水酸化アパタイト・多孔質立方体の ビーグル犬広範骨欠損部単独充填の検討

琉球大学整形外科

井 上 治・吉 川 朝 昭
永 山 盛 隆・島 袋 博 之
新 垣 宜 貞・普天間 朝 上
茨 木 邦 夫

Solo Implantation of Porous Cuboidal Hydroxyapatite in Large Bone Defects in Beagle Dogs.

by

Osamu Inoue, Tomoaki Yoshikawa, Moritaka Nagayama,
Hiroyuki Shimabukuro, Yoshisada Shingaki, Chyojo Hutenna,
and Kunio Ibaraki.

Department of Orthopaedic Surgery,
School of Medicine, University of the Ryukyus.

Porous cuboidal hydroxyapatite (HAp) as a substitute of cancellous bone is a bio-active ceramics, and its tissue affinity as well as osteo-conductivity have been proven experimentally by Niwa et al. However, to fill the large cancellous bone defects by HAp alone, it is not clearly understood if HAp should be implanted with autogenous bone. So, the large bone defects created by curettage of cancellous bone in distal femur and proximal tibia in seven beagle dogs were filled by 4.3 mm³ HAp 5 to 10 pieces. After the implantation of HAp, radiological observation by Fuji computed radiogram and histological evaluation by H-E stain and Villanueva non-decalcified stain were carried out from the bone specimens resected serially 2 to 44 weeks. Radiologically by 4 to 8 weeks after HAp implantation, the space between HAp and the preexisting bone which was mainly cortex, was reduced by radiodense newly formed trabeculae except the open window in femur site. Histologically in 2 weeks, new trabecular bone formation with abundant vascularization was observed between HAp and the preexisting bone. By 4 to 12 weeks, fibrous tissue in HAp was gradually transformed to immature bone adherent to HAp, and fibrous tissue was replaced by normal bone marrow. In 44 weeks, the porous cavities seemed enlarged by the resorption of HAp. So, the solo implantation of HAp in large bone defects is probably safe and secure procedure because new bone formation in and around HAp is conducted early to enforce the fragility of HAp without foreign body reactions.

はじめに

丹羽らの開発した水酸化アパタイト・多孔質立方体(以下, HAp)はおもに海綿骨欠損部を補填する bio-active な生体材料であるが, 臨床では多くの場合,

自家骨と混合して移植され, 実験的にもこの HAp を単独で広範な骨欠損部に充填した報告はみられない^{1) 3) 5) 6) 8)}. そこでわれわれは広範な骨欠損部に対する HAp 単独充填の可否を検討するためビーグル犬骨端部海綿骨の大部分を搔爬し, 骨欠損部に HAp の

みを単独で充填した場合の骨形成をレ線および組織学的に観察したので報告する。

方 法

ビーグル犬雌7頭を用い、ネンプタル麻酔下(25 mg/kg)に大腿骨遠位および脛骨近位内顆部骨皮質を約1 cm²開窓し、軟骨下骨のみを残して海綿骨の大部分を搔爬・切除した。ボンフィルすなわち三菱鉱業セメントにて製造した4.3 mm³の水酸化アパタイト・多孔質立方体(気孔径90 μm, 気孔率70%, 焼成温度900度)を5-10個充填した。脛骨顆部開窓部は自家海綿骨で被覆したが、大腿骨顆部開窓部は海綿骨で被覆せず、HApが露出された状態にした。HAp充填後、経時的すなわち2, 4, 6, 8, 12, 24, 44週経過時に屠殺し、大腿骨遠位部および脛骨近位部を切り出し、マルトー・クリスタルカッターにて5 mm幅の前額面スライスを2枚ずつ作成した。各クライスを富士イメージング・プレートSTにて通常のレ線撮影後、富士Computed Radiography(以下、CR)にて骨とHApのコントラストがつく条件で画像処理した。また脱灰H-E染色標本および

Villanueva Bone Stainによる非脱灰研磨標本、約20 μmを作製し、組織学的検討を行なった。

結 果

1. Fuji Computed Radiographyによるレ線像。

HAp単独充填2週後からすでに脛骨近位開窓部には仮骨形成がみられたが、4週後では大腿骨開窓部の仮骨形成およびHAp周辺の骨形成は脛骨開窓部に比べて遅れていた(図1. a)。6-8週後では大腿骨および脛骨側ともHApと周囲の間隙はレ線透過性が低下し、周囲の骨梁がHApに接近していた。(図1. b) 12および24週後では大腿骨および脛骨側ともHApと周囲の間隙はさらに縮小し、44週後ではHAp周囲にわずかに間隙がみられるも周囲の骨梁とほぼ一体化していたが、大腿骨開窓部の骨性被覆は不十分であった(図1. c)。

2. スライス切片の肉眼的観察。

HAp充填後2週の経過で大腿骨および脛骨側共にHAp周囲の間隙は血腫とは異なる器質化した褐色の組織で充たされた。しかし4週では大腿骨開窓部には線維組織が侵入していたが脛骨開窓部は骨性に被覆さ

図1 水酸化アパタイト・多孔質立方体単独充填のFCR像

- 術後4週。大腿骨顆部開窓部の骨形成は明らかではない。
- 術後6週。脛骨顆部開窓部は自家海綿骨を置いたため骨性に十分被覆されている。
- 術後44週。充填された水酸化アパタイトの周囲に間隙がみられるが、既存骨から骨梁が伸びてきて、水酸化アパタイトに接合している。大腿骨顆部開窓部は海綿骨を置かなかったため骨性被覆は不十分である。

図2 スライス切片

- a. 術後4週. 水酸化アパタイト・多孔質立方体の周囲の間隙は器質化した組織でみられているが、開窓部は線維性組織が侵入している。
- b. 術後12週. 水酸化アパタイト・多孔質立方体の周囲は骨組織により充填されている。

図3 Villanueva 骨染色による非脱灰研磨標本 (20倍)

術後2週. 右端の水酸化アパタイトと左端の既存骨との間に類骨幅の厚い微細な新生骨梁がみられ、旺盛な血管新生を伴っている。

れていた (図2. a). 6週以上経過すると大腿骨および脛骨側共に HAp 周囲の間隙は骨組織により充填された (図2. b).

3. 脱灰 HE 染色標本および Villanueva 骨染色・非脱灰標本による組織学的検討。

HAp 充填後2週経過した大腿骨および脛骨側共に

図4 非脱灰標本 (20倍)

- a: 術後4週. 水酸化アパタイト・多孔質内の線維性組織は骨と骨髄組織に分化しつつある。
- b: 術後4週. 大腿骨顆部開窓部近傍の水酸化アパタイト・多孔質内では線維組織が残存し、骨への分化はみられない。

図5 非脱灰標本 (40倍)

術後12週. 水酸化アパタイト周囲の新生骨は類骨幅が減少し、既存の骨梁の形態に近くなり、水酸化アパタイトと密に接合した。

HAp 周囲の間隙にはすでに類骨幅の厚い微細な新生骨梁がみられ、旺盛な血管新生を伴っていたが、血腫はすでに吸収されていた (図3)。しかし大腿骨開窓部では線維性組織が HAp 内に侵入し、この部位での骨形成はみられなかったが、異物反応あるいは炎症性細胞浸潤などは認められなかった。また HAp 内には線維性組織が充満し、一部では HAp に接する箇所では骨へ分化していた。4-12 週経過すると大腿骨および脛骨側共に HAp 周囲の新生骨は類骨幅が減少し、既存骨梁の形態に近くなり、また新生血管にかわって

図6 非脱灰標本 (40倍)

術後44週. 水酸化アパタイト・多孔質立方体内の新生骨はアパタイトに対し占拠率が高くなり, 水酸化アパタイトが吸収されることにより多孔質の間隙が拡大する傾向がみられた.

骨髓が形成された. また HAp 内の線維性組織は骨と骨髓組織に分化したが大腿骨開窓部近傍の HAp 内では線維性組織が一部, 残存した (図4. a. b. 図5). 24-44 週経過すると旺盛な骨形成は収まったが, 一方大腿骨および脛骨側共に HAp は吸収されて細くなり, H-E 染色標本では染色性も低下する傾向がみられたが破骨細胞による骨吸収像は著明ではなかった. また HAp 多孔質内の新生骨は HAp に対し占拠率が高くなり一方, HAp が吸収されることにより多孔質の間隙が拡大する傾向がみられた (図6).

考 察

骨欠損部を充填する方法として従来より自家骨移植が行なわれているが, 採骨による手術侵襲が大で, 広範な骨欠損を補填することは困難である. 一方, 広範な骨欠損部を補填する方法として欧米では同種骨移植が脚光を浴びているが, 本邦では法的な問題があり, また HB 抗原, AIDS などの感染の問題もある. 本邦では最近, 骨塩成分の主体である合成水酸化アパタイトが開発され, 骨充填材として用いられつつあるが, 広範な骨欠損に対しては自家骨と混合して移植されることが多く, 水酸化アパタイトのみでどの程度の骨欠損に充填し得るか不明な点も多い. この水酸化アパタイトは実験的研究から優れた生体親和性を有するため異物反応がほとんどなく, また骨誘導能すなわち周囲の骨組織から水酸化アパタイト内に骨形成を誘導する

作用が立証されている^{1) 4) 5) 8)}. われわれの用いた HAp は丹羽らが水酸化アパタイトを海綿骨欠損部に充填し易い多孔質立方体の形状の開発したもので, 充填直後の強度は低い HAp 内外に骨が形成されると海綿骨と同程度の強度を有するようになり, またこの HAp が気孔率 70%, 焼成温度 900 度 C において骨誘導能が最も高いことが証明されている^{4) 5) 7)}. また黒沢らは埋め込まれた水酸化アパタイトは徐々に吸収されるが異物反応を惹起することがないことを報告したが²⁾, われわれの HAp 単独充填実験でも 44 週後には同様の組織学的所見が得られた. また東らは水酸化アパタイト顆粒を自家骨と混合して移植する実験を行ない, 開窓部を自家骨で被覆することにより線維組織の侵入を防げることを報告したが⁷⁾, われわれの実験でも線維組織の侵入を防ぐことにより HAp 内外の骨形成も促進することが分かった. さらにわれわれの実験では広範な骨欠損部に単独で充填された HAp 周囲にかなりの間隙が存在するにもかかわらずわずか2週間で HAp 内外に新生骨が誘導され, 周囲の骨梁と密に接合することが分かった. したがって HAp は大腿骨あるいは脛骨顆部などにおける広範な海綿骨欠損部を単独で補填し得る bioactive な生体材料と考えられた.

ま と め

Bioactive な水酸化アパタイト・多孔質立方体をビーグル犬大腿骨および脛骨顆部の広範な骨欠損部に単独で充填したところ約2週間でアパタイト内外に新生骨が誘導され, 4-12 週で既存の骨梁様構造になった. また6ヵ月-1年で徐々に水酸化アパタイトは吸収されたが, 異物反応を伴わなかった. 開窓部を自家骨で充填することにより線維組織の侵入を防ぎ, また水酸化アパタイト内外の骨形成を促進させることが可能であると考えられた.

参 考 文 献

- 1) 東正一郎, 他: 骨補填材としての合成水酸化アパタイト細粒と自家骨混合移植. 臨整外, 17: 634-642, 1982.
- 2) 黒沢 尚, 他: 合内での多孔質アパタイトの吸収について. 日整会誌, 62 (7) S538, 1988.
- 3) 黒沢 尚, 他: 合成多孔性アパタイトの骨充填, 置換材としての臨床応用. 整・災外, 30: 1425-1437, 1987.
- 4) 丹羽滋郎, 他: 合成水酸化アパタイトの骨親和性. 臨整外, 21: 1233-1240, 1986.

-
- 5) 丹羽滋郎, 他: 骨欠損に対する充填材としての水酸化アパタイト. 別冊整形外科, 8: 89-95, 1985.
- 6) 丹羽滋郎, 他: 合成アパタイトの臨床応用. 新薬と臨床, 37: 150-159, 1988.
- 7) 澁谷一行, 他: 合成水酸化アパタイト埋め込み部の強度試験. 整形外科基礎科学, 12: 259-261, 1985.
- 8) 高木幸人, 他: 骨代用材としての多孔質ハイドロキシアパタイトに関する実験的研究. 東北大学歯学雑誌, 4: 39-48, 1985.
- ~~~~~