

奥村映仁 論文内容の要旨

主 論 文

Behavior of β -tricalcium phosphate granules composed of rod-shaped particles in the rat tibia

(柱状粒子で構成された β -TCP 顆粒のラット脛骨での挙動)

Teruhito OKUMURA, Yoshinori GONDA, Koji IOKU, Masanobu KAMITAKAHARA, Takatoshi OKUDA, Ikuho YONEZAWA, Hisashi KUROSAWA, Izumi ASAHINA, and Tohru IKEDA

Journal of the Ceramic Society of Japan VOL. 119, NO. 1386 February 2011 (2011/2/1 発行予定)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：朝比奈 泉 教授)

緒 言

現在、様々な骨代替材料が存在するが、骨に置換される生体吸収可能性の骨代替材料が広く臨床応用されている。骨代替材料の移植後の経過は、宿主の種や年齢以外に、骨欠損の部位や大きさに依存する事が過去の研究報告からも示されている。また、生体吸収性を有する骨代替材料の吸収速度や骨形成能には、材料の形状や微細構造が大きく係わっていることが知られている。骨欠損部の治癒に骨代替材料の微細構造が重要であるということを明らかにするためには、骨代替材料が骨組織に及ぼす影響だけではなく、骨髄細胞に及ぼす影響も考慮することが重要であるが、それに関しては十分に解明されていない。本研究では、ラットの脛骨に形成した骨欠損部に新規に開発した柱状粒子構造を有する β -TCP 球状顆粒を移植した場合と、何も移植しない場合とで骨欠損部の治癒過程にどのような違いが生じるのかを比較し、骨だけではなく骨髄細胞にも焦点をあてて、この新規骨代替材料の評価を行った。

材料と方法

1) 骨代替材料の作製

原料となる α -TCP 粉末を 10%ゼラチンとともに混和し、70℃に加湿した植物油を攪拌しながらこれに滴下した。さらに攪拌しながら全体を 4℃に冷却し、球状成形体を形成させた。成形体を分離した後、乾燥させ、大気中で 1200℃、5分加熱してゼラチンを除去した。その後オートクレーブ中で 160℃、10 時間水熱処理を施し、さらに 900℃、3 時間加熱することで

柱状粒子 β -TCP 球状顆粒を作製した。作製した試料はエックス線回析によって純粋な β -TCP であることを確認し、また、微細柱状粒子で構成されていることを走査型電子顕微鏡で確認した。実験には直径 0.3mm~0.6mm の球状顆粒を濾別して使用した。

2) ラット脛骨への移植

実験動物として 9 週齢の雌 Wistar 系ラット 36 匹を使用し、それぞれ麻酔後に膝蓋骨から脛骨結節遠位部まで 10mm の正中切開を行い、直下に展開された脛骨近位端に整形外科用 Kirschner ワイヤを用いて直径 2mm、深さ 3mm の孔を形成した。 β -TCP 球状顆粒を 15mg 移植し、創部を縫合した。また対照として、孔に何も移植しない手術を施した。

手術後 2 週、4 週、8 週後にそれぞれ 6 匹ずつ屠殺し、脛骨を採取後 4%ホルマリンによる固定・レジン包埋を行い、厚さ $3\mu\text{m}$ の薄切標本を作製した。得られた薄切標本に Giemsa 染色、アルカリフォスファターゼ (ALP) 染色、酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (TRAP) 染色を施して光学顕微鏡下で形態学的に解析した。

結 果

移植後 2 週目では骨欠損内部には多くの β -TCP 球状顆粒が残存しており、顆粒と顆粒の間には間葉系細胞を豊富に認め、新生骨の形成も認めた。また、顆粒の内部や周囲にも多くの ALP 陽性細胞を認め、骨や顆粒の表面に TRAP 陽性細胞を認めた。移植後 4 週目では β -TCP 球状顆粒の吸収が進み、その周囲は間葉系細胞に富んだ海綿骨や骨髄によって構成されていた。また、ALP 陽性細胞も 2 週目と同様に多数認めた。TRAP 陽性細胞は移植後 2 週目のものと比較して減少していた。移植後 8 週目では β -TCP 球状顆粒の吸収がさらに進み、著明に骨への置換を認めた。ALP 陽性細胞は 4 週目と比較して減少していた。TRAP 陽性細胞は骨または β -TCP 顆粒と骨が複合してできた硬組織に取り囲まれた骨髓腔にのみわずかに認めた。一方対照では、術後 2 週目においては骨欠損部内に多くの間葉系細胞を認めたものの、術後 4 週目および 8 週目では骨欠損部内の骨再生は非常に乏しく、わずかに認めた骨梁の周囲は脂肪髄で満たされていた。

考 察

骨代替材料は様々な目的で使用されており、骨欠損部を補填するために生体吸収性の骨代替材料、非生体吸収性の骨代替材料が存在する。我々は生体吸収性をもつ β -TCP の優位性について研究してきたが、骨代替材料の持つ微細構造が生物学的作用に影響することや、骨欠損部の治癒に影響することを発見した。本研究では骨のみではなく、骨髓細胞に焦点を当て、柱状粒子 β -TCP 球状顆粒をラットの脛骨に移植したものと移植しなかったものとで組織学的所見を分析した。その結果、移植材料周囲には間葉系細胞を著明に認め、そのほとんどは ALP 陽性細胞であった。また、移植しなかった対照の術後 2 週目の骨欠損部には多くの間葉系細胞が発現し、それらは移植した場合と同様に ALP 陽性反応を示した (今回写真は提示せず)。それにもかかわらず対照の術後 4 週目および 8 週目では骨欠損部の骨再生はほとんど認めず、脂肪細胞を多く認めた。脂肪変性は、骨髓が老化した場合の主要な所見であるが、柱状粒子を有する β -TCP 球状顆粒がもつ微細構造が骨芽細胞分化の活性化に寄与したり、骨髓の間葉系細胞が脂肪へ分化することを阻害していることが考えられた。