



生体適合性から見たインプラント材料の変遷と展望

山本 玲子*

1. 人体における金属材料の適用と変遷⁽¹⁾⁽²⁾

人体における不具合の修復に金属材料を用いた治療は古くから行われてきた。紀元前のギリシャにおいて、既に骨折部の固定に金のワイヤが使用されていたようである。記録が明確に残されている例としては、1562年の金の板を用いた口蓋破裂修復がある。17世紀には金の他に鉄・青銅ワイヤによる裂傷縫合が試みられ、18世紀には鉄・青銅に加え銀ワイヤによる骨折修復が試みられている。19世紀に入ると、金・銀・鉛・白金試験片を犬に埋植して生体適合性を調べた例があり、特に白金が優れていたと報告されている。19世紀後半には骨折の治療にニッケルメッキ鋼製ボーンプレートとネジが初めて適用され、固定力が向上した。20世紀初頭、異種金属の接触腐食による組織反応の惹起が指摘されると、ボーンプレートに適した材料の模索が始まった。犬への埋植による生体適合性評価では、純鉄や炭素鋼は腐食が激しく近接部位の骨吸収を引き起こすこと、銅・マグネシウム・アルミニウム合金・亜鉛・ニッケルは周辺組織の変色を招くこと、金・銀・鉛・純アルミニウムは周辺組織に問題を起こさないものの機械的特性に劣ること、ステライト(Co-Cr-Mo合金)は生体適合性に問題がなく機械的特性にも優れることが明らかになった。その後、302ステンレス鋼の適用を経て、1940年代後半に316ステンレス鋼がボーンプレート・ネジに適用されると、その優れた機械的特性・耐食性・生体適合性により、長期間安全な体内使用が可能になった。さらに、歯科鑄造合金として使用されていたバイタリウム(Co-30%Cr-5%Mo)は優れた耐食性・耐久性を有することが判明し、整形外科分野でも使用されるようになった。

このようにしていわばインプラント材料の第一世代が定ま

ったのだが、その選択は材料の機械的特性に加え、生体適合性(材料が埋入部位周辺の組織に許容されること)に基づいている。材料の生体適合性は患者もしくは動物体内への埋入により評価された。

第二次世界大戦後は、軍用高機能材料が在庫品として(“off the shelf”)汎用可能になり、多くの外科医により医用デバイス化が図られた。当時は政府による医療および患者の人権保護に関する規制はほとんどなく、外科医の自由な発想により様々な医用デバイスが設計された。人工関節や歯科用インプラント、人工血管、心臓ペースメーカーなど、現在も使用されているデバイスの初期型がこの時代に開発された例も多い。骨折固定材や人工関節への純チタンの適用も1950～60年代に進められた。その結果、ステンレス鋼やバイタリウムより劣る機械的特性が問題になり、航空機材料として開発されたTi-6Al-4V合金が転用された。

このように、初期医用デバイスは、工業用材料の中からより機械的特性・耐食性に優れたものを探索し、適用することで改善されてきた。しかし、さらなる改良のためには工業用材料の転用では限界があり、医療用として新たな金属材料の設計・開発が行われるようになった。

2. 生体適合性とその評価法の変遷

医用材料が工業用材料と決定的に異なるのは、生体組織と接触して使用されるため、生体適合性が求められる、という点である。先述したように、インプラント材料の第一世代が定まった頃には、生体適合性は埋入部位周辺の組織が材料を許容できるか否かを意味しており、動物体内(軟組織、骨周辺)への埋入試験により生体適合性が調べられた。現在においても、材料や化学物質の安全性評価の一部は、動物を用い

* 国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点・上席研究員(〒305-0044 つくば市並木 1-1)
Transition and Provisional Trends in Implant Materials and Their Biocompatibility; Akiko Yamamoto(Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, Tsukuba)
Keywords: *metallic biomaterials, biocompatibility, cytotoxicity, in vitro evaluation, interfacial compatibility, cell-material adhesion*
2016年7月7日受理[doi:10.2320/materia.56.225]

た試験により調べられている。しかし、19世紀後半に英国で実験動物に関する法律が制定されて以降、多くの国で動物実験についての様々な規制・法律が定められ、動物虐待の防止や医学実験における動物の代替を進める団体が設立された。1970年代の動物愛護運動の高まりと共に、すべての動物実験において3Rの原則(replacement/代替, reduction/縮小, refinement/苦痛の減少)の適用が求められ、医用材料開発における生体適合性評価にも代替法開発・導入が進められた。最初に取り入れられたのが、培養細胞を用いた細胞毒性試験である。ISO10993シリーズでは、医用材料の生物学的評価の一つとして、細胞毒性試験の実施が求められている。既に、材料をウサギ筋肉中に埋植した際の炎症反応の強さと細胞毒性の強さが一致することが確認されており⁽³⁾、新たに開発された材料について、最もシンプルかつ低コストで実施可能な生体適合性指標として幅広く用いられている。

化学物質・材料の安全性試験に培養細胞を用いた試験が取り入れられると、種々の純金属を用いた細胞毒性試験が実施され⁽⁴⁾、耐食性の低い材料の毒性が高いことが示された。すなわち、材料の生体適合性は生体内における材料からの溶出・分解物(金属イオンや摩耗粉など)の種類と量に依存することが示唆された。そこで、医用材料の開発指針とするために、種々の金属イオンの細胞毒性が調べられた⁽⁵⁾。また、人工股関節における骨融解には、股関節摺動部から発生する摩耗粉の関与が懸念され、その影響を調べるために金属粉末⁽⁶⁾や酸化物微粒子⁽⁷⁾を用いた細胞毒性試験も実施された。

人工関節や骨折固定材などの医用デバイス使用時は、材料の分解物が体内に排出されることを避けられない。その量が、生体にとって許容できる範囲であれば問題はないが、許容範囲を超えると医用材料としては使用できない。しかし、実際に体内で医用デバイスから生じる溶出イオンや摩耗粉の量を推定することは困難である。そこで、1980～1990年代にはイオン溶出や摩耗粉が生じててもその影響が小さいように、構成金属元素の毒性を考慮した材料開発が進められた。たとえば、Ti-6Al-4Vには比較的細胞毒性の高いVが含まれているため、新規合金としてVを含まない合金が提案された⁽⁸⁾。また、摩耗粉が炎症反応を招き、細胞増殖に悪影響を及ぼすことが判明したため、耐食性に加え耐摩耗性に優れた材料開発も始まった。

生体内における安定性(耐食性・耐摩耗性)が十分に高い材料が使用されるようになると、材料に求められる特性が追加された。例えば、歯科用インプラントでは、骨組織と接触する部分には骨組織適合性が、上部の軟組織と接触する部分では、雑菌の侵入を避けるため密着性、すなわち組織との強固な結合性(界面適合性)が求められた。組織結合性は歯科用インプラントに限らず、皮膚を貫通するカテーテル等にも必要である。

材料表面への細胞接着は、血清中に含まれる細胞接着分子(細胞外マトリックス)を介して生じ、材料表面への生体分子の吸着挙動が、その後の細胞接着ならびに応答反応(移動・増殖・分化等)を制御している⁽⁹⁾。例えば細胞接着分子であ

るフィブロネクチンをあらかじめ材料表面に吸着させておくことで細胞接着性が向上し、材料—細胞間の接着力が増加することが知られている。材料—細胞間接着の詳細は成書⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾に譲るが、以下のような一連の結合で構成される。(i)材料表面への細胞外マトリックスの物理的吸着、(ii)細胞外マトリックスと細胞膜タンパク質(インテグリン)間の特異的結合、(iii)細胞膜タンパク質と接着斑会合タンパク質(細胞膜タンパク質に結合し、材料—細胞間接着を担う接着斑を形成する分子)間の特異的結合、そして(iv)接着斑会合タンパク質と細胞骨格間の特異的結合である。すなわち、材料—細胞間接着は、鎖のように幾つかのタンパク質が細胞膜を貫通して繋がることにより形成される。この状態で細胞に剪断力(接着界面に対して平行な力)が加わると、材料—細胞間接着は一番弱い部分で切れ、細胞は剥離する。この一番弱い結合は、実は(i)材料表面—細胞外マトリックス間ではなく、細胞内部(iiiまたはiv)であることが確認されている⁽¹⁰⁾。したがって、材料—生体組織間結合力の向上には、材料表面への細胞接着分子の吸着を促進すると同時に、材料—細胞間接着界面に結合を破断させる力が加わらないようにすることが重要である。生体組織と医用材料では、その力学特性が大きく異なる。この状態で材料—生体組織間接着部に力が加わると、それぞれの変形量が異なるため接着界面に結合破断力が発生する。したがって、材料—生体組織間結合の維持には、材料表面への生体分子吸着挙動の制御に加えて材料と生体組織間の力学特性一致が重要である。つまり、材料の界面適合性は、材料の力学適合性をも意味するのである。

このように医用材料の耐食性・耐久性の向上により、材料には組織結合性・界面適合性が求められるようになり、生体適合性という概念が埋入周辺組織の許容性から、それとの相関が認められている培養細胞の細胞死や増殖阻害へ、さらに材料表面への生体分子吸着挙動制御と生体組織との力学特性一致まで拡張された。それに伴い1990年代後半から2000年代にかけて、骨組織と同等のヤング率を持つ合金開発が盛んに進められた⁽⁸⁾。医用デバイス使用時に外部から加わる荷重に対し骨組織と材料間で変形量が異なると、固定部でのマイクロモーションや負荷荷重低減による骨吸収が生じるからである。一方、血管ステントでは、心拍により常に拍動荷重が加わるため、血管壁とステント間の力学的特性の違いからステントによる機械的刺激が血管壁に加わり、結果として内膜肥厚や再狭窄を生じると考えられている。それゆえ、狭窄部位拡張により生じた血管壁損傷が修復された後には生体内で溶解・消失する、生体吸収性ステントの開発が求められるようになった。生体吸収性材料の適用は、血管ステントに限らず再生医療における足場材料(スキャフォールド)についても進められている。実用化された生体吸収性材料の代表的なものとしてポリL乳酸(PLLA)・ポリカプロラクタム(PCL)等の高分子材料、リン酸三カルシウム(TCP)等のセラミックス材料がある。今世紀に入り、金属材料についてもマグネシウムや鉄、亜鉛などの耐食性の低い金属の合金を生体吸収性材料として用いる試みが進められ、ごく最近、Mg-4%Y-3%

RE(REは希土類元素混合物を意味する)合金製ステント、外反母趾用中空スクリューが上市された。

3. 生体機能性評価から再生組織評価への変遷

細胞培養技術ならびに分子・細胞生物学的手法の発展に伴い、生体適合性の評価指標として細胞毒性(細胞死・増殖阻害)だけでなく、様々なエンドポイントが用いられるようになった。例えば、試料上で培養した骨芽細胞のアルカリフォスファターゼ(ALP)活性やコラーゲン生成量、あるいはこれらの遺伝子(mRNA)発現量などである。これらは、従来の生体適合性、すなわち埋入した際の炎症反応の強さを調べるのではなく、隣接組織である骨の形成能を推測しようとするものであり、いわば材料の機能性評価にあたる。しかしながら、これらの指標が、実際の埋入時の骨形成能と相関しているか否かは確認されていない。実験動物の骨組織でこれらの酵素活性やタンパク質産生が認められているため、骨形成においては、これらの活性・産生が必要であり、そのためには関連遺伝子の発現が必須である、との仮定に基づいている。実際、このような細胞レベルでの材料の機能性評価は、医用デバイスの生物学的評価ガイドラインには加えられてはいない。

しかし、この(細胞内の状態を詳細に調べる)流れは留まるどころか、拡張し続けている。その理由の一つとして、分子・細胞生物学分野における各種マーカー分子の解明と、その測定系の汎用化があげられるだろう。近年のDNAマイクロアレイの発展により、容易に細胞内の遺伝子発現状況を広範囲で調べることが可能になり、材料上で培養された細胞についても調べられている⁽¹¹⁾。しかし、現状では試料上で培養した細胞の遺伝子発現プロファイルと患者体内における埋入周辺組織の発現プロファイルの相関は確認されておらず、どのような情報が重要で、また遺伝子発現を調べるタイミングをどう設定すればよいのかも判明していない。

細胞培養において、様々な評価指標が導入されるもう一つの理由に、再生医療や組織工学の出現があげられるであろう。これまでも、人工材料では代替できない組織・機能について移植医療が実施されてきたが、ドナー不足や拒絶反応抑制という課題がある。そこで自身の細胞、あるいは免疫型の一致した(拒絶反応のおきない)細胞を用い、患者の体内もしくは組織工学的手法により体外で構築した組織を移植する治療法が注目を集めている。その際、ある程度の大きさを有する組織を構築するためには足場となる材料が必要であり、生体適合性に優れた医用材料の適用が進められている。特に体外で特定の組織を構築する場合には、構築された組織の機能・特性評価が求められており、移植後も正常に機能し続けることを確認する必要がある。そのため、材料上で培養した細胞について実に様々な指標が調べられており、「正常な」組織であることを実証する試みが続けられている。同時に、足場材料上で細胞の機能発現を誘導するための最適培養条件の探索研究が数多く報告されている。このような混沌とした

状況は、再生した組織の評価法・安全性確認方法が定まっていないためと言えよう。

このような培養細胞についての詳細な評価指標の導入は、材料の評価指標として適切であろうか。ここで、前章にて述べた医用デバイス開発当初に生体適合性評価に求められた視点——人体に埋入しても材料が許容されるか否かの確認——に立ち戻ってみたい。現状の生体適合性評価法は、この原点とも言える要望に応えられてはいない。ISO10993シリーズにて示された生物学的試験の多くは相対評価であり、絶対評価ではない。他の材料と比較してどちらがよいかを示すことはできるが、特定のデバイスとして使用可能かどうかを示すことはできない。例えば直接接触法による細胞毒性試験において、細胞が死滅してしまう材料は使用できないと思われるかもしれない。しかし、ISO10993-5で定められた試験条件は生体内における実際の使用条件を反映していないため、デバイスの使用環境によっては問題なく材料を使用できる場合がある(Mg合金が一例である)。つまり、現在の試験法や評価指標の多くは未だ発展途上であり、医用材料の生体適合性・機能性評価として活用するためには、*in vivo*との相関性や試験条件、有用な指標の絞りこみなど、必要条件を見定めるプロセスが必須である。

4. 今後の展望

人工関節等医用デバイスの埋入成績が向上するに従い、長期埋入後の感染症発生という問題が生じてきた。異物が長期間体内に存在すると、患者の免疫力が低下した際にその表面が感染叢となり、感染症を発生するリスクは避けられない。その対応として、抗菌剤固定化とその有効性の確認が細菌を用いた抗菌性試験により検討されるようになった。感染症対策が難しいのは、製造時の抗菌性評価だけでなく長期埋入後の有効性確認が必要なことである。しかし、生体内環境下での長期暴露やその後の材料特性の評価手法はほとんど検討されていない。

先述したように、材料上で培養された細胞・組織についての評価法は色々検討されているが、その際材料側に生じる変化を調べる研究は少ない。316Lステンレス鋼⁽¹²⁾やMg合金⁽¹³⁾について、培養細胞が耐食性に及ぼす影響が調べられているのみである。新たに開発された材料が求められる仕様を満たしているかどうかを確認するためには、材料の特性評価は必須であり、材料開発とその特性評価はいわば車の両輪である。材料開発を推進するためには、評価法開発の促進も必要である。医用材料の場合、究極的には人体内に埋入後10年、20年を経てどうなるかを評価しなければならない。動物実験においてもこれだけ長期間の埋入実施は困難であり、材料特性評価という観点からは大きな挑戦であると言える。

材料の生体適合性評価手法は、医用材料だけでなく、他の分野へも応用されている。金属イオンの細胞毒性データは、環境中の金属元素のリスク推定にも利用されている。個々の

およそ9000年前に北アメリカに生存していたケネウィック人(“Kennewick Man”)は、骨盤に槍の先端(石)が埋まった状態で発見された⁽²⁾。もちろん、槍の先端は意図的に埋入された訳ではないが、ケネウィック人はこの大怪我の後も生存していたことが判明しており、人類の体が異物を許容していたことが確認できる、おそらく最古の例である。我々の体の内部の仕組みは、この時代から大きく変わってはいない。医用デバイス・材料と我々の体・組織の関係も、本質は変わっていないと思うが、いかがだろうか。

- (1) 奥野 政：角田方衛他編，金属系バイオマテリアルの基礎と応用，アイピーシー，(2000)，11-18.
- (2) B. D. Ratner: Biomaterials Science (B. D. Ratner et al. ed., 2nd ed.), Elsevier, San Diego, (2004)，10-19.
- (3) 中村晃忠他：(厚生省薬務局医療機器開発課監修) 医療用具および医用ザイルの基礎的な生物学的試験のガイドライン1995解説，薬事日報社，(1996)，25-46.
- (4) H. Kawahara,, A. Yamagami and M. Nakamura: Int. Dent. J., **18**(1968)，443-467.
- (5) A. Yamamoto, R. Honma and M. Sumita: J. Biomed. Mater. Res., **39**(1998)，331-340.
- (6) T. Rae: J. Bone Joint Surg., **57-B**(1975)，444-450.
- (7) A. Yamamoto, R. Honma, M. Sumita and T. Hanawa: J. Biomed. Mater. Res., **68A**(2004)，244-256.
- (8) 成島尚之：バイオマテリアル—生体材料，**23**(2005)，86-95.
- (9) 林 正男：新細胞接着分子の世界．東京，羊土社，(2001)，12-114.
- (10) 山本玲子：バイオマテリアル—生体材料，**23**(2005)，37-42.
- (11) 花方信孝：バイオマテリアル—生体材料，**28**(2010)，116-123.
- (12) S. Hiromoto and T. Hanawa: J of Royal Soc. Interface, **3**(2006)，495-505.
- (13) M. Bobby Kannan, A. Yamamoto and H. Khakbaz: Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, **126**(2015)，603-606.



山本玲子

★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★

1993年 国際基督教大学大学院理学研究科修士課程修了

同年 科学技術庁金属材料技術研究所 入所

1998年 博士(工学)取得(京都大学)

2001年 独立行政法人 物質・材料研究機構(改組)

2015年 国立研究開発法人 物質・材料研究機構(移行) 現在に至る

専門分野：生体材料学

◎材料—生体組織間相互作用の in vitro 評価を中心に
研究中。

★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★