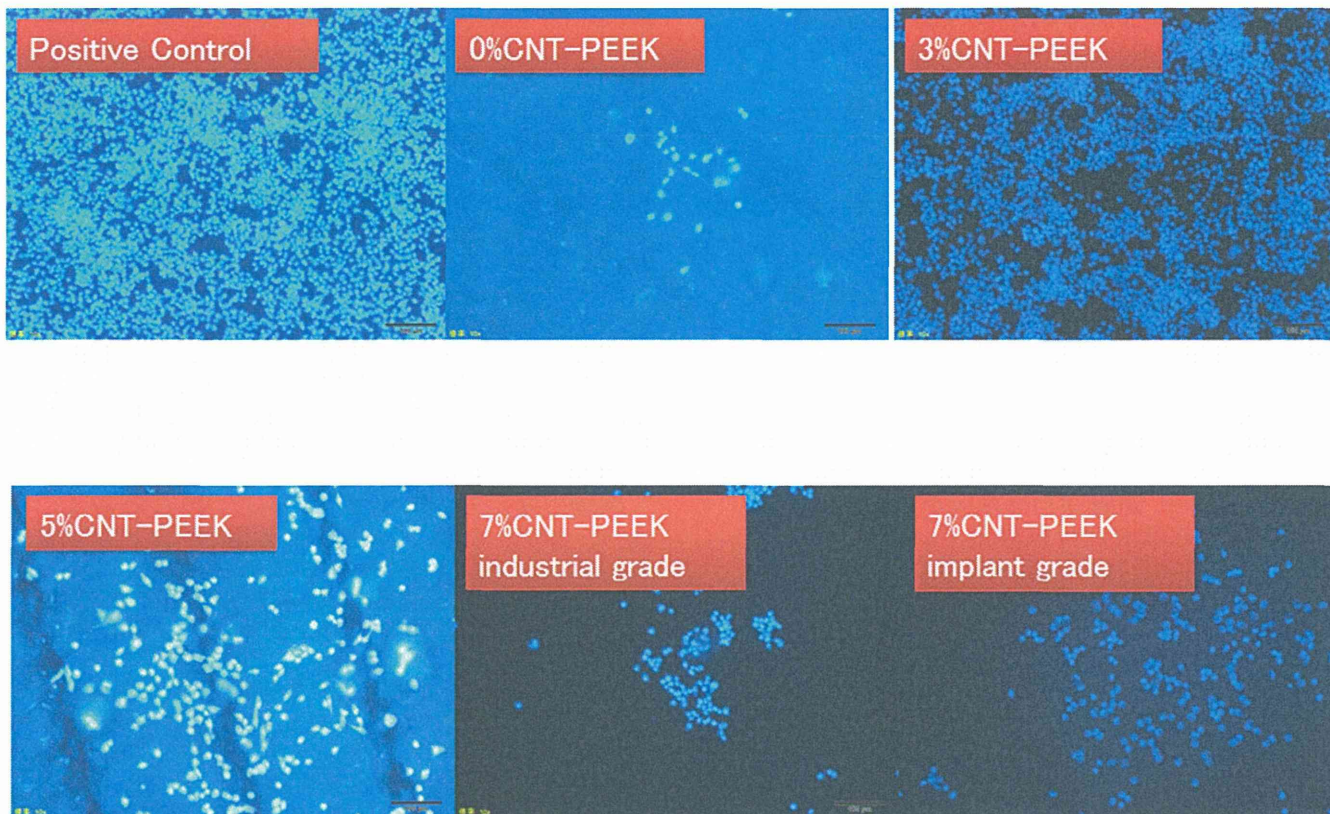


図 5-9 蛍光顕微鏡による形態観察

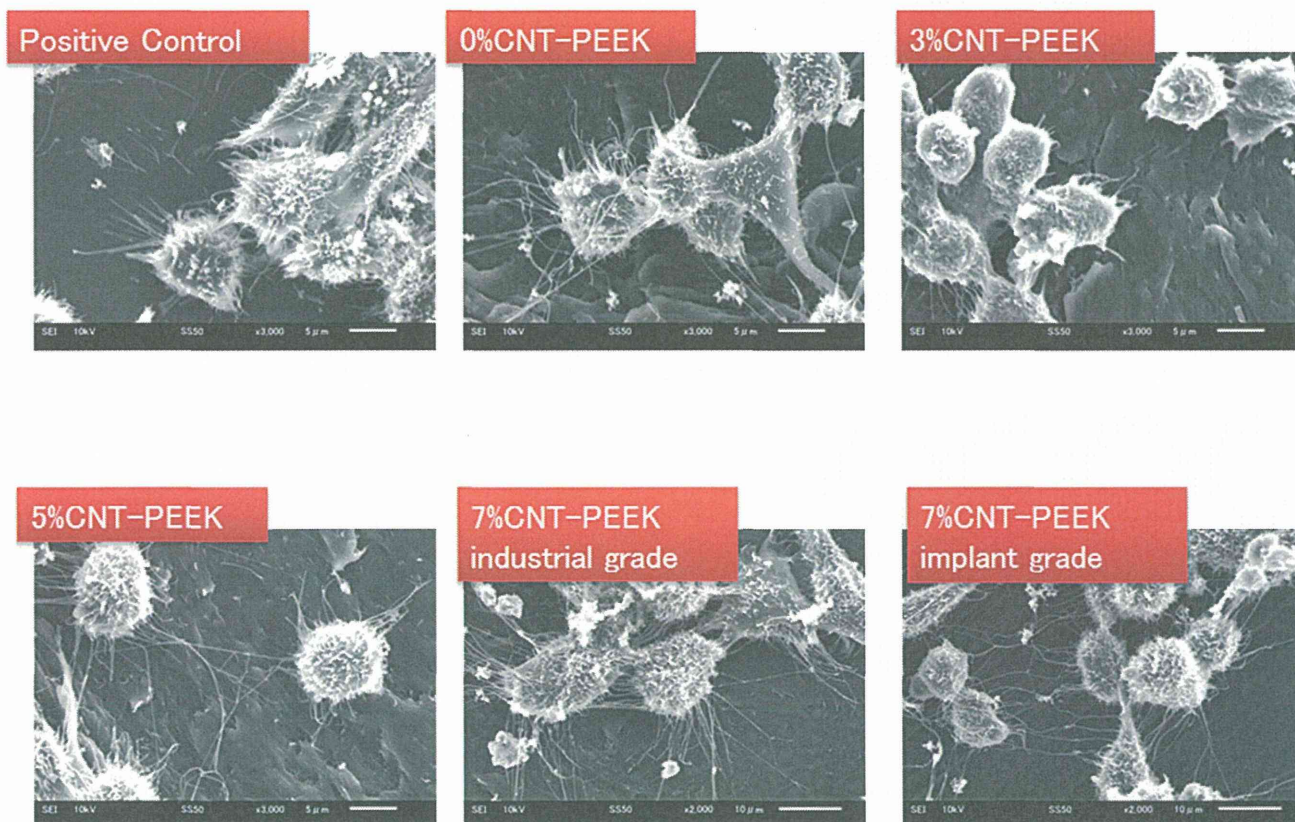


図 5-9 SEM による形態観察

6. インプラントの生物学的試験（動物試験）

6-1. 目的

CNT 添加 PEEK 材 (CNT/PEEK) を日本白色家兎の大腿骨内に埋植し、脊椎固定用インプラントとして用いるための骨組織親和性、骨固定力を評価する。動物実験は信州大学動物実験実施規定に基づいて行った。

6-2. CNT 含有量の違いによる骨組織反応の評価

CNT 含有量の異なる CNT/PEEK を骨組織内に埋植し、その親和性を評価する。

6-2-1. 方法

CNT/PEEK にて、動物試験用インプラントを成形した。使用したインプラントは径 5.0×14.0mm の円柱状(図 6-1)で、組織親和性試験を行うための単純な円柱の物(組織親和性試験用インプラント)と、骨固定力を評価するための底面にネジ穴を空けた物(骨固定力試験用インプラント)を作製した。組織に接する表面の形状は組織親和性試験用インプラントも、骨固定力試験用インプラント(ネジ穴付き)も同様とした。

日本白色家兎(日本エスエルシー株式会社)(オス、体重 2.5~3.5kg)の大腿骨遠位端(大腿骨顆部)に PEEK のインプラントを埋植し、その骨組織親和性、骨固定力の評価を行った。

手術は無菌条件下で行った。麻酔はネブタール注射液(ペントバルビタールナトリウム、大日本

製薬、30~40mg/kg)を耳静脈注射した全身麻酔を使用した。膝関節を皮膚上から触診し、膝関節関節裂隙、大腿骨顆部を確認して顆部の外側に大腿骨軸に沿った約 2cm の縦皮膚切開を置いた。大腿外側の筋膜、筋組織を線維方向に切開して大腿骨顆部に達した。径 5.0mm のドリルを用いて大腿骨顆部の外側から内側に向けて骨孔を作製した。骨孔部、創内を無菌の生理食塩水にて洗浄し、ガーゼにて圧迫して止血を行った。止血を確認後にインプラントを骨孔内に挿入した。インプラントは骨内から先端が出ているようにした(図 6-2)。筋膜と皮膚を 4-0 ナイロン糸にて縫合して手術を終了とした。手術は家兎 1 羽につき、両大腿骨にそれぞれ 1 個ずつインプラントを挿入した。各群 4 羽(大腿骨 8 本)の手術を行い、組織親和性試験を n=5、骨固定力試験を n=3 として評価を行った。

試験に使用したインプラントの CNT 含有量は 0wt%、3wt%、5wt%、7wt% で手術用のインプラントはエチレンオキサイドガスにて滅菌した。術後 26 週で家兎を静脈麻酔薬の過料投与にて安楽死させ、大腿骨を採取後にホルマリン固定とし、動物用マイクロ CT (RmCT、Rigaku 社)にてインプラントと骨の状態を観察した。5965 デュアルコラム卓上型万能試験システム(インストロン社製)(図 6-3)を用いて大腿骨からインプラントを引き抜く Pull-out 試験を行った。引き抜き速度は 5mm/分で、検体を固定位置から約 5mm 引き抜いた時点で試験を終了とした。引き抜き時の最大荷重を測定して骨固定力を評価した。

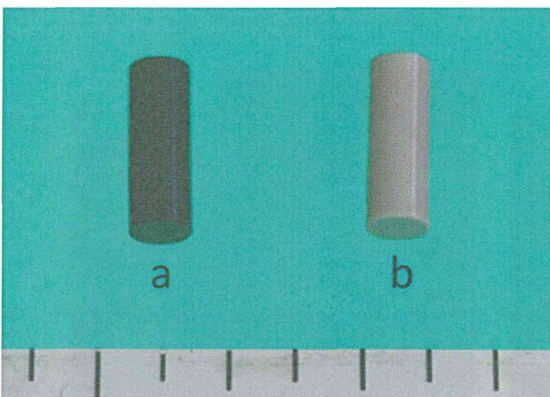


図 6-1 動物試験用インプラント a. CNT/PEEK インプラント b. PEEK インプラント

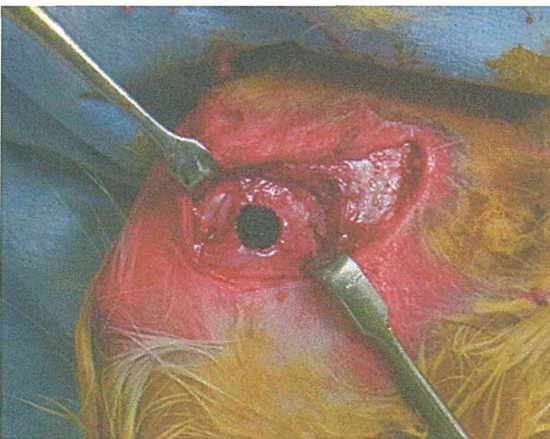


図 6-2 家兎大腿骨への CNT/PEEK 材インプラント埋植手術



図 6-3 卓上型万能試験システム

6-2-2. 結果

日本白色家兎の大腿骨に埋植した CNT/PEEK インプラントの動物用マイクロ CT による観察では、インプラントの周囲で骨の再生が生じており、辺縁の骨硬化を認めた(図 6-4)。骨溶解反応など明らかな有害事象は認められなかった。CNT の含有量による各群間での差は認められなかった。

引き抜き試験の最大荷重は平均、0%CNT/PEEK で 6.2N、3%CNT/PEEK で 21.0N、5%CNT/PEEK で 17.7N、7%CNT/PEEK で 31.1N であり(図 6-5)、各群間に有意差は認めなかったが、7%CNT/PEEK 群の引き抜き最大荷重が最も大きかった。

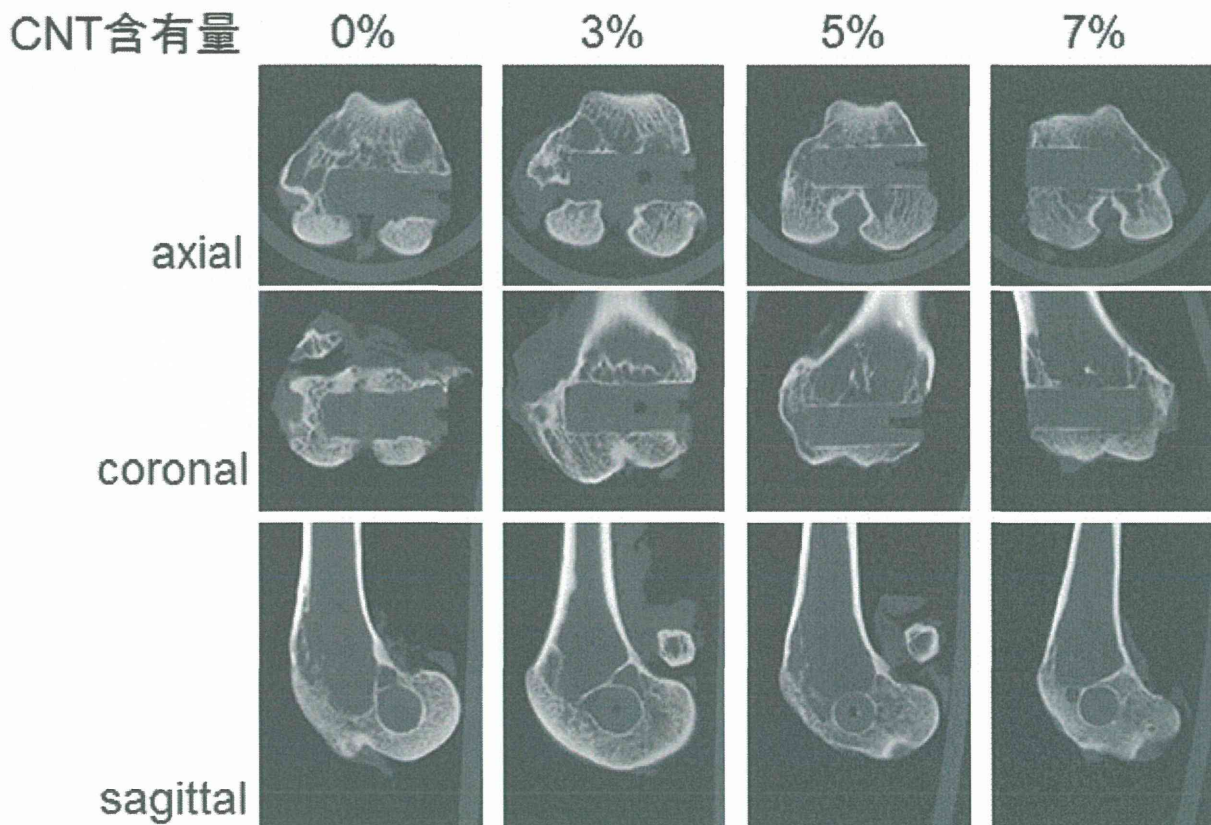


図 6-4 家兎大腿骨への CNT/PEEK インプラント埋植 26 週後の CT 像

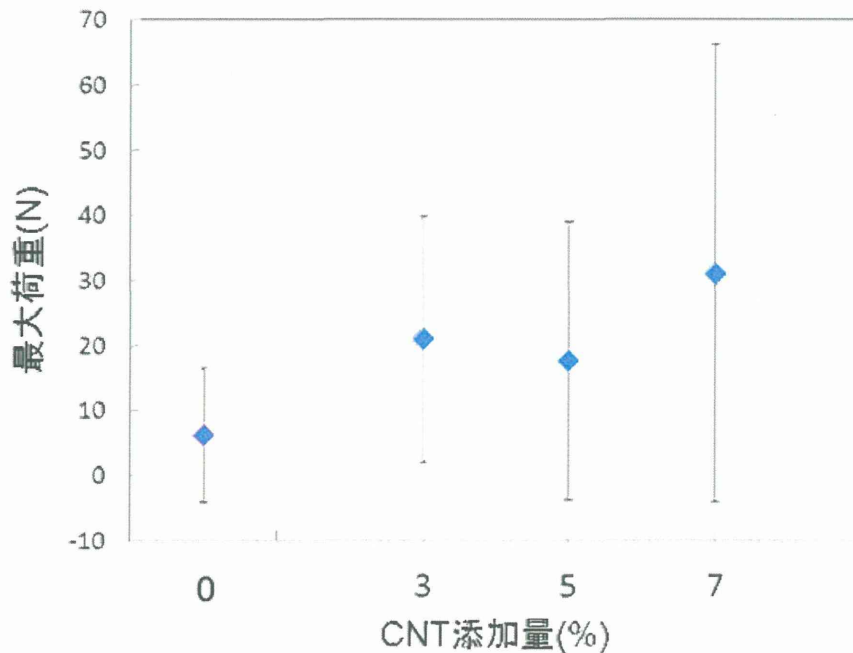


図 6-5 家兎大腿骨埋め込み後 26 週の CNT/PEEK インプラント pull-out 試験

6-3. インプラント表面の形状による骨組織親和性、骨固定力の評価

CNT/PEEK インプラントの骨固定力を向上させるために表面に溝を掘ったインプラントを作製し、その骨組織親和性、骨固定力を評価した。

6-3-1. 方法

さらに短期での生体反応、骨固定力を評価するための実験を行った。試験には CNT を 7wt% 複合させた 7% CNT/PEEK を用いた。さらに、骨組織との親和性、骨誘導能を向上させるため、インプラントに溝を掘ったインプラントを作成した(図 6-6)。コントロールとして CNT を複合させない PEEK 材によるインプラントを使用した。インプラントの滅菌はエチレンオキサイドガス滅菌にて行った。

- ①0% CNT/PEEK 溝(-)
- ②0% CNT/PEEK 溝(+)
- ③7% CNT/PEEK 溝(-)
- ④7% CNT/PEEK 溝(+)

の 4 群で比較試験を行った。

術後 4 週後に家兎を静脈麻酔薬の過剰投与にて安楽死させ、大腿骨を採取後にホルマリン固定とし、動物用マイクロ CT (RmCT、Rigaku 社)にてインプラントと骨の状態を観察した。各群 4 羽(大腿骨 8 本)の手術を行い、組織親和性試験を n=5、骨固定力試験を n=3 として評価を行った。

採取した組織親和性試験用インプラント入り的大腿骨はオステオレジン包埋キット(和光純薬、297-56001)を用いてインプラントを取り出さずにメタクリル酸メチルモノマー(MMA)を浸透させて樹脂包埋を行った。樹脂包埋後に標本を硬組織薄切標本作成用ゼーゲミクロトーム(SP1600、Leica Microsystems)を用いて薄切を行った。標本はヘマトキシリン・エオジン染色(HE 染色)を行い、光学顕微鏡にて評価を行った。評価は病理組織像にてインプラントと骨の界面を観察し、炎症反応や骨溶解などの有害反応の有無、程度を評価した。

骨固定力の測定は前述の方法と同様に 5965 デュアルコラム卓上型万能試験システム(インストロン社製)を用いた Pull-out 試験にて評価を行った。

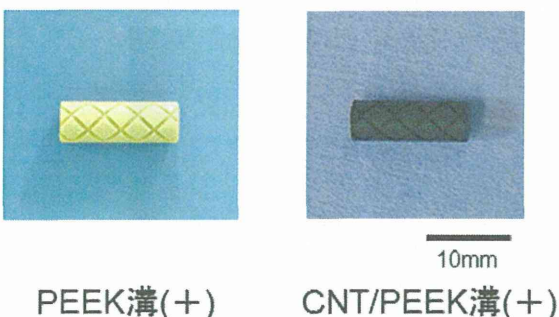


図 6-6 表面に溝を掘ったインプラント