

氏 名	四 方 田 光 弘
(ふ り が な)	(よ も だ み つ ひ ろ)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 授 与 番 号	甲 第 号
学 位 審 査 年 月 日	平 成 27 年 7 月 22 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 論 文 題 名	Calcium phosphate cement - gelatin powder composite testing in canine models: Clinical implications for treatment of bone defects (リン酸カルシウム骨セメント・ゼラチンパウダー 混合人工骨の骨置換性の検討ービーグル犬を用いた 前臨床研究ー)
論 文 審 査 委 員	(主) 教授 佐 浦 隆 一 教授 植 野 高 章 教授 上 田 晃 一

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《目 的》

リン酸カルシウム骨セメント (Calcium Phosphate Cement : 以下、CPC) は β -リン酸三カルシウム (β -tricalcium phosphate : 以下、 β -TCP) やハイドロキシアパタイト (Hydroxyapatite : 以下、HA) と同様に骨補填材として使用されている。 β -TCP や HA と比較して成形しやすいが、 β -TCP と異なり CPC は生物分解性が低く、骨内に長期間残存することが問題となり、生物分解性、骨置換性を高めた CPC の開発が求められている。

生物分解性、骨置換性を高めるための工夫として多孔体構造を持つ CPC も開発されているが、大きな骨欠損部に充填した後の多孔体構造をもつ CPC の生物分解性や骨置換性を検討した報告はない。

これまで、我々は CPC にゼラチンを混和して多孔体構造を持たせた CPC・ゼラチンパウダー混合人工骨 (以下、混合人工骨) を開発し、白色家兎の大腿骨顆部海綿骨欠損部に

充填した混合人工骨が良好に骨置換されることを報告している。

本研究の目的は、臨床応用に向けて、イヌの大腿骨骨幹部から遠位骨幹端部に作製した大きな骨欠損部にゼラチン混合率を変えた混合人工骨を充填し、生物分解性や骨置換性を検討することである。

《方 法》

10 ヶ月齢の雌のビーグル犬の大腿骨骨幹部から遠位骨幹端部に直径 7×40mm の骨孔を作製し、骨孔のみの sham 群（2 頭片脚）、CPC のみを充填した C0 群（2 頭片脚）、CPC に対するゼラチン重量比 10%の混合人工骨を充填した C10 群（6 頭片脚）、ゼラチン重量比 15%の C15 群（6 頭片脚）の 4 群に分けて、経時的に画像所見、組織所見を比較した。

sham 群と C0 群は 6 ヶ月後に安楽死させ、評価した。一方、C10 群、C15 群は 3 頭を 3 ヶ月後に安楽死（3 ヶ月モデル）、残り 3 頭を 6 ヶ月後に安楽死させた（6 ヶ月モデル）。なお、石灰化速度を計測するために、C10 群と C15 群は安楽死 14 日前にカルセイン、7 日前にテトラサイクリンを皮下注射した。

画像検査として、手術直後と安楽死直後に X 線像を撮影し、混合人工骨の骨内での状態を検討した。また、マイクロ CT により、sham 群は骨欠損の有無、C0 群、C10 群、C15 群はそれぞれ、CPC 単独あるいは混合人工骨の吸収の程度と CPC あるいは混合人工骨周辺の骨梁様構造の構築の有無を確認した。

さらに、C10 群と C15 群の混合人工骨を含む周辺組織の Villanueva 染色を行い、混合人工骨の吸収程度と混合人工骨周辺の骨梁様構造の構築の有無を組織学的に検索し、あわせて石灰化速度を計測した。

《結 果》

全例、術後感染や骨欠損部の骨折などの合併症はなかった。

sham 群は 6 ヶ月時のマイクロ CT でも骨孔内の骨欠損は残存しており、骨欠損部は 6 ヶ月では自然治癒しないことが確認できた。一方、C0 群は 6 ヶ月時の X 線像でも手術直後

と同様に骨孔内は CPC で充填され、骨孔内の CPC にも明らかな形態変化を認めなかった。

次に混合人工骨群を検討したところ、C10 群は 3 ヶ月、6 ヶ月モデルともに X 線像では混合人工骨辺縁が吸収されている所見があり、マイクロ CT では混合人工骨に連続する骨梁様構造の形成を認めた。また、C15 群でも 3 ヶ月モデルで C10 群と同様に混合人工骨辺縁の吸収像と混合人工骨に連続する骨梁様構造の形成を認め、6 ヶ月モデルでは特に骨幹端部において、混合人工骨は著しく吸収され、周囲骨組織から吸収された混合人工骨内へ続く骨梁様構造が多数、形成されていた。

Villanueva 染色による組織学的検討を行ったところ、C10 群、C15 群ともに混合人工骨辺縁に形成されているのは、骨梁であることが確認できた。特に、C15 群の 6 ヶ月モデルの骨幹端部では、混合人工骨の辺縁から中心まで周囲の海綿骨の骨梁と連続する骨梁の形成を認めた。

石灰化速度は骨幹部、骨幹端部ともに C10 群より C15 群の方が有意に速く ($p < 0.05$)、また、C10 群、C15 群ともに骨幹部より骨幹端部の方が有意に速かった ($p < 0.05$)。

《考 察》

本研究の結果、混合人工骨は大きな骨欠損を充填しても、比較的早期に骨に置換されることが明らかになった。特に、骨幹端部では混合ゼラチンの比率に応じて高い生物分解性と骨置換性を示した。石灰化速度は C10 群より C15 群の方が速かったが、C10 群、C15 群ともに骨幹部より骨幹端部で石灰化速度が速かった。これは、混合人工骨の多孔体構造や連通構造が細胞の侵入に適しており、C15 群の方が C10 群より多孔体構造や連通構造が多く、混合人工骨の内部にまで細胞の侵入を促し易かった結果と推察される。また、荷重という骨幹端部に強くかかるメカニカルストレスが、骨幹部より骨幹端部で高い生物分解性と骨置換性を示した一因と考えた。

我々の先行研究では C15 群より C10 群の方が力学的圧縮強度に優れることを報告している。臨床応用に向けて更なる検討が必要ではあるが、今回の研究結果からすると、荷重部には物理的強度に優れた C10 を選択、非荷重部には早期に骨置換される C15 を選択と

いった、骨欠損の部位や大きさに応じた使い分けが可能な人工骨補填材料になり得るものであると判断できる。

《結 論》

イヌを用いて大腿骨骨幹部から遠位骨幹端部に大きな骨欠損部を作製し、我々が開発した CPC・ゼラチンパウダー混合人工骨の経時的变化を観察した。混合人工骨は混和するゼラチンの割合に応じて、優れた生物分解性と骨置換性を有することを確認することができた。CPC・ゼラチンパウダー混合人工骨は用途に合わせて物性や生物学的特性を変化させることができる新しい骨補填材料であり、今後の臨床応用が大いに期待できる。

論文審査結果の要旨

α 型リン酸三カルシウムを主成分としたリン酸カルシウム骨セメント (Calcium Phosphate Cement : 以下、CPC) は優れた可塑性を有するペースト状の骨補填材として広く使用されている。CPC は骨欠損部の形状に合わせて補填することができる利点があるが、欠点として、多孔体構造を呈しておらず長期骨内に残存する。そのため、CPC に多孔体構造を持たせる研究は散見されるが、大きな骨欠損部に対し多孔体構造を持たせた CPC を充填し、生物分解性や骨置換性を検討した報告はない。

申請者は、CPC にゼラチンを混ぜることにより多孔体構造を有する CPC・ゼラチンパウダー混合人工骨 (以下、混合人工骨) を開発し、イヌの大腿骨骨幹部から遠位骨幹端部に作製した大きな骨欠損部にゼラチン混合率を変えた混合人工骨を充填して、その生物分解性や骨置換性を検討した。

研究結果から申請者は、3 ヶ月モデル、6 ヶ月モデルにおいて CPC に対するゼラチン重量比 10%の混合人工骨を充填した C10 群、ゼラチン重量比 15%の C15 群ともに経時的に良好な生物分解性、骨置換性を認めたこと、C15 群の 6 ヶ月モデルでは骨幹端部はほとんど吸収され、骨梁に再置換されていたこと、また、石灰化速度は C10 群より C15 群の方が有意に速く、骨幹部より骨幹端部で有意に速かったことを報告している。そして、混合人工骨は大きな骨欠損に用いても比較的早期に骨置換されることから、骨欠損の部位や大きさに応じた使い分けが可能な臨床応用が期待できる骨補填材料であることを明らかにした。

今回の報告は、将来的に、この良好な骨置換性を示す多孔体構造や連通構造を活かして、様々な成長因子の担体にもなる高機能人工骨補填材料の開発に繋がる知見であり、骨欠損、骨再建などに関わる診療科領域における治療学の進歩に大きく寄与するものである。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Journal of Biomaterials Applications 29(10): 1385-1393, 2015