

**治療後に体内で吸収されるマグネシウム合金に関する研究**  
**－AZ31 マグネシウム合金の機械的特性と生体内分解特性ならびに**  
**オッセオインテグレーション特性の評価－**

**【緒論】**

現在、歯科矯正臨床において、歯の移動の絶対的な固定源として歯科矯正治療用ミニスクリューインプラント（以下 MSI）が使用されている。また、外科的矯正治療の際に骨片固定のために金属製プレートやスクリューが使用されている。これらは、必要がなくなると撤去のための手術が必要となる。この撤去手術は、患者の身体的および金銭的負担になる。そこで、生体吸収性を持つ材料で MSI や骨固定用プレートを製作できれば、患者の負担となる撤去手術を回避することができる。

マグネシウム合金は、生体吸収金属材料として整形外科領域で注目されてきた。ポリ-L-乳酸などの生分解高分子と比較すると 3～16 倍の強度を有しており、かつ延性にも優れている。また、現在 MSI や骨固定用プレートの材料として一般に使用されているチタンベースの材料と比較し、より低く骨に近似した弾性係数を有している。これは応力遮蔽を回避できることを意味し、骨に直接力が加わる MSI や骨固定用プレートにおいては望ましい特性であるといえる。

そこで、本研究ではチタン合金（以下 Ti）、純マグネシウム（以下 Mg）および医療用ポリ-L-乳酸（以下 PLA）と比較した AZ31 マグネシウム合金（以下 MgA）の機械的特性、生体内での分解特性、骨-インプラント界面の強度、オッセオインテグレーション特性および生体親和性を調べることを目的とした。従来、骨-インプラント接触の定量評価には二次元的な組織像が使用されることが多かった。本研究では、空間分解能 7.0  $\mu\text{m}$  という高解像度のマイクロフォーカス X 線 CT（以下マイクロ CT）を用い、骨-インプラント界面の微細構造を三次元的に解析した。マグネシウム合金を用いた *in vivo* 研究で、マイクロ CT によって骨-インプラント界面の解析した研究はごくわずかしかない。このマイクロ CT 解析の結果をその他の実験結果と比較し、MSI や骨固定用プレート用途としてのマグネシウム合金の有効性を検討した。

**【材料と方法】**

**1. インプラント試料の作製**

Ti, MgA, Mg, PLA を、注水下でダイヤモンドディスクを用いて、それぞれ直径 1.6 mm, 長さ 4.0 mm の円柱状に加工した.

## 2. インプラント試料の分析

3 種類の金属試料に対し、蛍光エックス線分析装置を用いて元素分析を行った. 4 種類のインプラント試料をエポキシ樹脂に包埋し、鏡面研磨した. ナノインデンテーション試験により、試料表面の機械的特性（硬さと弾性係数）を測定した.

## 3. 浸漬試験

インプラント試料を疑似体液（以下 SBF）に 14 日間浸漬し、溶液の pH 変化を記録した. 浸漬終了後、大気中で乾燥して重量を測定した. 分解速度  $DR$  (mm/year) を式 1 に基づいて計算した.

$$DR = 3.65W / ATD \quad (\text{式 1})$$

ここで、 $T$  は浸漬時間（日）、 $W$  は浸漬時間  $T$  における重量損失（mg）、 $A$  は初期表面積（ $\text{cm}^2$ ）、 $D$  は試料密度（ $\text{g}/\text{cm}^3$ ）である.

## 4. 動物実験

7 週齢の Wistar 系雄性ラットを用いた. 各インプラント試料を両側の大腿骨に 1 本ずつ埋入した. 実験期間は 2, 4, 12 週間とした. 実験終了後、ラットを屠殺し、炎症評価のための血液を心臓から採取した後、灌流固定を施した. インプラント試料を含む両側大腿骨を摘出し、4% の組織固定液中で保存した.

## 5. マイクロ CT 解析

大腿骨試料は、inspeXio SMX-225CT（島津）を用い、管電流 160  $\mu\text{A}$ 、管電圧 70 kV、解像度 7  $\mu\text{m}$  で撮像を行った. 解析ソフト（TRI/3D-BON, ラトック）を用いて、インプラント周囲骨における骨密度（BV/TV, %）と骨-インプラント接触率（BIC, %）を求めた.

## 6. 押出試験

小型卓上試験機（EZ Test, 島津）を用いて、偏位速度 1.0 mm/分でインプラント試料が大腿骨から抜けるまでの押出力（N）を記録した. 記録された荷重-変位曲線から最大押出力（ $F_{\max}$ ）

を決定した。最大押出力を骨-インプラント接触面積で除し、界面の最大せん断強度 ( $\tau_u$ , N/mm<sup>2</sup>) を算出した (式 2, 3)。

$$\tau_u = F_{\max} / BIC_{Cg} \quad (\text{式 2})$$

$$BIC_{Cg} = \pi DL \quad (\text{式 3})$$

ここで、 $D$  はインプラント試料の直径 (1.6 mm) ,  $L$  は骨-インプラント接触距離 (mm) である。

## 7. 走査電子顕微鏡 (以下 SEM) による観察

大腿骨試料をエポキシ樹脂に包埋し、骨-インプラント界面を露出・研磨した後に SEM で観察した。また、エネルギー分光分散分析法 (以下 EDX) にて元素の分布を調べた。

同様に、機械的押出試験により大腿骨から取り出したインプラント試料を SEM と EDX で観察した。

## 8. 組織学的観察

大腿骨試料をポリエステル樹脂に包埋し、厚さ 50  $\mu\text{m}$  の研磨標本を作製した。トルイジンブルー染色を施し、組織像を観察した。

## 9. 血液検査

採取した血液を 1200 $\times g$ , 4 $\times$  で 30 分間遠心分離を行い、上清を採取した。Rat IL-6 ELISA キット (Invitrogen) を用いて、インターロイキン-6 (以下 IL-6) 濃度を定量した。

## 【結果と考察】

### 1. インプラント試料の分析

Ti, MgA, Mg, PLA の順に高い硬さと弾性係数を示した。特に、MgA の硬さは Ti の約 5 分の 1, PLA の約 3 倍であり、弾性係数は Ti の約 3 分の 1, PLA の約 9 倍であった。MgA は PLA に比べると著しく大きな機械的特性を有していた。

SBF における浸漬試験では、Mg 群が MgA 群に比べて著しく大きな分解速度を示した。したがって、マグネシウムは Al および Zn で合金化することで SBF における腐食挙動を改善できることが示された。

## 2. 骨-インプラント界面強度

MgA 群は、TiA 群に比べ、埋入後初期から非常に有意に高いせん断強度を示した。MgA のせん断強度は、埋入後 2, 4, 12 週間後の Ti に比べてそれぞれ 4.50, 1.33, 1.44 倍高かった。MgA 群および Mg 群における高いせん断強度は、マグネシウム表面の腐食の結果、インプラントの表面粗さが増加したことが影響していると考えられる。

## 3. オッセオインテグレーション

すべての期間における TiA 群および MgA 群で、BV/TV および BIC に有意差を認めなかった。これは、オッセオインテグレーション特性の点で TiA 群が MgA 群に劣らないと解釈することができる。組織像では、すべての試料において骨-インプラント接触を確認し、吸収性材料においては吸収部位への新生骨形成を認めた。

## 4. 試料表面の観察および吸収特性

SEM およびマイクロ CT により、MgA 群、Mg 群および PLA 群において、実験期間が長くなるにつれ吸収プロセスが進む様子が観察された。吸収が生じた領域には、EDX により P および Ca を含む層が確認され、新生骨の形成が示唆された。

## 5. 炎症反応および生体適合性

いずれの動物においても局所炎症反応の臨床的徴候（発赤、腫脹、排膿など）は認められなかった。血清中の IL-6 濃度の定量では、4 種類のインプラント試料の間に有意差がなく、すべてのラットにおいて正常な IL-6 濃度を示した。

### 【結論】

本研究では、機械的押出試験により MgA は Ti に比べ有意に高い骨-インプラント界面強度が得られることを示した。マイクロ CT 解析によって、Ti および MgA の BV/TV および BIC に有意差が認められず、骨応答の点で MgA が Ti に劣らないことが明らかとなった。また、今回の動物実験では重篤な炎症反応および生体為害性は認められなかった。加えて、MgA は吸収性材料の中ではインプラント用途として極めて優れた分解特性および機械的特性を持つことが明らかとなった。これらの結果より、この AZ31 マグネシウム合金は、MSI や骨固定用プレート用の材料として大きな可能性を持つことが示唆された。