

学位論文題名

Biomechanical and Morphological Evaluation of
a Three-Dimensional Fabric Sheep Artificial
Intervertebral Disc In Vitro and In Vivo Analysis

(三次元立体織物を使用した羊人工椎間板に関する
生体力学的、形態学的研究)

学位論文内容の要旨

[目的]

従来、安定性を喪失した脊柱の治療法として脊椎固定術が行われ、安定した臨床成績が報告されてきた。しかし、脊椎固定術には固定椎間の可動性の損失と固定隣接椎間の変性の進行という問題点が随伴する。脊柱本来の運動機能を温存しつつ、支持性を損なわない脊柱再建方法としての人工椎間板の開発が望まれる。われわれは全く新しい構造を持つ人工椎間板を開発し、羊を使用した動物実験を開始した。本研究の目的は羊人工椎間板と羊正常椎間板の生体力学的特性を比較すること、さらに生体内(筋内)に留置した羊人工椎間板の変化を生体力学的、形態学的に明らかにすることである。

[羊人工椎間板の概要]

超高分子量ポリエチレン繊維の束を直鎖状低密度ポリエチレンで被覆した線維を作製した。この高強度の生体適合性繊維を羊椎間板形状に類似した、三軸を有する三次元立体織物に織り上げ、さらに、表面に生体活性セラミックス粉体を吹き付け埋め込み処理することによって、生体活性を付与した。

[材料と方法]

羊人工椎間板10個と成羊の屍体から摘出した腰椎L2/3とL4/5高位の椎間板一椎体複合体10個を使用した。検体を歯科用レジンで包埋し、MTS試験機を用いて、生体力学試験を行った。

(引張・圧縮試験、捻り試験)

最大±200N、負荷速度50N/secの繰り返し引張・圧縮試験と50Nの軸圧下に最大±5 Nm、負荷速度1Nm/secの繰り返し捻り試験を行った。試験結果の評価方法として、荷重変位曲線またはトルク・角度曲線と各荷重時の剛性を用いた。

(粘弾性試験)

粘弾性試験は200Nの圧縮荷重を30分間維持した後、除負荷し30分間回復させた。得られた歪み・時間曲線から、creep rateと残余変位を算出した。

(疲労試験)

疲労試験は36.5℃の生理食塩水中で、200Nの圧縮を5Hzの周期で200万回負荷して行った。疲労試験施行の前後に同様の引張・圧縮試験と捻り試験を行い、力学的特性と各荷重時における剛性の変化を比較した。また、生理食塩水中の磨耗粉の有無を観察した。

(生体内変化)

5個の羊3-DF Discを羊大腰筋内に留置後、6ヵ月後に摘出し、実体顕微鏡と走査電子顕微鏡を用いた表面観察と、同様の引張・圧縮、捻り試験を行った。

統計学的検定には、羊人工椎間板、羊正常椎間板、生体内留置羊人工椎間板の比較にはKruskal-Wallis testとScheffe F testを使用し、疲労試験前後の比較にはPaired t-testを使用した。

[結果]

(引張・圧縮試験)

羊正常椎間板、羊人工椎間板の荷重変位曲線はともに非線形で、大きなヒステリーシスループを示し、ほぼ同様な力学的特性であった。圧縮剛性は150N、100Nレベルでは両群間に統計学的有意差を認めなかったが、50Nレベルでは正常羊椎間板が837kN/m、羊人工椎間板が495kN/mであり、正常羊椎間板が有意に高い剛性をしめした ($P < 0.05$)。

(捻り試験)

羊人工椎間板のトルク・角度曲線は非線形で、大きなヒステリーシスループを示したが、羊正常椎間板とは明らかに異なっていた。捻り剛性は4Nmレベルにおいては三群間に統計学的有意差を認めないが、3Nm、2Nmレベルでは羊正常椎間板が有意に高い捻り剛性を示した ($P < 0.05$)。(羊正常椎間板 4.85、5.00Nm/degree、羊 3-DF disc 1.64、0.99Nm/degree)

(粘弾性試験)

羊人工椎間板と羊正常椎間板の歪み・時間曲線は類似していた。また、creep rateは羊正常椎間板と羊人工椎間板のそれぞれで0.085%/min、0.061%/min、残余歪みもそれぞれ0.66%、0.56%であり、両者に統計学的有意差を認めなかった ($P < 0.05$)。

(疲労試験)

疲労試験中、羊人工椎間板の破損はなく、疲労試験後の荷重・変位曲線とトルク・角度曲線は疲労試験施行前とほぼ同一であった。各荷重時における剛性も疲労試験施行前と有意差を認めなかった。また、生理食塩水中に磨耗粉を認めなかった

(生体内変化)

生体内に留置した羊人工椎間板の実体顕微鏡による表面観察では編み目構造の乱れや繊維の断裂などを認めず、留置前と同様であった。また、走査電子顕微鏡による表面観察では、繊維の周径の変化や繊維内の超高分子量ポリエチレンの露出等の明らかな劣化所見はなかった。留置前に見られた生体活性セラミックス粉体の消失が観察された。引張・圧縮試験、捻り試験の結果、生体内留置前と生体力学的特性の変化を認めなかった。

[考察]

三次元立体織物を利用した人工椎間板は編み糸の軸方向、配向比、緻密度を変化させることで三次元的な力学的特性を操作可能であり、すでに試作されたヒト用人工椎間板では人正常椎間板とほぼ同等の力学的特性が得られている。今回、羊の椎間板の大きさがヒトの約8分の1と小さいために羊人工椎間板の緻密度を上げることが技術的に困難であった。そのため、低荷重域での捻り剛性が羊正常椎間板より低値となったが、ヒト正常椎間板とはほぼ同等であった。脊柱は体幹自重による持続的な軸圧だけでなく、振動、衝撃力など生体力学的に有害な外力に常に曝されている。これらの外力の吸収、ストレス分散の点からも、人工椎間板は正常椎間板と類似した粘弾性を有することが望ましい。本研究では羊人工椎間板は羊正常椎間板とほぼ類似の粘弾性を示し、人工椎間板として適当な粘弾性を持つことが示唆された。また、人工椎間板の必要条件として生体内での長期耐久性が挙げられる。現在まで報告されてきた人工椎間板は、複合体構造をとり、長期使用における内部界面での破損が報告されている。一方、三次元立体織物は内部界面を持たない一体型構造をとる点や、ストレスが局所に集中せず各繊維に分散する点から、耐久性に優れていると考えられる。今回の疲労試験においても羊人工椎間板に破損や生体力学的変化を認めず、三次元立体織物を使用した人工椎間板の良好な疲労特性が示された。また、生体内留置前と比較して、羊人工椎間板に生体力学的変化、織物および繊維の劣化所見は認めず、三次元立体織物の生体内6ヶ月での良好な生体安定性が示された。

[結語]羊人工椎間板は生理的な粘弾性、良好な疲労特性、および生体力学的、形態学的生体安定性をしめし、三次元立体織物を利用した人工椎間板は臨床応用への可能性をもつと考える。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 三 浪 明 男
副 査 教 授 杉 原 平 樹
副 査 教 授 安 田 和 則

学 位 論 文 題 名

Biomechanical and Morphological Evaluation of a Three-Dimensional Fabric Sheep Artificial Intervertebral Disc In Vitro and In Vivo Analysis

(三次元立体織物を使用した羊人工椎間板に関する
生体力学的、形態学的研究)

本研究の目的は羊人工椎間板と羊正常椎間板の生体力学的特性を比較すること、さらに生体内に留置した羊人工椎間板の変化を生体力学的、形態学的に明らかにすることである。羊人工椎間板は超高分子量ポリエチレン繊維の束を直鎖状低密度ポリエチレンで被覆した繊維を、羊椎間板形状に類似した三次元立体織物に織り上げたものである。さらに、表面に生体活性セラミックス粉体を吹き付け埋め込み処理することによって、生体活性を付与している。羊人工椎間板 10 個と成羊の屍体から摘出した椎間板-椎体複合体 10 個を使用した。最大±200Nの繰り返し引張・圧縮試験と最大±5 Nm の繰り返し捻り試験を行った。粘弾性試験は 200N の圧縮荷重を 30 分間維持した後、除負荷し 30 分間回復させた。疲労試験は 36.5°C の生理食塩水中で、200N の圧縮を 5Hz の周期で 200 万回負荷して行った。疲労試験施行の前後に同様の引張・圧縮試験と捻り試験を行い、力学的特性の変化を比較した。また、生理食塩水中の磨耗粉の有無を観察した。5 個の羊人工椎間板を羊大腰筋内に留置後、6 ヶ月後に摘出し、実体顕微鏡と走査電子顕微鏡を用いた表面観察と、同様の引張・圧縮、捻り試験を行った。統計学的検定には、Kruskal-Wallis test、Scheffe F test、および Paired t-test を使用した。羊正常椎間板、羊人工椎間板の荷重変位曲線はともに非線形で、大きなヒステリーシスループを示し、ほぼ同様な力学的特性であった。圧縮剛性は 50N レベルでは正常羊椎間板が有意に高い剛性を示した。羊人工椎間板のトルク・角度曲線は羊正常椎間板とは明らかに異なっていた。捻り剛性は 4Nm レベルにおいては 3 群間に統計学的有意差を認めないが、3Nm、2Nm レベルでは羊正常椎間板が有意に高い捻り剛性を示した。粘弾性試験の結果、羊人工椎間板と羊正常椎間板の歪み・時間曲線は類似していた。また、creep rate と残余歪みは羊正常椎間板と羊人工椎間板の間に統計学的有意差を認めなかった。疲労試験中、羊人工椎間板の破損はなく、疲労試験後の荷重・変位曲線とトルク・角度曲線は疲労試験施行前とほぼ同一であった。また、生理食塩水中に磨耗粉を認めなかった。生体内に留置した羊人工椎間板の表面観察では編み目構造の乱

れや繊維の断裂、繊維の周径の変化等の明らかな劣化所見を認めなかった。引張・圧縮試験、捻り試験の結果、生体内留置前と生体力学的特性の変化を認めなかった。本研究の結果より、羊人工椎間板は生理的な粘弾性、良好な疲労特性、および生体力学的、形態学的生体安定性を示し、三次元立体織物を利用した人工椎間板は臨床応用への可能性をもつと考える。公開発表において、副査杉原教授より人工材料としての生体適合性、実際に羊の椎間に置換した場合の術後の状態、織物の Tissue Engineering への応用について質問があり、すでに臨床応用されている材料で作製されていること、実際に羊の腰椎に置換されても、異物に対する炎症反応がなかったことを回答した。また、織物が Tissue Engineering の足場、担体になり得る可能性を回答した。副査安田教授より人工椎間板の繊維の構造、羊正常椎間板と異なる力学的特性になった理由、本実験の荷重-変位曲線が意味することについて質問があり、生体親和性と強度を増すために繊維が設計されていること、羊用の人工椎間板を作る場合、織物の緻密度を上げることに限界があり、これが低荷重域での剛性が低い原因となっていることを回答した。また、主査三浪教授より今後の臨床応用に関して適切な織物としての緻密度、形状、あるいは確実な椎体との骨癒合のための今後の展望について質問があり、人用人工椎間板では人正常椎間板に近い力学的特性が得られていること、および吸収性内固定材料を使用して確実な骨癒合が得られていること、BMPの応用が計画されていることを回答した。

この論文は新しい生体材料に関する生体力学的、形態学的検討を行った独創的な研究であり、三次元立体織物を使用した人工椎間板の臨床応用への可能性を明らかにした点で脊椎の生体材料分野に大きく寄与した。この人工椎間板を用いた追加の基礎的実験が行われれば、新しい脊柱再建方法の臨床応用が期待される。

審査員一同はこれらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受ける資格を有するものと判定した。