

課題番号 59

高注入性かつ低漏出性を備えた骨補填材の生体内挙動評価

[1] 組織

代表者： 関根 一光
(徳島大学大学院 医歯薬学研究部)
対応者： 白石 泰之
(東北大学 加齢医学研究所)
分担者： Kim Yeeun
(徳島大学大学院 医歯薬学研究部)
花輪 茂己
(徳島大学大学院 医歯薬学研究部)

研究費：物件費 6 万 5 千円 (共通機器利用料含)

[2] 研究経過

2-1 研究の目的・概要

骨欠損や骨造成に伴う骨補填材による骨再建に対し、申請者らは狭い骨欠損裂傷や骨内中空部などに対してもシリンジでも注入可能な高い注入性と迅速な初期硬化時間、高い初期硬化強度を備えた、ボールミリング・リン酸カルシウム (mCP) ペーストの骨再建用セメントとしての開発を進めている。この mCP ペーストは、粒度と粉液比調整によりシリンジタイプの注入器でも注入が可能であり、また逆温度応答性ゲルの添加によって注入後の患部体温環境ではゲル化して形態が保持される機能性ペーストであり、注入患部からの漏出性が低い材料でもある。我々はこれまで、mCP からアパタイト様へと結晶性変態能の結晶性分析や、母材粉体の粒度分布評価などの物理学的評価、また変態前後での強度や変態過程での注入性などの機械的評価、また水溶液中での溶解性・崩壊性や溶媒中 pH 変化などの化学的評価、さらには細胞株を用いた細胞性毒性試験、およびラット生体内での硬化挙動解析などの生化学的評価について検討評価してきた。その結果は骨セメントとして特色性の高い材料であることを証明してきた。

その一方で、生体内挙動、特に生体内注入性・充填効率などについては、本学ではラット～家兎までの実験動物サイズでした実施できず、また施設環境から骨充填術に際し X 線透視下での挙動観察ができない、といったより臨床応用に即した研究評価が困難であった。そのため、加齢医学研究所・非臨床試験推進センターでの中型動物による X 線透視下で

の挙動評価を実験計画するに至った。

本研究では注入性評価に伴い、成ヤギの椎骨を注入性試験の評価対象組織として、まず犠牲死した成ヤギの胸部および腰部椎骨を提供いただき、任意の骨欠損の作製と、mCP ペーストの数種の注入器による注入性評価をおこなった。mCP ペーストを注入した椎骨は即時、および生体内疑似緩衝液中に一定期間静置した後に、マイクロ CT 撮像し、任意骨欠損内への注入効率などから評価した。

その後、これらの評価結果を基に研究打ち合わせをおこない、麻酔下動物とした成ヤギにおける X 線透視下での注入性評価の実験計画を進行していたが、弊学マイクロ CT 機の不調により、弊学動物施設で進行中の本研究課題の予備動物実験評価がおこなえなくなったため急遽、貴学歯学部マイクロ CT (ScanXmate-E090, コムスキャンテクノ) での撮像を実施することとなった。

2-2 研究打ち合わせの開催状況

別件に伴う対面での打ち合わせを 1 回、またその後に定期的なメールによる研究打ち合わせをおこなった。また貴学歯学部マイクロ CT 使用にあたり、共通利用機器の学外者利用の申請のため、対応者(白石先生)にも同席いただいた上で施設利用面談(オンライン)に参加した。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

犠牲死椎骨による骨欠損モデル作製と注入手技検討

骨欠損モデル作製前に、弊学マイクロ CT (Skyscan 1176, Bruker) で椎骨を撮像し、3D-CT 像から形態学的観点から位置を検討し、椎骨に $\phi 3.5\text{ mm}$ 、 $\phi 4.5\text{ mm}$ 、 $\phi 5.5\text{ mm}$ のラウンドバーで、バー径に応じた任意深さの骨欠損を作製した (図 1)。その後、術野での迅速かつ効率良い注入手法も評価するため、市販シリンジ、歯科用レジン充填用ガンを用い、注入口径と実際に作製した骨欠



図 1 検体椎骨での評価

損孔の組み合わせについても評価した。骨欠損は貫通孔と非貫通孔の2通りを作製し、それぞれについて注入後の評価として再度、注入後の椎骨をマイクロCT撮像した。撮像後の3D構築形態より、各孔径および貫通孔、非貫通孔の検体について孔表面と注入セメントの接触面積解析を進めた。貫通孔についてはいずれの孔径についても、解析野（孔中央3 mm）で平均90%以上の接触を認めたが、非貫通孔では $\phi 3.5$ mm、 $\phi 4.5$ mmではいずれも70%以下となった。非貫通孔ではペースト中や注入時のエアーが逃げ場無く孔外に押し出されにくくなるためである。一方、貫通孔の検体ではmCPの初期硬化前での漏出リスクも高いため、孔周囲の二次漏出が起きやすいことも懸念された。以上より、注入術や注入器具についても引き続き検討が必要である。

ラット大腿骨への注入性・形態安定性評価

弊学動物施設において、14週齢雄性SDラット大腿骨に作製した骨欠損部位に対し、本課題のmCPペーストを固化状態とペースト状態でそれぞれ埋入して縫合し、4週および8週生育後に安楽死させ検体を準備した。貴学歯学部マイクロCTでは、検体は撮像後の切片作製のためにアルコール固定のみの状態で撮像した。撮像管電圧は40 kV、解像度は倍率より $25\ \mu\text{m}$ ~ $30\ \mu\text{m}$ と推察される。CT撮像後には3D構築形態を作製し、mCPペーストと骨欠損表面での界面評価、および新生骨形成の有無などについて解析をおこなっている。ペースト状態で充填された4週群および8週群での内部一例を図2に示す。いずれも円筒状の骨欠損内部に隙間無く充填され、かつ吸収されずに残存していた。特に8週群ではセメント外周近傍への侵入型の骨形成も確認した。CT撮像が年度末に近い時期でもあったため、現在も引き続き表面接触面積解析や新生骨量解析などの解析を継続中である。

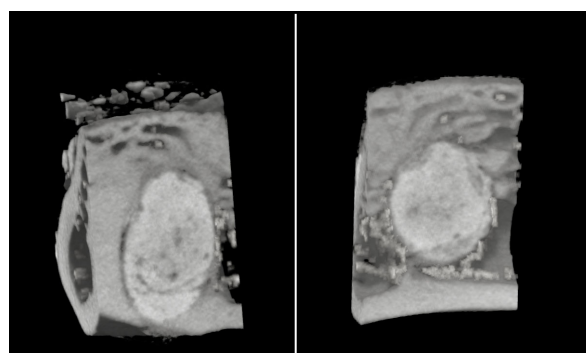


図2 大腿骨欠損部位へのペースト充填群例
(右) 充填4週後 (左) 充填8週後

(3-2) 波及効果と発展性など

ヒトへの臨床応用を目的とした硬組織再建材料の開発研究における一番の問題は、循環器研究と同様に、適切なサイズの実験動物の確保と飼育環境であると考えている。ヒトと同等の評価組織サイズが確保できれば、その術式や再建期間の評価がより臨床に近いためである。弊学の動物実験施設では、実験動物個体としてはウサギサイズが最大であるため、それ以上のサイズでの個体での評価は貴研究所・非臨床試験推進センターのような、中型動物個体を使用で、かつX線透視下の術野環境が整った施設はとも貴重な環境である。

本課題で開発中のmCPペーストは高い初期硬化強度や迅速な初期硬化時間、ペースト製剤としての高い注入性、練和液への添加物による細胞足場剤としての効果など、現在広く用いられる顆粒アパタイト製剤による骨代替剤と比較しても特徴的な点の多い基剤である。今後、術野での練和が不要なプリミックスセメント製剤として検討評価を進めることで、歯科領域のみならず整形外科、形成外科などにも広く普及が見込めると考えている。

〔4〕 成果資料

論文発表

- (1) Kim Y, Sekine K, Hamada K, Effect of halloysite nanotubes on poloxamer 407-containing calcium phosphate cement for bone repair applications, Ceramics Int, in press, 2025
(<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2025.03.132>)