

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	正 本 和 誉
論文題目	<i>In vivo</i> and <i>in vitro</i> bioactivity of a "precursor of apatite" treatment on polyetheretherketone. （「アパタイト前駆体」処理を施したポリエーテルエーテルケトンの <i>in vivo</i> および <i>in vitro</i> における生体活性）		
（論文内容の要旨）			
<p>【序論】PEEK（ポリエーテルエーテルケトン）は皮質骨に近い弾性率、放射線透過性をもつ生体親和性ポリマーであり、脊椎固定術において広く使用されている。しかし、脊椎固定術において、目的としている骨癒合が得られない場合があり、改善策が望まれている。PEEK 自体に骨結合能を付加することができれば、骨癒合不全を回避できる可能性が高いと考え、以下に述べるアパタイト前駆体処理（以後 PrA 処理とする）を開発した。これは、濃硫酸への浸漬（以後 S）、酸素存在下でのプラズマ処理（以後 P）、アルカリ性に維持した擬似体液への浸漬（以後 A）の 3 つの処理により、PEEK 表面に非結晶リン酸カルシウムを析出させる方法である。PrA 処理を行った PEEK を擬似体液に浸漬すると、PEEK 表面にアパタイトが早期に形成されることが明らかとなっている。本研究では、PrA 処理 PEEK の表面の成分分析に加え、<i>in vitro</i> における前骨芽細胞の細胞接着、生存、分化に与える影響、及び <i>in vivo</i> での骨結合能を評価した。</p> <p>【材料と方法】N 群（未処理 PEEK）、S 群（S 処理のみ行ったもの）、SP 群（S と P の処理を行ったもの）、SPA 群（全処理を行ったもの）の 4 種類の基材を用意した。</p> <p>（1）表面分析：①4 群の表面成分を X 線光電子分光法（XPS）で分析した。②4 群の表面濡れ性を水接触角（WCA）により評価した。③SPA 群を硝酸水溶液に浸漬し、PrA 処理により形成される層を溶解し、その Ca/P 比を誘導結合プラズマ発光分光分析で測定した。④SPA 群をレジンで包埋して切断後、PrA 処理により形成される層の厚みを、エネルギー分散型 X 線分析を用いたマッピングにより推測した。（2）<i>in vitro</i> 評価：3 群（N 群、SP 群、SPA 群）の基材上に MC3T3-E1 細胞を播種し、細胞接着、細胞生存性、分化関連遺伝子の発現、alkaline phosphatase（ALP）活性を評価、比較した。（3）<i>in vivo</i> 評価：2 群（N 群、SPA 群）の基材を日本白色家兎の脛骨に埋植し、4 週、8 週、16 週後の力学試験により骨結合力を、組織学的評価として光学顕微鏡下での骨と基材の結合率を、また画像的評価としてマイクロ CT を用いて基材周囲の新生骨量を評価した。</p> <p>【結果】（1）XPS では、SPA 群にカルボキシル基、及び僅かながらスルホ基が見られた。濡れ性は、N 群に比して SP 群、SPA 群で親水性が増し、SPA 群は WCA が $7.4 \pm 1.4^{\circ}$ の超親水性であった。PrA 処理層の Ca/P 比は 1.62 ± 0.15 で、厚みは $5\mu\text{m}$ 以下であった。（2）細胞培養 6 時間後の基材への細胞接着は、N 群、SPA 群で仮足が見られたが、SP 群では球状のままであった。細胞生存性に関して、培養 4 日後、SPA 群は、N 群、SP 群に対して細胞毒性を認めなかった。分化関連遺伝子発現は予想に反し、培養 7 日後、SPA 群は、SP 群、N 群に対して Alp、Integrin-$\beta 1$ の発現が有意に低く、ALP 活性も同じ傾向であった。（3）力学試験では、4 週、8 週、16 週いずれの時点でも、SPA 群は N 群に比して有意に高い値を示した。組織像における骨結合率もいずれの時点でも SPA 群が N 群に比して有意に高かった。マイクロ CT における基材周囲の新生骨量は 4 週、16 週で SPA 群が N 群に比して有意に多かった。</p> <p>【考察】Ca/P 比の結果から、PrA 処理層は比較的 Ca 含有量が多い非結晶リン酸カルシウムであることが示唆された。また、擬似体液中での早期のアパタイト形成能とは反対に、PrA 処理は前骨芽細胞に対して細胞毒性を認めないものの、分化関連遺伝子の発現を抑制した。その原因として、PrA 処理 PEEK 表面が超親水性であることと、僅かに残存しているスルホ基の存在が、前骨芽細胞の分化に対して抑制的に働く可能性が示唆された。一方、PrA 処理 PEEK の <i>in vivo</i> での骨結合性は早期から良好であり、臨床応用への可能性が示唆された。</p>			

<p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>PEEK（ポリエーテルエーテルケトン）は広く臨床使用されている生体親和性ポリマーであるが、それ自体に骨結合能がないことが欠点である。本研究では、PEEK をまず濃硫酸に浸漬し、次に酸素下プラズマ処理を行った後、非結晶リン酸カルシウムを PEEK に析出させるアパタイト前駆体処理（以下 PrA 処理）を開発し、この処理が PEEK に骨結合能を付与できるかを検証した。表面解析では、PrA 処理 PEEK の表面は超親水性で、<i>In vitro</i> では、前骨芽細胞に対して細胞毒性は認めなかった。<i>In vivo</i> では、PrA 処理 PEEK の日本白色家兎の脛骨における骨結合能を評価し、PrA 処理 PEEK が良好な骨結合能を持つことが力学試験、マイクロ CT および組織学的評価により示された。以上の結果は表面処理による物理学的結合及び PrA 処理による化学的結合によって、PEEK の骨結合能が亢進した可能性を示唆する。</p> <p>以上の研究は PEEK に対する骨結合能の付与方法の解明に貢献し、整形外科における PEEK を使用したインプラント開発に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 3 月 1 0 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			