

Hydroxyapatite と poly-lactide を主成分とする

吸収性人工素材に関する研究

(The application of a bioresorbable scaffold composed of

hydroxyapatite and polylactide)

要約

赤木 浩之

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科

(指導教授：原 康)

平成 26 年 3 月

要約

小動物整形外科領域において癒合不全は骨折治療に伴う深刻な合併症であり、その発生率は約4%と認識されている。骨折後の癒合不全は、特に小型犬種の橈尺骨骨折の治療に際して好発することが認識されており、小型犬種が多い国内では臨床的に大きな問題となっている。罹患症例では時間経過とともに骨折端の骨吸収が進行し、広範囲の骨欠損が形成される。骨長の再建には自家皮質骨移植、凍結同種保存骨移植（FCA）、吸収性人工骨移植がその選択肢として挙げられる。近年では患者への負担が少なく、特殊な設備が不要であり、そして取り扱いが簡便な吸収性人工骨の利用が獣医領域においても高まっている。吸収性人工素材としては、骨癒合に必要とされる期間は体内で適切な強度を保持し、その後に加水分解により分解そして吸収される poly-L-lactide（PLLA）などの生体内吸収性ポリマーが吸収性骨接合材料として使用されてきた。しかし、PLLA 単体では 5 年を超える長期的な観察において、作成された骨孔の未閉鎖、急性無菌性壊死などの問題点が指摘されてきた。近年では、生体適合性に優れるハイドロキシアパタイト（HA）などのリン酸カルシウムを主成分とする人工素材と PLLA を混合させることで生体適合性を向上させた人工素材の開発が進められている。また、PLLA は生体内での吸収時間が長いため、より吸収時間の短い構造異性体である poly-D-lactide（PDLA）と混合し、新規の吸収性素材として poly-D/L-lactide（PDLLA）が開発されている。L-乳酸と D-乳酸を混合させて作成された PDLLA と HA を組み合わせて作成された HA/PDLLA 製人工骨はその特徴として、熱変形による複雑な形状を呈した欠損部位への充填が可能である。本研究では、人医療そして獣

医療において臨床的に問題となる大きな骨欠損に対する治療を最終的な目的において、新規の吸収性人工骨である HA/PDLLA の有用性について、放射線学的そして組織学的に検討した。第 2 章において、骨欠損を伴う骨折後癒合不全症例に対する FCA を使用した骨幹軸再建術の有用性とその問題点について検討した。第 3 章において、HA/PLLA 製骨接合材料の皮質骨への置換過程そして炎症反応の有無を PLLA 製骨接合材料と比較検討した。第 4 章において、HA/PDLLA 製吸収性人工骨の非荷重部位における骨への置換過程について β -TCP 製人工骨を対照として比較検討し、その有用性について評価した。第 5 章において、脛骨骨欠損モデルを作成し、荷重部位における HA/PDLLA 製人工骨の自家骨への置換過程について β -TCP 製人工骨を対照として比較検討した。

第 2 章

大腿骨骨折後の癒合不全症例 7 例に対して FCA そして自家海綿骨移植を実施した。その経過は、FCA と宿主骨との境界面、そして FCA 自体の経時的な変化を Weiland らによる放射線学的スコア評価に基づき検討した。その結果、術後約 3 ヶ月において宿主骨と FCA の近位および遠位での骨癒合が、そして術後 6 ヶ月において FCA 自体のリモデリングが進行していることが確認された。さらに 12 ヶ月を経過した段階では宿主骨と FCA の皮質骨の連続性が認められ、FCA 自体のリモデリングが進行していることが確認された。以上の所見から、強度と生体適合性に優れる FCA を使用した骨幹軸再建術は有用性の高い治療法であると考えられた。しかしながら、FCA は 7 年の経過後も移植部位に存在していたと報告されていることから、患者に対

して長期的な経過観察を要する。また FCA には-80℃という特殊な設備と、FCA 採取のために健常動物が必要である。そのため、骨バンクの整備されていない国内の獣医領域においては限られた施設でのみ使用が可能であると考えられた。

第 3 章

PLLA 製骨接合材料に HA を添加することが骨孔の自家骨への置換過程に及ぼす影響を調べることを目的として検討した。健常ビーグル犬の大腿骨に HA/PLLA 製吸収性骨接合材料そして PLLA 製吸収性骨接合材料を埋植し、84 ヶ月の長期間の経過観察を行い、骨孔の自家骨への置換過程と炎症反応について比較検討を行った。その結果、HA/PLLA 製骨接合材料では放射線学的そして組織学的評価により埋植後 60 ヶ月において骨孔の骨性閉鎖が認められた。しかし、PLLA 製骨接合材料では放射線学的そして組織学的評価により 84 ヶ月後も骨孔の閉鎖が認められなかった。PLLA 製骨接合材料では 60 ヶ月において骨孔内に重度の組織球浸潤が認められたが、HA/PLLA 製骨接合材料では観察期間中に重度な組織球浸潤は認められなかった。本検討から、HA/PLLA 製骨接合材料は炎症反応を惹起することなく骨と直接癒合し、さらに自家骨への置換が確認された。以上の結果より、HA と PLLA から構成された吸収性素材が骨欠損に対する足場材料として利用可能であると示唆された。

第 4 章

HA/PDLLA 製吸収性人工骨の骨への置換過程について β -TCP 製人工骨を対照として比較検討

し、その有用性について評価した。実験 1 として非荷重部位における HA/PDLLA 製人工骨と β -TCP 製人工骨の自家骨への置換過程の比較検討を行った。実験 2 として、熱変形 HA/PDLLA 製人工骨と未変形 HA/PDLLA 製人工骨の組織学的評価を行った。実験 3 として HA/PDLLA 製人工骨と β -TCP 製人工骨の接着強度の比較検討を行い、さらに HA/PDLLA 製人工骨の平均分子量の変化を評価した。実験 1 から非荷重部位においては HA/PDLLA 製人工骨は β -TCP 製人工骨に比較して、人工骨の吸収が遅延することが認められた。実験 2 から熱変形による骨への置換過程への影響は認められなかった。実験 3 から HA/PDLLA 製人工骨と β -TCP 製人工骨は同等の接着強度が認められた。

第 5 章

荷重部位における HA/PDLLA 製人工骨の自家骨への置換過程について β -TCP 製人工骨を対照として比較検討を行った。両側脛骨骨幹部に 15mm の骨欠損を作成し、左側には β -TCP 製人工骨、右側には HA/PDLLA 製人工骨を埋植し、1、3、12 ヶ月の時点での組織学的評価を行った。その結果、HA/PDLLA 製人工骨と β -TCP 製人工骨は同等の骨形成が認められた。さらに HA/PDLLA 製人工骨では早期から宿主組織や細胞の浸潤が強く認められた。特に、COL I 陽性の線維組織が強く浸潤し、さらに骨形成の初期段階において重要な血管腔と人工骨吸収の一部を担う破骨細胞様細胞、そして間葉系幹細胞を骨芽細胞へと分化させる Runx2 など、HA/PDLLA 製人工骨では骨代謝において重要とされる因子が強く浸潤し、自家骨への置換が活性化されていることが認められた。以上の結果から、荷重部位においては HA/PDLLA 製人工骨

と β -TCP 製人工骨は同等の骨形成能を示すことが示唆されたが、12 ヶ月の経過においても完全吸収には至っておらず、より長期的な観察を行う必要があると考えられた。

以上の成績から、HA と PLLA から構成される吸収性素材は炎症反応を惹起せず、さらに宿主骨へと置換されることが明らかとなった。また、HA/PDLLA 製人工骨は非荷重部位における使用では置換速度は β -TCP 製人工骨に比較し遅延する傾向が認められたが、宿主骨との接着強度に有意差は認められなかった。一方、荷重部位における比較検討においては HA/PDLLA 製人工骨と β -TCP 製人工骨は同等の骨形成能を示し、人工骨の生体吸収性や細胞と組織の浸潤性は HA/PDLLA 製人工骨において有意に優れていることが明らかとなった。

本検討から、HA/PDLLA 製人工骨は自家骨への置換速度が荷重条件下、非荷重条件下において大きく異なることが明らかとなった。また、熱変形処理をしても使用することが可能な点も人工骨として有用な性能を備えていると考えられた。