

PIXE法による骨固定用金属材料周囲組織の元素分析
- 第四報：家兎モデルにおける流出したTi元素濃度について -

中村ますみ 石橋 修 杉山 芳樹 関山三郎
二ツ川章二^{*1} 世良耕一郎^{*2}

岩手医科大学歯学部口腔外科学第二講座
020-8505 盛岡市中央通 1-3-27

^{*1} 日本アイソトープ協会滝沢研究所
020-0173 岩手郡滝沢村字留が森 348-58

^{*2} 岩手医科大学サイクロトロンセンター
020-0173 岩手郡滝沢村字留が森 348-58

1 はじめに

現在、骨折などの骨固定材料としてチタン材料が使用されている。当科では、以前から骨固定材料として用いられるチタン材料のプレート除去時に患者に本研究の目的と内容を説明し同意を得てから、口腔粘膜、骨膜および健康骨膜を採取し、流出したTi元素濃度をPIXE法にて測定し検討してきた。しかし、骨への流出したTi元素濃度については十分な検討はされていない。今回、日本白色雄性家兎を用いてチタンプレート埋入後の皮膚、口腔粘膜、骨膜、骨について試料を採取しPIXE法を用いてそれぞれ流出したTi元素濃度を測定し検討した。

2 実験材料および方法

2.1 実験動物

平均体重 3.5kg の日本白色雄性家兎を室温 24 ± 2 の岩手医科大学歯学部動物舎において1~2週間の予備飼育を行い、健康状態を確認したのちに実験を行った。実験期間は1か月、3か月、6か月、12か月とした。飼育試料は、固形試料を自由摂取させ、水は自動給水装置で与えた。

2.2 埋入材料および埋入方法

埋入は、家兎にネプタール 30mg/kg を耳介静脈から注入後、左側頬部から顎下部にかけてバリカン及び脱毛剤で皮膚を露出させた。術野をイソジンにて消毒し、1/10万エピネフリン含有1%塩酸リドカインを術野周囲に浸潤麻酔した。咬筋前方部から下顎骨下縁に沿って前方に約30mmの切開を加え、骨膜まで剥離し骨面を露出した。チタンプレートを咬筋前方部より切歯から10mm後方までの骨側面に

スクリューにて固定した。4-0 吸収糸を用いて骨膜、皮膚をそれぞれ縫合し、感染予防として ベンジルペニシリン 3 万単位/day を生理食塩水 1ml に溶解し大腿部の筋肉内に投与した。

2.3 組織採取方法

組織採取時は、耳介静脈に 10 ml の空気を注入し殺伐した後、埋入時と同様の方法で行い、プレートの埋入している部位を確認してから埋入部位に近い皮膚、口腔粘膜を採取した。骨膜、骨は顎角部よりプレート埋入部位を含めて一塊として取り出し、骨膜を採取してから骨よりスクリュー、プレートを除去した。Buehler 社製 Low speed saw を使用してスクリューとプレートの接している部位をブロック状に採取した。さらに Low speed saw で厚さ 1mm の骨切片を作り実験材料とした。

2.4 試料の作製・実験方法

採取した組織は、付着している血液を除去するために生理食塩水中で 1 時間攪拌し洗浄を行い、同様の操作を 2 回繰り返した。次に 40 °C のホットプレート上で十分に乾燥し、分析用電子天秤を用いて乾燥重量が 5mg の組織片となるように調整した。テフロン容器を用い乾燥試料 5mg に対し硝酸 200 μ l と内部標準元素として原子吸光分析用インジウム標準液 5 μ l を加え、電子レンジにて 2 分間加熱後 1 分間放置し、さらに 2 分間加熱した。その後は、そのままの状態です 25 分間自然冷却を行った³⁻⁵⁾。次に、試料を厚さ 4 μ m のポリプロピレンフィルム 3 枚に、それぞれ 10 μ l を滴下し、乾燥後に測定試料とした。

3. 結果

3.1 埋入材料および Blade の分析結果

埋入材料であるチタンプレートならびチタン製スクリューの分析結果を表 1 に示す。チタンの純度は 99.8%以上であった。使用した Buehler 社製 Low speed saw の blade の元素分析結果を表 2 に示した。Blade からは Ti 元素は検出されなかった。

表 1. 骨固定装置の分析結果 (%)

| | Ti | Al | P | Mg | Ca | Fe |
|------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| チタン製ミニプレート | 99.831 | 0.003 | 0.029 | 0.003 | 0.120 | 0.014 |
| チタン製スクリュー | 99.968 | 0 | 0.012 | 0 | 0 | 0.020 |

表 2. Diamond Wafering Blade の元素分析結果 (μ g/g)

| Al | Na | P | S | Cl | Si | Cr |
|-------|--------|-----------|------|-----------|-------|-------|
| 315.7 | 3343.6 | 94.9 | 18.6 | 7.0 | 570.5 | 109.3 |
| Mn | Fe | Cu | Se | Sn | Br | Pb |
| 190.7 | 1760.4 | 171,746.0 | 7.62 | 821,196.0 | 112.3 | 674.3 |

3.2 軟組織の Ti 元素流出量

今回は、6 か月 1 例、12 か月 3 例の結果を示す。埋入期間が 6 か月の家兎は、1 例のため検定は出来なかったが、金属上骨膜の流出した Ti 元素濃度は 10.36 $\mu\text{g/g}$ であり、健常骨膜より高い値を示した。また、埋入期間が 12 か月のものでは、それぞれの平均が金属上骨膜は 47.86 $\mu\text{g/g}$ 、健常骨膜は 5.94 $\mu\text{g/g}$ 、口腔粘膜は 3.74 $\mu\text{g/g}$ 、皮膚は 3.30 $\mu\text{g/g}$ であった。検体数が少ないために有意差は見られなかったが金属上骨膜の Ti 元素濃度は健常骨膜、口腔粘膜、皮膚に比べて高い値を示した。(表 3)

表 3. 軟組織の Ti 元素流出量 ($\mu\text{g/g}$)

| | 埋入期間 (ヶ月) | 埋入側 | | | 非埋入側 | | |
|------|--------------|------|------|-----------|------|------|------|
| | | 皮膚 | 口腔粘膜 | 金属上 骨膜 | 皮膚 | 口腔粘膜 | 健常骨膜 |
| 家兎 F | 6 | 2.77 | 2.11 | 10.38 | 3.31 | 2.49 | 2.55 |
| 家兎 C | 12 | 3.36 | 4.06 | 99.96 | 2.74 | 4.33 | 6.61 |
| 家兎 B | 12 | - | 3.78 | 24.93 | 9.91 | 4.33 | 5.92 |
| 家兎 D | 12 | 3.24 | 3.39 | 38.82 | 2.74 | 5.42 | 5.29 |

3.3 骨組織の Ti 元素流出量

骨組織の流出した Ti 元素濃度は、プレートおよびスクリューにおいて金属に接している部位からの流出量が多く、距離が離れていくに従って減少傾向を示している。また、試料を採取する際、同一個体より金属を埋入した反対側から骨を採取し Ti 元素濃度を測定した。その結果、埋入していない部位からは、Ti 元素は検出されなかった(表 4)。

表 4. 骨組織の Ti 元素流出量 ($\mu\text{g/g}$)

| | 埋入期間 (ヶ月) | 埋入側 | | | | 非埋入側 |
|------|--------------|----------------|------|------|------|------|
| | | プレートからの距離 (mm) | | | | |
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| 家兎 C | 12 | 63.04 | 2.98 | 7.45 | 5.02 | - |
| 家兎 D | 12 | 205.03 | 9.84 | | | - |

| | 埋入期間 (ヶ月) | 埋入側 | | | | 非埋入側 |
|------|--------------|----------------|-------|------|------|------|
| | | プレートからの距離 (mm) | | | | |
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| 家兎 C | 12 | 42.64 | 49.11 | 4.37 | 3.13 | - |
| 家兎 D | 12 | 27.07 | 3.22 | | | - |

4. 考 察

今回の実験では、皮膚、口腔粘膜、骨膜から Ti 元素が検出された。その中でも、金属に接している骨膜の Ti 元素の流出量は、他の軟組に比べ高い値を示した。これは、臨床材料における我々の結果と同様であった^{1)~2)}。一方、材料から流出した Ti 元素の他臓器への蓄積についてみると今回の実験では、骨組織において同一個体でもプレートまたはスクリューが埋入されている側では Ti 元素の流出が見られたが、埋入されていない側では Ti 元素は検出されなかった。これは、骨組織では埋入部位での局所的な Ti 元素の流出は見られるが軟組織に比べ血流が少ないため他臓器への流出が少ないと考えられる。また、骨に金属材料を埋入した場合、肺、肝臓、脾臓、腎臓などの臓器に金属元素の流出が見られることが、別所や畑らによって報告されている^{7)~8)}。しかしながら、流出量は一定期間を過ぎると減少するとされ、これは臓器の排泄機構が流出量に勝ってくるためだとしている。実験の結果では、他臓器への Ti 元素の流出があるとすれば血流を考慮した場合、骨膜が大きく関与しているものと推察される。また、他臓器の金属元素の流出量のピークは 6 週間から 9 週間とされているが、骨、骨膜では他臓器と比べてピークの時期にずれがあるように思われる。以上のことから更に検討を加えていきたいと考えている。

文 献

- 1) 杉山芳樹：PIXE法による骨固定用金属材料周囲組織の元素分析.NMCC 共同利用研究成果報文集 6：111-116, 1998.
- 2) Yoshiki Sugiyama：Analysis of elements in the soft tissue covering titanium plates and screws for internal bone fixation by the PIXE method . International Journal of PIXE: Vol 9, 305-313, 1999.
- 3) 世良耕一郎：PIXE 法の医学・生物学試料への応用. Biomed Res Trace Element 3：93-94, 1992.
- 4) ニツ川章二、他：PIXE 試料調整法の検討. NMCC 共同利用研究成果報文集 1：70-81, 1993.
- 5) 石橋 修：粒子励起 X 線分光法(PIXE 法)による口腔健常粘膜の元素分析 . 日口粘膜誌 4：91-100,1998.
- 6) 和田 攻：必須金属；金属とヒト-エコトキシコロジーと臨床-, 第 3 巻, 朝倉書店, 東京, 26-33,1992.
- 7) Kazuhisa Besho：Experimental long-term study of titanium ions eluted from pure titanium miniplates . Journal of Biomedical Materials Research：Vol . 29, 901-904, 1995.
- 8) 畑 秀一：チタン、チタン合金の生体埋入における金属溶出.歯学 85(3)：455-465, 1997.