

The effects of mechanical stimulation on healing and remodeling of bone tissue inside high interconnected porous hydroxyapatite ceramic

高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨に対する荷重が骨再生に及ぼす効果に関する研究

2014

筑波大学大学院博士課程人間総合科学研究科

野口 裕史

目次

第1章	本研究の背景	4
1-1.	人工骨に求められる特性とは	
1-2.	ハイドロキシアパタイト(HA)人工骨の開発の歴史	
1-3.	配向連通孔性ハイドロキシアパタイト多孔体(UDPHAp)について	
1-3.1.	配向連通孔性ハイドロキシアパタイト多孔体(UDPHAp)の特徴	
1-3.2.	共同研究者による先行研究	
1-4.	高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨における疑問点	
第2章	本研究の目的	16
第3章	UDPHAp ブロックへの荷重が骨再生に及ぼす影響に関する研究 (研究モデルの考案および妥当性検証)	17
3-1.	背景および目的	
3-1.1.	皮質骨部分欠損モデルの考案	
3-1.2.	目的	
3-2.	対象および方法	
3-2.1.	模擬検証モデル	
3-2.2.	異なる荷重環境を想定した2群	
3-2.3.	検証方法	
3-2.4.	評価項目	
3-3.	結果	

3-4. 考察

3-5. 小括

第4章 UDPHAp ブロックへの荷重が骨再生に及ぼす影響に関する研究
(荷重動物試験) 29

4-1. 背景および目的

4-2. 対象および方法

4-2.1. 対象(実験モデル)

4-2.2. 方法

4-2.2.1. 実験モデルの作製

4-2.2.2. 検証方法

4-2.2.3. 評価項目

4-3. 結果

4-4. 考察

4-5. 小括

第5章 UDPHAp 椎弓スペーサーの骨癒合に関する臨床研究 41

5-1. 背景および目的

5-2. 対象および方法

5-2.1. 対象

5-2.2. 評価方法

5-3. 結果

5-4. 考察

5-5. 小括

第6章	UDPHAp ブロックを皮質骨開窓モデルに用いた際の長期埋植後の骨再生について	52
6-1.	背景および目的	
6-2.	対象および方法	
6-2.1.	実験モデル	
6-2.2.	方法	
6-2.2.1.	実験モデルの作製	
6-2.2.2.	評価方法	
6-3.	結果	
6-4.	考察	
6-5.	小括	
第7章	総括	59
7-1.	考察	
7-2.	結論	
引用文献	63
表	76
図	82
謝辞	111
学会発表	112
参考論文		

第 1 章

本研究の背景

1-1. 人工骨に求められる特性とは

整形外科、脳神経外科及び口腔外科分野において骨欠損部の再建が必要とされる症例は多数存在する。例えば、骨腫瘍や外傷等によって大きな欠損が生じた際には、再生能に優れた骨組織であってもその補填が必要となることがある。その際の gold standard として、自家骨移植が以前より実施されている[1-3]。自家骨は、骨髄組織に骨芽前駆細胞が含まれていること、骨片表面が scaffold として機能すること、骨誘導因子を含んでいること、という点で優れており、結果として、①“osteoconduction (骨伝導能)”、②“osteogenicity (骨形成能)”、③“osteoinduction (骨誘導能)”の骨再生に期待される 3 つの性能を有している。さらに、周囲骨組織と同等の④“mechanical property (力学的特性)”、移植骨が異物として認識されずアレルギー反応や炎症反応を呈さない⑤“biocompatibility (生体親和性)”も有しており、最適な性能を有する骨補填材料であることに異論はない。

一方で、自家骨は採取可能部位に限りがある以上、サイズ、量及び形状においても限界があることや採骨部痛、神経損傷、血腫、感染などの合併症を伴う[4-9]ことから、臨床的には自家骨の代替となるバイオマテリアルに対するニーズは以前から存在している。欧米では他家骨移植[10,11]や demineralized bone matrix (:DBM) [12-14]などの医療材料が使用可能であるものの、それらの使用は日本において使用困難であることから、合成セラミックス製人工骨の開発・臨床応用が盛んに行われてきた。(自家骨、他家骨及び人工骨のメリット・デメリットについて表 1.にまとめた。)

自家骨の代替となる合成セラミックス製人工骨に関して、臨床現場が要求する特

性について説明する。前記のように、需要・供給バランスに問題があることが自家骨の欠点であるものの、性能自体は臨床上充足していると考えられる。すなわち、性能評価を行う際には、gold standard である自家骨を基準とすることが合理的である。言い換えると、人工骨が「自家骨の有する性能全てを代替できる」ことが理想であり、具体的には、先述の自家骨が有する 5 つの性能こそが人工骨に期待された特性[15-18]といえる。改めて、以下に 5 つの性能について記載する。

① “osteochonduction (骨伝導能)”

:埋植部周囲からの毛細血管、血管周囲組織、および骨芽前駆細胞が侵入する足場を提供すること

② “osteogenicity (骨形成能)”

:移植された補填材料自体に骨組織や骨芽前駆細胞が存在し、新生骨を形成すること

③ “osteoinduction (骨誘導能)”

:埋植部周囲の新生骨を形成する間葉系幹細胞等を刺激して、骨を添加し、骨形成を促進すること

④ “mechanical property (力学的特性)”

:体重等による埋植環境に応じた荷重に耐えること

⑤ “biocompatibility (生体親和性)”

:異物として認識されずアレルギー反応や炎症反応を呈しくにないこと

しかしながら、一般的な人工骨内には骨組織、骨芽前駆細胞及び骨形成因子が担持されていないことから、②“osteogenicity (骨形成能)”、③ “osteoinduction (骨誘導能)”は通常期待されていない。よって、①“osteochonduction (骨伝導能)”、④

“mechanical property（力学的特性）”及び⑤“biocompatibility(生体親和性)”が人工骨に求められる性能であり、骨との親和性に優れた原材料であるリン酸カルシウム系セラミックスが広く用いられてきた[1,2, 15-18]。

1-2. ハイドロキシアパタイト(HA)人工骨の開発の歴史

近代の合成セラミックス製バイオマテリアルは、以前に石膏の利用はあったものの、1950年代半ばに陶磁器製の人工歯根、1960年代末のアルミナ製人工歯根、人工股関節が開発されたことに始まる。さらには1971年 Hench による bioglass の発明[19]以降、人工的セラミックス材料の開発が急速に進んだ。

先に述べたとおり、本邦では宗教上倫理上の理由から同種骨移植が普及していないため、合成セラミックス製人工骨が世界に先駆けて研究開発が進んだ。代表的な合成セラミックス製人工骨として、例えばハイドロキシアパタイト（:hydroxyapatite 以下 HA）人工骨、 β -TCP（: β -tricalcium phosphate）人工骨が1970～80年代初頭から整形外科や口腔外科分野で骨補填に広く臨床使用されるようになった。特に HA 人工骨は、1981年に HA 合成法を青木らが報告[20]した後、良性骨腫瘍の海綿骨欠損の補填を中心に使用されるようになり、良好な成績が報告されている[21-26]。日本整形外科学会調査において1985年～2004年の20年間で合成セラミックス製人工骨の使用機会は急増し、骨移植手術全体の約3-4割に使用されるまでになっており[27]、最新の調査結果である2005年～2009年の5年間でも同様に4割程度を維持している[28]。以上のことから、合成セラミックス製人工骨の性能は十分認知されており、臨床現場において一定の役割を担っていると考えられる。

骨の無機質成分であり、高い骨親和性と良好な骨伝導性を持つ HA 人工骨は骨補填材料として一定の有効性が示されたものの、開発初期の製品は気孔間の連通性が低く、深部まで気孔内骨形成が期待できないため、移植部で骨折する報告も散

見された[21,29-30]。

この問題点を改善した、現在の HA 人工骨は材料深部への組織侵入が期待できる高気孔率及び高気孔間連通性を合わせもつ。初期強度を犠牲にしているものの、材料内骨形成によって経時的に強度増加が生じていく。ネオボーン®（コバントマテリアル、気孔率 75%、2003 年発売）やアパセラム-AX®（HOYA、気孔率 85%、2006 年発売）などが代表的な製品である [31-33](図 1-2.)。

一方、 β -TCP 人工骨は、HA 人工骨と異なり体内での分解吸収特性をもつことが特徴である[34]。 β -TCP は中性域での水に対する溶解度は HA よりも高く、更に従来の HA の焼結体は破骨細胞の分解はほとんど受けないものの、 β -TCP では移植早期から破骨細胞による生物学的な吸収も寄与していると言われている[35]。オスフェリオン®（オリンパステルモバイオマテリアル、気孔率 75%、1999 年発売）やスーパーポア®（HOYA、気孔率 75%、2010 年発売）などが代表的な製品である。

以上のように、“bone ingrowth(材料内骨形成)”および“bioresorbable property (材料吸収性)”という特性を持ち始めたことから、現在の合成セラミックス製人工骨の臨床的意義は、単なる骨欠損部の“補填”だけではなく“骨組織の再生”を期待されるデバイスとして変容しつつある。近年では、合成セラミックス製人工骨は、BMP(：bone morphogenetic protein)などの生理活性物質や骨芽細胞などを担持するのに最適な scaffold としての使用も研究が展開されている[36-40]。また、人工骨自体の更なる改良も進められ、気孔率、気孔径、気孔間連通性など構造の更なる最適化 [41-45]を中心に、固くて脆い材料特性による操作性に対するデメリットや多孔性を優先したことによる初期強度の不足等を解消する工夫が試みられている。

改めて、HA 人工骨の高気孔率高気孔間連通性に伴い追加された 2 つの性能について以下に記載する。

⑥ “bone ingrowth (材料内骨形成)”

: 高気孔率高気孔間連通性人工骨において、気孔構造に沿って材料内部まで新生骨形成することで埋植領域の骨再生を図ること

⑦ “bioresorbable property (材料吸収性)”

: 異物化し長期に残存せず、骨リモデリングを妨げないこと (HA 人工骨では“材料吸収性”自体は必須の性能ではないため上記のように表現する。)

1-3. 配向連通孔性ハイドロキシアパタイト多孔体 (UDPHAp) について

1-3.1. 配向連通孔性ハイドロキシアパタイト多孔体 (UDPHAp) の特徴

先述のような高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の一例として、配向連通孔性ハイドロキシアパタイト多孔体 (unidirectional porous hydroxyapatite: UDPHAp) が挙げられる。一軸配向性連通孔という非常にユニークな構造を備えており、配向性による特定方向の圧縮強度を得ると共に、正常骨組織と同様に異方性をもつ生体組織侵入を可能とする。我々、筑波大学整形外科、株式会社クラレ及び独立行政法人物質・材料研究機構 (National Institute of Material Science: NIMS) で共同開発され、2009 年に、「リジェノス®」として薬事承認を取得し上市された (図 3.)。

UDPHAp の気孔構造の仕様は、気孔径が平均 100-300 μm で気孔率 75%であり、UDPHAp ブロックの切断面マイクロ CT 画像にてチャンネル状の気孔が一方向に配向している様子が確認できる。この気孔構造は柱状の氷結晶をテンプレートとして利用する “freeze casting technique” と呼ばれる手法で作製され [46-49]、他の高気孔率多孔体 HA 人工骨で比較的採用されている “foam gel technique” で作製されるような球状欠損部が連なる気孔構造 [31-33] とは大きく異なっている (図 4.)。その配向性構造により、初期圧縮強度が長軸 (配向) 方向で 14 MPa、短軸 (垂直) 方向で 2

MPa と荷重方向で異なっている[50-52]。(添付文書における初期圧縮強度の品目仕様では、「長軸(配向)方向 8 MPa 以上、短軸(垂直)方向 1 MPa 以上」と記載あり。)

一般的な多孔体 HA 人工骨は立体的な網目構造を有していることが多いが、このような構造の場合、隣り合う気孔間の連通部は各々の球状気孔直径よりも小さい、いわゆる“ボトルネック”となる。これに対して UDPHA_p ではボトルネックがなくストレートに貫通した気孔構造は骨伝導性にも有利と考えられる。連通性がない孤立した気孔も減少する[52]。また、毛細管現象により血液が材料深部まで短時間で吸い上げられること(血液・組織が容易に侵入可能であること)が確認されている[53]。

更に、配向性連通気孔構造を有する気孔内に再生される組織は異方性をもって再建される。生体組織においても、多くは特定の生理学的・力学的機能を発現するために異方性構造を有しており、長管骨においても長軸方向にコラーゲンやアパタイトが配向して存在することが知られている。骨本来の力学機能を復元するには異方性構造を有する材料を適切な方向に埋入することが重要と考えられていることから[54]、UDPHA_p の気孔構造は骨再生に有利となる。UDPHA_p 円柱(φ6 mm×高さ 7 mm)をウサギ大腿骨遠位の骨髓腔に、骨の長軸方向と気孔の配向方向が平行になるように埋植し、一定期間後に圧縮強度試験を実施した結果によると、気孔構造に沿った新生骨形成により経時的な長軸方向の圧縮強度の上昇(初期 約 14 MPa ⇒ 12 週後 約 50 MPa)を認めることが報告されている[52]。異方性をもって再生される骨組織が圧縮強度の経時的な上昇に有利に働いていることが想定される。

1-3.2. 共同研究者による先行研究

UDPHA_p について、動物試験による先行研究の概要は以下の通りである。

1) ウサギ大腿骨埋植試験[51]

日本白色家兎(8週齢)の大腿骨顆部にドリルで作製した骨欠損部に直径 5 mm x 高さ 7 mm の UDPHAp 円柱を埋植し、1、2、4 週後に検体採取し組織評価を実施した。1 週後には血液由来の細胞群とフィブリンが気孔内に確認された。2 週後以降において、気孔壁に新生骨の旺盛な形成と新生血管の侵入が観察された。

2) ウサギ脛骨埋植試験[50]

日本白色家兎の脛骨近位に作製した 4 mm x 7 mm の皮質骨欠損部に UDPHAp ブロックを埋植し、2、6、12 週後に検体採取し組織評価を実施した。2 週後で UDPHAp 内に新生骨、毛細血管を認め、12 週後で気孔部面積の平均 41.6%に骨形成があった。また、皮質骨レベルの表層で平均 45.7%、骨髄(海綿骨)レベルの深層では平均 37.5%と埋植深度で異なる傾向があった。

3) イヌ脛骨 HTO モデル試験[55]

ビーグル 7 頭(平均体重 10 kg、雌)に対して、高位脛骨骨切り術(High tibial osteotomy: HTO)を模擬した手術を実施した。最大 6.5 mm の骨欠損を補高する楔状の UDPHAp ブロックを埋植し、プレートによる内固定および術後 3 週間までのギプスによる外固定を併用し、6 週後(n=3)、12 週後(n=4)にて CT 撮影と組織学的評価を実施した。2 頭で経過中に骨折、プレート折損をきたしたため検討から除外された。残る 5 頭において、6 週後の 2 頭では放射線学的に gap が存在し、組織学的にも線維性組織の介在を認めることから、UDPHAp と周囲骨との連続性が不完全であった。しかしながら、12 週後の 3 頭では新生骨による UDPHAp との直接的な固着、および材料内骨形成を認めた。

4) ヤギ腰椎椎弓形成術による椎弓スペーサー埋植試験[56]

ヤギ(1 年 雄)7 頭に対して、棘突起正中縦割による椎弓形成術を第 1-5 腰椎に実施した。椎弓間に、UDPHAp (n=17)、及びネオボーン® (n=10)、アパセラム® (n=5) の椎弓スペーサーをランダムに埋植し、26 週後に屠殺し、それぞれの気孔

構造の変形、骨癒合に関して比較検討した。気孔率が 50%と低いアパセラム[®]では気孔構造は変わらなかったが、気孔率が 75%である UDPHAp とネオボーン[®]では、それぞれ 76%、90%に気孔構造の変形を認めた。血管構造はいずれも約 70-80%で認められたものの、骨癒合は UDPHAp 及びネオボーン[®]では不良であった。

5) ビーグル背筋内長期埋植試験[57]

ビーグル 2 頭(平均体重 10 kg、雌、12-13 か月齢)に対して、背筋筋層内に円柱形状の UDPHAp ブロック(直径 5 mm x 高さ 10 mm)を埋植した。埋植後 1 年、2 年で検体を採取し、組織学的評価を実施した。1、2 年後(各 n=1)の背筋内埋植検体の評価では、いずれも異所性骨化の所見はなく、気孔内部に新生血管、及び配向性を有した線維性組織の侵入を認めた。

以上の先行研究より、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨に求められる特性である、①“osteoconduction(骨伝導能)”、④“mechanical property(力学的特性)”、⑥“bone ingrowth(材料内骨形成)”について、UDPHAp で確認されている。

1-4. 高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨における疑問点

UDPHAp は既に薬事承認され、先行研究も実施されているものの、配向性気孔構造の臨床的意義など未だ不明な点も多い。例えば、従来の多孔体人工骨と同等の骨伝導能が先行研究にて確認されている[50-53, 55-58] ものの、特に気孔開口部が一方方向に限定されていることで、全方向に気孔開口面をもつ従来の高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨よりも UDPHAp では骨形成に不利となる可能性も示唆される。(先行研究[58]にて、同等の気孔率で気孔構造のみ異なる UDPHAp とネオボーン[®]を日本白色家兔の脛骨近位に埋植した際、埋植部全体の骨再生に有意差がなかったことを確認している。)しかしながら、先に述べた通り、UDPHAp についても高気孔

率高気孔間連通性 HA 人工骨に求められる特性を有しており既に薬事承認されていることから、本研究では製品間の性能の違いに焦点を当てる訳ではなく、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の臨床上の疑問点について検討したい。

① 高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨への荷重の影響

高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の特徴的な気孔構造を活かすためには、形状を賦形しブロック形状で用いる必要がある。その際、圧縮強度の向上を意図して皮質骨欠損の伴う環境に用いられることが想定される。しかしながら、このような埋植環境では、皮質骨欠損のない場合と異なり、細胞や液性因子が常に供給されず骨再生不良となる可能性が高まり、ブロック形状 HA 人工骨自体に荷重がかかることで折損・圧潰のリスクも増大する。そもそも、骨再生を促進するために気孔率を上げれば上げるほど圧縮強度は低下する、という相反する関係が HA 人工骨には存在することから[59]、骨再生と圧縮強度の両者のバランスが臨床現場において重要である。異方性を伴う圧縮強度の上昇が期待できる UDPHA_p は、このような埋植環境に適した材料と考えられる。

UDPHA_p の初期圧縮強度は、他の高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨に比してやや高いものの約 10 MPa(添付文書の品目仕様では 8 MPa 以上)程度である。骨内埋植時には圧縮強度は経時的に上昇し必要な強度を獲得する[31,33]が、初期圧縮強度が低値であるため、UDPHA_p を含む高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨のいずれにおいても、添付文書上は「荷重部では、内固定などの併用により HA 人工骨自体に過度の荷重がかからないように臨床現場で用いること(一方、非荷重部ではその限りではない)」と規定されている。近年では LCP (: Locking Compression Plate) など強固な内固定が可能なデバイスの発達により、HA 人工骨自体への荷重を低減することが可能となったが、現在でも「荷重部」と「非荷重部」の境界線は不明であり、

埋植部位によって整理されているのが実情である。

骨再生と荷重に関して、骨の形成や吸収への力学的刺激の関与[60-63]は広く知られており、骨折治療においても適度な荷重のメリット[64]が提唱されている。しかしながら、骨補填材への荷重に対する骨再生への影響に関する研究はほとんど存在せず、骨髄内埋植環境下で力学的刺激が材料内骨形成を促進する報告 [65,66]があるのみであった。HA 人工骨に関する同様の報告は渉猟しえた限りでは存在しないが、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨自体に荷重をかけることが骨再生(材料内骨形成)に有用であることが期待される。

② 多様化した適応における高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の骨再生

近年、臨床現場では良性骨腫瘍搔爬後の髓腔内欠損部を補填する使用[26]以外にも、自家骨とほぼ同一の適応に対して高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨が移植されており、先述の通り、添付文書において「荷重部」と「非荷重部」となる埋植環境が区別されている。「荷重部」の代表例として、変形性膝関節症の外科的治療である高位脛骨骨切り術(HTO)での LCP 下での間隙の補填[67-69]や外傷や悪性腫瘍等による皮質骨欠損を伴う部位への埋植[70-72]、椎体間ケージ内への移植[73-75]などが挙げられる(図 5.)。一方、「非荷重部」の例として、頚椎椎弓拡大形成術で用いられる頚椎椎弓スペーサー[76-82]、脊椎後側方固定術[83,84]の移植骨や周囲の皮質骨で支持可能な髓内環境への移植、頭蓋骨、顔面骨への使用が該当する(図 6.)。

いずれの適応においても、使用頻度が 25 年間維持されている状況[27,28]に鑑みれば、HA 人工骨自体が原因で臨床成績不良となる可能性は低い。しかしながら、特に「非荷重部」に該当する適応において、②“osteogenicity(骨形成能)”、③“osteinduction(骨誘導能)”が必要と思われる髓外での埋植も含まれており、良好

な臨床成績のみ報告されている可能性も含め、前述の全適応において骨再生が達成されたかどうか詳細な検証が実施されないまま医師の裁量に基づいて適応拡大されている懸念がある。渉猟しえた範囲では高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の報告は少数のみで、低気孔間連通性 HA 人工骨や自家骨との骨再生性能の違いに関する知見も乏しいことから、臨床現場における高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の骨再生の実態を把握しておくことも十分に意義があると考えられる。

③ 高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨への骨再生に関する長期的な挙動

通常 HA 人工骨は、長期間で緩徐に骨置換されるものの材料吸収性をもつとは考えられておらず「非吸収性骨補填材」として考えられている。前記のように埋植環境によっては材料内骨形成を呈さない、あるいは乏しい場合も現実的に想定される。一般的に、多孔体ではサイズが大きければ材料深部に行くほど 3 次元多孔体中心部で細胞の生存と機能を維持するのが困難と言われている。 β TCP 人工骨と異なり加水分解しない HA 人工骨において、埋植初期に材料内骨形成した領域が経時的に材料深部方向まで更に拡大するかどうか懸念がある。実際に高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨に限定的な骨再生(材料内骨形成)を呈した場合、長期的にどのような経緯を辿るのか、確認する必要があると考える。

以上をまとめると、以下の 3 つの臨床上の課題があると考えられた。

- ① 添付文書上の「荷重部」での使用に関して、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨自体に荷重をかけることが骨再生に有用であるか、内固定併用環境下で検証する必要がある。
- ② 適応が多様化していることから、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の骨再生は临床上許容されるか適応ごとに検証する必要がある。特に添付文書上「非荷

重部」に該当する適応での使用に関して、広範囲の皮質骨欠損や骨髄外へ埋植した際の性能検証を行う必要がある。

- ③ 高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨に限定的な骨再生(材料内骨形成)を呈した場合、長期的にどのような経緯を辿るのか、確認する必要がある。

第 2 章

本研究の目的

今回、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の一例として UDPHAp を用い、第 1 章に述べた臨床上的高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の疑問点に関して、荷重環境を焦点に研究を進めることとした。

本研究の仮説は、「埋植環境下において、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨ブロックへの適切な荷重が骨再生(材料内骨形成)に寄与する」と設定した。

なお、過剰な荷重がかかった場合は HA 人工骨ブロックが破損し皮質骨欠損に用いる意義が失われるため議論に値しない。よって、本仮説は「高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨ブロックに適切な荷重がかからないと骨再生(材料内骨形成)が抑制される」とも言い換えられる。

本研究の目的は、以下の3つである。

- ① 「荷重部」での使用に関して、UDPHAp ブロックに対する荷重が骨再生(材料内骨形成)に及ぼす効果を動物試験にて組織学的・放射線学的に検討する。
- ② 「非荷重部」での使用に関して、皮質骨欠損や骨髄外への埋植対象の一例である、UDPHAp 椎弓スペーサーの骨再生(骨癒合)に関する臨床成績調査を行う。
- ③ UDPHAp ブロック内の骨再生(材料内骨形成)が経時的にどのような挙動を示すのか、長期埋植した動物試験に基づいて考察する。

第 3 章

UDPHAp ブロックへの荷重が 骨再生に及ぼす影響に関する研究 (研究モデルの考案および妥当性検証)

3-1. 背景および目的

第 1 章で述べた通り、荷重骨の形成や吸収に力学的刺激が関与していることは広く知られており、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨ブロック自体に荷重をかけることが骨再生(材料内骨形成)に好影響を及ぼす可能性が高い。「荷重部」とされる適応において、LCP 等の内固定を併用することで過度の荷重がかからないように用いられるものの、実際の埋植環境において、どの程度の荷重がかかり、どの程度材料内骨形成に影響するか、という知見は不明である。特に“皮質骨欠損”を伴う部位へ HA 人工骨ブロックを埋植する際には骨再生不良となるリスクも推察される。

今回、UDPHAp ブロックにかかる荷重の変化が材料内骨形成にどのように影響するのか、“皮質骨欠損”を呈した自験モデルによる荷重動物試験を行うこととした。

3-1.1. 皮質骨部分欠損モデルの考案

はじめに“皮質骨欠損”を伴う部位への高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨ブロックの埋植を想定した荷重動物モデルを新規に考案することとした。我々の先行研究を踏まえて、以下の条件を設定した。

- 動物種は骨構造や骨代謝の観点からもヒトに比較的類似している[84]ことから、

イヌ(ビーグル犬)を採用する

- 圧縮強度の向上を期待する HA 人工骨ブロック埋植を要するような欠損部で、複数の壁欠損を伴う皮質骨欠損である
- 欠損距離を確保可能で、立位で垂直方向の荷重がかかる大腿骨を埋植部位として選択する
- 骨欠損部の支持は HA 人工骨の破損予防も踏まえ、臨床現場で最も併用されている金属プレートを用いる

これらの条件に合致する、参考となりうるイヌ大腿骨モデルについて、動物モデルに関するレビューを中心に文献検索データベース“PubMed”による文献調査を行った。更に、参考としたモデルに改良点を加える必要があるか検討した。

【文献調査結果】

- A) 2007 年に AO (: Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen) Foundation より発表された、骨再生材料に関するバイオマテリアル研究の際の動物モデルに関するレビュー[85]によると、元来、JIS (: Japanese Industrial Standards) や ISO (: International Organization for Standardization) で定められた材料規格を参考に人工骨の物理的・化学的特性評価がなされてきたが、骨再生を検証する動物モデルに統一された手法は存在しなかった。
- B) 上記レビュー[85]によると、評価したい性能やインプラントのデザインやサイズ、検体採取後の力学試験の簡便さなどに鑑みて、動物種や埋植部位を検討すべきとされていた。具体的には、ウサギの脛骨や大腿骨顆部への埋植であれば、直径 2 mm、全長 6 mm 程度の円柱状検体を、イヌやヒツジ、ヤギであれば直径 4 mm、全長 12 mm 程度の円柱状検体を皮質骨にドリリングした髓内に埋植する試験の記載があった。

C) 「長管骨の骨再生」に主眼を置いた動物実験をまとめたレビュー[86]では、保存的には自然治癒が期待できない環境を模擬した動物モデルについて調査されていた。イヌ大腿骨の場合は 2~7 cm の全層欠損で検証された事例[87-96]があり、骨欠損の支持として金属プレート、髓内釘、創外固定、ギプスなど様々な手法が実施されていた。本研究と類似した大腿骨で金属プレートを併用した文献は Kadiyala S. らのグループより 3 報報告[88,90,92]あり、「21 mm 大腿骨骨幹部全層欠損に金属プレートを大腿骨外側から設置していたモデル」を用いて、間葉系幹細胞を HA 人工骨及び β TCP 人工骨を原材料としたハイブリッド人工骨に担持した際の有効性を評価していた(図 7.)。

“皮質骨欠損”に対する HA 人工骨ブロックの検証には B) のような皮質骨により圧縮強度が保持されるモデルでは不相当と考えられた。以上より、C) で確認された「21 mm 大腿骨骨幹部全層欠損に金属プレートを大腿骨外側から設置していたモデル」を参考に本研究モデルを考案した。

【本研究モデルの改良点】

この参考モデルにおいて、人工骨単独の埋植における骨再生が不良なコントロール群として用いられていることから、骨再生があまりにも乏しい場合に統計学的有意差を見出せないリスクが存在する。また、本研究の予備研究として実施した 20 mm 大腿骨骨幹部全層欠損部に創外固定器を用いた検討において、HA 人工骨ブロックの破損を伴う骨再生不良を呈し解析困難となった。以上に基づいて、参考モデルに比して、皮質骨欠損の程度を緩和すること、固定の支持性を上げて HA 人工骨ブロックの破損を予防すること、という改良点が存在すると推察した。

上記問題点に対応するため、①LCP 及び locking screw を用いて埋植部にかかる

応力を軽減する、②骨欠損領域を大腿骨全層欠損から半層欠損とする、③骨欠損距離を 21 mm から 10 mm に短縮する、という 3 点の改良を加えたものを本研究モデルとして採用した。

3-1.2. 目的

本章の目的は、「上記検証に適した皮質骨部分欠損モデルを考案すること、及び LCP 設置条件を変更した 2 群で UDPHAp ブロックにかかる荷重が異なることを立証すること」である。

3-2. 対象および方法

本研究モデルは、過去の報告が存在しない新規のモデルであり、その妥当性検証の必要がある。想定通りに UDPHAp ブロックにかかる荷重が変化するかどうか定量的な評価を検討した。

動物モデル作製時の術中の荷重環境計測は、術野の滅菌性保持や UDPHAp ブロックや大腿骨自体に及ぼす影響を考慮した結果実現可能性は低いと判断し、動物モデルをさらに一般化した模擬モデルを用いた *in vitro* の力学実験で検証することとした。

3-2.1. 模擬検証モデル

模擬検証モデルは、①大腿骨モデル(予備実験等で採取した健側のビーグル犬大腿骨を利用し、頭尾側を平行に切除し円柱状に加工)、及び②模擬骨モデル(ソーボーン社製 20 pcf 海綿骨ソリッド型ブロックを 短径 11 mm x 長径 12 mm x 高さ 100 mm の楕円柱に加工)を用い、①②ともその中央部に深さ 5.5 mm x 長さ 10 mm の半層欠損を作製した。

(なお、②模擬骨モデルの断面寸法はビーグル犬大腿骨の実測値に基づいて決定した。模擬骨モデル全長については、LCP(SYNTHES VP ストレート 2.7 VP4031-08 8 穴)の長さ 72 mm、及び圧縮試験機への設置を考慮して設定した。)

3-2.2. 異なる荷重環境を想定した 2 群

本研究モデルを用いて、UDPHAp ブロックにかかる荷重の変化が材料内骨形成にどのように影響するのか荷重動物試験による検証を行う上で、UDPHAp ブロックにかかる荷重を変容させることが実際に可能かどうか、現時点では不明である。

今回、LCP 設置条件を変更し UDPHAp ブロックにかかる荷重環境を調整した以下の 2 群を作製することを予定した。

➤ 応力遮蔽群

…骨欠損部直上に LCP を設置し、頭尾側ともに 3 本ずつ両側の皮質骨を抜いて locking screw を挿入する。低荷重環境(stress shielded モデル)を想定している。

➤ 負荷群

…骨欠損部直上から 90° 前方へずらして LCP を設置し、頭尾側ともに 2 本ずつ両側の皮質骨を抜いて locking screw を挿入する。上記よりも荷重のかかる環境を想定している。

(これらの模式図及び模擬骨での写真を図 8.に提示する。)

3-2.3. 検証方法

①②の模擬検証モデルにおいて、それぞれ応力遮蔽群及び負荷群となる検体を作製した。それぞれの条件に該当する検体数は以下の通りとした。

- ① 大腿骨モデル: 応力遮蔽群 n=3、負荷群 n=4

② 模擬骨モデル: 応力遮蔽群 n=4、負荷群 n=4

(②は骨欠損部に UDPHA_p の設置あり・なし n=2 ずつ実施)

オートグラフ(島津製 AG-X plus[®])により長軸方向に 0.5 mm/min で圧縮荷重を負荷した。

3-2.4. 評価項目

A) マクロ写真による骨欠損部の外観評価

①②の両模擬検証モデルにおいて、応力遮蔽群と負荷群の 2 群間で荷重負荷後の骨欠損部の変形が異なるかどうか検証した。①大腿骨モデルは模擬骨と比較して弾性率が高く破断変位も小さかったため、一定の変位量における圧縮前後の骨欠損部の変化が目視困難であった。よって、圧縮前欠損部と破断直後の状態とを比較した。②模擬骨モデルでは全体変位量が 3.5 mm の時点における圧縮前後の骨欠損部の変化を確認した。

B) 骨欠損部の頭尾側方向幅の変位量

いずれも骨欠損部の最外側(:表面)及び髓腔側(:奥)を各々区別して、ノギスによる欠損幅の計測を行った(図 9.)。応力遮蔽群と負荷群の 2 群間で、欠損幅の変位量が異なるかどうか検証した。A)と同様、①大腿骨モデルは模擬骨と比較して弾性率が高く破断変位も小さかったため、一定の変位量における圧縮前後の欠損幅の計測が困難であった。よって、圧縮後欠損幅は破断直後の状態での欠損幅を代用し評価した。②模擬骨モデルは、モデル全体での変位量が 3.5 mm の時点における欠損幅を計測した。

C) 荷重量と stress-strain(:S-S)曲線

①②の両模擬検証モデルにおいて、応力遮蔽群と負荷群の 2 群間で S-S 曲線を測定し、その挙動が異なるかどうか検証した。なお、①大腿骨モデルに関しては、破断をきたすまでの最大点荷重量を計測し、②模擬骨モデルに関しては、モデル全体での変位量が 3.5 mm の時点における荷重量を計測すると共に、UDPHAp の設置あり・なしによる挙動の違いについても検討した。

統計学的手法について、①大腿骨モデルについては Student の t 検定 (p 値が 0.05 未満を統計的に有意とみなす) にて実施した。②模擬骨モデルは検体数が少ないため傾向のみ確認した。

3-3. 結果

A) マクロ写真による骨欠損部の外観評価

①②の両模擬検証モデルにおいて、応力遮蔽群では圧縮時に欠損部が開くようにプレートが反る現象を認めた。一方で、負荷群ではプレートが反っても欠損部が閉じる現象は阻害されず、荷重が増えるごとに骨欠損幅は縮小傾向にあった(図 10.)。

B) 骨欠損部の頭尾側方向幅の変位量

①大腿骨モデル(破断直後の状態での欠損幅)

応力遮蔽群および負荷群について、図 11.に結果を示す。統計学的検討を実施した①大腿骨モデルでは、応力遮蔽群と負荷群間の比較において、表面の頭尾側方向幅の変位量で有意差を認めた($p=0.03$)。一方で、奥の頭尾側方向幅の変位量は有意差がなかった。

②模擬骨モデル(変位 3.5 mm 時点の欠損幅)

応力遮蔽群および負荷群について、図 12.に結果を示す。統計解析は実施しな

ったが、②模擬骨モデルにおいても①と同様の傾向がより強調されていた。

C) 荷重量と stress-strain (:S-S) 曲線

①②の両模擬モデルにおける S-S 曲線は図 13.および図 14.の通りであった。一定荷重間での弾性率 (N/mm²) および一定変位時の荷重量について、改めてまとめると表 2. の通りであった。

統計学的検討を実施した①大腿骨モデルでは、応力遮蔽群と負荷群間の比較において、弾性率に有意差はなく、最大点荷重量についても異なる傾向はあったが有意差は見出せなかった ($p=0.07>0.05$)。②模擬骨モデルについても、UDPHAp 設置がない条件では①と概ね同様の傾向を示していた。

3-4. 考察

本章にて、“皮質骨欠損”を伴う部位への高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨ブロックの埋植を想定し、新規に考案した荷重動物モデルについて、まず考察する。

本研究モデルの皮質骨欠損について、今回の半層欠損であっても、口腔外科の歯周病分野で用いられるような壁欠損の考え方[97]を踏まえると、一般的に汎用されている前記 B) のような骨髄内で海綿骨に四方を取り囲まれる環境よりも、本研究モデルの方が骨再生に対してより過酷な環境となり得る。このような埋植環境に関する知見は集積された臨床報告も乏しいため、貴重な知見が得られると推測された。

また、骨欠損距離についても、他の高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の基礎実験において、材料表面から 3~5 mm 程度の材料内骨形成を確認できたとする報告が多く、本研究モデルの 10 mm 欠損は現実的な設定であると考えられた。

内固定として選択した LCP は、イヌ(ビーグル犬)の実際の骨折に対して臨床使用されている、企業が推奨する強度を備えた製品を用いることとし、大腿骨の寸法に基

づいて外側部に十分に設置可能である LCP (SYNTHES VP ストレート 2.7 VP4031-08 8 穴) の長さ 72 mm を選択し、ヒト臨床を模倣した環境を再現できるよう心がけた。

以上より、「UDPHAp ブロックにかかる荷重の変化が材料内骨形成にどのように影響するのか」という検証に適した皮質骨部分欠損モデルであると考えられた。なお、HA 人工骨ブロックにかかる荷重が想定通りでない場合は、骨欠損量や内固定条件を変容させることで調整可能であると推察された。

次に、異なる荷重環境を想定し LCP 位置・screw 本数の変更した、応力遮蔽群および負荷群の 2 群について、どの程度臨床を模擬しているのか考察する。

LCP 設置条件の設定根拠について、骨欠損部に対する LCP の位置は骨欠損部直上を覆う固定が力学的に最も強固であることが想定された。一方、前述の設置に比して、プレートを 180° 反転した固定位置にて骨欠損部が最もたわむであろうと推測されたが、創の展開が困難かつ軟部組織への侵襲度が異なるため、同一のアプローチにて最大限異なる設置となる、骨欠損部直上から 90° ずらした固定位置を採用した。

今回、さらに screw 固定数を変更することで骨欠損部のたわみがより変動するようにした。単純骨折モデルにおける LCP への screw 数・screw 設置位置に関するバイオメカニクスの報告[64]を参考にすると、screw 数を増減することで軸圧縮方向にもねじれ方向にも強度変化をきたすことは明らかであった。また、一般的な LCP の screw 孔に対する screw の充填密度 (:plate screw density) は 0.3 ~ 0.5 と言われており[98,99]、負荷群は上記に該当しており、臨床的な荷重環境を模擬できていると考えられた。一方で、応力遮蔽群は過剰な screw 数で内固定されており、埋植部位に荷重がかかりづらい環境 (stress shielded モデル) と考えられた。しかしながら、

臨床現場で複数の壁欠損を伴う皮質骨欠損が存在した場合、HA 人工骨ブロックの破損等に鑑みて内固定の支持性を高めようと考えやすい。今回は 2 群間での荷重差を明らかにするため、あえてこのような条件設定とした。

最後に、模擬検証モデルを用いた 2 群間で荷重が異なるか否かの検証実験について、本来であれば骨欠損部にかかる UDPHAp 埋植部の荷重環境を直接的に計測する手法を実施すべきであるが、事前検討にて感圧紙等の評価手法を試みたものの定量化は困難であった。よって、本研究においては、荷重計測の代わりに、荷重による骨欠損部の変形について、「マクロ写真による骨欠損部の外観評価」及び「骨欠損部の頭尾側方向幅の変位量」による定量化を実施すると共に、「荷重量と stress-strain(:S-S)曲線」の挙動を比較することで、LCP 設置条件によって UDPHAp ブロックへの荷重環境が異なることを証明することとした。

マクロ写真による骨欠損部の外観評価(図 10-11.)において、想定通り 2 群間における挙動が異なり、応力遮蔽群ではプレートのしなりによって骨欠損幅(表面側)は開大方向に変位し、負荷群では圧潰方向に変位することを①②の両模擬モデルで確認した。骨欠損部の頭尾側方向幅の変位量評価において、骨欠損表面側で①②の両模擬検証モデルともに、負荷群では応力遮蔽群の変位量の約 3 倍程度短縮していた。

荷重量と stress-strain(:S-S)曲線(図 12-13.)において、応力遮蔽群と負荷群の 2 群間では、一定の荷重間での弾性率は①②の両模擬検証モデルともに有意差がなく、グラフ上の傾きも視覚的に同様であり、内固定設置によるモデル全体の固定力自体は概ね同等と考えられた。また、②模擬骨モデルにおいて、モデル全体での変位量が 3.5 mm の時点の荷重量は、UDPHAp 設置なしでは「応力遮蔽群 > 負荷群」であったものの、UDPHAp 設置ありでは「応力遮蔽群 < 負荷群」と変化したことか

ら、UDPHAp 自体が骨欠損部の支持を担っており、特に通常荷重群ではプレート固定と重複せずにモデル全体の圧縮強度向上に寄与していることが推察できた。

以上の結果より、想定通り UDPHAp ブロックにかかる荷重環境が 2 群間で異なることが定量的な評価により証明された。皮質骨部分欠損モデルによる動物実験を実施した際も同様に異なる荷重がかかることが推測された。(なお、参考までに模擬骨に設置した UDPHAp ブロックについて、荷重負荷後の形状変化をノギス計測及びマイクロ CT にて精査した(図 15.)。約 50 kg 荷重時も LCP 下では人工骨は破損せずに形状が保たれていたことから、本モデルにおいては in vivo でも許容できると推測した。)

本検証のリミテーションは、①②の模擬検証モデルの測定検体数が限定的であること、①大腿骨モデルにおいて強度の個体差が存在すること、②模擬骨モデルとして採用したソーボーン®が健常骨の力学特性の全てを再現しているとはいえないこと、模擬骨計測手法が煩雑であることなどが挙げられる。本研究モデルとした皮質骨部分欠損モデルをなるべく一般化したモデルが妥当性検証には適切であると考えながら、①大腿骨モデルでは検体間のばらつきが大きいと判断し、②模擬骨モデルの採用を考慮した。ソーボーン®は、必ずしも人骨の力学的特性の全てを再現しているとはいえないものの、通常のスポンジ骨の特性範囲を十分にカバーしていると考えられている。皮質骨に近似した原材料で複合的に構成された模擬骨も市販されているが、動物サイズの生体力学の代替試験用模擬骨モデルは存在せず、大腿骨よりも柔軟で変化量が大きくなることからむしろその挙動を把握しやすいため、本検証に用いた模擬骨モデルは妥当と判断した。

また、模擬試験で負荷した強度は非常に高いため今回認めた破断や変形は実際の強度領域での挙動と異なる可能性があることもリミテーションの一つである。歩行

周期の立脚相にビーグル犬の体重の 24~41%の vertical force がかかり、歩行周期全体でイヌ体重の 0.8 ~ 1.65 倍の関節反力がかかるとされている[100,101]。また、ヒト股関節及び膝関節においては、ランニングやジャンプの際には体重の 4 ~ 8 倍かかるとされている[102-104]。模擬試験での荷重量はこれらの知見を参考としたが、2 群間での挙動の相違を確認することが目標であるため、実際よりも高負荷まで試験を実施した。イヌの体重 10 kg に当たる 100 N 付近でもグラフ上はほぼ線形に推移していることから、高負荷で確認した結果に基づいて LCP 設置条件によって UDPHAp ブロックにかかる荷重環境が異なることは推測可能と判断した。

3-5. 小括

- 高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨ブロックへの荷重への影響を検証するための皮質骨部分欠損を呈した荷重動物モデルを考案した。
- LCP 設置条件を変更し、UDPHAp ブロックへの異なる荷重環境を想定した 2 群（応力遮蔽群および負荷群）について、実際に 2 群間で荷重が異なるか模擬検証モデルを用いて検証した。
- 「荷重量と stress-strain (: S-S) 曲線」において内固定設置によるモデル全体の固定力自体は概ね同等であるものの、骨欠損部の頭尾側方向幅の変位量において 2 群で異なっていることから、2 群間での UDPHAp ブロックにかかる荷重の違いを立証した。

第 4 章

UDPHAp ブロックへの荷重が 骨再生に及ぼす影響に関する研究(荷重動物試験)

4-1. 背景および目的

第 1 章で述べた通り、荷重骨の形成や吸収に力学的刺激が関与していることは広く知られており、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨ブロック自体に荷重をかけることが骨再生(材料内骨形成)に好影響を及ぼす可能性が高い。「荷重部」とされる適応において、LCP 等の内固定を併用にて過度の荷重がかからないように用いられるものの、実際の埋植環境において、どの程度の荷重がかかり、どの程度材料内骨形成に影響するか、という知見は不明である。特に“皮質骨欠損”を伴う部位へ HA 人工骨ブロックを埋植する際には骨再生不良となるリスクも推察される。第 3 章にて、新規の皮質骨部分欠損を呈する荷重動物モデルを考案し、LCP 設置条件を変更した 2 群で UDPHAp ブロックにかかる荷重が異なることを立証した。

本章では、本研究モデルを実際にビーグル犬で作製し、荷重が UDPHAp ブロックへの骨再生(材料内骨形成)にどのように影響するか in vivo で検証することとした。

本研究の目的は、『「荷重部」での使用に関して、LCP による内固定併用下で UDPHAp ブロックにかかる荷重環境の変化が、骨再生(材料内骨形成)にどのように影響するか』検討することである。本結果に基づき「LCP 併用下における荷重環境において、荷重がかからない方が UDPHAp ブロックへの材料内骨形成が抑制される」という仮説を検証した。

なお、本研究は筑波大学動物実験取り扱い規定に従い、動物実験委員会の承認

を得て行った。(H24 年度:12-101、H25 年度:13-324、H26 年度:14-70)

4-2. 対象および方法

4-2.1. 対象(実験モデル)

TOYO 系統ビーグル犬(平均体重 10 kg、雌、12~13 か月齢)を用いて、第 3 章で検討した皮質骨部分欠損モデルを用いた以下の 2 群を対象とした。検証時と同一の LCP(SYNTHES VP ストレート 2.7 VP4031-08 8 穴)、および UDPHAp ブロック(短径 10 mm x 長径 11 mm x 高さ 10 mm の楕円柱を長径方向に半割)を用い、LCP 位置・screw 本数を変容させて設置した。

➤ 応力遮蔽群

…骨欠損部直上に LCP を設置し、頭尾側ともに 3 本ずつ両側皮質骨を抜いて locking screw を挿入した。UDPHAp ブロック自体は stress shielded となる低荷重環境を模擬している。

➤ 負荷群

…骨欠損部直上から 90° 前方へずらして LCP を設置し、頭尾側ともに 2 本ずつ両側皮質骨を抜いて locking screw を挿入した。上記よりも軸方向で UDPHAp ブロック自体にも荷重のかかる環境を模擬している。

4-2.2. 方法

4-2.2.1. 実験モデルの作製

midazolam (0.3 mg/kg of body weight) と medetomidine hydrochloride (約 0.03 mg/kg of body weight) を混合し筋肉注射により麻酔前投薬を行い鎮静後、sevoflurane による全身麻酔下に手術を実施した。

手術は、右側臥位で体位をとり、大腿骨を体表からふれて、その直上を外科用メスで切開し、大腿骨外側からアプローチした。大腿四頭筋と膝屈筋群の筋間より大腿骨を露出させ、大転子部基部から大腿骨顆上部まで筋剥離した。非常に薄い骨膜は剥離した後、UDPHAp ブロックと同サイズのトライアルを大腿骨に当てながら、The Colibri system (Depuy Synthes, USA.)のボーンソーにて大腿骨外側から半層まで10mm 弱の幅で2箇所切れ込みを入れた。大腿骨骨幹部が外側で半層欠損するように、大腿骨前方および後方をマーキングし、Primado surgical drill (Nakanishi Co., Ltd., Japan.)を用いて長軸矢状面方向でマーキングに沿って切断し、外側皮質骨を除去した。スチールバーおよびダイヤモンドバーにて開窓部を切削し、トライアルが安定して嵌合するように骨欠損をトリミングした。

大転子部基部を目安に前述の2群に該当するようにプレート位置・screw本数を変容させてLCPを設置した(図16.)。なお、応力遮蔽群では骨欠損作製後にUDPHApブロックを埋植してからLCPを設置したが、負荷群では骨欠損作製後のLCP設置時に術中骨折が1例発生したため、事前にLCPを設置した上でLCPを避けながら前述の手法で骨欠損を作製する手順に切り替えた。

4-2.2.2. 検証方法

前項の手順に従って、それぞれ応力遮蔽群4頭、負荷群6頭作製し、術後3か月時点で全例屠殺し検体を採取した。検体は10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定処理した。屠殺後早期にマイクロCT(卓上型マイクロフォーカスX線CTシステムinspeXio SMX-90CT、島津製作所)撮影も行った。

検体は連通孔に平行方向で半切し、一方はメチルメタクリレート樹脂に包埋し非脱灰標本を作製することとし、もう一方はエチレンジアミン四酢酸(:EDTA)溶液で脱灰後にパラフィンに包埋して脱灰標本を作製することとした。5µm厚の矢状断スライス

にて、非脱灰標本は Villanueva-Goldner(:VG)染色にて、脱灰標本は hematoxylin-eosin(:HE)染色にて作製した。

マイクロ CT および組織標本について、後述の評価を実施し、2 群間で比較検討を行った。

4-2.2.3. 評価項目

A) 放射線学的評価

UDPHAp ブロック中央部のマイクロ CT 冠状断画像を用いて、以下の項目について 2 群間で比較検証した(図 17.)。

- ① 骨断端皮質骨に接する気孔開口部側における HAp 内の骨形成に伴う変化領域(骨と連続する高吸収域)
- ② 骨断端皮質骨に接する気孔開口部側における HAp 内の全ての変化領域(骨と連続する高吸収域、及びその周囲の低吸収域)
- ③ HAp 辺縁から最深部までの距離

いずれの項目も、画像観察時に手動で関心領域を抽出し、Image-J® (U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) を用いて計測した。2 群間の比較における統計学的手法については、Mann-Whitney U-test(p 値が 0.05 未満を統計的に有意とみなす)を用いた。

B) 組織学的評価

UDPHAp ブロックの VG 染色組織標本の 3 スライス(半断面、中央から 1 mm、中央から 2 mm)を用いて、材料内骨形成領域に関する以下の項目について 2 群間で比較検証した。

① UDPHAp ブロック内の骨形成領域面積

VG 染色では、成熟骨・石灰化骨は緑、類骨や骨髄は赤に染色される。緑もしくは赤に染色される領域を含めて骨形成領域と定義した。計測方法は、以下の通りとした(図 18.)。

1. 観察は光学顕微鏡(BX51、オリンパス社、東京)を用いて行った。低倍率で観察し、顕微鏡用デジタルカメラ(DP80、オリンパス社)にて画像を取り込み、分割された画像から全体像を再構成した。
2. 画像ファイルの処理は Photoshop CC[®] (Adobe Systems, San Jose, CA) を用い、以下のように骨形成領域を抽出した。
 - UDPHAp ブロックの輪郭は容易に確認できるため、その境界にあわせて長方形に Cut した。
 - 骨形成領域の色調を選択後、自動選択ツールを利用して画像全体の近似色領域が抽出されるようにした。肉眼で観察しながら、抽出領域について骨形成領域が含まれるように手動で調整した。
 - 上記抽出領域を青色(R 0/255、G 0/255、B 159/255)に塗りつぶした。
3. 次に画像解析ソフト Image-J[®]にて以下のように面積計測を行った。
 - Split Channels で特定のチャンネル(RGB)ごとに画像をグレースケールで分解した。
 - red チャンネルにて、塗りつぶした領域のみが選択されるように threshold を調節し(0-25)、選択領域のみが 255/255 として抽出されるようにした。
 - 抽出領域に関して、面積計測した。(なお、Photoshop CC[®]、Image-J[®]ともにスケールバーを用いて寸法を設定し直して補正した。)

組織標本の 3 スライス(半断面、中央から 1 mm、中央から 2 mm)に関して、部位

ごとでの 2 群間比較、及び 3 スライス合計での 2 群間比較を実施した。2 群間の比較における統計学的手法については、Mann-Whitney U-test(p 値が 0.05 未満を統計的に有意とみなす)を用いた。

② 領域別の組織像について

マイクロ CT 画像上 UDPHA_p ブロック内に認められた、骨断端皮質骨に接する気孔開口部側における材料内骨形成に伴う高吸収域、及びその周囲の低吸収域のそれぞれについて、組織学的所見を VG 染色標本、HE 染色標本にて観察した。

4-3. 結果

A) 放射線学的評価

応力遮蔽群 4 頭、負荷群 6 頭のマイクロ CT 画像は図 19、20 の通りであった。応力遮蔽群ではほとんど材料内に骨断端から連続する高吸収域は認められず人工骨内部も均一に描出されていたが、負荷群では、気孔内部に骨断端から連続する領域において材料内部に高吸収域を認め、骨再生が旺盛に生じていた。その骨新生領域周辺には黒い低吸収領域が確認され、内部の気孔構造が変化していることが示唆された。

① 骨断端皮質骨に接する気孔開口部側における HAp 内の骨形成に伴う変化領域 (骨と連続する高吸収域)

応力遮蔽群および負荷群について、図 21.にて結果を示す。2 群間の比較において、近位側面積および合計面積で有意差を認めた(合計面積 $p=0.002$ および近位側面積 $p=0.011$)。遠位側面積では異なる傾向はあるものの有意差はなかった($p=0.055>0.05$)。

② 骨断端皮質骨に接する気孔開口部側における HAp 内の全ての変化領域(骨と連続する高吸収域、及びその周囲の低吸収域)

応力遮蔽群および負荷群について、図 22.にて結果を示す。2 群間の比較において、近位側面積、遠位側面積及び合計面積でいずれも有意差を認めた(合計面積 $p=0.0002$ 、近位側面積及び遠位側面積 $p=0.011$)。

③ HAp 辺縁から最深部までの距離

応力遮蔽群および負荷群について、図 23.にて結果を示す。2 群間の比較において、近位側及び遠位側で有意差は見出されなかったが(近位側($p=0.055 > 0.05$)及び遠位側 ($p=0.201 > 0.05$)、応力遮蔽群よりも負荷群の方が深部まで侵入している傾向があり、両側の合計では有意差を認めた($p=0.002$)。

B) 組織学的評価

応力遮蔽群 4 頭、負荷群 6 頭の組織マクロ画像は図 24、25 の通りであった。

① UDPHA_p ブロック内の骨形成領域面積

応力遮蔽群および負荷群について、結果を図 26.に示す。2 群間の比較において、スライス毎の検証では 1 mm スライスのみ有意差を認めた($p=0.033$)。3 スライス合計では有意差がなかった($p=0.09 > 0.05$)が、荷重による影響がより大きく反映されるブロック中央寄りの割面と 1 mm スライス 2 スライスの合計では、2 群間で有意差を認めた($p=0.033$) (図 27.)。

② 領域別の組織像について

➤ マイクロ CT 上の UDPHA_p 内高吸収域

VG 染色にて、気孔内部に骨断端から連続する(一部は気孔内に孤立する)新生骨

領域を認めた。新生骨領域の一部では、赤く染色される幼弱な骨組織が存在していた(図 28.)。

➤ マイクロ CT 上の UDPHAp 内高吸収域周囲の低吸収域

VG 染色にて、気孔内部に骨断端から連続する(一部は気孔内に孤立する)新生骨領域の先端部は、配向性の気孔構造に形作られた侵入組織構造ではなく、非連続かつ不整で黒い微小顆粒が多数存在し線維性組織が混在していた領域を認めた(図 29.)。なお、さらに材料中央は HE 染色にて赤く染色される線維組織を認め、その内部に血管様構造を認めた(図 30.)。

4-4. 考察

自験モデルを用いて、応力遮蔽群と負荷群を作製し、UDPHAp ブロックにかかる荷重環境の変化が骨再生(材料内骨形成)に与える影響を検討した。一部、埋植した母床側から侵入する新生骨の影響で有意差が統計学的には不明確な部分もあったが、荷重による影響がより大きく反映されるブロック中央寄りの皮質骨断端と接する領域を主体に考えると、放射線学的にも組織学的にも負荷群よりも応力遮蔽群で有意に骨再生が抑制される結果となった。

第 1 章に記載の通り、自家骨の形成や吸収に力学的刺激が関与している[60-63]ことは広く知られており、骨折治療においても荷重のメリット[64]が提唱されている。しかしながら、bone chamber に荷重をかけた研究において骨形成に有利であったという報告[105-107]がある一方で、むしろ荷重が骨形成を阻害したという報告[108]も存在しており、一定の見解が得られていない。少なくとも“適切な荷重範囲”がどの程度であるか未だ不明で検討すべき余地がある。

今回、添付文書上の「荷重部」に該当するような適応に対して、LCP 固定下に限定

した荷重範囲での検討を実施した。わずかに 2 群のみの荷重条件ではあるものの、本研究結果より、LCP 下の荷重範囲では荷重がかかるほど骨再生が促進される傾向にあるのではないかと、もしくは応力遮蔽群のように“適切な荷重範囲”より下方へ逸脱する場合骨再生が抑制されたのではないかと推測された。また、“適切な荷重範囲”に上限が存在することは、LCP よりも固定支持性が弱い創外固定器を用いた予備実験において本研究よりも荷重がかかるものの骨再生不良であったことから推察可能である。(なお、荷重のみならず固定の不安定性に伴う接触界面の移動など別の要因も関連してくるため同一に扱うことは困難という考えも否定はできない。)今回実施した 2 群のみでは、LCP 固定下に限定した荷重範囲で、その上限を超えるか否か検討できなかった。今後、LCP を 1 穴ずつ固定するような固定支持性の低い条件の検討も必要と思われる。本研究において“適切な荷重範囲”を規定することができなかったが、少なくとも、添付文書上の「荷重部では、内固定などの併用により HA 人工骨自体に過度の荷重がかからないように臨床現場で用いること」という認識以上に、LCP 設置条件によるわずかな荷重の違いが骨再生に影響を及ぼすことが示された。実際の臨床では、解剖学的に重要な器官の位置などで手術アプローチが限定されることも多いが、今回の知見を有効に生かすことは可能と思われる。

また、骨補填材に荷重をかけた際の骨再生への影響に関する研究は極めて少ない。そもそもセラミックス製人工骨は硬いが弾性が低いため、もろくて砕けやすい性質があることから、積極的に荷重することは想定されていないと思われる。再生医療目的の医療シーズとして、細胞を担持した scaffold 自体へ力学的負荷をかけることが細胞増殖・圧縮強度の向上に有効である報告[109]もあるものの、人工骨のみに荷重をかけた際の知見は、吸収性骨補填材に骨髄内埋植環境下で力学的刺激が材料内骨形成を促進する報告 [65,66]の 2 報程度のみで、HA 人工骨で同様の検証をした報

告は渉獵し得た限り存在しなかった。更に、HA 人工骨に関する荷重への影響評価の参考となる知見として、人工関節表面に実施されている HA コーティングに関する文献調査も実施した。荷重による骨固定性能向上を認めた報告[110,111]などがある一方で、人工股関節の術後荷重時期の違いではインプラントの固定に関わる放射線学的所見に差分を認めなかったという臨床報告[112]も存在しており、HA コーティングに対する荷重のメリットについても一定の見解が見出せなかったが、応力遮蔽によるインプラント周囲の骨吸収は広く知られていることから避けるべきとされていた。

今回の UDPHAp ブロックに荷重をかけた影響に関する研究において、上記文献報告と同様に適切な荷重が材料内骨形成に有用であり、応力遮蔽があれば骨形成不良となることが確認できた。先行研究[65,66]のような、徐々に縮小し周囲の健常骨組織に置換されることで材料内部まで荷重の影響が伝わりやすい吸収性骨補填材ではなく、非吸収性骨補填材である HA 人工骨ブロックにおいても周囲から荷重をかけることで骨再生に影響をもたらした。UDPHAp ブロックの骨再生(材料内骨形成)に関わる影響因子として、以下の3つの点を考えている。

①材料・骨界面での骨新生に伴う気孔開口部からの侵入

・・・骨断端において、先述の通り適切な荷重刺激が自家骨再生を促進するため、それに伴い、材料周囲から新生骨組織が侵入する

②気孔内に侵入した細胞・組織への流体剪断応力による刺激[113]

・・・埋植初期に材料内部へ侵入し生着した細胞・組織に対して、血液や間質液等の液体由来の刺激が付与されることで骨再生される

③気孔構造変化に伴う材料内部での細胞周囲環境の微細な変化

・・・HA 人工骨ブロックの気孔壁が継続的に変化することで、なんらかの形で骨再生に寄与する可能性

①②については特に異論はないと想定される。なお、これらの影響因子が UDPHAp ブロックの特徴的な配向性連通性気孔構造の恩恵を受ける部分であろうと考えられた。

③について、放射線学的にも組織学的にも、材料内骨形成の先端部で UDPHAp ブロックの気孔構造が不整になった部分が存在しており、1) 骨断端から伝わる荷重による微小な気孔構造の破綻が気孔構造を不整化しその内部への骨形成を阻害する、2) 骨形成領域とそうでない領域が存在することで結果的に強度の相違によって界面で気孔構造が破綻し不整化する、という2つの推測をした。現時点ではその真偽は不明であるが、荷重刺激により UDPHAp ブロックの気孔構造が長期間継続的に変化することが結果的に骨再生に寄与しているのではないかと考えられた。

本検証のリミテーションは、LCP 併用における UDPHAp ブロックへの荷重範囲がどの程度か不明であること、荷重条件が 2 群のみで限定的なことである。荷重と材料内骨形成の相関関係についての詳細は言及できず、“骨再生のための至適負荷”および“適切な荷重の範囲”はどの程度であるか明らかにすることが今後の課題である。本検証結果で、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨自体の圧縮強度の重要性は増したものの、臨床上どの程度の影響があるか考察するには情報が不十分であった。

また、HA 人工骨ブロック表面に対する局所的な荷重が「単位面積当たりどの程度である」というように規定できない点も本検証の問題点の 1 つである。本研究結果を踏まえた場合、負荷群のように UDPHAp ブロックの前後で固定支持性が異なる場合には当然骨再生も同様に推移するはずである。しかしながら、マイクロ CT 矢状断などを確認する限りでは、UDPHAp ブロックの前後で骨再生が大きく異なるという印象はなかった。第 3 章で確認したような高負荷でないため、前後における荷重の違いが

大きく影響していない可能性はある。しかしながら、骨欠損作製時の誤差や UDPHA_p ブロック設置の際のわずかな緩みが影響した可能性も否定はできないと考えた。用手的にモデルを作製する以上限界はあり、局所的な検証が困難であることがリミテーションである。なお、第 3 章の妥当性検証結果より、骨欠損部の最外側(：表面)及び髓腔側(：奥)では表面側の方が変位量は大きいはずであるが、骨再生は皮質骨断端に接する部分である程度旺盛であるものの、髓腔側(：奥)の母床側から侵入する新生骨も良好な部分も散見された。荷重の影響のみならず、血流や骨芽細胞など骨再生に要する供給にかかわる影響が反映されたと推測した。

4-5. 小括

- LCP プレートによる内固定併用下での UDPHA_p ブロックにかかる荷重環境の変化が、骨再生(特に材料内骨形成)にどのように影響するか皮質骨部分欠損荷重動物モデルを用いて検証した。
- 放射線学的評価及び組織学的評価に基づき、UDPHA_p ブロックへ荷重がかからないと、骨再生が抑制されることを確認した。
- 気孔構造が圧潰しない LCP 併用下では、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨自体に荷重をかけることが骨再生に有用な可能性が示唆された。

第 5 章

UDPHAp 椎弓スペーサーの骨癒合に関する臨床研究

5-1. 背景および目的

第 4 章において、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨であっても、応力遮蔽となる埋植環境では骨再生が達成できない可能性があることが示された。高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨を使用する適応対象として、良性骨腫瘍搔爬後等の髓腔内欠損部以外にも、椎弓スペーサーや脊椎後側方固定術の移植骨など、骨髄外への骨移植が中心となるような荷重のかかりづらい埋植環境へも使用されていることから、これらの適応対象に用いた際の高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の骨再生に関する調査は重要な意義を持つと考えられる。添付文書上の「非荷重部」となる適応の骨再生について動物試験では検証困難と考え、臨床調査を実施することとした。

今回、整形外科における上記適応の代表として、使用症例数が多いことと高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨にかかる荷重に乏しいことから、頰椎症性脊髄症等の外科的治療である椎弓形成術に用いる椎弓スペーサーに焦点をあてた。頰椎椎弓形成術とは脊柱管が狭小化し脊髄に圧迫をきたし神経症状を引き起こす場合の外科的治療の 1 つであり、その際に用いる椎弓スペーサーは開大した椎弓の保持のため、非吸収性のマルチフィラメント縫合糸にて椎弓へ結紮固定し用いられる。「片開き式」と呼ばれる、椎弓を一側の椎間関節内側で切離し、椎弓群をひと塊として回転浮上させる術式と、「両開き式」と呼ばれる、椎弓棘突起を正中で縦割し椎弓群を両側に開大する術式が存在し、いずれかの術式を意図した形状の HA 人工骨椎弓スペーサーが各社で開発されている。

UDPHAp 椎弓スペーサーは 2009 年初回承認後、2012 年 12 月よりスペーサー形状を一部変更し現在に至る。本研究では、形状変更以降の UDPHAp 椎弓スペーサーを対象とした。「つばあり」と「つばなし」の2つの形状が存在する(図 31.)。「つばあり」は骨断端に引っ掛けることによる沈下予防や結紮固定時の強度向上を意図しており、「つばなし」は「つばあり」よりも広い接触面積の確保が可能である。両形状ともに一長一短あり、術者の好みで選択されることが多い。なお、スペーサーサイズについては術中トライアルを用いて適宜調整可能である。いずれの形状も椎弓断端と接触する 2 面が気孔開口面となるように配向連通方向が規定されており、スペーサー中央の糸通し孔より非吸収糸を通して、開大した椎弓部に結紮固定して両開き式椎弓拡大形成術に用いられる形状に合わせて開発されている。当科では矢吹法による両開き式椎弓拡大形成術[114]を実施しており、原則的には自家骨棘突起を成形したスペーサーを用いている。しかしながら、棘突起が小さい、骨量が不足するなど、スペーサーの作製に苦慮する場合において UDPHAp 椎弓スペーサーを選択している。

本研究の目的は、「UDPHAp 椎弓スペーサーの短期成績を調査し、HA 人工骨としての骨癒合性能について評価すること」である。

5-2. 対象および方法

UDPHAp 椎弓スペーサーを用いた症例は、筑波大学付属病院を含む筑波大学整形外科の関連病院を中心に市販後調査の一環として、臨床評価を実施中である。これらに登録された症例について、後ろ向き比較対照研究として調査した。

5-2.1 対象

2012 年 12 月～2013 年 6 月で実施した両開き式椎弓拡大形成術症例は 38 例存在した。これらの症例の内、術直後と最終観察時の CT 画像が収集できた 24 例(平

均 78 歳 男性 10 例、女性 14 例)を対象とした。なお、CT の撮影期間は、術直後(術後 2~4 週間)及び最終観察時(術後 6 か月以降)と定義し、前述の通り該当する期間の画像が収集できなかった症例は今回の検討に含めなかった。

24 例のうち、「つばあり」、「つばなし」を使用する症例は概ね分かれており、混合使用は 1 例のみであった。自家骨棘突起スペーサーについては「つばあり」と「つばなし」で用いられた症例毎に集計して検討した。

検討した椎弓数は以下の通りであった。

➤ UDPHAp 椎弓スペーサー

「つばあり」23 椎弓 「つばなし」15 椎弓

合計：38 椎弓

➤ 自家骨棘突起スペーサー

「つばあり」32 椎弓 「つばなし」21 椎弓

合計：53 椎弓(ただし混合使用 1 例の 2 椎弓重複)

なお、使用椎弓高位レベルについては、表 3.の通りであった。設置する椎体高レベルはランダム化していなかったが、結果的に 2 群間の分散に有意差は認めなかった。

5-2.2 評価方法

Kaito T.らの先行研究[78]を参考に、術直後と最終観察時の CT 画像を用いて、① 脊柱管前後径の変化量(ΔH)、② 椎弓-椎体後壁角の変化量(ΔR)、③ 市川分類[115]に基づいた骨癒合スコアを評価した。

① 脊柱管前後径の変化量(ΔH) (図 32.)

椎弓スペーサーの腹側面と椎体後壁との距離を計測し、術直後と最終観察時との変化量の絶対値を求めた。

② 椎弓－椎体後壁角の変化量 (ΔR) (図 32.)

左右の椎弓と椎体後壁のなす角度を計測し、術直後と最終観察時との変化量の絶対値を求めた。

③ 市川分類に基づいた骨癒合スコア (図 33.)

椎弓スペーサーと椎弓断端の骨癒合の性状によって5型に分類した市川分類[114]を用いて評価した。その詳細は以下の通りである。

Type A: 椎弓スペーサー周囲に骨吸収が起こっている

Type B: 椎弓スペーサーと椎弓間に clear space が存在。新生骨は見られない

Type C: clear space はあるが、新生骨の形成を脊柱管内面に認める

Type D: clear space はなく、間隙には新生骨の形成がある

Type E: 脊柱管内に架橋するように新生骨が形成している

なお、Type C,D,E は「骨新生 (bone regrowth)」、Type D,E は「骨癒合 (bone union)」と判定基準が定義されており、これらが占める割合に関しても調査した。Type C 以上では骨間隙が残存していても骨新生による椎弓スペーサーの安定化が示唆される。原法では両側をまとめて総合的に評価するが、本研究では片側ごとに判定した。なお、自家骨棘突起では骨の連続性を認めたものを「骨癒合」と判定した。

UDPHAp 椎弓スペーサーと自家骨棘突起スペーサーとの比較を主要評価とし、副次評価として、UDPHAp 椎弓スペーサーの「つばあり」と「つばなし」での比較を実施することとした。統計学的手法について、Mann-Whitney U-test (p 値が 0.05 未満を統計的に有意とみなす)を用いた。

5-3. 結果

① 脊柱管前後径の変化量 (ΔH)

図 34.に結果を示す。

(ただし、「つばあり」では 5/21 椎弓、「つばなし」では 2/32 椎弓 合計 7/53 椎弓でスペーサー吸収があり ΔH は測定不能であった。)

UDPHAp 椎弓スペーサーと自家骨棘突起スペーサーとの比較において、有意差はなかった ($p=0.28$)。また、UDPHAp 椎弓スペーサーの「つばあり」と「つばなし」での比較においても、有意差はなかった ($p=0.26$) (図 35.)。

② 椎弓-椎体後壁角の変化量 (ΔR)

図 34.に結果を示す。

UDPHAp 椎弓スペーサーと自家骨棘突起スペーサーとの比較において、有意差はなかった ($p=0.16$)。また、UDPHAp 椎弓スペーサーの「つばあり」と「つばなし」での比較においても、有意差はなかった ($p=0.29$) (図 35.)。

③ 市川分類に基づいた骨癒合

表 4.にそれぞれの群における Type 別のスペーサー数を示す。

自家骨棘突起スペーサーについて、成形して菲薄化した一部は経時的に吸収され、最終観察時に消失しているものが散見された。残存した症例では Type D 及び Type E のみであった。骨新生率及び骨癒合率について、便宜的に消失例を Type B 以下として扱い算出した(表 5.)。結果、UDPHAp および自家骨棘突起スペーサーとの比較において有意差を認めた ($p=0.00$)。

5-4. 考察

椎弓スペーサーに求められる性能について、Kimura A.らは、「椎弓を切削した側溝が骨癒合するまで脱転しないことが大部分を占める[82]」と述べている。頚椎椎弓形成術用チタン製インプラント「CENTERPIECE OD プレートシステム」(医療機器承認番号:22400BZX00483000)という類似医療機器が存在し[116,118]、また、薬事承認上使用可能な医療機器は存在しないものの、スーチャーアンカーを用いて開大した椎弓を支持する手法が存在する[117,118]ことから、上記意見に賛同する。本調査においても、埋植後早期の脱転に関する知見を得るため、脊柱管前後径の変化量(ΔH)、椎弓-椎体後壁角の変化量(ΔR)に着目した。しかしながら、椎弓とスペーサー界面の骨再生に関しても、椎弓スペーサー脱転のリスク低減のため、術者はある程度期待している性能ではないかと考えられる。椎弓スペーサーへの骨再生(材料内骨形成)までは確認困難であることから、過去の報告に基づいて、骨癒合を判定する手段の1つである市川分類を用いて評価した。

本調査の結果としては、「非荷重部」での適応である UDPHAp 椎弓スペーサーでは、骨再生能は自家骨棘突起スペーサーよりも劣っており、椎弓構造の再生は達成不十分であった。一方で、設置後の変位量は自家骨棘突起スペーサーと同等だった。現時点では、UDPHAp 椎弓スペーサーにおいても期待される役割は十分に果たしており、臨床成績に影響していないことが示唆された。

また、UDPHAp 椎弓スペーサーがどの程度の性能をもつのか、他の HA 人工骨椎弓スペーサーとの性能差について検証することで、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の骨癒合性能を推し量る知見が得られると考えられた。他の HA 人工骨椎弓スペーサーの成績について、本研究がシングルアームで比較対象が存在しないことから、文献検索サイト“PubMed”において、HA 人工骨椎弓スペーサーの骨癒合に関す

る報告をシステマティックにレビューすることとした。(検索フロー: 図 36.)

上記により抽出された計 7 報[72-78] 計 380 例(片開き 2 報 128 例、両開き 5 報 252 例)の臨床情報に基づいて検討した(抽出文献リスト①: 表 6.)。UDPHAp 椎弓スペーサーのような高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨(気孔率 50%以上で、製品紹介パンフレットに気孔間連通性が備わっているとされる品目と定義)を用いた報告はそのうちわずか 3 報[73,75,78]のみであり、本研究と同様の両開き式の報告は 5 報のみで、両者に該当する報告はわずか 2 報のみであった。同様に“医中誌 Web”にて国内報告を調査すると 15 報(会議録 3 報含む)抽出されたが、製品特定が困難な報告も多く、評価時期もばらつきが大きいいため、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨を含む HA 人工骨椎弓スペーサーの骨癒合性能の知見は限定的であった(抽出文献リスト②: 表 7.)。文献値に基づいた、UDPHAp 椎弓スペーサーと他の HA 人工骨椎弓スペーサーとの性能比較については以下の通りであった。

椎弓スペーサーの脱転に関して、本研究においても、脊柱管前後径の変化量(ΔH)、椎弓-椎体後壁角の変化量(ΔR)は UDPHAp 椎弓スペーサーと自家骨棘突起スペーサーに有意差は存在せず、平均値としては支障がない結果であった。しかしながら、わずかながら経時的なずれが生じていた症例やスペーサーにひび(折損ではなく、辺縁の破損)が入った症例も存在していた。脱転の程度に関して、変位のばらつきも許容可能であるか検討するため、Kaito T.らの検証[78]で用いられた「脱転の基準」である $\Delta H > 2\text{mm}$ $\Delta R > 10^\circ$ を用いて、UDPHAp スペーサーについて再確認も行った。 $\Delta H > 2\text{mm}$ に該当する症例はつばあり 4/23 椎弓 つばなし 2/15 椎弓 合計 6/38 椎弓 (15.8%)、 $\Delta R > 10^\circ$ に該当する症例はつばあり 3/46 界面 つばなし 2/30 界面 合計 5/76 界面 (6.6%)であった。前世代 HA 人工骨のボンフィル®[74]では、 $\Delta H > 2\text{mm}$ 116/278 椎弓 (42%)、 $\Delta R > 10^\circ$ 33/86 椎弓 (38%)であったこと

から、UDPHAp スペーサーは前世代 HA 人工骨より脱転頻度は低いと考えられた。

次に椎弓スペーサーの骨癒合に関して、想定内であるが、本研究結果は自家骨に比して UDPHAp 椎弓スペーサーの方が骨癒合に劣る結果となった。しかしながら、文献調査によれば、術後 1 年における市川分類から算出された骨癒合率は、高気孔率 HA 人工骨のボンフィル[®]で 8.7%[78]及び 47.4%[80]、アパセラム[®]で 27.4%[77]であり、UDPHAp 椎弓スペーサーの骨癒合率は約 30%程度と過去の報告と同等以上であり、連通性高気孔構造が有利に作用したと考えられた。(なお、片開き式用のスペーサーの骨癒合率について、石川分類ではなく CT 画像で間隙の有無で評価されていることから一概に比較困難である。参考値であるが、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨スペーサー(ネオボーン[®])の骨癒合率(椎弓側)は術後 1 年で 50~90%程度と報告されていた[79]。椎弓中央よりも椎間関節周囲の方が海綿骨も豊富であり骨癒合に適した環境が僅かながら異なるためと推察された。)

また、本研究において、椎弓スペーサーのつば形状による、脱転、骨癒合に関わる結果は不変であった。形状別の知見はわずか 1 報[77]のみで、「つばあり」形状の方が椎弓断端との接触が不良となり骨癒合に有意差があったという結果であった。製品ごとにつば形状もサイズも一様でないため何とも言えないが、UDPHAp 椎弓スペーサーにおいてはつば形状があることで椎弓断端との接触が不良となる症例はなく、骨癒合も差分はなかった。一般的につば形状の有無は術者の好みで選択されることが多いが、椎弓スペーサー設置の仕方を含めて統一した手法の下で複数の製品で検証する必要があると思われた。

HA 人工骨椎弓スペーサーの特有の不具合である、スペーサーの脱転がもたらす臨床的な有害事象として、硬膜損傷[119,120]および再狭窄[78,82]が知られている。

これらは、椎弓スペーサーの骨癒合が不良である際に潜在的に起こり得るリスクである。しかしながら、気孔間連通性が低く深部まで気孔内骨形成が期待できない HA 人工骨椎弓スペーサーだけではなく、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の椎弓スペーサーにおいても報告があることから、本スペーサーもこれらの不具合のリスクはゼロではない。スペーサー自身の折損[79,80,82]についても、高気孔率高気孔間連通性の程度によらず一定の割合で起こり得るリスクである。

以上より、「非荷重部」での UDPHAp ブロックとしての骨再生に関する性能を総合的に判断すると、自家骨に劣るものの、既存の HA 人工骨に対し同等以上の性能が期待される程度の臨床成績が確認され、臨床的に十分許容される程度の骨癒合性能を有していると考えられた。

なお、椎弓スペーサーの骨癒合及び脱転と、頚椎症性脊髄症の臨床成績とは相関性はないという報告[78]も存在する。おそらく設置位置のずれや骨形成不良による線維性癒合が生じても、軽度であれば临床上許容される機会が比較的多く、臨床評価スコアなどにも反映されづらいことが推測される。しかしながら、临床上問題が生じておらずとも骨再生に伴う不具合のリスクはゼロと捉えるべきではなく、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨ブロックとしての骨再生に関わる特性を詳細に評価し把握しておくことに意義があると考えられる。適応が異なればそのリスクは相対的に変容することから、椎弓スペーサー以外の適応で追加調査することが今後の課題である。

椎弓スペーサーの臨床調査としての本調査のリミテーションは、症例数が限定的であること、経過観察期間が 1 年程度と短期であること、CT 画像のスライスによって計測に誤差が生じることなどである。特に UDPHAp 椎弓スペーサーなど高気孔率高気

孔間連通性 HA 人工骨を用いた製品に関しては、術後 2~3 年程度で材料吸収を認める報告[79,121,122]があり、更なる長期追跡が必要である。また、UDPHAp ブロックの骨再生評価としてのリミテーションは、材料内骨形成の有無に関する知見が不明確であることである。

最後に、本章では「非荷重部」を対象に、骨癒合に対するワーストケースを想定して、HA 人工骨椎弓スペーサーの臨床調査を実施したが、第 3、4 章で検討した様な「荷重部」における UDPHAp ブロックの臨床成績について、現時点で得られている知見を述べたい。

「荷重部」で用いる適応として、第 1 章に記載した通り、①変形性膝関節症の外科的治療である高位脛骨骨切り術(HTO)での LCP 下での間隙の補填[123]や、②橈骨遠位端骨折による皮質骨欠損を伴う部位への埋植[124]で用いた際の UDPHAp ブロックの臨床報告がある。HTO および橈骨遠位端骨折のいずれにおいても、放射線学的に UDPHAp ブロックの辺縁や内部陰影は薄れていることから新生骨の材料内形成が進んでいる可能性が考察されている。また、橈骨遠位端骨折の別の報告においては、埋植 1 年経過時の抜釘術の際に材料内骨形成を組織学的に観察できた。上記 3 報では症例数も著しく限定されていることから、骨再生不良をきたした症例報告は確認出来なかった。内固定に用いる LCP は適応疾患ごとに専用の製品が用いられており、プレート強度が事前に調整されていることで、推奨される使用方法の範囲では骨再生に不利となるような事象が発生していないとも推察される。しかしながら、特に外傷においては骨折型や骨質など症例によって皮質骨の支持性は異なる可能性が高く、内固定方法や後療法により骨再生に適切な環境を提供できない可能性もゼロではない。不安定性が強い症例ほど LCP 設置を強固にしがちであるが、その際には第 4 章に検証したような応力遮蔽となる埋植環境を避ける様に留意する必要がある。

ある。また、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨ブロックの破損を呈さない程度に積極的な荷重を負荷することが骨再生(材料内骨形成)に寄与する可能性があり、内固定を強固にした場合ほど重要になるのではないかと推察した。

5-5. 小括

- UDPHA_p 椎弓スペーサーの短期成績を調査し、自家骨棘突起スペーサーと比較した。
- 脊柱管前後径の変化量(ΔH)、椎弓-椎体後壁角の変化量(ΔR)において、UDPHA_p 椎弓スペーサーと自家骨棘突起スペーサーに有意差はなかった。
- 市川分類に基づいた骨癒合評価においては、自家骨に比して UDPHA_p 椎弓スペーサーの方が骨癒合に劣る結果であった。
- 既存の HA 人工骨椎弓スペーサーと比しても脱転および骨癒合は概ね許容可能であったが、脱転に関する潜在的なリスクは UDPHA_p 椎弓スペーサーにおいても未だに存在していると考えられた。

第 6 章

UDPHAp ブロックを皮質骨開窓モデルに用いた際の 長期埋植後の骨再生について

6-1. 背景および目的

柱状の氷結晶をテンプレートとして利用する”freeze casting technique”と呼ばれる手法で気孔構造が作製される UDPHAp ブロックは気孔構造に新規性がある。一軸配向性連通孔構造が HA 人工骨の骨再生や骨リモデリング、及び材料吸収にどのような影響を及ぼすのか in vivo での知見は未だ不明な点も残る。

本研究では、第 4 章において「荷重部」における埋植短期の骨再生（材料内骨形成）について検証を実施したものの長期経過における骨再生の推移は不明であった。また、第 5 章では、臨床使用における骨再生（骨癒合）に対するワーストケースを想定して「非荷重部」である UDPHAp 椎弓スペーサーの臨床調査を実施したが骨再生は限定的であり、考察で後述の通り「荷重部」の UDPHAp ブロックの臨床成績に関する公表文献においても約 1 年程度の経過観察のみであった。

本章では、ビーグル犬を用いた動物モデルによる検証ではあるが、UDPHAp ブロックを長期埋植した際の骨再生の推移について検討した。

6-2. 対象および方法

6-2.1. 実験モデル

TOYO 系統ビーグル犬（平均体重 10 kg、雌、12-13 か月齢）4 頭を用いて、後述のように、UDPHAp ブロックを埋植した、脛骨近位の“骨欠損”モデル、大腿骨顆部の

“骨軟骨欠損”モデルをそれぞれ作製した。

6-2.2. 方法

6-2.2.1. 実験モデルの作製

midazolam (0.3 mg/kg of body weight) と medetomidine hydrochloride (約 0.03 mg/kg of body weight) を混合し筋肉注射により麻酔前投薬を行い鎮静後、sevoflurane による全身麻酔下に下記手術を実施した。

➤ 骨欠損モデル

Primado surgical drill (Nakanishi Co., Ltd., Japan.) を用いて、脛骨近位に 9 mm x 11 mm で皮質骨に開窓し、トライアルにて深さ 5 mm の皮質骨欠損を作製した。骨欠損と同一の四角錘台形状の UDPHA_p ブロックを埋植した。

➤ 骨軟骨欠損モデル

5 mm 径の骨ドリルを用いて、大腿骨膝蓋大腿関節と大腿骨内外顆の軟骨下骨部に骨欠損を作製し、骨欠損と同一サイズの円柱形状の UDPHA_p ブロック(直径 5 mm x 高さ 7 mm) を内顆および膝蓋大腿関節にそれぞれ埋植した。(外顆は骨欠損のままシャム群とした。)

埋植後 1 年時 (n=2)、2 年時 (n=1)、3 年時 (n=1) で検体を採取した。検体は 10% 中性緩衝ホルマリン溶液で固定処理した。検体は連通孔に平行方向で半切し、一方はメチルメタクリレート樹脂に包埋し非脱灰標本作製することとし、もう一方は EDTA 溶液で脱灰後にパラフィンに包埋して脱灰標本作製することとした。5 μm 厚の矢状断スライスにて、非脱灰標本は VG 染色を、脱灰標本は HE 染色および toluidine blue 染色を行った。更に骨軟骨欠損モデルにおいては、safranin-O 染色、Collagen (:Col) type I/II 染色も実施した(図 37.)。

6-2.2.2. 評価方法

➤ 骨欠損モデル

先行研究[56]の評価方法を参考に、UDPHAp ブロックを矢状断するスライスの新脱灰 VG 染色標本を用いて、以下のような評価項目について検討した(図 38.)。

- 材料内骨形成面積率 (bone ingrowth area ratio) : UDPHAp ブロックの断面積当たりの材料内骨形成面積の割合
- 骨固着 (bone bonding) 率: 気孔開口部面における、骨断端の接する総表面距離に対する、骨侵入領域した表面距離の割合
- 材料内骨形成 (bone ingrowth) 率: 骨断端の接する総表面距離に対する骨侵入領域の最深部までの距離の割合

➤ 骨軟骨欠損モデル

上記骨欠損モデルと同様に、軟骨下骨部における骨再生に関して新脱灰 VG 染色標本を用い、以下を計測した。

- 材料内骨形成面積率 (bone ingrowth area ratio) : UDPHAp ブロックの断面積当たりの材料内骨形成面積の割合

また、欠損部直上の関節軟骨表面について、safranin-O 染色、Col type I/II 染色標本を用いて以下を計測した。

- 再生軟骨層の厚み: 赤く染まる再生軟骨層の最も菲薄化した厚さを計測

なお、いずれにおいても、画像解析ソフト Image-J[®] にて測定した。

6-3. 結果

➤ 骨欠損モデル

埋植 1 年の 2 例において、1 例は骨再生を呈さなかったもの、もう 1 例では材料内骨形成が生じており、埋植 2 年および 3 年の各 1 例では材料内骨形成領域が増大するとともに UDPHAp が材料吸収し骨梁構造を伴う骨置換が生じた(図 39.)。

評価項目は表 8.の通りであった。なお、材料内骨形成の材料表面からの侵入深度は、実測値としては 2.7-4.3 mm 程度で、長期埋植であっても表面から 5 mm 以内に留まっていた。

➤ 骨軟骨欠損モデル

埋植 1 年、2 年、3 年のいずれにおいても気孔内に材料内骨形成を呈しているだけでなく、埋植 2 年、3 年の各 1 例においては UDPHAp ブロックの材料吸収および骨梁構造を伴う骨置換が生じていた(図 40.)。内顆の再生軟骨層は、周囲の健全領域に比して薄いものの外顆のシャム群よりも厚みが増していた。膝蓋関節部においては、軟骨組織の代わりに線維性組織による再生が生じていた(図 41.)。評価項目は表 9.の通りであった。

6-4. 考察

検体数も限定的な動物試験結果であるものの、本研究において、骨欠損モデルでは UDPHAp ブロックは良好な骨伝導性だけではなく、経時的に材料吸収を伴い骨置換されることが推測された。少なくとも、埋植初期に線維性組織により UDPHAp ブロック周囲に被膜が形成されない場合は、UDPHAp ブロックは経時的な骨再生が生じていた。また、骨軟骨欠損モデルでは、UDPHAp ブロックの埋植により軟骨下骨領域の再生に寄与し、軟骨再生が期待できる環境を提供している可能性が示唆された。

骨伝導性について、UDPHAp ブロックは他の高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨と同様と考えられた。材料内骨形成の侵入距離は 5 mm 程度で他の製品よりも比較

的良好であり、UDPHAp ブロックの特徴的な配向性気孔構造が有効だったと推定された。一方で、気孔開口部以外の面からの材料内骨形成は限定的であり、UDPHAp ブロックを用いる際には埋植する方向に留意する必要があると思われた。

材料吸収および骨置換について、本研究内で大腿骨顆部と脛骨で同様の所見を認めたものの、ウサギやビーグル犬を用いた先行研究[50-53,55,57-58]では殆ど認めておらず、唯一ヤギを用いた椎弓スペーサー埋植試験にて骨置換を伴わない材料吸収を一部に認めたのみ[56]であった。一般的に HA 人工骨は「非吸収性骨補填材」に分類されており、生体内で分解されない、もしくは埋植後長期間で緩徐に骨置換されると言われている。本研究結果は前述の知見と異なる結果であった。公表された文献報告[33]においては、同様に高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨であるアパセラム-AX[®]において 12 週で 1/3 程度の材料吸収を呈したものの、ネオボーン[®]においても本所見を認めていない。この違いについて、先の文献内では数百 nm 程度の「マイクロ気孔構造」の存在がリン酸カルシウム系合成セラミックス人工骨の分解に深く関わっているという知見[125, 126]が紹介されている。骨芽細胞及び破骨細胞の挙動や代謝に「マイクロ気孔構造」が関与している可能性が示唆されているものの、破骨細胞の挙動と「マイクロ気孔構造」の直接的な関与が十分に示された研究は存在しておらず、未だ詳細は不明である。しかしながら、UDPHAp ブロックはネオボーン[®]と同様にマイクロ気孔構造は存在しないことから別の要因が関与していることが推測された。

UDPHAp ブロックが従来の HA 人工骨よりもより早期に材料吸収や骨置換を呈した理由について、まず、種差による骨構造や骨代謝の違いが影響した可能性があると考えられた。ウサギはヒト、ヤギ、ビーグル犬と比べ骨構造に相違があり、骨代謝速度も速いことが知られており、また、破骨細胞の挙動も種差を伴うとされる。ウサギにおいて同様の長管骨開窓モデルを 104 週まで追跡したものの UDPHAp ブロック

の材料吸収はなく、今回ビーグル犬以上の大動物モデルで確認されたことから、そのような推察を行った。なお、ヒトへの使用について、その真偽ははっきりしないものの、第5章にて前述した通り、椎弓スペーサー使用時に2~3年の経過で骨置換を伴わない材料吸収を呈した症例の存在[122]や、HTO や橈骨遠位端骨折に使用した際にUDPHAp ブロックの辺縁が不明瞭となり骨新生により材料内部のCT値が変動した報告[123,124]などに鑑みて、本結果と同等の挙動を示す可能性は十分にあると推測された。

材料吸収および骨置換を生じた理由のもう一点として、“freeze casting technique”で作製されるUDPHApブロックは薄い壁で出来ており、材料内部に侵入した血管由来の細胞やサイトカインの影響を受けやすいのではないかと推測した。少なくとも、VG染色で赤く示される未熟な骨領域は、UDPHApブロックの残存領域と周囲骨組織の境界部にて散見されることから、HA人工骨と周囲組織の間でなんらかのインタラクションを介して材料吸収および骨置換が生じていたと思われる。

なお、本検証動物モデルは皮質骨部分欠損が存在することで一定の荷重がかかる「荷重部」と想定されるものの、周囲が健全骨領域で囲まれており「非荷重部」とも捉えられなくはない。“適切な荷重の範囲”が不明であるため、本検証動物モデルがどちらに該当するか不明確ではあるものの、骨再生が十分に生じる環境下にUDPHApブロックを埋植した際、皮質骨部分欠損および骨髄内において材料吸収および骨置換を比較的早期に呈することが本研究にて示唆された。

本研究のリミテーションは、検体数が少ないこと、一検体を経時的に追跡している訳ではないため埋植初期に骨形成不良である際に経時的に材料内骨形成が進行するのか完全に検証できておらず不明な点も残ることなどが挙げられる。大動物およびヒ

トに UDPHAp ブロックを用いた際の長期の挙動について今後も経過観察していく必要があると考える。

6-5. 小括

- ビーグル犬を用いた検証にて、UDPHAp ブロックを長期埋植した際の骨再生の推移について検討した。
- 従来の HA 人工骨は非吸収性骨補填材と考えられていたものの、骨再生が十分に生じる環境下においては UDPHAp ブロックでは埋植後 2~3 年で材料吸収および骨置換を認めた。
- ミクロ気孔構造以外の要因にて、材料吸収・骨置換が UDPHAp ブロックに生じた可能性がある。

第 7 章

総括

7-1. 考察

本研究の目的であった以下の 3 点について、それぞれの結果を踏まえて考察する。

- ④ 「荷重部」での使用に関して、UDPHAp ブロックに対する荷重が骨再生（材料内骨形成）に及ぼす効果を動物試験にて組織学的・放射線学的に検討する。

自験モデルを用いた荷重動物試験において、結果として、LCP 設置下の人工骨破損が想定されない荷重範囲において、荷重がかからず応力遮蔽されると骨再生は抑制されることが示された。しかしながら、荷重と材料内骨形成の相関関係についての詳細は言及できず、“骨再生のための至適負荷“および“適切な荷重の範囲”はどの程度であるか詳細に指摘することは出来なかった。

臨床現場においても内固定が十分であれば術後早期より可動域訓練や部分荷重訓練を行い、患部に応力をかけることも実際に行われている。現状では過去の慣習や医師の経験則に沿って、その荷重量については決定しているというのが現状であるが、“術後早期にどの程度の荷重が適切であるか”の指標が見出せれば臨床的意義は大きい。臨床症例による検討ではばらつきが大きく検討困難であることから、HA 人工骨使用時の術後荷重を決定する参考値として自験モデルのような荷重動物試験結果などが役立つ可能性がある。自験モデルの利点として、骨欠損幅を増減させること、LCP 位置やスクリュー本数を変容させることで様々な埋植条件での検討ができることから、“骨再生のための至適負荷“および“適切な荷重の範囲”を更に限定で

きる期待は持てる。現時点では、少なくとも、HA 人工骨の破損が生じないように LCP 設置下に高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨を使用する際には、応力遮蔽とならないように留意しておく必要がある。

また、BMP などの生理活性物質や骨芽細胞などを担持した人工骨の性能が今後期待される中で、現在のセラミックス製人工骨の性能の限界についてより詳細に検討しておくことが今後重要な意味を持つてくる。また、薬剤活性がなくとも、現在 3D プリンターなどの技術が発達し、気孔構造自体を意図的に調整してセラミックス製人工骨を作製することが可能となってきたことから、薬剤を担持したコンビネーションプロダクトだけでなく、人工骨自体のスペックを比較検討する必要性は今後増すことが推測される。そのような課題に対して、自験モデルによる荷重動物実験検証が人工骨の性能を推し量る一助となり得る可能性がある。

- ⑤ 「非荷重部」での使用に関して、皮質骨欠損や骨髄外へ埋植対象の一例である、UDPHAp 椎弓スペーサーの骨再生(骨癒合)に関する調査を行う。

UDPHAp 椎弓スペーサーの短期成績としては、脊柱管前後径の変化量(ΔH)、椎弓-椎体後壁角の変化量(ΔR)において、UDPHAp 椎弓スペーサーと自家骨棘突起スペーサーに有意差はなかった。市川分類に基づいた骨癒合評価においては、自家骨に比して UDPHAp 椎弓スペーサーの方が骨癒合に劣る結果であった。既存の HA 人工骨椎弓スペーサーと比しても脱転および骨癒合は概ね許容可能であったが、脱転に関する潜在的なリスクは UDPHAp 椎弓スペーサーにおいても未だに存在していると考えられた。

上記に基づいて、「非荷重部」での UDPHAp ブロックとしての骨再生に関する性能を総合的に判断すると、自家骨に劣るものの、既存の HA 人工骨に対し同等以上の性

能が期待される程度の臨床成績が確認され、臨床的に十分許容される程度の骨癒合性能を有していると考えられた。しかしながら、①の検証結果の通り、「非荷重部」において骨再生が不良であることに十分留意する必要があると思われた。これらに該当する適応に高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨を使用する際は、骨再生に限界があることを十分理解した上で、なるべく骨との接触面に圧迫力が適切にかかるように設置し、場合によっては自家骨移植も併用して骨新生能および骨誘導能も補完することも一案として、臨床上のリスクが軽減出来るように努めるべきである。

⑥ UDPHAp ブロック内の骨再生(材料内骨形成)が経時的にどのような挙動を示すのか、長期埋植した動物試験に基づいて考察する。

ビーグル犬脛骨開窓部に長期埋植した際の骨再生の推移について、UDPHAp ブロックでは埋植後 2~3 年で材料吸収および骨置換を認め、材料深部までの骨再生が経時的に進行していることが確認された。

高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨の全てで同様の知見があるかは不明であるが、少なくとも UDPHAp ブロックにおいては埋植初期に材料内骨形成をきたせば上記のような期待が持てることから、埋植環境下における高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨ブロックへの荷重に関する意識をより一層重要視するべきである。

最後に、荷重環境をテーマとした本研究結果より、配向性構造によって初期圧縮強度および経時的な圧縮強度の向上が期待できる UDPHAp ブロックのコンセプトは今後更に重要な意味を持ってくる可能性がある。今後も、基礎研究および臨床研究にて、追跡調査して行きたい。

7-2. 結論

- 「荷重部」の適応を模擬した荷重動物試験において、LCP 設置下の人工骨破損が想定されない荷重範囲では、荷重がかからず応力遮蔽されると骨再生は抑制されることが示された。
- 荷重環境が骨再生(材料内骨形成)に影響することを示唆する結果は得られたが、荷重と材料内骨形成の相関関係の詳細まで言及することは出来なかった。
- 気孔構造が圧潰しない LCP 併用下では、高気孔率高気孔間連通性 HA 人工骨自体に荷重をかけることが骨再生に有用であり、逆に荷重がかからないと、骨再生が抑制されることを確認した。
- UDPHAp 椎弓スペーサーに関する調査結果では、自家骨に比して骨癒合率は劣っていたものの脱転率に有意差はなく臨床上許容可能であったが、「非荷重部」において骨再生が不良であることに十分留意する必要があると考えられた。
- 従来の HA 人工骨は非吸収性骨補填材であると考えられていたものの、骨再生が十分に生じる環境下においては UDPHAp ブロックでは埋植後 2~3 年で材料吸収および骨置換をきたす可能性がある。

引用文献

1. Abjornson C, Lane JM. Demineralized bone matrix and synthetic bone graft substitutes. In: Friedlaender GE, Mankin HJ, Goldberg VM., editors. *Monograph series 32. Bone grafts and bone graft substitutes.* : American Academy of Orthopaedic Surgeons; 2006:9-20.
2. Nandi SK, Roy S, Mukherjee P, Kundu B, De DK, Basu D. Orthopaedic applications of bone graft & graft substitutes: a review. *Indian J Med Res.* 2010;132:15-30.
3. Samartzis D, Shen FH, Goldberg EJ, An HS. Is autograft the gold standard in achieving radiographic fusion in one-Level anterior cervical discectomy and fusion with rigid anterior plate fixation? *Spine.* 2005;30:1756-1761.
4. Arrington ED, Smith WJ, Chambers HG, Bucknell AL, Davino NA. Complications of iliac crest bone graft harvesting. *Clin Orthop Relat Res.* 1996;329:300-309.
5. Kurz LT, Garfin SR, Booth RE Jr. Harvesting autogenous iliac bone grafts. A review of complications and techniques. *Spine.* 1989;14:1324-1331.
6. Fowler BL, Dall BE, Rowe DE. Complications associated with harvesting autogenous iliac bone graft. *Am J Orthop.* 1995;24:895-903.
7. Younger EM, Chapman MW. Morbidity at bone graft donor sites. *J Orthop Trauma.* 1989;3:192-195.
8. Russell JL, Block JE. Surgical harvesting of bone graft from the ilium: point of view. *Med Hypotheses.* 2000;55:474-479.
9. Myeroff C, Archdeacon M. Autogenous bone graft: donor sites and techniques. *J Bone Joint Surg Am.* 2011;93:2227-2236.
10. Aponte-Tiniao LA, Ritacco LE, Albergo JI, Ayerza MA, Muscolo DL, Farfalli GL. The principles and applications of fresh frozen allografts to bone and joint reconstruction. *Orthop Clin North Am.* 2014;45:257-269.
11. Muscolo DL, Ayerza MA, Aponte-Tiniao LA. Massive allograft use in orthopedic oncology. *Orthop Clin North Am.* 2006;37:65-74.
12. Aghdasi B, Montgomery SR, Daubs MD, Wang JC. A review of

- demineralized bone matrices for spinal fusion: the evidence for efficacy. *Surgeon*. 2013;11:39-48.
13. Gamradt SC, Lieberman JR. Bone graft for revision hip arthroplasty: biology and future applications. *Clin Orthop Relat Res*. 2003;417: 183-194.
 14. Russell JL, Block JE. Clinical utility of demineralized bone matrix for osseous defects, arthrodesis, and reconstruction: impact of processing techniques and study methodology. *Orthopedics*. 1999;22: 524-533.
 15. 名井陽. 人工骨の歴史と最近デザインコンセプト. *人工臓器*. 2011;40: 76-80.
 16. Goldberg VM, Akhavan S. Biology of bone grafts. In: Friedlaender GE, Mankin HJ, Goldberg VM. editors. *Monograph series 32. Bone grafts and bone graft substitutes*. American Academy of Orthopaedic Surgeons. 2006;1-8.
 17. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J*. 2001;10 Suppl 2:96-101.
 18. Samavedi S, Whittington AR, Goldstein AS. Calcium phosphate ceramics in bone tissue engineering: a review of properties and their influence on cell behavior. *Acta Biomater*. 2013;9:8037-8045.
 19. Hench LL, Splinter RJ, Allen WC, Greenlee TK. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *J Biomed Res Symp*. 1971;2:117-141.
 20. Akao M, Aoki H, Kato K. Mechanical properties of sintered hydroxyapatite for prosthetic applications. *Journal of Materials Science*. 1981;16:809-812.
 21. Uchida A, Araki N, Shinto Y, Yoshikawa H, Kurisaki E, Ono K. The use of calcium hydroxyapatite ceramic in bone tumour surgery. *J Bone Joint Surg Br*. 1990;72:298-302.
 22. Matsumine A, Myoui A, Kusuzaki K, Araki N, Seto M, Yoshikawa H, Uchida A. Calcium hydroxyapatite ceramic implants in bone tumour surgery. A long-term follow-up study. *J Bone Joint Surg Br*. 2004;86: 719-725.
 23. Yoshikawa H, Tamai N, Murase T, Myoui A. Interconnected porous hydroxyapatite ceramics for bone tissue engineering. *J R Soc Interface*. 2009;6 Suppl 3:341-348.

24. Shibuya K, Kurosawa H, Takeuchi H, Niwa S. The medium-term results of treatment with hydroxyapatite implants. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2005;75:405-413.
25. Ogose A, Hotta T, Kawashima H, Kondo N, Gu W, Kamura T, Endo N. Comparison of hydroxyapatite and beta tricalcium phosphate as bone substitutes after excision of bone tumors. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2005;72:94-101.
26. Tamai N, Myoui A, Kudawara I, Ueda T, Yoshikawa H. Novel fully interconnected porous hydroxyapatite ceramic in surgical treatment of benign bone tumor. *J Orthop Sci.* 2010;15:560-568.
27. Urabe K, Itoman M, Toyama Y, Yanase Y, Iwamoto Y, Ohgushi H, Ochi M, Takakura Y, Hachiya Y, Matsuzaki H, Matsusue Y, Mori S. Current trends in bone grafting and the issue of banked bone allografts based on the fourth nationwide survey of bone grafting status from 2000 to 2004. *J Orthop Sci.* 2007;12:520-525.
28. 日本整形外科学会移植・再生医療委員会. 整形外科における組織移植の現状 (2005-2009年). *日整会誌.* 2011;85:458-465.
29. Sartoris DJ, Gershuni DH, Akeson WH, Holmes RE, Resnick D. Coralline hydroxyapatite bone graft substitutes: preliminary report of radiographic evaluation. *Radiology.* 1986;159:133-137.
30. Bucholz RW, Carlton A, Holmes RE. Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am.* 1987;18:323-334.
31. Tamai N, Myoui A, Tomita T, Nakase T, Tanaka J, Ochi T, Yoshikawa H. Novel hydroxyapatite ceramics with an interconnective porous structure exhibit superior osteoconduction in vivo. *J Biomed Mater Res.* 2002;59:110-117.
32. Sakamoto M, Nakasu M, Matsumoto T, Okihana H. Development of superporous hydroxyapatites and their examination with a culture of primary rat osteoblasts. *J Biomed Mater Res A.* 2007;82:238-242.
33. Yamasaki N, Hirao M, Nanno K, Sugiyasu K, Tamai N, Hashimoto N, Yoshikawa H, Myoui A. A comparative assessment of synthetic ceramic bone substitutes with different composition and microstructure in rabbit femoral condyle model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2009;91:788-798.
34. 小澤正宏, 森川茂. β -TCPの特徴と臨床応用. *関節外科.* 2002;21:1494-

1500.

35. Ogose A, Kondo N, Umezu H, Hotta T, Kawashima H, Tokunaga K, Ito T, Kudo N, Hoshino M, Gu W, Endo N. Histological assessment in grafts of highly purified beta-tricalcium phosphate (OSferion) in human bones. *Biomaterials*. 2006;27:1542–1549.
36. Shiels S, Oh S, Bae C, Guda T, Singleton B, Dean DD, Wenke JC, Appleford MR, Ong JL. Evaluation of BMP-2 tethered polyelectrolyte coatings on hydroxyapatite scaffolds in vivo. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2012;100:1782–1791.
37. He C, He C, Mo J, Fan X, Ji G, Liu W, Wu D, Zhu W, Wang D, Gao H. In vitro construction of tissue-engineered bone with bone morphogenetic protein-2-transfected rabbit bone marrow mesenchymal stem cells and hydroxyapatite nanocomposite. *Biomed Tech (Berl)*. 2013;58:97–104.
38. Jung RE, Weber FE, Thoma DS, Ehrbar M, Cochran DL, Hämmerle CH. Bone morphogenetic protein-2 enhances bone formation when delivered by a synthetic matrix containing hydroxyapatite/tricalciumphosphate. *Clin Oral Implants Res*. 2008;19:188–195.
39. Barradas AM, Monticone V, Hulsman M, Danoux C, Fernandes H, Tahmasebi Birgani Z, Barrère-de Groot F, Yuan H, Reinders M, Habibovic P, van Blitterswijk C, de Boer J. Molecular mechanisms of biomaterial-driven osteogenic differentiation in human mesenchymal stromal cells. *Integr Biol (Camb)*. 2013;5:920–931.
40. K Ng AM, Tan KK, Phang MY, Aziyati O, Tan GH, Isa MR, Aminuddin BS, Naseem M, Fauziah O, Ruszymah BH. Differential osteogenic activity of osteoprogenitor cells on HA and TCP/HA scaffold of tissue engineered bone. *J Biomed Mater Res A*. 2008;85:301–312.
41. Lu JX, Flautre B, Anselme K, Hardouin P, Gallur A, Descamps M, Thierry B. Role of interconnections in porous bioceramics on bone recolonization in vitro and in vivo. *J Mater Sci Mater Med*. 1999;10:111–112.
42. Feng B, Jinkang Z, Zhen W, Jianxi L, Jiang C, Jian L, Guolin M, Xin D. The effect of pore size on tissue ingrowth and neovascularization in porous bioceramics of controlled architecture in vivo. *Biomed Mater*. 2011 Jan 5. doi: 10.1088/1748-6041/6/1/015007. [Epub ahead of print]

43. Galois L, Mainard D. Bone ingrowth into two porous ceramics with different pore sizes: an experimental study. *Acta Orthop Belg.* 2004;70:598-603.
44. Silva MM, Cyster LA, Barry JJ, Yang XB, Oreffo RO, Grant DM, Scotchford CA, Howdle SM, Shakesheff KM, Rose FR. The effect of anisotropic architecture on cell and tissue infiltration into tissue engineering scaffolds. *Biomaterials.* 2006;27:5909-5917.
45. Daculsi G, LeGeros RZ, Heughebaert M, Barbioux I. Formation of carbonate-apatite crystals after implantation of calcium phosphate ceramics. *Calcif Tissue Int.* 1990;46:20-27.
46. Zhang H, Hussain I, Brust M, Butler MF, Rannard SP, Cooper AI. Aligned two- and three-dimensional structures by directional freezing of polymers and nanoparticles. *Nat Mater.* 2005;4:787-793.
47. Zamanin A, Farhangdoust S, Yasaei M, Khorami M, Abbasabadi M. The effect of sintering temperature on the microstructural and mechanical characteristics of hydroxyapatite macroporous scaffolds prepared via freeze-casting. *Key Eng Mater.* 2013;529/530:133-137.
48. Farhangdoust S, Mahmood Rabiee S, Zamanian A, Yasaei M, Khorami M, Hafezi-Ardakani M. Evaluating initial content of the slurry and cooling rate on the microstructural and mechanical characteristics of freeze casted hydroxyapatite macroporous scaffolds. *Key Eng Mater.* 2013;529/530:147-152.
49. Fu Q, Rahaman MN, Dogan F, Bal BS. Freeze casting of porous hydroxyapatite scaffolds. I. Processing and general microstructure. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008;86:125-135.
50. Iwasashi M, Sakane M, Suetsugu Y, Ochiai N. Bone regeneration at cortical bone defect with unidirectional porous hydroxyapatite in vivo. *Key Eng Mater.* 2009;396/398:11-14.
51. Suetsugu Y, Hotta Y, Iwasashi M, Sakane M, Kikuchi M, Ikoma T, Higaki T, Ochiai N, Tanaka J. Structural and tissue reaction properties of novel hydroxyapatite ceramics with unidirectional pores. *Key Eng Mater.* 2007;330/332:1003-1006.

52. 堀田裕司. 骨侵入に優れた一方向性多孔体人工骨の開発. *セラミックス*. 2011;46:761-765.
53. Sakane M, Noguchi H, Funayama T, Ochiai N. Novel Scaffold for Bone Tissue Engineering: Unidirectional Porous Hydroxyapatite. In: Iulian Nusem. editors. *Bone Grafts: Procedures, Complications and Alternatives*, Newyork: Nova Science Publishers;2013;29-40.
54. 中野貴由. 結晶工学的的手法による骨質評価と結晶配向に基づくバイオマテリアルの設計. *バイオマテリアル*. 2007;25:112-122.
55. Watanabe A, Sakane M, Funayama T, Iwasashi M, Kanamori A, Ochiai N. Novel unidirectional porous hydroxyapatite used as a bone substitute for tibial wedge osteotomy in canines. *Biomaterials Research*. 2010; 14:6-9.
56. Funayama T, Noguchi H, Tsukanishi T, Sakane M. Histological analysis of bone bonding and ingrowth into connected porous hydroxyapatite spacers in spinal surgery. *Key Eng Mater*. 2013;529/530:309-312.
57. Noguchi H, Watanabe A, Funayama T, Tsukanishi T, Wadano Y, Sakane M. A Novel Unidirectional Porous Hydroxyapatite Cylinder Implanted in the Dorsal Muscles of Dogs Promotes Fibrous Tissue Vascularization and Invasion. *Key. Eng. Mater*. 2013;529/530:275-278.
58. Watanabe A, Sakane M, Iwasashi M, Funayama T, Suetsugu Y, Ochiai N. mechanical loading promote new bone formation through the unidirectional porous hydroxyapatite implanted in a rabbit tibial bone defect. *In Proceedings of 56th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society*. New Orleans, LA, March 6 - 9, 2010;Poster No. 1253.
59. 中島武彦. 水酸アパタイト人工骨補填材料. *セラミックス*. 2008;43:984-986.
60. Turner CH, Robling AG. Exercise as an anabolic stimulus for bone. *Curr Pharm Des*. 2004;10:2629-2641.
61. De Souza RL, Matsuura M, Eckstein F, Rawlinson SC, Lanyon LE, Pitsillides AA. Non-invasive axial loading of mouse tibiae increases cortical bone formation and modifies trabecular organization: a new model to study cortical and cancellous compartments in a single loaded element. *Bone*. 2005;37:810-818.
62. el Haj AJ, Minter SL, Rawlinson SC, Suswillo R, Lanyon LE. Cellular responses to mechanical loading in vitro. *J Bone Miner Res*.

1990;5:923-932.

63. Mullender M, El Haj AJ, Yang Y, van Duin MA, Burger EH, Klein-Nulend J. Mechanotransduction of bone cells in vitro: mechanobiology of bone tissue. *Med Biol Eng Comput.* 2004;42:14-21.
64. Stoffel K, Dieter U, Stachowiak G, Gächter A, Kuster MS. Biomechanical testing of the LCP--how can stability in locked internal fixators be controlled ? *Injury.* 2003;34 Suppl 2:11-19.
65. Roshan-Ghias A, Terrier A, Bourban PE, Pioletti DP. In vivo cyclic loading as a potent stimulatory signal for bone formation inside tissue engineering scaffold. *Eur Cell Mater.* 2010;22:41-49.
66. Roshan-Ghias A, Lambers FM, Gholam-Rezaee M, Müller R, Pioletti DP. In vivo loading increases mechanical properties of scaffold by affecting bone formation and bone resorption rates. *Bone.* 2011;49:1357-1364.
67. Koshino T, Murase T, Saito T. Medial opening-wedge high tibial osteotomy with use of porous hydroxyapatite to treat medial compartment osteoarthritis of the knee. *J Bone Joint Surg Am.* 2003;85-A(1):78-85.
68. Aryee S, Imhoff AB, Rose T, Tischer T. Do we need synthetic osteotomy augmentation materials for opening-wedge high tibial osteotomy. *Biomaterials.* 2008;29:3497-3502.
69. Takeuchi R, Ishikawa H, Aratake M, Bito H, Saito I, Kumagai K, Akamatsu Y, Saito T. Medial opening wedge high tibial osteotomy with early full weight bearing. *Arthroscopy.* 2009;25:46-53.
70. Calori GM, Mazza E, Colombo M, Ripamonti C. The use of bone-graft substitutes in large bone defects: any specific needs ? *Injury.* 2011;42 Suppl 2:56-63.
71. McNamara I, Deshpande S, Porteous M. Impaction grafting of the acetabulum with a mixture of frozen, ground irradiated bone graft and porous synthetic bone substitute (Apapore 60). *J Bone Joint Surg Br.* 2010;92:617-623.
72. Blom AW, Wylde V, Livesey C, Whitehouse MR, Eastaugh-Waring S, Bannister GC, Learmonth ID. Impaction bone grafting of the acetabulum at hip revisio. using a mix of bone chips and a biphasic porous ceramic bone graft substitute. *Acta Orthop.* 2009;80:150-154.
73. Agrillo U, Mastronardi L, Puzzilli F. Anterior cervical fusion with

- carbon fiber cage containing coralline hydroxyapatite: preliminary observations in 45 consecutive cases of soft-disc herniation. *J Neurosurg.* 2002;96(3 Suppl):273-276.
74. Chang WC, Tsou HK, Chen WS, Chen CC, Shen CC. Preliminary comparison of radiolucent cages containing either autogenous cancellous bone or hydroxyapatite graft in multilevel cervical fusion. *J Clin Neurosci.* 2009;16:793-796.
 75. Marotta N, Landi A, Tarantino R, Mancarella C, Ruggeri A, Delfini R. Five-year outcome of stand-alone fusion using carbon cages in cervical disc arthrosis. *Eur Spine J.* 2011;20 Suppl 1:S8-12.
 76. Umeda M, Sasai K, Kushida T, Wakabayashi E, Maruyama T, Ikeura A, Iida H. A less-invasive cervical laminoplasty for spondylotic myelopathy that preserves the semispinalis cervicis muscles and nuchal ligament. *J Neurosurg Spine.* 2013;18:545-552.
 77. Park JH, Jeon SR. Midline-Splitting Open Door Laminoplasty Using Hydroxyapatite Spacers : Comparison between Two Different Shaped Spacers. *J Korean Neurosurg Soc.* 2012;52:27-31.
 78. Kaito T, Hosono N, Makino T, Kaneko N, Namekata M, Fuji T. Postoperative displacement of hydroxyapatite spacers implanted during double-door laminoplasty. *J Neurosurg Spine.* 2009;10:551-556.
 79. Tanaka N, Nakanishi K, Fujimoto Y, Sasaki H, Kamei N, Hamasaki T, Yamada K, Yamamoto R, Nakamae T, Ochi M. Expansive laminoplasty for cervical myelopathy with interconnected porous calcium hydroxyapatite ceramic spacers: comparison with autogenous bone spacers. *J Spinal Disord Tech.* 2008;21:547-552.
 80. Iguchi T, Kanemura A, Kurihara A, Kasahara K, Yoshiya S, Doita M, Nishida K. Cervical laminoplasty: evaluation of bone bonding of a high porosity hydroxyapatite spacer. *J Neurosurg.* 2003;98(2 Suppl):137-142.
 81. Hirabayashi S, Kumano K. Contact of hydroxyapatite spacers with split spinous processes in double-door laminoplasty for cervical myelopathy. *J Orthop Sci.* 1999;4:264-268.
 82. Kimura A, Seichi A, Inoue H, Hoshino Y. Long-term results of double-door laminoplasty using hydroxyapatite spacers in patients with compressive cervical myelopathy. *Eur Spine J.* 2011;20:1560-1566.
 83. Fujibayashi S, Shikata J, Tanaka C, Matsushita M, Nakamura T. Lumbar

- Posterolateral Fusion with Biphasic Calcium Phosphate Ceramic. *J Spinal Disord.* 2001;14:214–221.
84. Motomiya M, Ito M, Takahata M, Kadoya K, Irie K, Abumi K, Minami A. Effect of Hydroxyapatite porous characteristics on healing outcomes in rabbit posterolateral spinal fusion model. *Eur Spine J.* 2007;16:2215–2224.
 85. Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater.* 2007;2:1–10.
 86. Horner EA, Kirkham J, Wood D, Curran S, Smith M, Thomson B, Yang XB. Long bone defect models for tissue engineering applications: criteria for choice. *Tissue Eng Part B Rev.* 2010;16:263–271.
 87. Weiland AJ, Phillips TW, Randolph MA. Bone grafts: a radiologic, histologic, and biomechanical model comparing autografts, allografts, and free vascularized bone grafts. *Plast Reconstr Surg.* 1984;74:368–379.
 88. Arinze TL, Peter SJ, Archambault MP, van den Bos C, Gordon S, Kraus K, Smith A, Kadiyala S. Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical-sized canine segmental defect. *J Bone Joint Surg Am.* 2003;85-A:1927–1935.
 89. Itoh T, Mochizuki M, Nishimura R, Matsunaga S, Kadosawa T, Kokubo S, Yokota S, Sasaki N. Repair of ulnar segmental defect by recombinant human bone morphogenetic protein-2 in dogs. *J Vet Med Sci.* 1998;60:451–458.
 90. Bruder SP, Kraus KH, Goldberg VM, Kadiyala S. The effect of implants loaded with autologous mesenchymal stem cells on the healing of canine segmental bone defects. *J Bone Joint Surg Am.* 1998;80:985–996.
 91. Heckman JD, Ehler W, Brooks BP, Aufdemorte TB, Lohmann CH, Morgan T, Boyan BD. Bone morphogenetic protein but not transforming growth factor-beta enhances bone formation in canine diaphyseal nonunions implanted with a biodegradable composite polymer. *J Bone Joint Surg Am.* 1999;81:1717–1729.
 92. Brodke D, Pedrozo HA, Kapur TA, Attawia M, Kraus KH, Holy CE, Kadiyala S, Bruder SP. Bone grafts prepared with selective cell retention technology heal canine segmental defects as effectively

- as autograft. *J Orthop Res.* 2006;24:857-866.
93. Martin RB, Chapman MW, Holmes RE, Sartoris DJ, Shors EC, Gordon JE, Heitter DO, Sharkey NA, Zissimos AG. Effects of bone ingrowth on the strength and non-invasive assessment of a coralline hydroxyapatite material. *Biomaterials.* 1989;10:481-488.
 94. Sumner DR, Turner TM, Cohen M, Losavio P, Urban RM, Nichols EH, McPherson JM. Aging does not lessen the effectiveness of TGFbeta2-enhanced bone regeneration. *J Bone Miner Res.* 2003;18:730-736.
 95. Sciadini MF, Johnson KD. Evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 as a bone-graft substitute in a canine segmental defect model. *J Orthop Res.* 2000;18:289-302.
 96. Lindsey RW, Gugala Z, Milne E, Sun M, Gannon FH, Latta LL. The efficacy of cylindrical titanium mesh cage for the reconstruction of a critical-size canine segmental femoral diaphyseal defect. *J Orthop Res.* 2006;24:1438-1453.
 97. 特定非営利活動法人 日本歯周病学会 編. 歯周病の検査・診断・治療計画の指針. 医歯薬出版株式会社. 2008;1-56.
 98. Gautier E, Sommer C. Guidelines for the clinical application of the LCP. *Injury.* 2003;34 Suppl 2:63-76.
 99. Wagner M, Frigg R. AO Manual of Fracture Management: Internal Fixators. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2006.
 100. Page AE, Allan C, Jasty M, Harrigan TP, Bragdon CR, Harris WH. Determination of loading parameters in the canine hip in vivo. *J Biomech.* 1993;26:571-579.
 101. Zdero R, Gallimore CH, McConnell AJ, Patel H, Nisenbaum R, Morshed G, Koo H, McKee MD, Schemitsch EH, Bougherara H. A preliminary biomechanical study of cyclic preconditioning effects on canine cadaveric whole femurs. *J Biomech Eng.* 2012;134:094502.
 102. Bergmann G, Graichen F, Rohlmann A. Hip joint loading during walking and running, measured in two patients. *J Biomech.* 1993;26:969-990.
 103. Bergmann G, Deuretzbacher G, Heller M, Graichen F, Rohlmann A, Strauss J, Duda GN. Hip contact forces and gait patterns from routine activities. *J Biomech.* 2001;34:859-871.
 104. Wehner T, Claes L, Simon U. Internal loads in the human tibia during gait. *Clin Biomech (Bristol, Avon).* 2009;24:299-302.

105. Guldberg RE, Caldwell NJ, Guo XE, Goulet RW, Hollister SJ, Goldstein SA. Mechanical stimulation of tissue repair in the hydraulic bone chamber. *J Bone Miner Res.* 1997;12:1295–1302.
106. Lamerigts NM, Buma P, Huiskes R, Schreurs W, Gardeniers J, Slooff TJ. Incorporation of morsellized bone graft under controlled loading conditions. A new animal model in the goat. *Biomaterials.* 2000;21:741–747.
107. van der Donk S, Buma P, Verdonchot N, Schreurs BW. Effect of load on the early incorporation of impacted morsellized allografts. *Biomaterials.* 2002;23:297–303.
108. Tägil M, Aspenberg P. Cartilage induction by controlled mechanical stimulation in vivo. *J Orthop Res.* 1999;17:200–204.
109. Duty AO, Oest ME, Guldberg RE. Cyclic mechanical compression increases mineralization of cell-seeded polymer scaffolds in vivo. *J Biomech Eng.* 2007;129:531–539.
110. Mouzin O, Søballe K, Bechtold JE. Loading improves anchorage of hydroxyapatite implants more than titanium implants. *J Biomed Mater Res.* 2001;58:61–68.
111. Overgaard S, Søballe K, Josephsen K, Hansen ES, Bünger C. Role of different loading conditions on resorption of hydroxyapatite coating evaluated by histomorphometric and stereological methods. *J Orthop Res.* 1996;14:888–894.
112. Thien TM, Ahnfelt L, Eriksson M, Strömberg C, Kärrholm J. Immediate weight bearing after uncemented total hip arthroplasty with an anteverted stem: a prospective randomized comparison using radiostereometry. *Acta Orthop.* 2007;78:730–738.
113. Maes F, Claessens T, Moesen M, Van Oosterwyck H, Van Ransbeeck P, Verdonck P. Computational models for wall shear stress estimation in scaffolds: a comparative study of two complete geometries. *J Biomech.* 2012;45:1586–1592.
114. Aita I, Hayashi K, Wadano Y, Yabuki T. Posterior movement and enlargement of the spinal cord after cervical laminoplasty. *J Bone Joint Surg Br.* 1998;80:33–37.
115. Ichikawa S, Iwatani M, Harata S, Ueyama K, Ito J, Sato T et al: [Bone ingrowth to the hydroxyapatite spacer after spinous process splitting laminoplasty.] (Jpn) *J Japan Spine Res Society*, 1994, 5,

- 215.
116. Chen H, Liu H, Zou L, Li T, Gong Q, Song Y, Zeng J, Liu L, Kong Q. Effect of Mini-plate Fixation on Hinge Fracture and Bony Fusion in Unilateral Open-door Cervical Expansive Laminoplasty. *J Spinal Disord Tech*. 2014 Jul 11. [Epub ahead of print]
 117. Kurokawa Y, Yokoyama Y, Kuroda K, Koruprolu S, Paller D, Nakano A, Baba I, Neo M. Biomechanical Evaluation of the Suture Anchors Used in Open-Door Laminoplasty: A Cadaveric Study. *Spine*. 2014;39:E1248-1255.
 118. Hu W, Shen X, Sun T, Zhang X, Cui Z, Wan J. Lamina reclosure after single open-door laminoplasty using titanium miniplates versus suture anchors. *Orthopedics*. 2014;37:71-78.
 119. Kanemura A, Doita M, Iguchi T, Kasahara K, Kurosaka M, Sumi M. Delayed dural laceration by hydroxyapatite spacer causing tetraparesis following double-door laminoplasty. *J Neurosurg Spine*. 2008;8:121-128.
 120. Ono A, Yokoyama T, Numasawa T, Wada K, Toh S. Dural damage due to a loosened hydroxyapatite intraspinal spacer after spinous process-splitting laminoplasty. Report of two cases. *J Neurosurg Spine*. 2007;7:230-235.
 121. 石部達也, 千束福司, 池田登, 川合準, 石坂直也, 神庭悠介, 三河義弘. 棘突起縦割式頸椎椎弓形成術における連通孔性高気孔率ハイドロキシアパタイトの吸収過程. *臨整外*. 2013;48:1071-1078.
 122. 塚西敏則, 坂根正孝, 船山徹, 福島真, 田中利和, 山崎正志. 一軸連通孔ハイドロキシアパタイト(リジェノス)を椎弓スペーサー用いた頸椎椎弓形成術後2年のCT評価. *中部整災誌*. 2013;56:65.
 123. Uemura K, Kanamori A, Aoto K, Yamazaki M, Sakane M. Novel unidirectional porous hydroxyapatite used as a bone substitute for open wedge high tibial osteotomy. 2014 Jul 5. doi: 10.1007/s10856-014-5266-5. [Epub ahead of print]
 124. 田中 利和, 野内 隆治, 小川 健, 井汲 彰, 坂根 正孝, 落合 直之. 橈骨遠位端骨折に対するハイドロキシアパタイト配向連通多孔体「リジェノス」の使用経験. *関東整災誌*. 2012;43:1-5.
 125. Ng AM, Tan KK, Phang MY, Aziyati O, Tan GH, Isa MR, Aminuddin BS, Naseem M, Fauziah O, Ruszymah BH. Differential osteogenic activity of osteoprogenitor cells on HA and TCP/HA scaffold of tissue

- engineered bone. *J Biomed Mater Res A*. 2008;85:301–312.
126. Okuda T, Ioku K, Yonezawa I, Minagi H, Kawachi G, Gonda Y, Murayama H, Shibata Y, Minami S, Kamihira S, Kurosawa H, Ikeda T. The effect of the microstructure of beta-tricalcium phosphate on the metabolism of subsequently formed bone tissue. *Biomaterials*. 2007;28:2612–2621.

表

表 1. 自家骨、他家骨、人工骨移植のメリット・デメリットのまとめ

種類	メリット	デメリット
自家骨移植	高い骨再生能 高い生体適合性	採骨部痛 採骨量に制限 採骨時合併症 (神経損傷, 血腫・感染)
他家骨移植	良好な骨再生能 術前に加工可能 手術時間の短縮	施設が限られる 感染・免疫応答性 本邦では使用困難
人工骨移植	安定して供給可能 採骨不要 (手術時間短縮・採骨手技によるデメリットの回避)	自家骨に劣る骨再生能 異物反応性

表 2. Stress - Strain (:S-S) 曲線に基づく一定変位時の荷重量

①大腿骨モデル

	10-20N の弾性率 (N/mm ²)	破断までの最大荷重 (N)
応力遮蔽群	1079.5	4268 ±528
負荷群	1076.5	3508 ±352

②模擬骨モデル

		50-100N の弾性率 (N/mm ²)	3.5mm 時の荷重量 (N)
UDPHAp なし	応力遮蔽群	55.1±4.1	565.5 ± 29
	負荷群	60.0±0.3	516.0 ± 14
UDPHAp あり	応力遮蔽群	72.0±2.3	571.5 ± 2.1
	負荷群	65.5±4.4	598.5 ± 2.1

大腿骨モデルで応力遮蔽群が負荷群よりも破断までの最大荷重が高い傾向はあるが、大腿骨モデル・模擬骨モデルともに 2 群間で有意差は認めず。

表 3. 術直後と最終観察時の CT 画像が収集できた 24 例における、UDPHAp 椎弓スペーサーと自家骨棘突起スペーサーの使用詳細

	UDPHAp スペーサー	自家骨棘突起スペーサー	計 (椎弓)
C3	0	11	11
C4	7	17	24
C5	12	11	23
C6	14	9	23
C7	5	3	8
計 (椎弓)	38	51	89

・UDPHAp 椎弓スペーサー:「つばあり/つばなし」 23/15 椎弓 合計 38 椎弓

・自家骨棘突起スペーサー:「つばあり/つばなし」 32/21 椎弓 合計 53 椎弓

(混合使用 1 例の 2 椎弓重複)

UDPHAp 椎弓スペーサーは 38 椎弓、自家骨棘突起スペーサーは 51 椎弓で使用。設置する椎体高レベルはランダム化していなかったが、結果的に 2 群間の分散に有意差は認めなかった。

表 4. 市川分類に基づいた UDPHAp 椎弓スペーサーと自家骨棘突起スペーサーの type 別の椎弓数

➤ UDPHAp 椎弓スペーサー

	Type A	Type B	Type C	Type D	Type E	計
つばあり	0	13	18	15	0	46
つばなし	0	7	15	8	0	30
計	0	20	33	23	0	76

➤ 自家骨棘突起スペーサー

	Type A	Type B	Type C	Type D	Type E	計
計	0	0	0	5	69	74

(ただし、32 界面でスペーサー吸収あり判定不能)

参考)UDPHAp 椎弓スペーサーの形状毎の type 別の椎弓数

	Type A	Type B	Type C	Type D	Type E	計
つばあり	0	13	18	15	0	46
つばなし	0	7	15	8	0	30
計	0	20	33	23	0	76

「つばあり」 骨新生率 45.2%、骨癒合率 45.2%

「つばなし」 骨新生率 85.9%、骨癒合率 85.9%

表5. 市川分類に基づいた UDPHAp 椎弓スペーサーと自家骨棘突起スペーサーの骨癒合率、骨新生率

	UDPHAp			自家骨
	つばあり	つばなし	合計	合計
骨癒合率	71.6 (33/46)	76.7 (23/30)	73.7 (56/76)	69.8 (74/102)
骨新生率	32.6 (15/46)	26.7 (8/30)	30.3 (23/76)	69.8 (74/102)

(単位:%)

(自家骨棘突起スペーサーでは材料吸収を認め、便宜的に Type B 以下として扱い、算出した。)

表 6. HA 人工椎弓スぺーサーの骨癒合率に関する文献リスト①

計 380 例(片開き 2 報 128 例、両開き 5 報 252 例)が PubMed より抽出された。

文献著者	使用製品	術式	骨癒合評価方法	骨癒合率 (F/U)
Umeda M et al. J Neurosurg Spine., 2013	Boneceram-P	片開き	CT (間隙消失)	80 / 81% (椎弓/ヒンジ) (12M)
Tanaka N et al. J Spinal Disord Tech., 2008.	NEOBONE	片開き	CT (間隙消失)	90 / 91% (椎弓/ヒンジ) (12M)
Park JH et al. Korean Neurosurg., 2012.	APACERAM	両開き	CT 市川分類	27.46% (28.1M) つば+/- 18.2 / 48.8%
Kimura A et al. Eur Spine J., 2011.	APACERAM	両開き	CT (間隙消失)	75% (12M)
Kaito T et al. J Neurosurg Spine., 2009.	Bonfil	両開き	CT 市川分類	8.7% (43.5M)
Iguchi T et al. J Neurosurg., 2003.	Bonfil	両開き	CT 市川分類	60.5% (30M)
Hirabayashi S et al. J Orthop sci., 1999.	STSS spacer	両開き	CT (界面 接触量)	83.9% (21M)

(赤文字は気孔率 50%以上の製品)

表 7. HA 人工骨椎弓スペーサーの骨癒合率に関する文献リスト②

医学中央雑誌より 15 報(会議録 3 報含む)が抽出された。

文献著者	使用製品	術式	骨癒合評価方法	骨癒合率 (F/U)
田中信弘ら,2012.	ネオポーン	片開き	CT(間隙消失)	66% (12M)
根本忠信ら,2012.	PENTAX社 (気孔率30%)	片開き	CT(間隙消失)	80.2 / 77.1%(椎弓/ヒンジ)(17M)
鈴木賀代ら,2007.	ネオポーン	片開き	CT(間隙消失)	71.2% (12M)
山田清貴ら,2007.	ネオポーン	片開き	CT(間隙消失)	77% (12M)
立原久義ら,2004.	アパセラム ポーンセラム	片開き	CT(間隙消失)	39.5% (12M)
池上仁志ら,2003.	セラタイト	片開き	CT(間隙消失)	28.7% (6M)
西村行政ら,2002.	アパセラム	片開き	CT(間隙消失)	44% (12M)
畠山雄二ら,2010.	PENTAX社(気孔率40%) & OLYMPUS社(気孔率 35~48%)	両開き	CT 市川分類	64.4% (36M)
樫原 稔ら,2006.	不明	両開き	CT 土井田の分類	23% (5-55M)
安藤宗治ら,2005.	ボンフィル	両開き	CT 市川分類改変	1.8% (8.6M)
原 仁美ら,2004.	セラタイト	両開き	CT 宮本らの方法	61.3% (24M)
金村在哲ら,2002.	ボンフィル	両開き	CT 市川分類	58.0% (15.5M)
梅田真志ら,2009. (会議録)	ポーンセラムP	片開き	CT 市川分類改変	C4/5/6: 65/76/94%(12M) C4/5/6: 74/100/100%(24M)
笹井邦彦ら,2007. (会議録)	ポーンセラムP	両開き 片開き	CT(間隙消失)	両開き:46%(47M) 片開き:50%(43M)
井上崇文ら,2007. (会議録)	セラタイト	両開き	CT 市川分類	82.2% (3.2M)

表 8. 骨欠損モデルにおける骨再生に関する評価項目

	1年-1	1年-2	2年	3年
bone ingrowth area ratio	0	0.36	0.28	0.49
bone bonding ratio of perforated side (近位 / 遠位)	0 / 0	1.0 / 1.0	0 / 1.0	1.0 / 1.0
bone ingrowth ratio of perforated side (近位 / 遠位)	- / -	1.38 / 1.50	- / 1.51	1.16 / 0.74

表 9. 骨軟骨欠損モデルにおける骨再生および関節軟骨に関する評価項目

	1年-1	1年-2	2年	3年
Bone ingrowth area ratio	0.27	0.42	0.58	0.52
関節軟骨の最薄面 ※(μm) (UDPHAp 群 / Sham 群)	503 / 224	287 / 231	402 / 221	786 / 780

※safranin-O 染色標本にて関節軟骨厚を計測



気孔率	72-78%
平均気孔径	約 150 μm
圧縮強度	8 MPa 以上
生体組織が侵入可能な気孔体積	55%以上

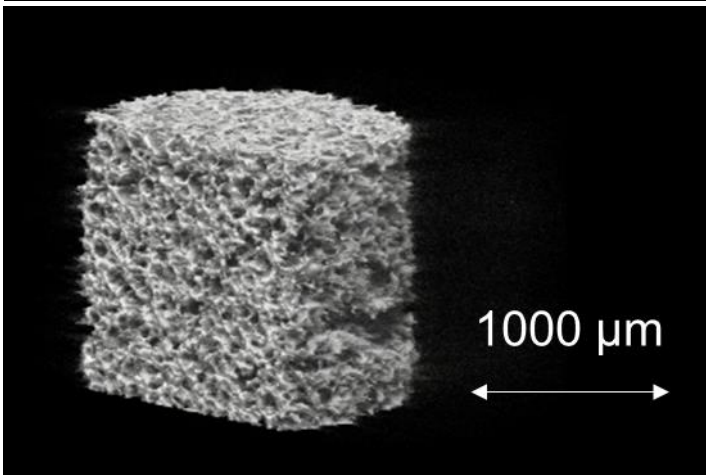


図 1. ネオボーン®のスペックとマイクロ CT 拡大写真

気孔率	82.5 \pm 5.5%
平均気孔径(マクロ気孔)	約 50~300 μm
平均気孔径(ミクロ気孔)	約 0.5~10 μm
圧縮強度	0.7 MPa 以上

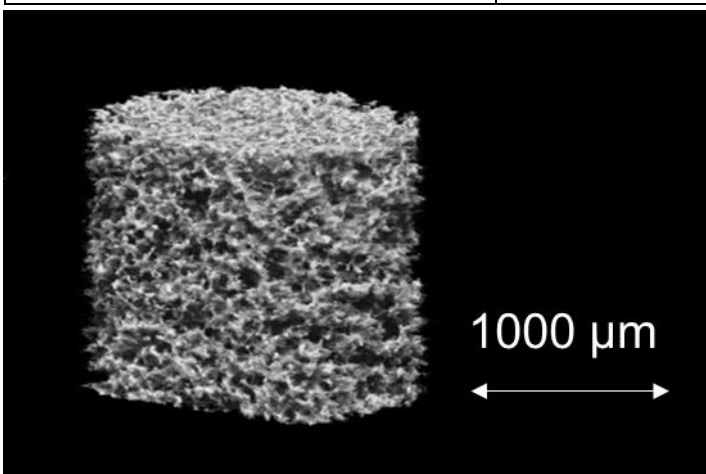


図 2. アパセラム - AX®のスペックとマイクロ CT 拡大写真

気孔率	75%
平均気孔径	約 100~300 μm
圧縮強度	14 MPa 以上(配向方向) 2 MPa 以上(垂直方向)
生体組織が侵入可能な気孔体積	55%以上

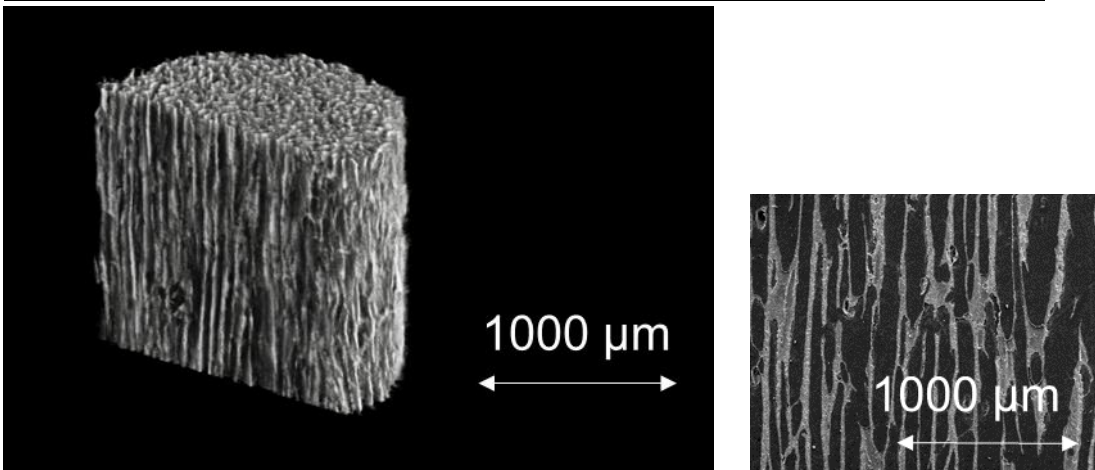


図 3. UDPHA(リジェノス®)のスペックとマイクロ CT 拡大写真
 断面拡大画像(右図)にて、一軸配向性連通路を呈する気孔構造が確認できる。

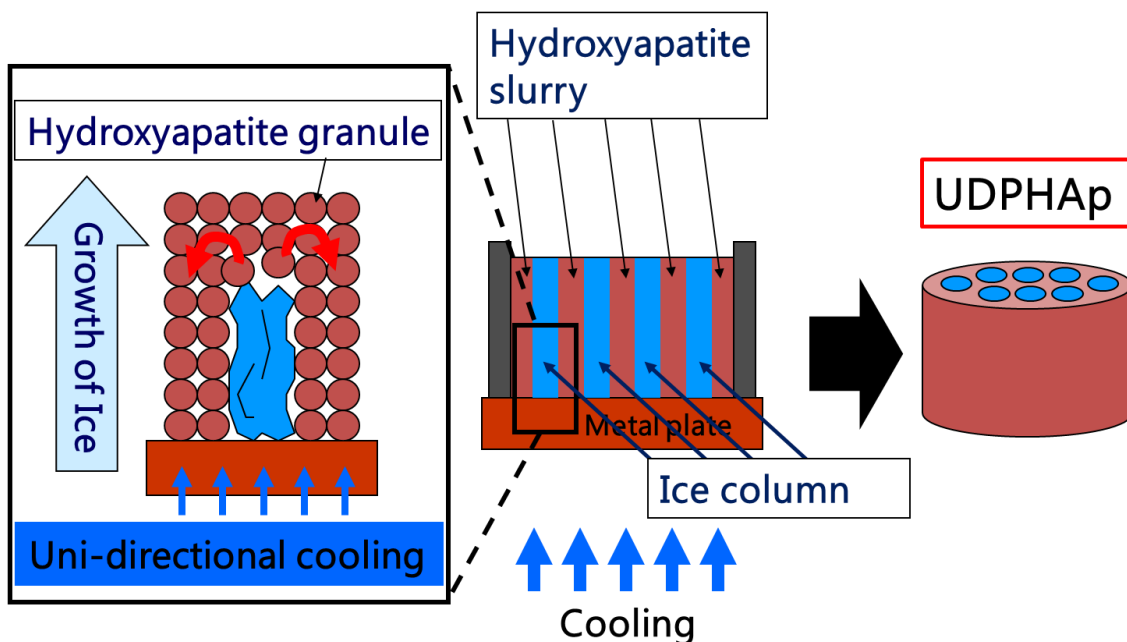


図 4. 気孔構造の作製方法 (freeze casting technique)
 液体窒素で冷却された金属板上で HA スラリー内に霜柱上の氷柱が作製されること
 で、配向性連通性の気孔構造が作製される。

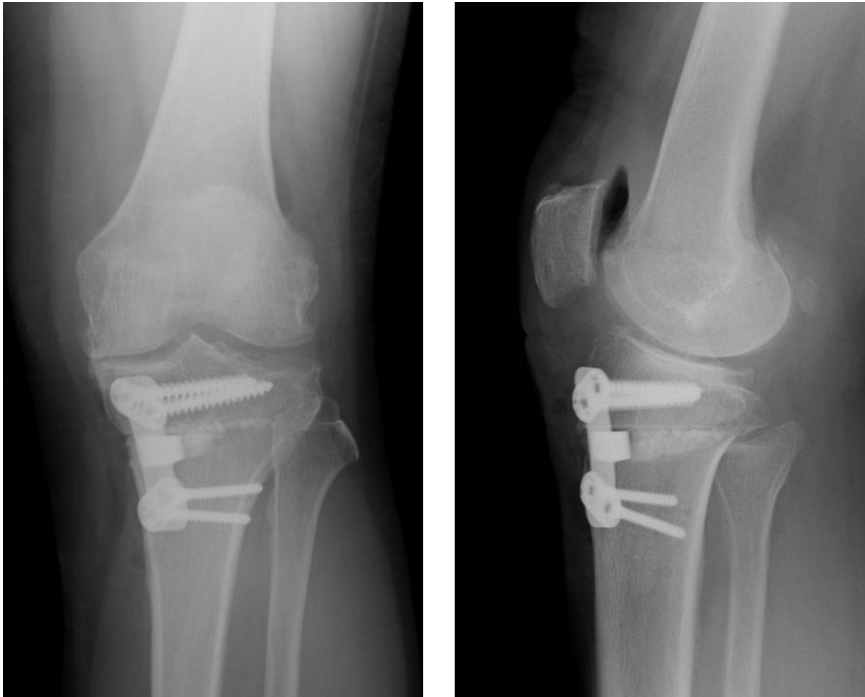


図 5. 「荷重部」である、高位脛骨骨切り術 (HTO) の術後レントゲン写真
 高位脛骨骨切り術 (HTO) とは、内反変形した変形性膝関節症に対して、内側 (内側大腿—脛骨関節) に偏った機能軸を、楔状に骨切りし角度を変えることにより、比較的変性が少ない外側 (外側大腿—脛骨関節) に移動させる手術である。骨切りにて開大した部分に、プレート併用下で合成セラミックス製人工骨を移植する。

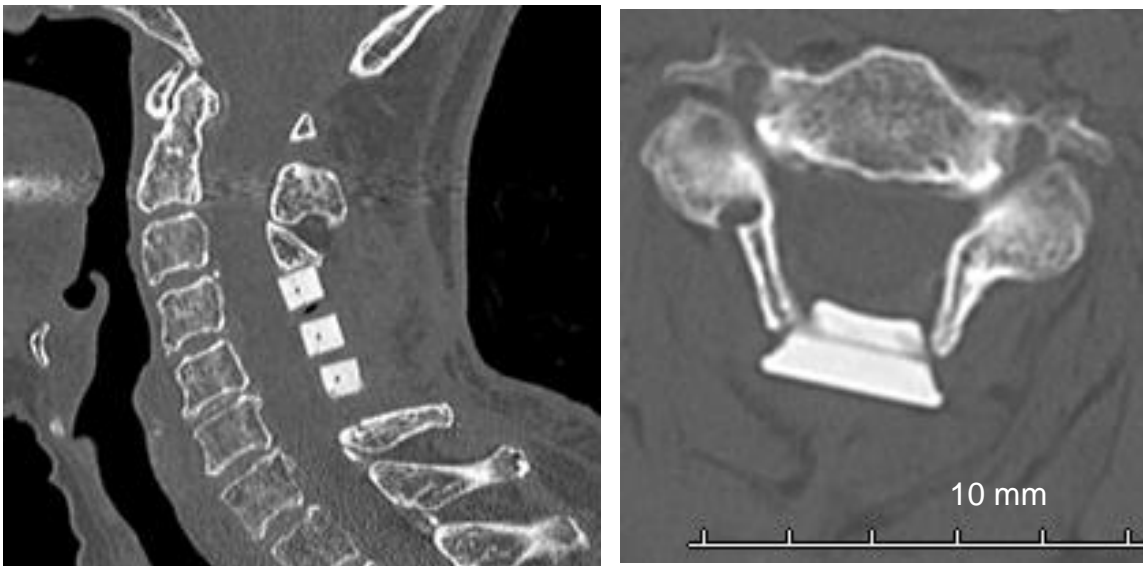


図 6. 「非荷重部」である、頚椎椎弓形成術の椎弓スペーサー (UDPHA_p) 使用例
 (CT 画像 左: 矢状断 右: 水平断)

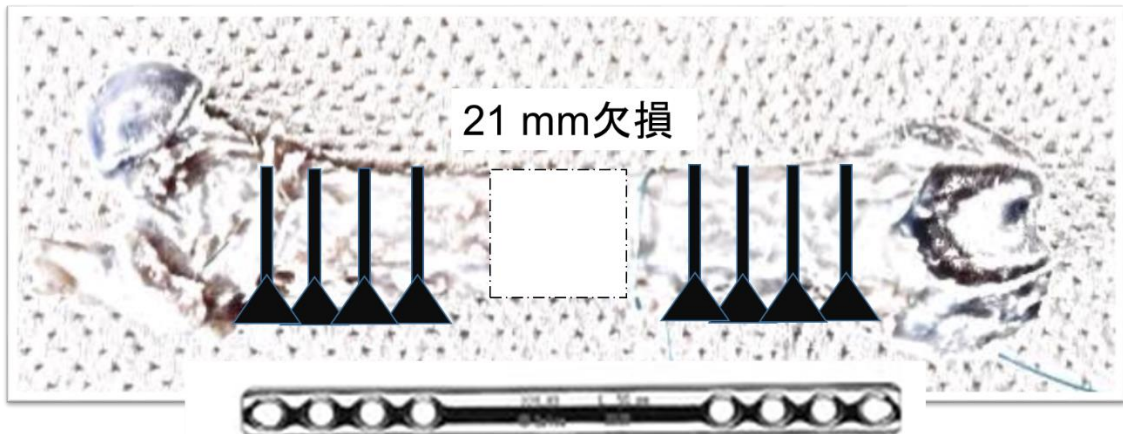
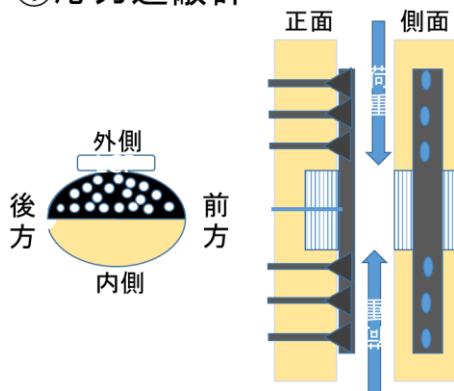


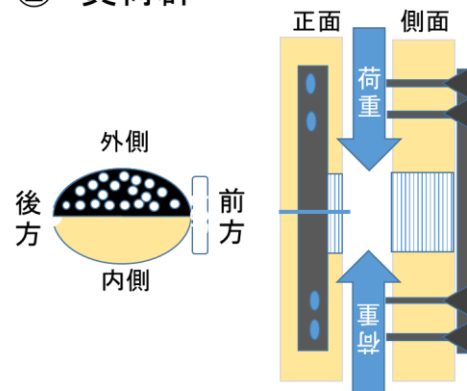
図 7. 過去の文献報告のビーグル犬大腿骨骨幹部全層欠損モデル 模式図
 骨欠損は 21 mm で、8-hole , 4.5 mm x 135 mm lengthening plate (Synthes, Paoli, Pennsylvania) が使用されていた。

① 応力遮蔽群



- 近位・遠位3本 locking screw
- 骨欠損部直上で内固定

② 負荷群



- 近位・遠位2本 locking screw
- 骨欠損部に直交する内固定



図 8. 皮質骨部分欠損モデル 2 群の模式図及び模擬骨模型の写真
 (左: 応力遮蔽群 右: 負荷群)

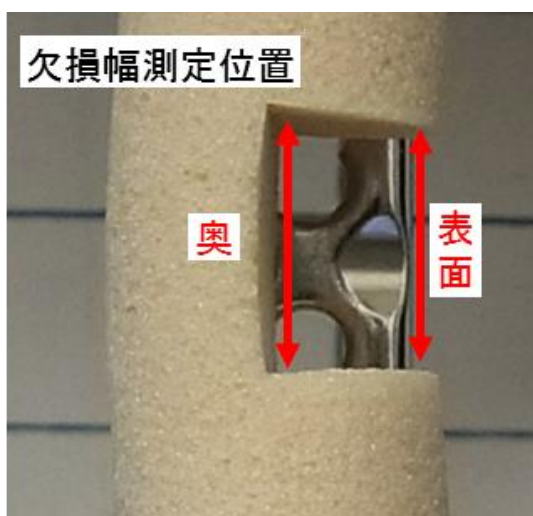
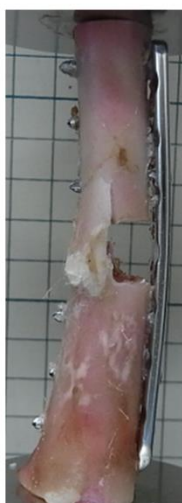


図 9. 骨欠損部の頭尾側方向幅の変位量
骨欠損部の最外側(:表面)及び髓腔側(:奥)を各々区別して、ノギスで計測した。

①大腿骨モデル

応力遮蔽群



負荷群



②模擬骨モデル

応力遮蔽群



負荷群

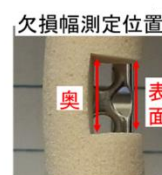


図 10. マクロ写真による骨欠損部の外観評価

(背景の方眼紙: 10mm 間隔)

両模擬検証モデルにおいて、応力遮蔽群では圧縮時に欠損部が開くようにプレートが反る現象を認めた。一方で、負荷群ではプレートが反っても欠損部が閉じる現象は阻害されず、荷重が増えるごとに骨欠損幅は縮小傾向にあった。

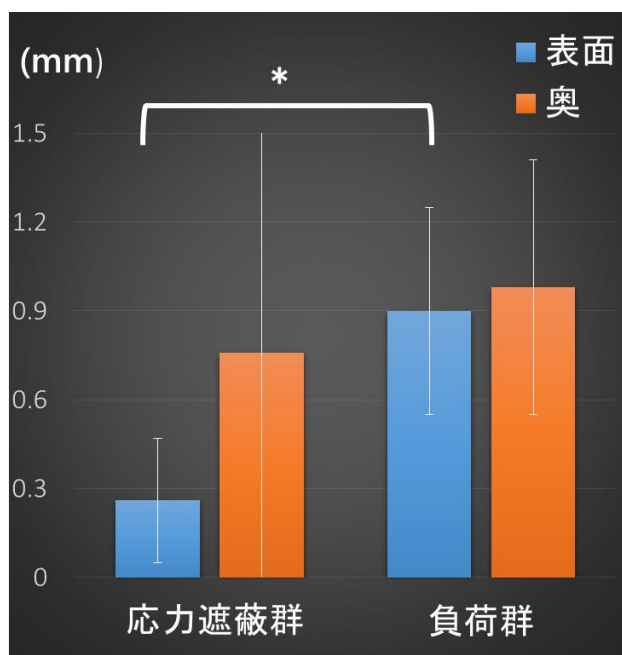


図 11. マクロ写真による骨欠損部の外観評価(大腿骨モデル)
 応力遮蔽群と負荷群間の比較において、表面の頭尾側方向幅の変位量で有意差を認めた(P=0.03)。

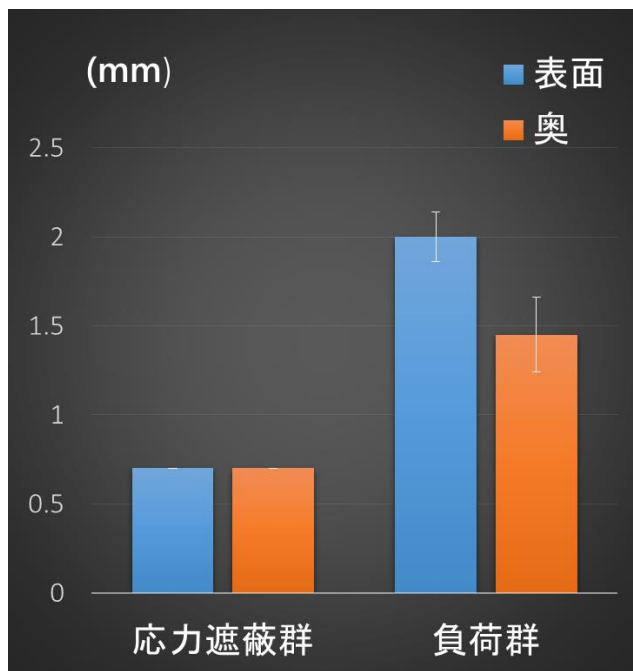


図 12. マクロ写真による骨欠損部の外観評価(模擬骨モデル)
 応力遮蔽群と負荷群間での挙動は大腿骨モデルと概ね一致していた。

キーワード		品名	
結果ファイル名	140702イヌ健康骨を用いた試験.xtak	条件ファイル名	NHB-2のビーグルにおける骨内埋植試験(圧縮).堀田.xmak
作成日	2014/11/04	試験日	2014/07/02
試験モード	シングル	試験種類	圧縮
速度	0.5mm/min	試験片形状	丸棒
バッチ数	1	サブバッチ数	7

名前 パラメータ 単位	最大点 試験力 全エリアで計算 N	弾性率 Standard 試験力 10 - 20 N N/mm2
90°_1(近位に穴)	3611.25	722.186
90°_2(骨小さい)	3528.09	2032.67
90°_3	3025.53	979.737
90°_4	3866.90	583.266
0°_1(欠損大)	3807.83	1084.06
0°_2	4843.65	1026.05
0°_3	4151.98	1119.41
平均値	3833.60	1078.20
標準偏差	565.552	464.913

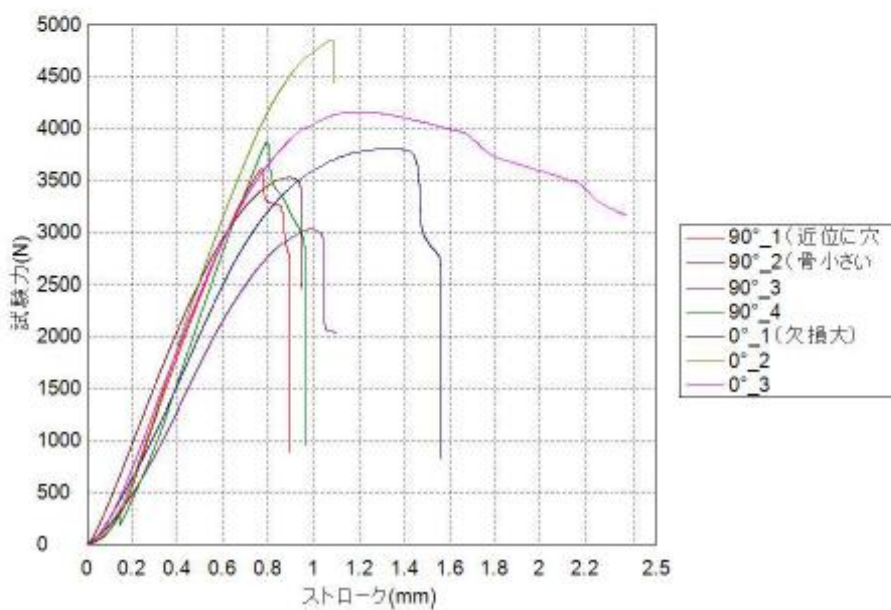


図 13. 荷重量と stress - strain (:S-S) 曲線 (大腿骨モデル)

外側に LCP を設置した際を基準として、90°と表記があるサンプル: 負荷群、0°と表記があるサンプル: 応力遮蔽群 が該当する。

結果ファイル名	140529本試験_xtak	条件ファイル名	r&d001_hei.xmak
作成日	2014/11/04	試験日	2014/05/29
試験機種類	AG-X	機体番号	I33004801603
ロードセル容量	1000N	試験モード	シングル
試験種類	圧縮	速度	0.5mm/min
試験片形状	丸棒	サブバッチ数	9

名前 パラメータ 単位	最大点_試験力 全エリアで計算 N	弾性率_Standard 試験力 50 - 100 N N/mm2
0°_1	585.937	59.1861
0°_2	545.054	50.9973
90°_1	526.325	60.3164
90°_2	506.441	59.7625
0°+NHB_1	569.632	74.3311
0°+NHB_2	573.132	69.7166
90°+NHB_1	600.318	69.8512
90°+NHB_2	596.864	61.1128
NHBのみ	415.249	56.0491
平均値	546.550	62.3692
標準偏差	58.6016	7.45851
最大値	600.318	74.3311
最小値	415.249	50.9973

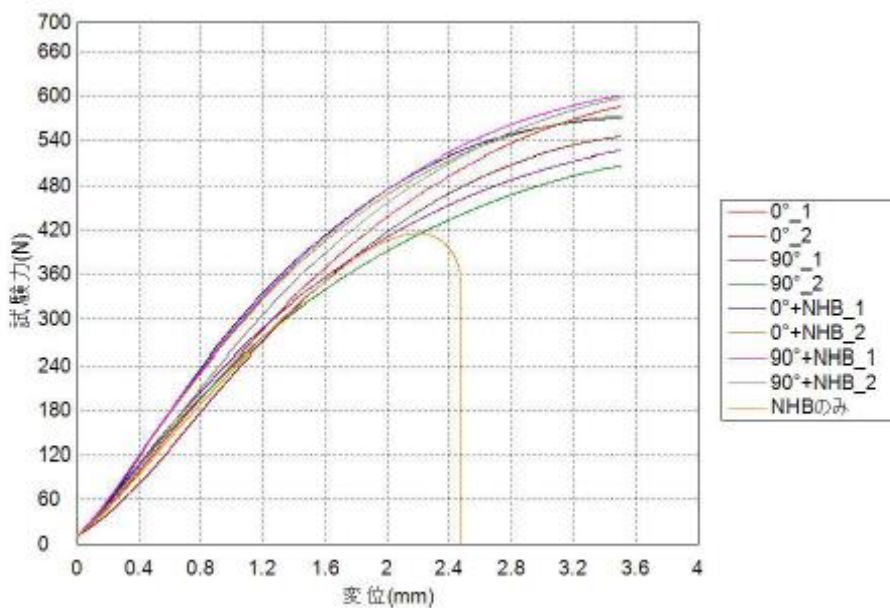


図 14. 荷重量と stress - strain (:S-S) 曲線 (模擬骨モデル)

外側に LCP を設置した際を基準として、90°と表記があるサンプル: 負荷群、0°と表記があるサンプル: 応力遮蔽群 が該当する。

NHB と表記されているサンプルにて、UDPHAp ブロックを設置している。

< UDPHApブロックの変形 評価 >

②模擬骨モデル	ブロック高さ(mm)	
	圧縮前	圧縮後
応力遮蔽群	10.03	10.03
負荷群	9.93	9.94
プレートなし	9.98	9.97

(n=2で検証)

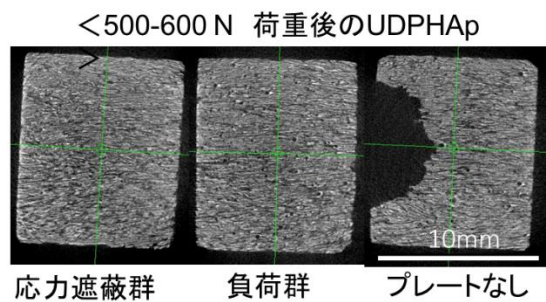


図 15. 力学試験後の UDPHAp ブロックの変形評価

プレートなしのマイクロ CT 画像では圧縮によって破損したため一部欠損を認めた。

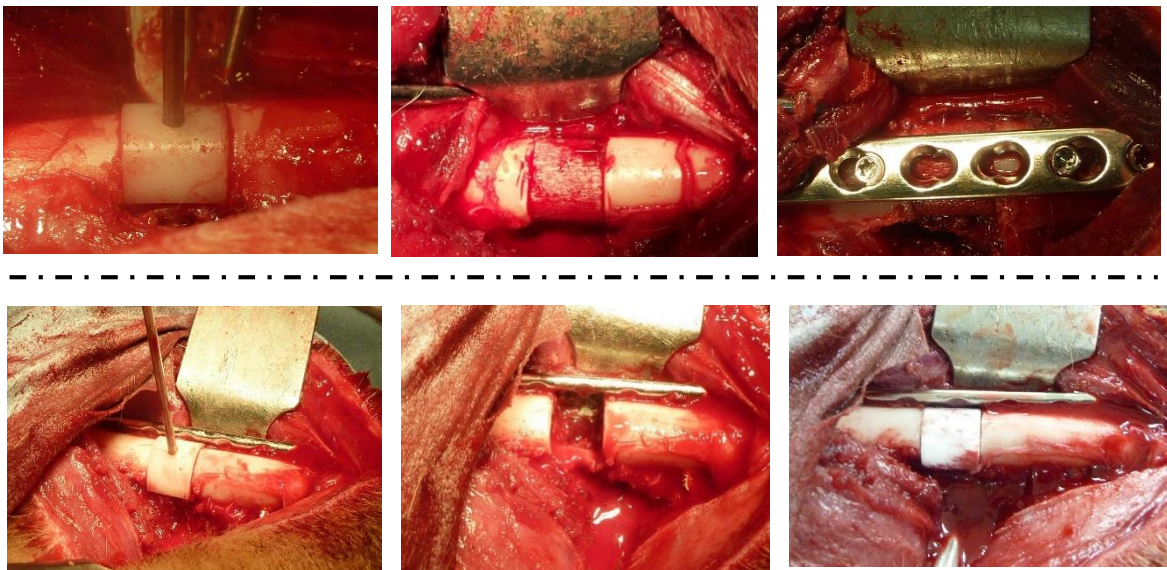


図 16. 皮質骨部分欠損モデル 2 群作製時の術中写真

(上段) 応力遮蔽群:UDPHAp ブロックの直上に大腿骨外側に LCP を設置

(下段) 負荷群:UDPHAp ブロックを埋植した大腿骨前方で LCP を設置

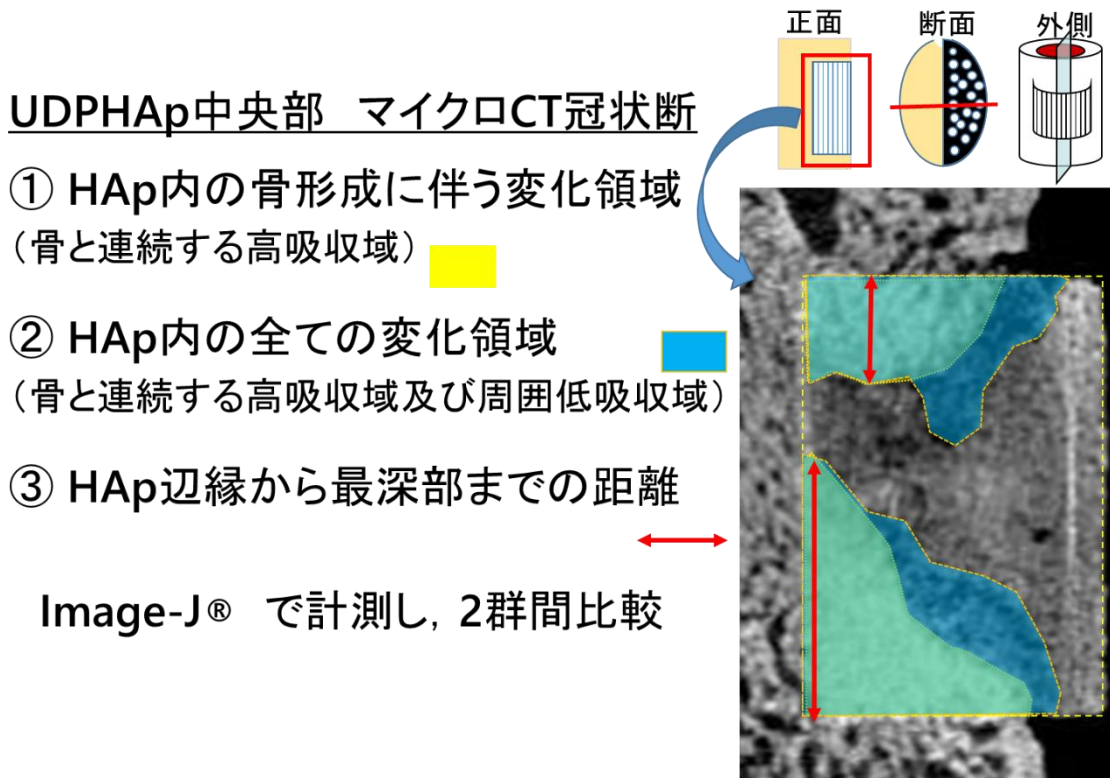


図 17. 放射線学的評価 マイクロ CT 画像の信号変化領域に関する定義の詳細

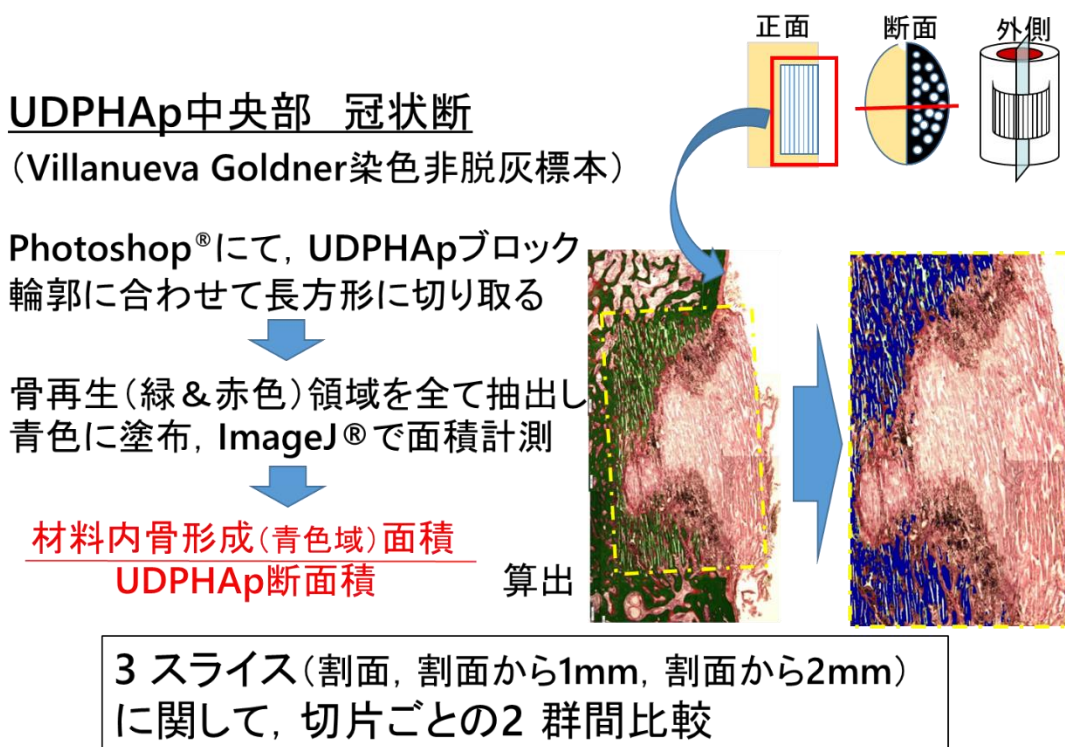


図 18. 組織学的評価 骨形成領域の計測方法の詳細

応力遮蔽群 マイクロCT画像所見

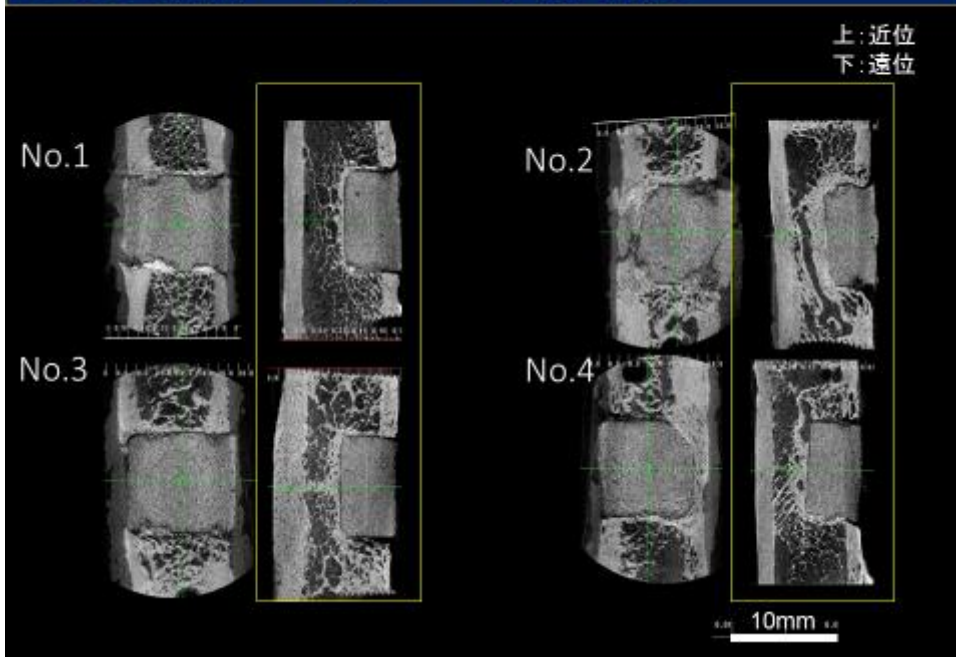


図 19. 応力遮蔽群 術後 3 か月マイクロ CT 画像

負荷群 マイクロCT画像所見

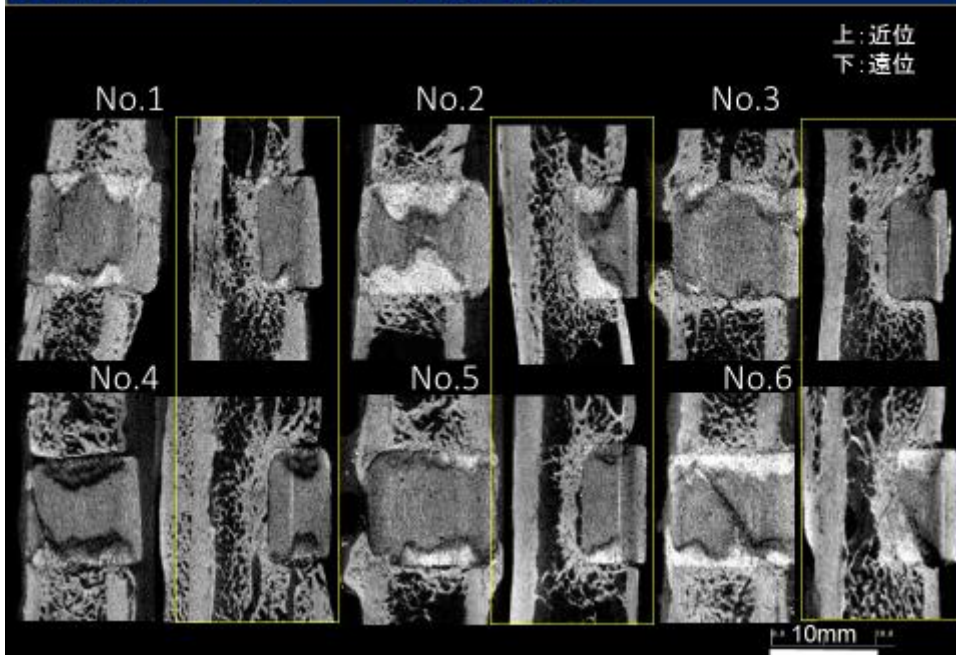


図 20. 負荷群 術後 3 か月マイクロ CT 画像

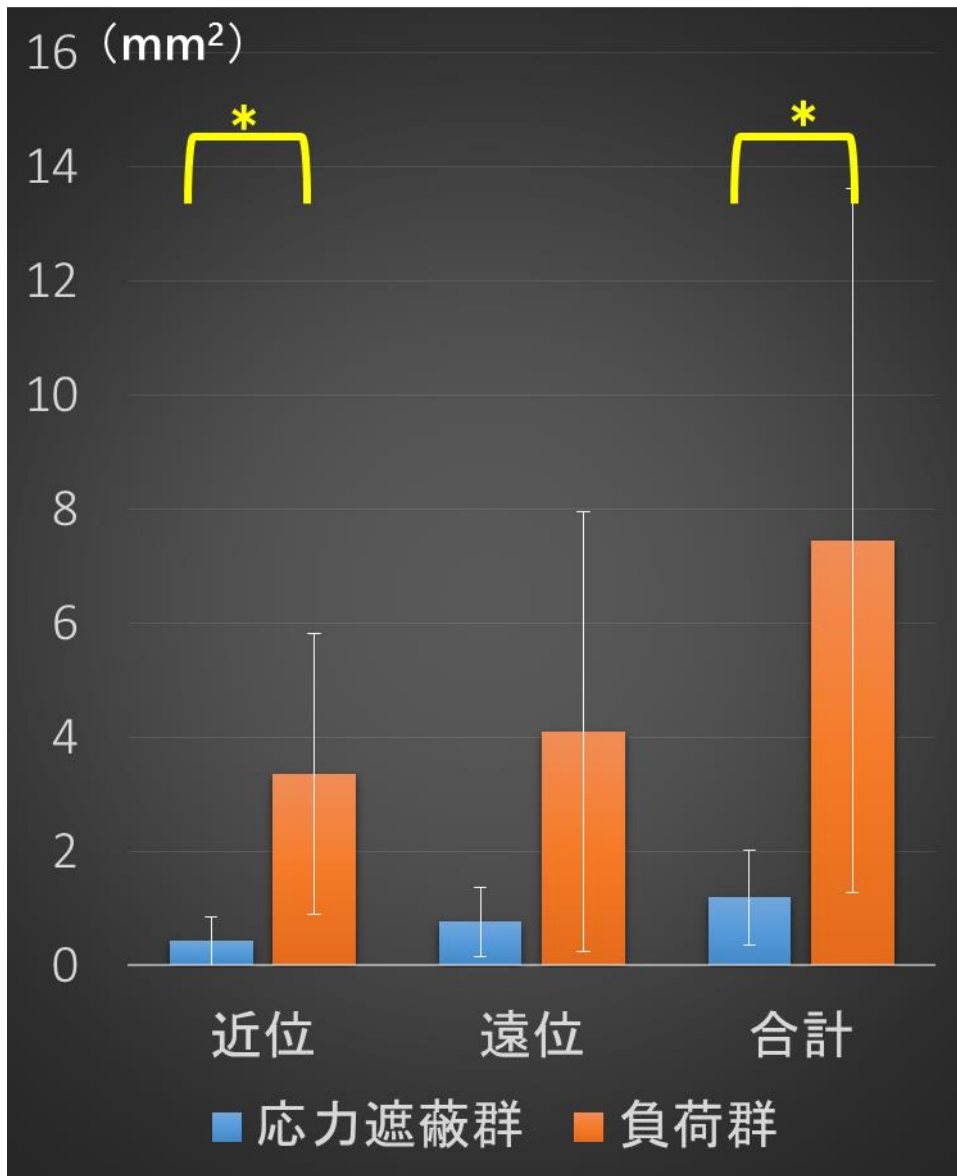


図 21. 骨断端皮質骨に接する気孔開口部側における HAp 内の骨形成に伴う変化領域(骨と連続する高吸収域)

応力遮蔽群および負荷群の 2 群間比較では、近位及び合計で有意に負荷群の方が骨再生良好であった(合計面積 $p=0.002$ および近位側面積 $p=0.011$)。

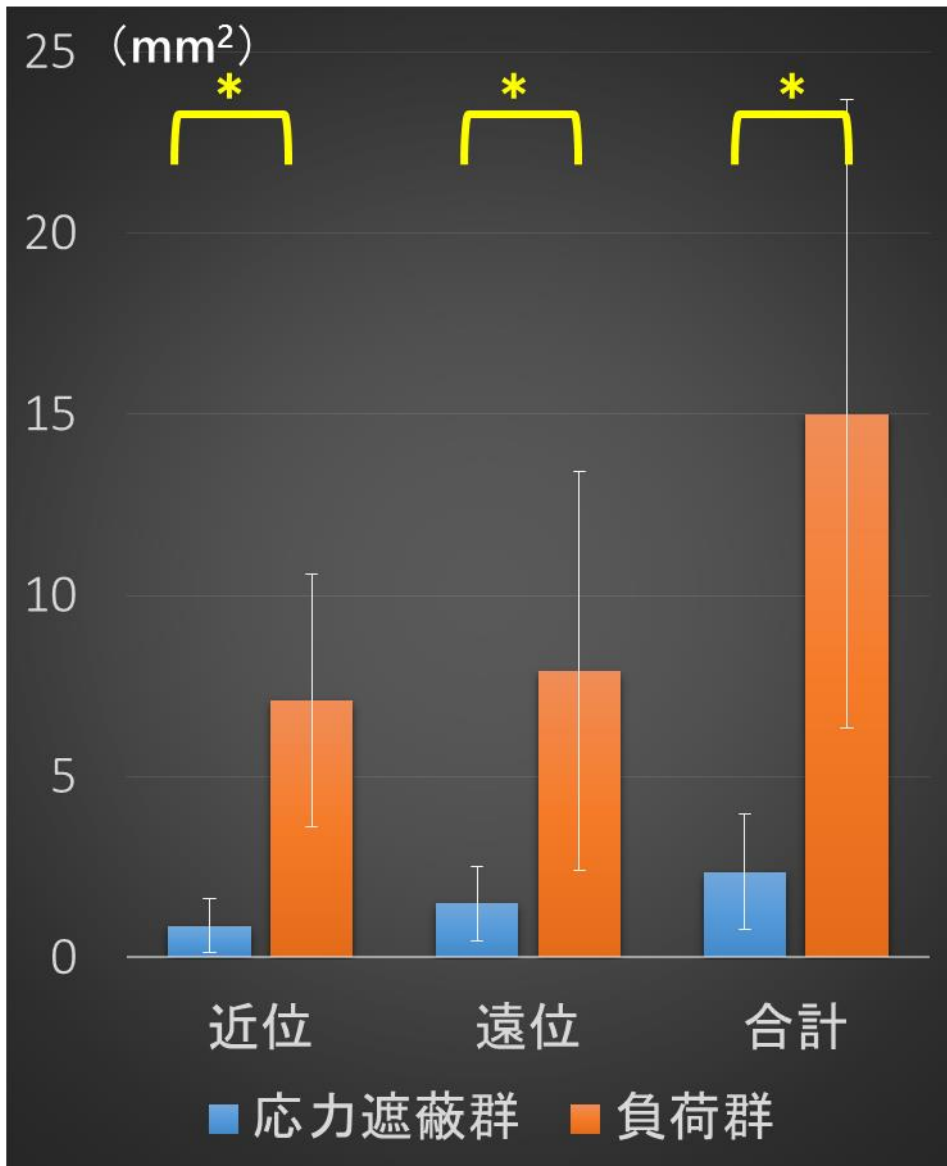


図 22. 骨断端皮質骨に接する気孔開口部側における HAp 内の全ての变化領域 (骨と連続する高吸収域、及びその周囲の低吸収域)

応力遮蔽群および負荷群の 2 群間比較では、近位、遠位及び合計のいずれも有意に負荷群の方が広範であった (合計面積 $p=0.0002$ 、近位側面積及び遠位側面積 $p=0.011$)。

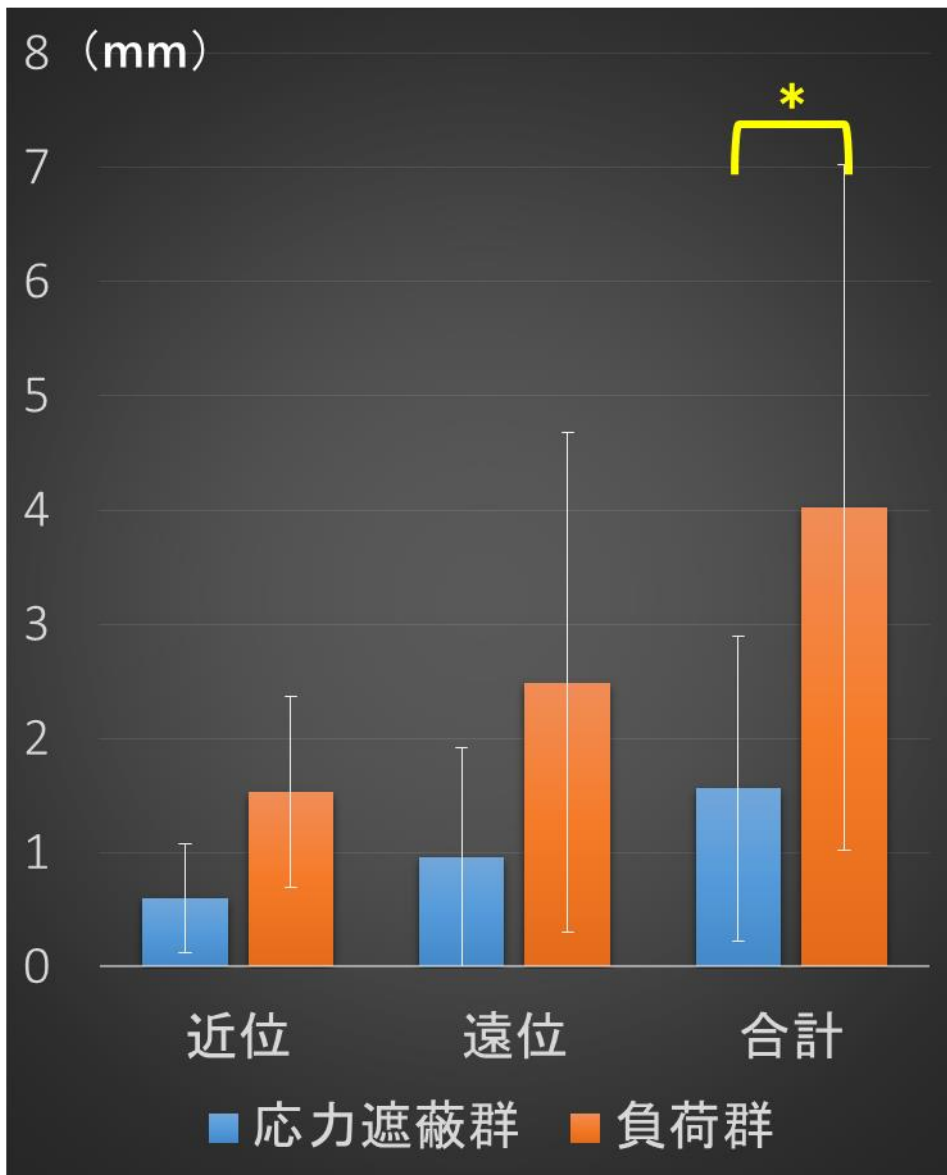


図 23. HAp 辺縁から最深部までの距離
 応力遮蔽群および負荷群の2群間比較では、近位、遠位では有意差が見出されなかったが、応力遮蔽群よりも負荷群の方が深部まで侵入している傾向があり、合計では有意差を認めた(p=0.002)。

応力遮蔽群 組織像

左:近位 右:遠位 X12.5 画像を統合

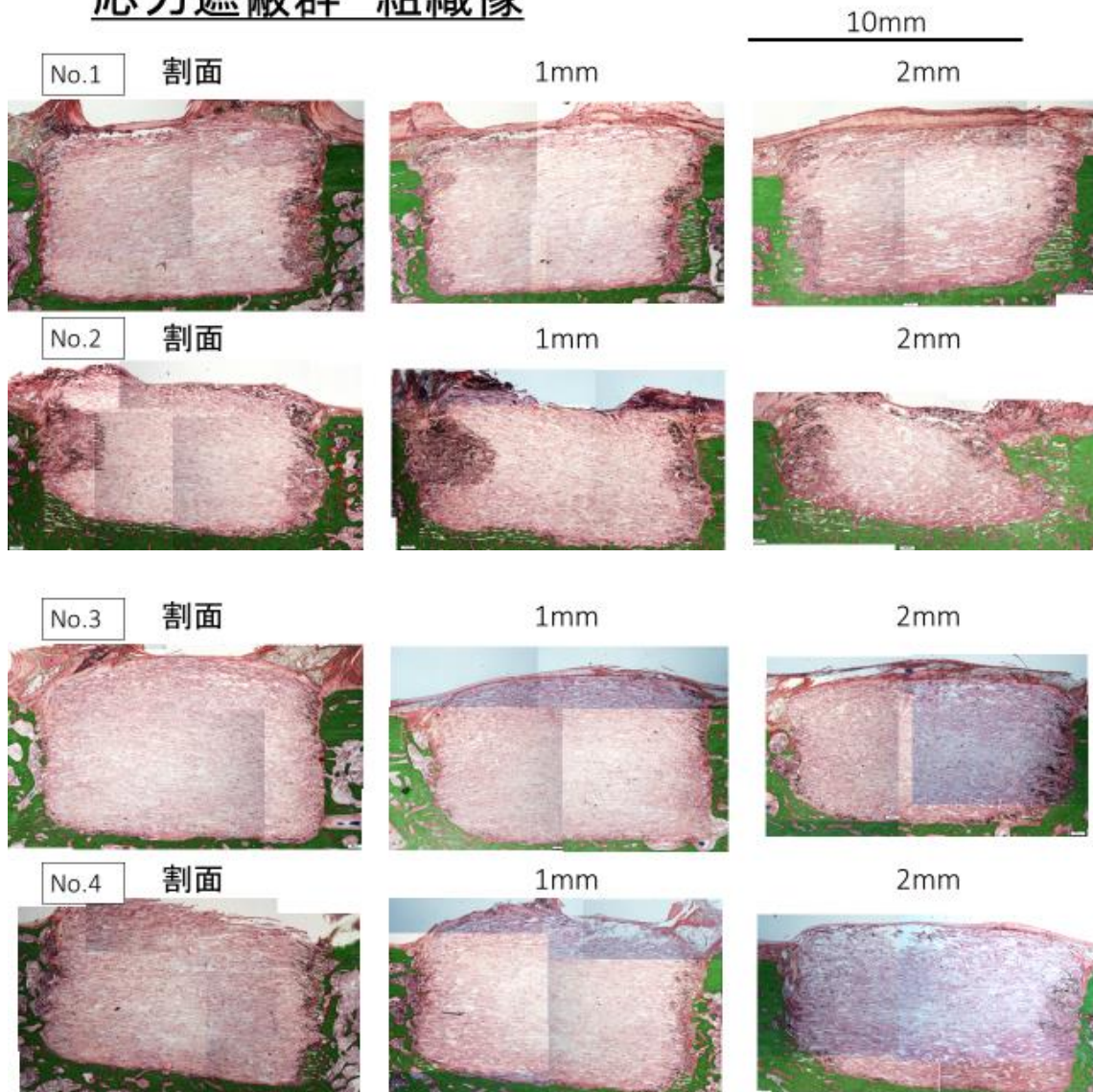


図 24. 応力遮蔽群 術後 3 か月 VG 染色組織画像

負荷群 組織像

左:近位 右:遠位 X12.5 画像を統合

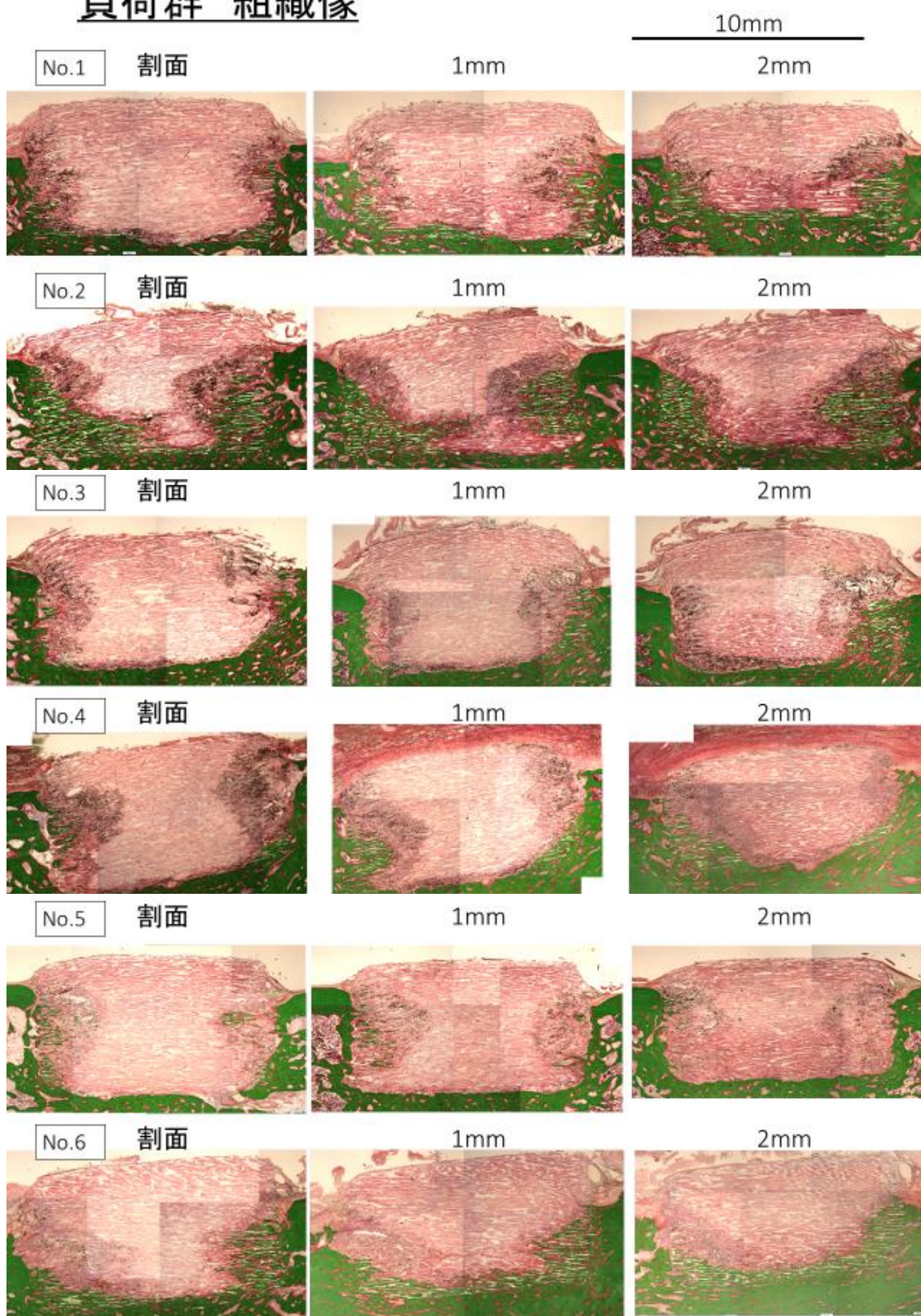


図 25. 負荷群 術後 3 か月 VG 染色組織画像

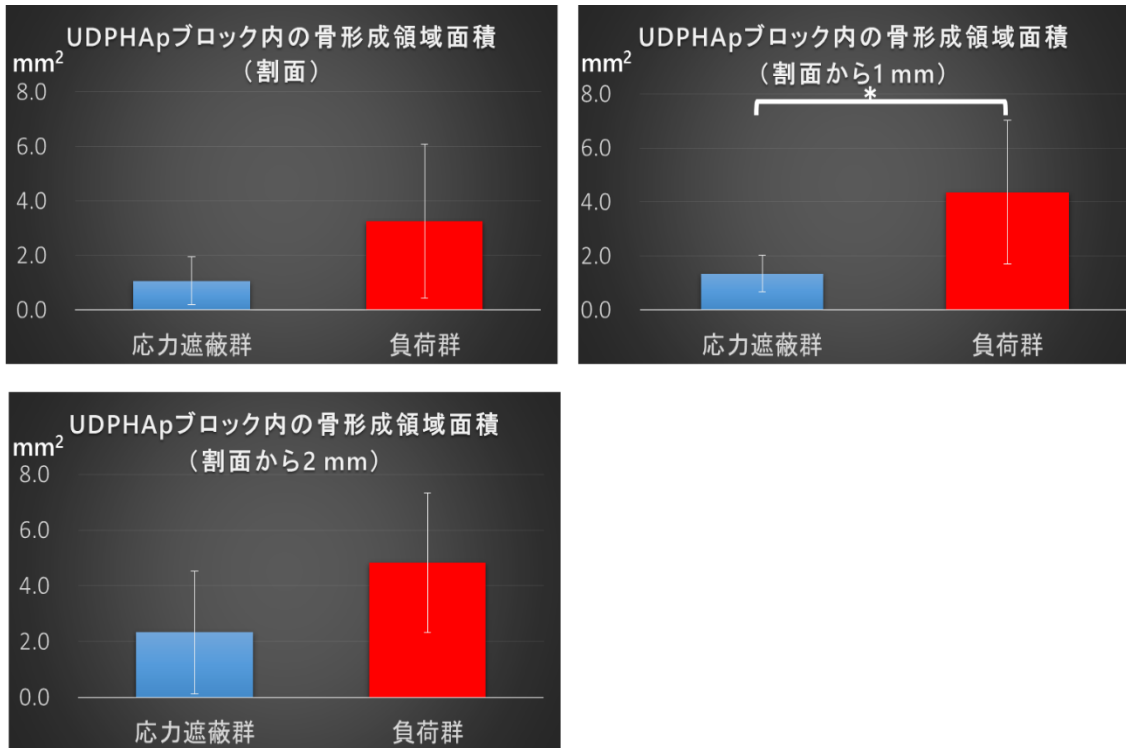


図 26. 応力遮蔽群及び負荷群における材料内骨形成面積（各スライスの比較）
1 mm スライスのみ有意差を認めた(p=0.033)。

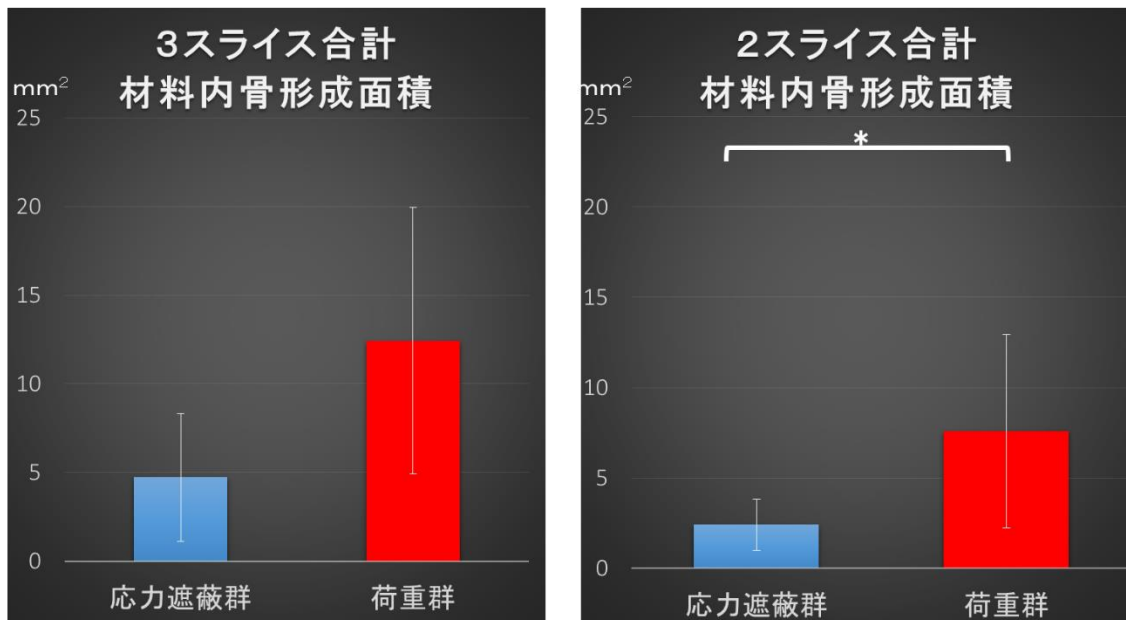


図 27. 応力遮蔽群および負荷群における材料内骨形成面積（スライス合計の比較）
3 スライス合計では有意差がなかった(p=0.09>0.05)が、荷重による影響がより大きく反映されるブロック中央寄りの断面と 1 mm スライスの 2 スライスの合計では、2 群間で有意差を認めた(p=0.033)。

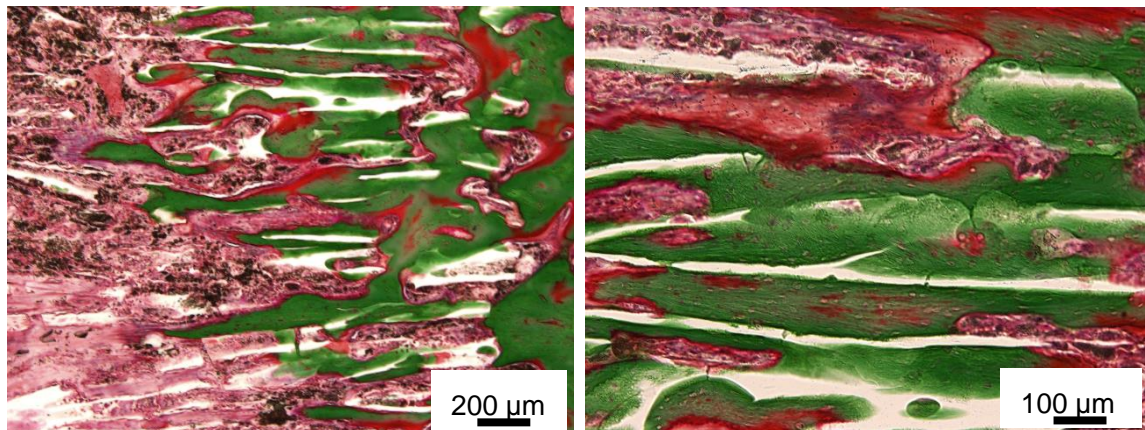


図 28. マイクロ CT 上の UDPHAp 内の骨形成を伴う高信号領域 (VG 染色)
 (No.1 1 mm スライス 遠位) 右図: x 40 左図: x 100
 気孔内部に骨断端から連続する(一部は気孔内に孤立する)新生骨領域を認めた。
 新生骨領域の一部では、赤く染色される幼弱な骨組織が存在していた。

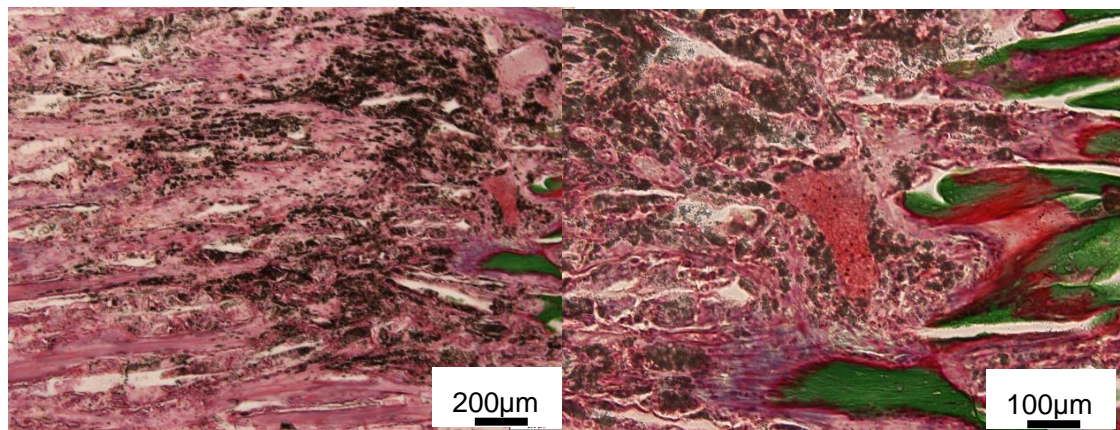
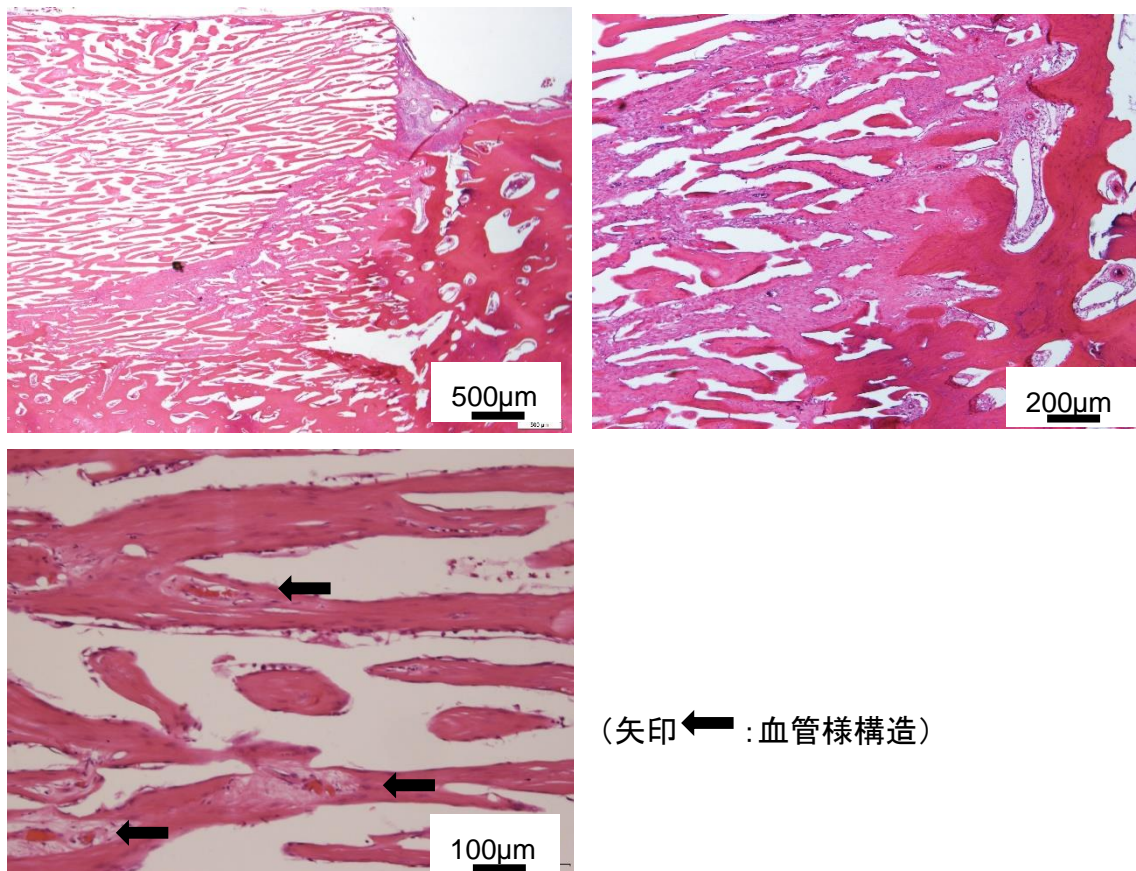


図 29. マイクロ CT 上の UDPHAp 内高信号領域周囲の低信号領域 (VG 染色)
 (No.1 1 mm スライス 遠位) 右図: x 40 左図: x 100
 気孔内部に骨断端から連続する(一部は気孔内に孤立する)新生骨領域の先端部は、
 配向性の気孔構造に形作られた侵入組織構造ではなく、非連続かつ不整で黒い微
 小顆粒が多数存在し線維性組織が混在する領域を認めた。



(矢印 ← : 血管様構造)

図 30. マイクロ CT 上の UDPHAp 内高信号領域周囲の低信号領域 (HE 染色)
 (No.2 1 mm スライス 遠位) 左上図: x 12.5 右上図: x 40 左下図: x 100
 材料中央では HE 染色にて赤く染色される線維組織を認め、その内部に血管様構造を認めた。

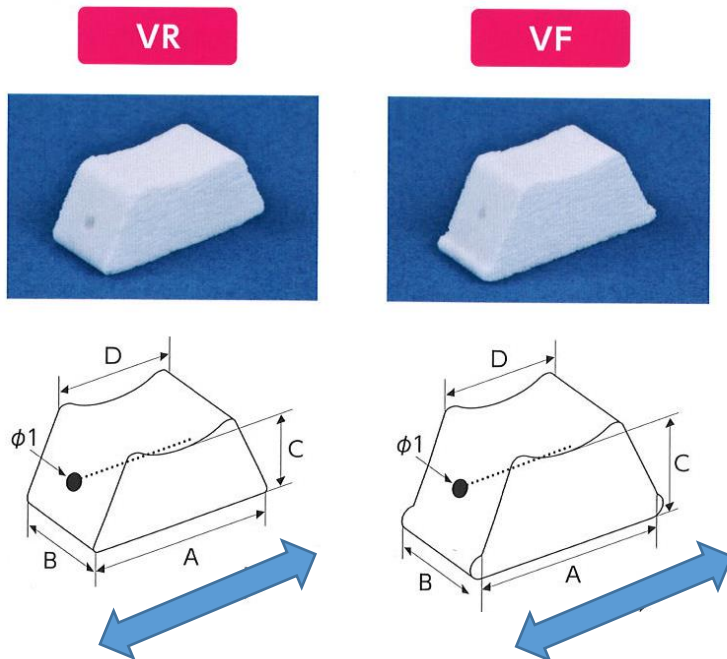


図 31. UDPHAp 椎弓スペーサーの形状 (VR:つばなし VF:つばあり)
矢印:気孔連通孔方向

- スペーサーの前後方向への変化量 (ΔH_{mm})

| 術後(H_0) - 術後最終観察時(H_1) |

- 椎弓 - 椎体後壁角の変化量 (ΔR°)

| 術後(R_0) - 術後最終観察時(R_1) |

(Kaito T. et al. J Neurosurg Spine 10:551-556, 2009)

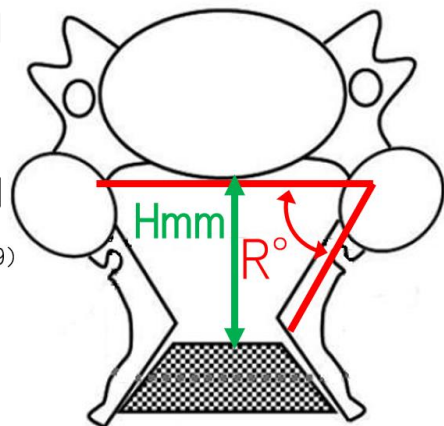
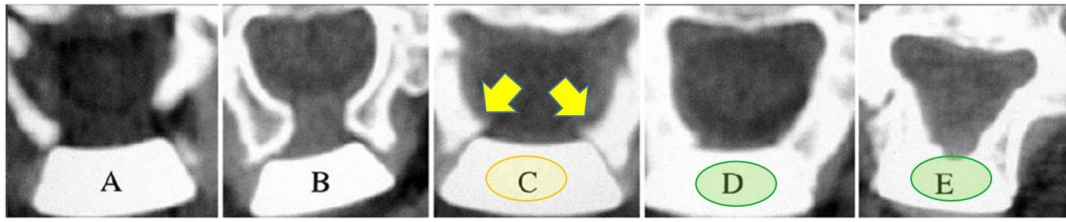


図 32. 脊柱管前後径の変化量 (ΔH)、椎弓 - 椎体後壁角の変化量 (ΔR) の定義

市川分類 (Ichikawa S et al., 1994.)



- Type A: スペースャー周囲に骨吸収が起こっている。
- Type B: スペースャーと椎弓間にclear spaceが存在。新生骨形成は見られない。
- Type C: Clear spaceはあるが、新生骨の形成が脊柱管内面に認める。
- Type D: Clear spaceはなく、間隙には新生骨形成がある。
- Type E: 脊柱管内に架橋するように新生骨が形成している。

Type C, D, E :
骨新生 (bone regrowth)

Type D, E :
骨癒合 (bone union)

図 33. 市川分類に基づいた両開き椎弓スペースャーの骨癒合スコア

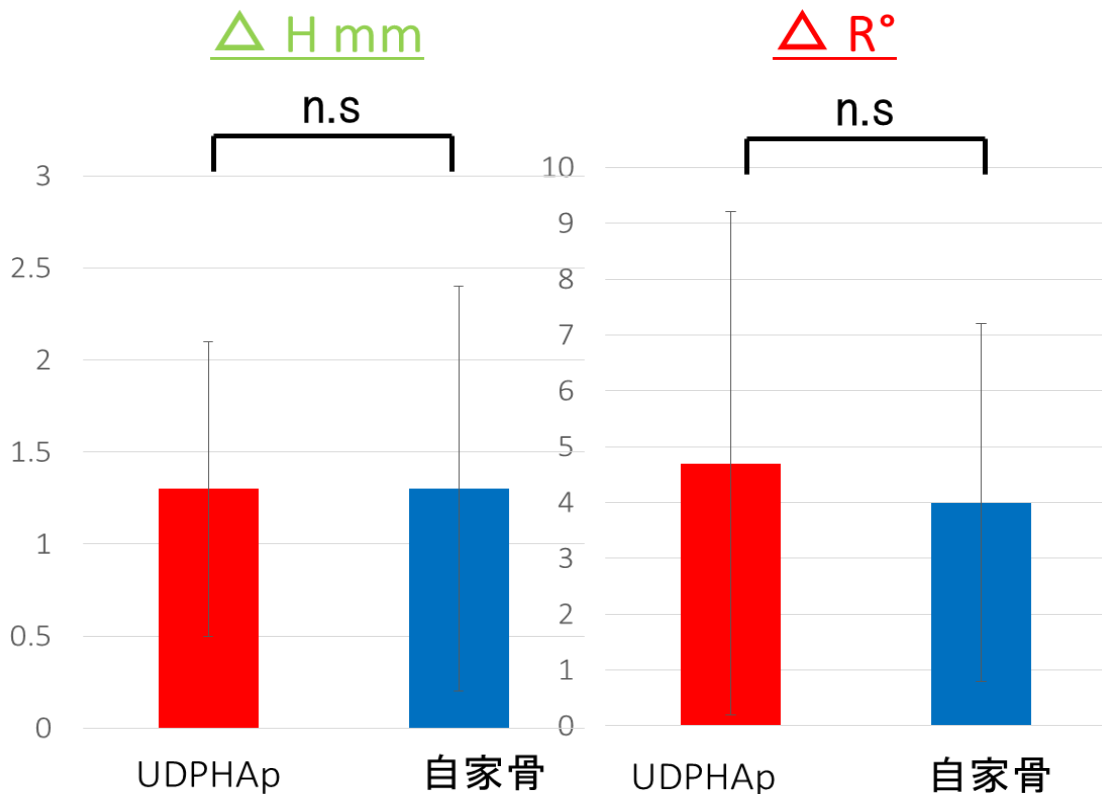


図 34. UDPHAp 椎弓スペースャーと自家棘突起スペースャーとの比較
 ΔH : 脊柱管前後径の変化量 ΔR : 椎弓-椎体後壁角の変化量

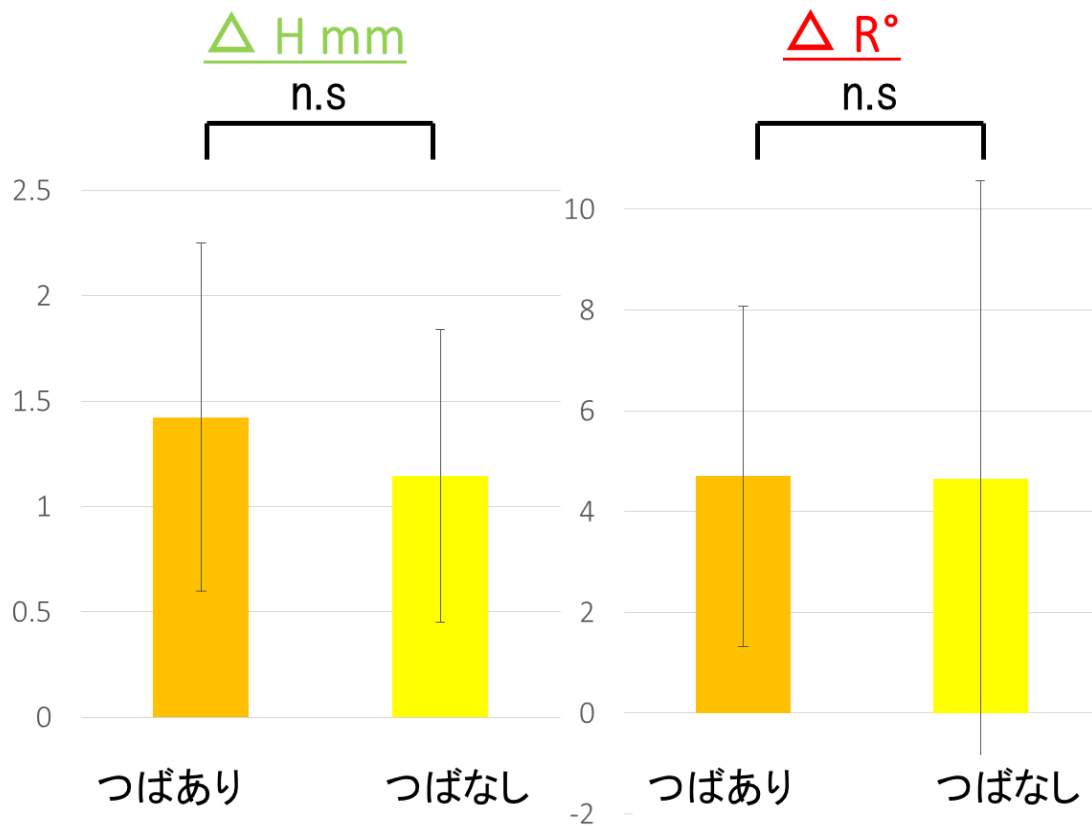


図 35. UDPHAp 椎弓スペーサーの「つばつき」と「つばなし」での形状間比較
 ΔH : 脊柱管前後径の変化量 ΔR : 椎弓-椎体後壁角の変化量

<国内外の文献検索システムを用いた文献調査>

➤ 文献検索方法

- 検索データベース: PubMed 及び 医学中央雑誌
- 検索キーワード:
 - 【Pubmed】“laminoplasty” に以下のwordを追加し検索
“spacer”, “hydroxyapatite”, “apatite”, “ceramic”, “artificial bone”
 - 【医中誌】“椎弓形成術”に, “HA”, “スペーサー”, “骨癒合”
の追加Wordを組み合わせて検索
- 検索フロー: 検索文献を実際に確認し, 以下の選択基準への該当文献抽出

受入基準	<ul style="list-style-type: none"> ● HAスペーサーの骨癒合評価の検討があるもの ● HAスペーサー使用時の臨床評価が可能なもの
除外基準	<ul style="list-style-type: none"> ・動物試験 ・日本語、英語以外の言語 ・異なる手術手技, HAスペーサー以外のデバイス使用 ・生体力学的研究又は推測

<Pubmed>

“laminoplasty”+	{	spacer	:29報	該当文献 計: 7報 380例 -片開き 2報 128例 -両開き 5報 252例
		hydroxyapatite	:37報 (18報重複)	
		apatite	:29報 (29報重複)	
		ceramic	:14報 (10報重複)	
		artificial bone	: 8報 (6報重複)	

<医学中央雑誌>

“椎弓形成術”+ “HA” + “スペーサー”	:44報	該当文献 計: 15報 515例 -片開き 9報 319例 -両開き 7報 196例 (両術式1報含む)
“椎弓形成術”+ “HA” + “骨癒合”	:18報 (18報重複)	
“椎弓形成術”+ “スペーサー” + “骨癒合”	:23報 (18報重複)	

図 36. HA 人工椎弓スペーサーの骨癒合に関する報告のシステマティックなレビュー方法の詳細

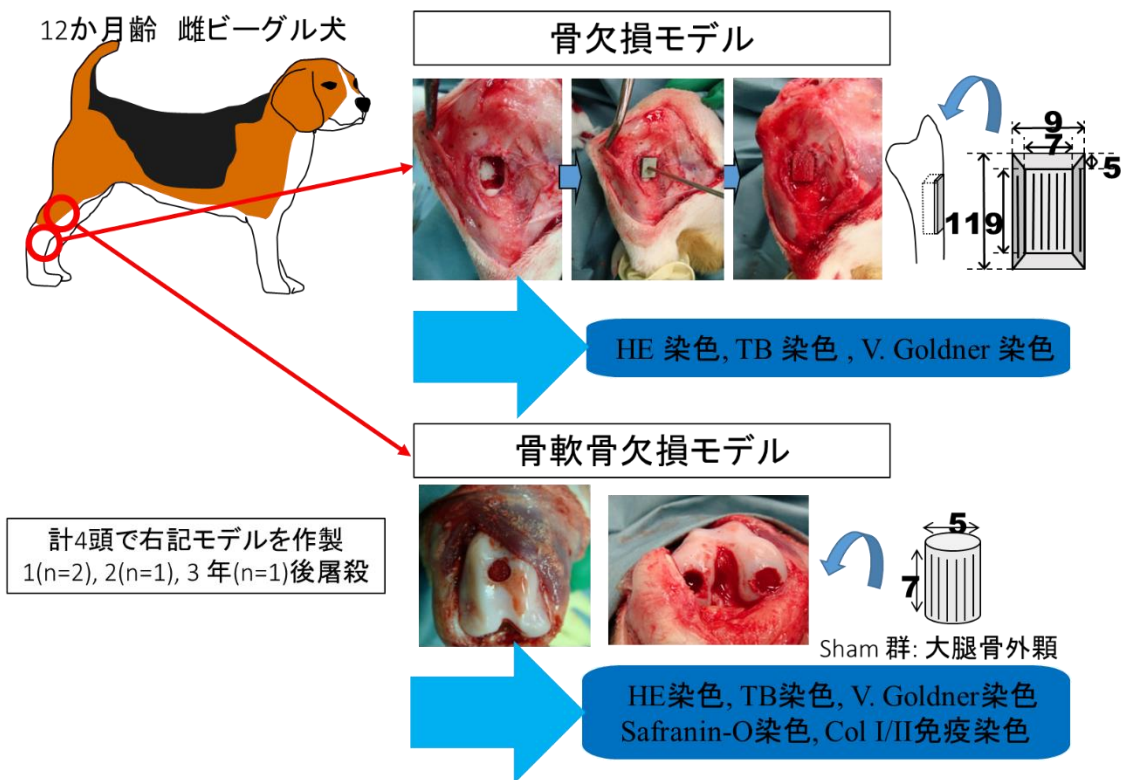
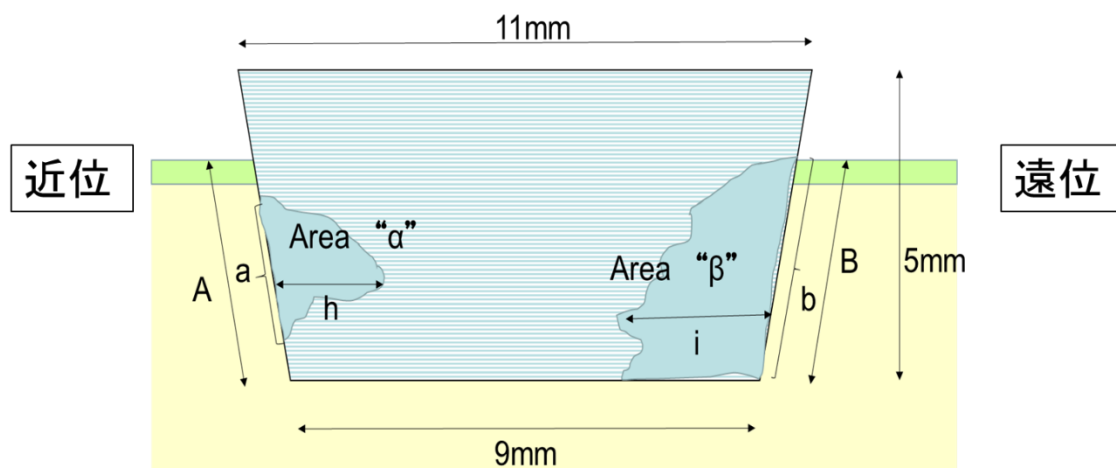


図 37. UDPHAp ブロックを長期埋植した際の骨再生の推移を検証した各モデル
(骨欠損モデルおよび骨軟骨欠損モデルの概略図)



<UDPHApブロックの非脱灰VG染色標本 模式図>

図 38. UDPHAp ブロックの非脱灰 VG 染色標本を用いた評価項目の定義
以下の通りに定義した。

bone ingrowth area ratio: $(\alpha+\beta)/50\text{mm}^2$ (=UDPHAp 断面積)

bone bonding ratio of perforated side (proximal / distal) : a/A , b/B

bone ingrowth ratio of perforated side (proximal / distal) : h/A , i/B

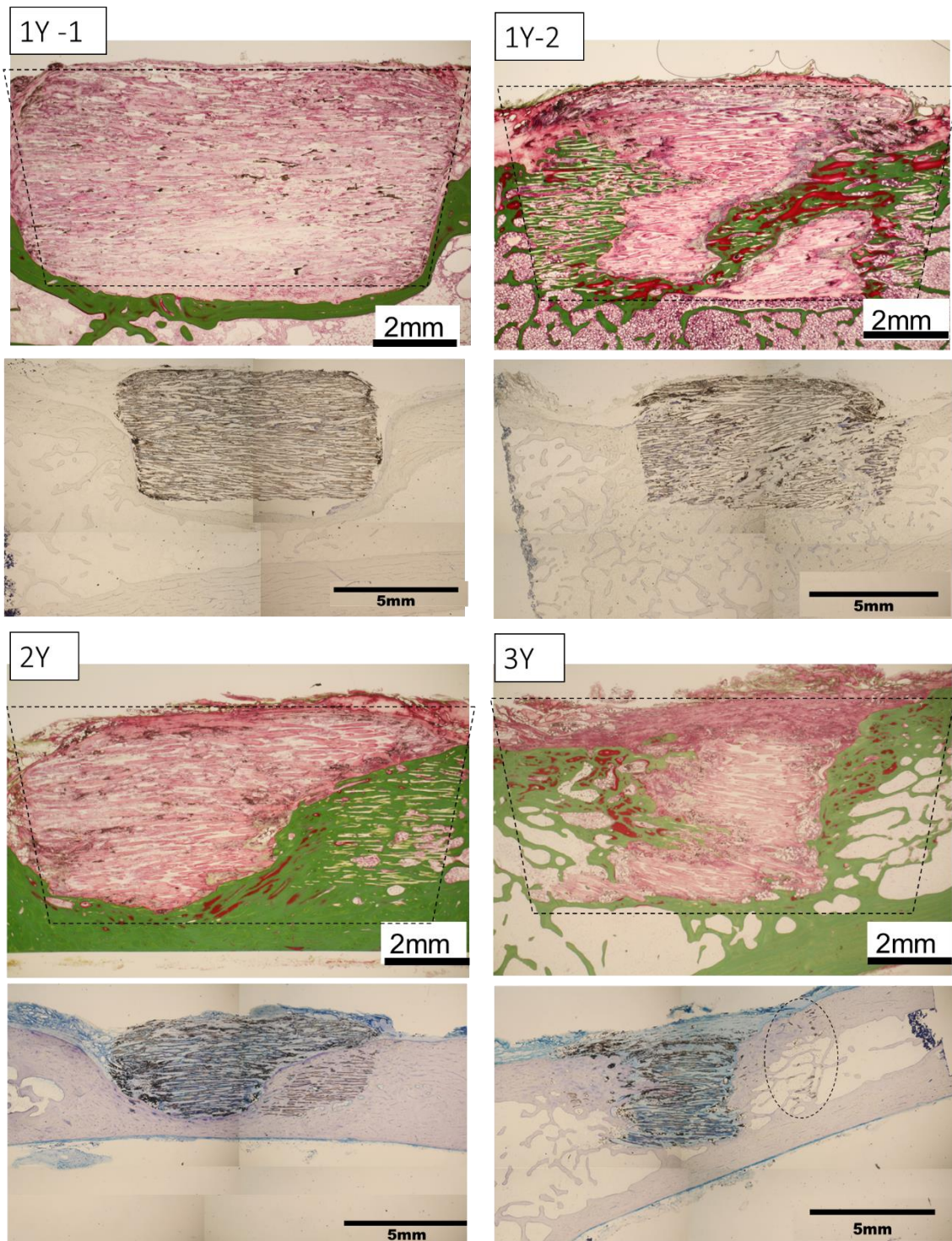


図 39. 骨欠損モデルの画像(上段:VG 染色、下段:TB 染色)
 埋植 1 年の 2 例において、1 例は骨再生を呈さなかったもの、もう 1 例では材料内骨形成が生じており、埋植 2 年および 3 年の各 1 例では材料内骨形成領域が増大するとともに UDPHAp が材料吸収し骨梁構造を伴う骨置換が生じた。(TB 染色では、材料吸収のない遺残 HA 人工骨が確認できた。)

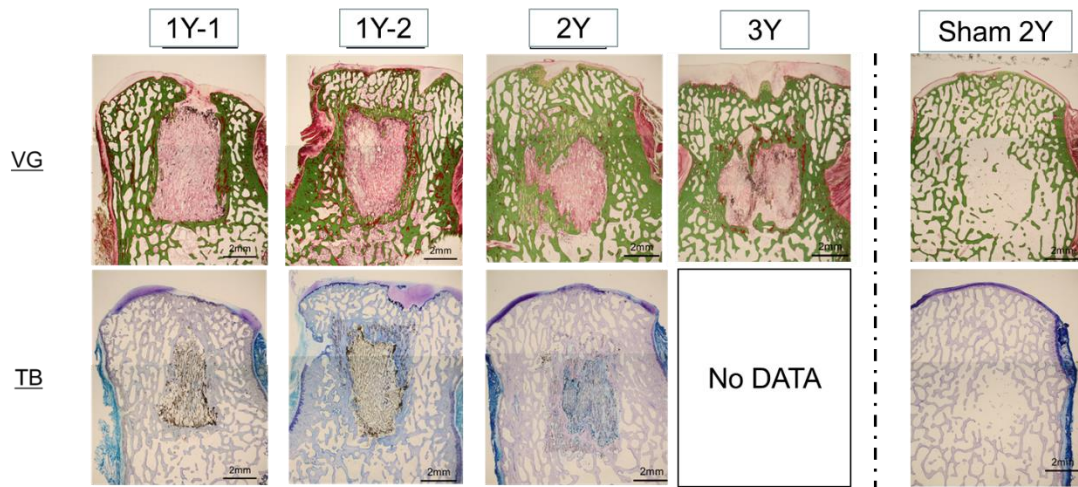
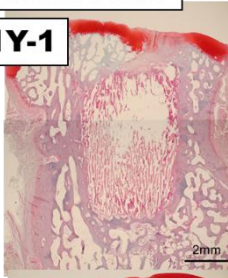


図 40. 骨軟骨欠損モデルの骨再生評価(上段:VG 染色、下段:TB 染色)
 外顆(Sham 群 2 年後)の VG 染色、TB 染色標本と共に内顆での各画像を示す。内顆では、骨欠損モデルと同様に、経時的な材料吸収および骨置換が示唆される結果であった。

大腿骨内顆

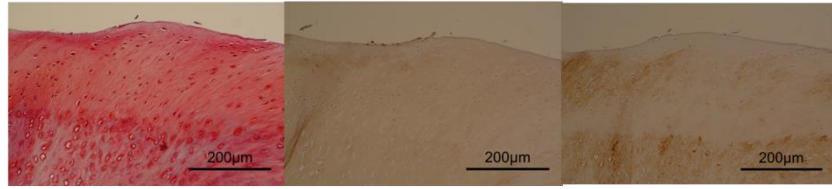
1Y-1



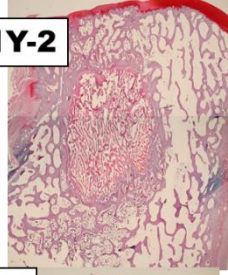
サフラニンO

Col 1

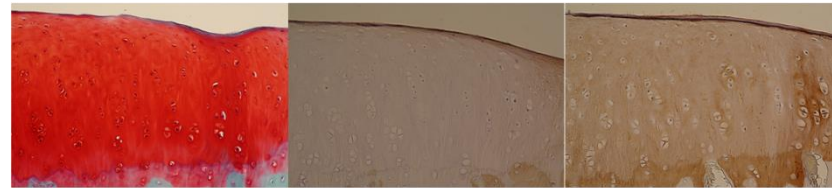
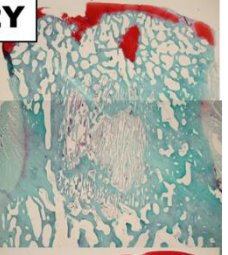
Col 2



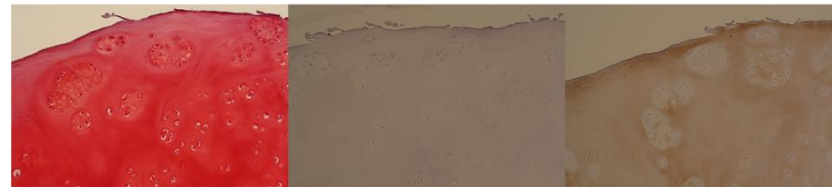
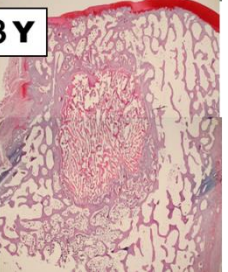
1Y-2



2Y

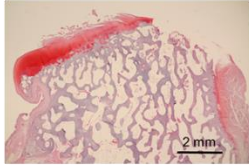


3Y



大腿骨外顆

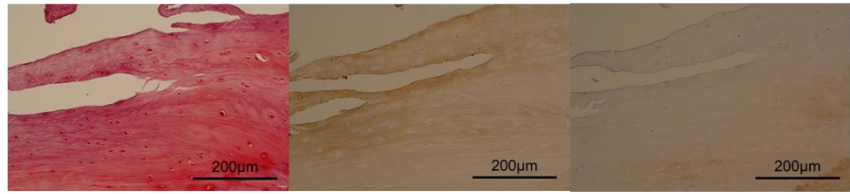
1Y-1



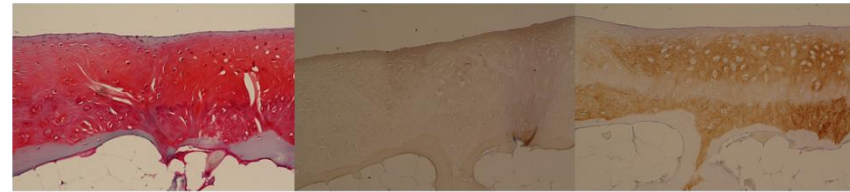
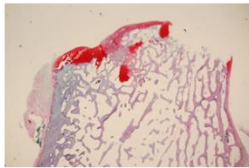
サフラニンO

Col 1

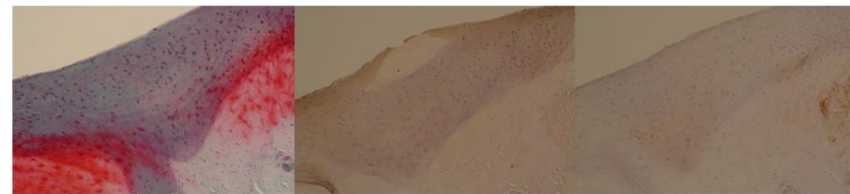
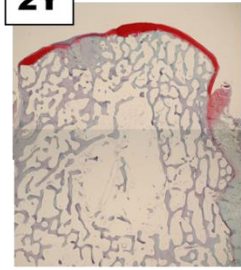
Col 2



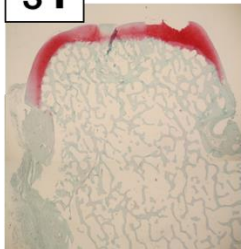
1Y-2



2Y



3Y



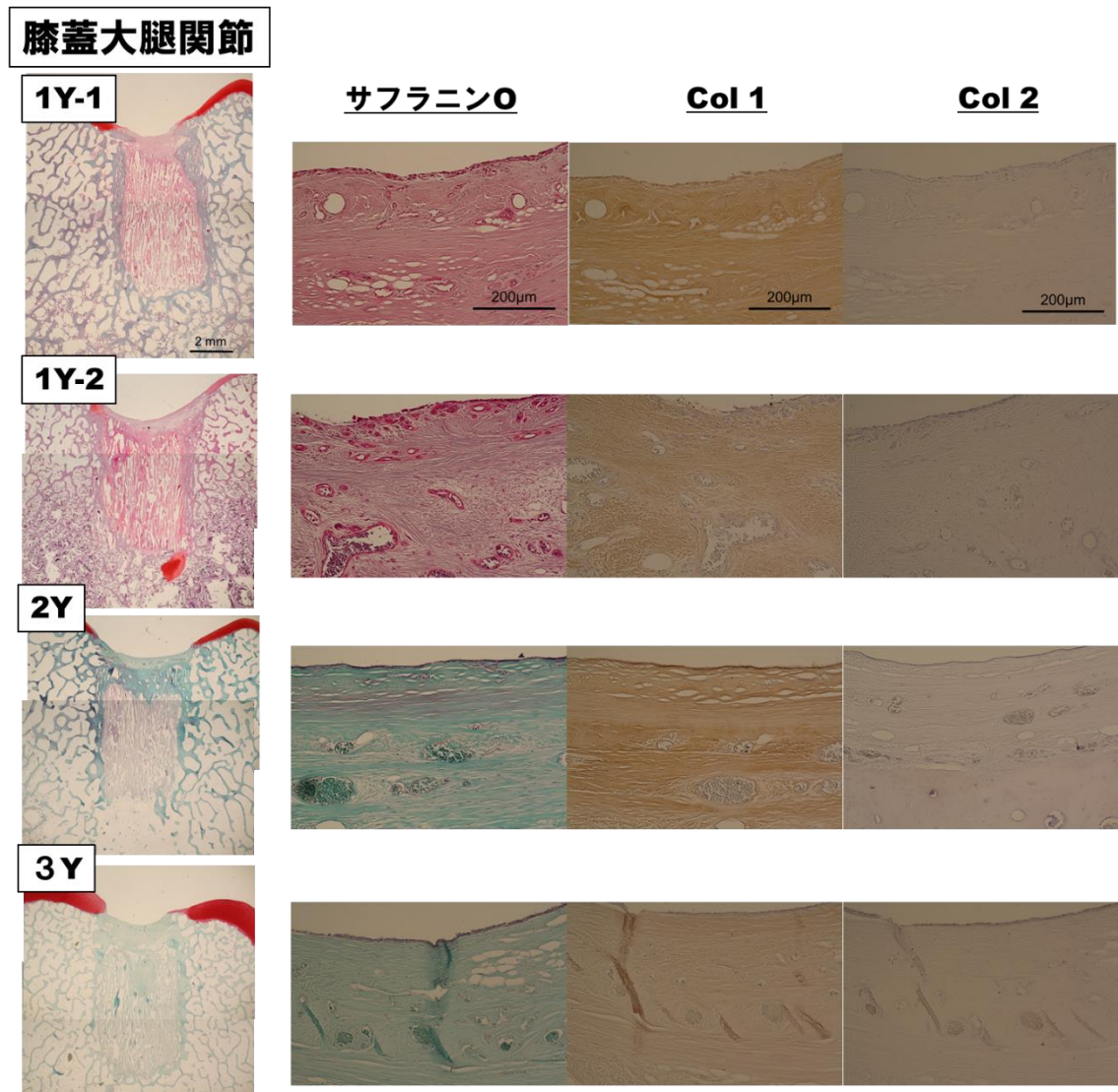


図 41. 骨軟骨欠損モデルの関節軟骨再生評価(大腿骨内顆、外顆(Sham 群) および膝蓋大腿関節の safranin-O 染色、Col type I /II 染色標本)
 膝関節軟骨面は経時的に修復傾向があり、内顆の再生軟骨層は、周囲の健全領域に比して薄いものの外顆(Sham 群)よりも厚みが増していた。膝蓋関節部においては、軟骨組織の代わりに線維性組織による再生が生じていた。

謝 辞

本論文の作成にあたり、ご指導、御校閲を賜りました山崎正志教授に心より感謝いたします。また、疾患制御医学専攻運動器系制御医学分野の落合直之名誉教授、坂根正孝准教授のご指導、ご助言、ご協力に対してここに改めて感謝いたします。さらに実験をするにあたり、多大なるご協力をいただいた筑波大学大学院 塚西敏則先生、牧原武史先生に厚く御礼申し上げます。

なお、本研究の各種実験は株式会社 クラレより研究助成を得て行いました。

学 会 発 表

1. The 24th Symposium and Actual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine (Bioceramics 24)

2012年10月21日(日)-24日(水), Fukuoka, Kyusyu University

A Novel Unidirectional Porous Hydroxyapatite Cylinder Implanted in the Dorsal Muscles of Dogs Promotes Fibrous Tissue Vascularization and Invasion.

Noguchi H, Watanabe A, Funayama T, Tsukanishi T, Wadano Y, Sakane M.

2. Materials in Medicine International Conference (MiMe)

2013年10月8日(火)-11日(金), Faenza, Conference Halls of FAVENTIA SALES

A histological analysis of a novel unidirectional porous hydroxyapatite implanted in proximal tibia of dogs for 1 to 3 years

Noguchi H, Sakane M, Watanabe A, Tsukanishi T, Wadano Y, Yamazaki M.

3. 第28回日本整形外科学会基礎学術集会

2013年10月17日(木)・18日(金) 幕張市、幕張メッセ

大腿骨関節面・脛骨内に長期埋植した一軸配向性多孔体ハイドロキシアパタイトの組織形態学的検討

野口裕史, 渡辺新, 船山徹, 塚西敏則, 和田野安良, 山崎正志, 坂根正孝.

4. 第 21 回日本脊椎・脊髄神経手術手技学会

2014 年 9 月 26 日(金)-27 日(土) 宮崎市、宮崎観光ホテル

両開き式椎弓拡大形成術における配向連通孔性HA多孔体椎弓スペーサーの転位
および骨癒合の検討

野口裕史, 坂根正孝, 船山徹, 塚西敏則, 牧原武史, 中山敬太, 田中利和, 狩野
真士, 河村春生, 安部哲哉, 山崎正志.

5. 第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会

2014 年 10 月 9 日(木)・10 日(金) 鹿児島市、城山観光ホテル

配向連通孔性HA多孔体椎弓スペーサーの骨癒合評価と文献レビューの検討

野口裕史, 坂根正孝, 船山徹, 塚西敏則, 牧原武史, 中山敬太, 田中利和, 狩野
真士, 河村春生, 安部哲哉, 山崎正志.

6. 第 34 回整形外科バイオマテリアル研究会

2014 年 12 月 6 日(土) 大阪市、大阪市立大学医学部大講義室

配向連通孔性ハイドロキシアパタイト多孔体へかかる荷重環境の違いが及ぼす骨形
成への影響について

野口裕史, 坂根正孝, 牧原武史, 塚西敏則, 山崎正志