

脊柱側弯症術後の血液・毛髪内チタン濃度に関する検討

内村瑠里子¹、山崎 健¹、村上秀樹¹、吉田知史¹

嶋村 正¹

世良耕一郎²

¹ 岩手医科大学医学部 整形外科学講座
020-8505 岩手県盛岡市内丸 19-1

² 岩手医科大学サイクロトンセンター
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

1 はじめに

脊柱側弯症手術に用いるチタン (titanium ; 以下 Ti) 合金インプラントは、固定範囲が広範で、かつ体内留置が長期となるため、周囲組織、各種臓器などへの Ti の遊離や蓄積が危惧される。今回、われわれは Ti 合金インプラントを留置した脊柱側弯症患者 (以下、患者群) の血清・毛髪内 Ti 濃度を測定し、Ti 合金インプラントの生体への影響に関して検討したので報告する。

2 対象および方法

本研究の実施に際しては、岩手医科大学倫理委員会において承認を得た。また、生体試料採取や測定に関しては対象者から書面による同意を得て実施された。

患者群 64 名 (女性 55・男性 9 名、平均年齢 18.6±5.0 歳)、対照群は体内に Ti 合金インプラントの埋入歴がない 36 名 (女性 32・男性 4 名、平均年齢 22.8±4.3 歳) とし、採取は 1 回のみとした。体内留置 Ti 総量は平均 154.5±62.6g (50.9~355.1g) であった。

検体は静脈血 5 ml と毛髪 7~8 本 (頭皮表面から切離) を採取し、イオン励起 X 線分光光度法 (particle induced X-ray emission ; 以下 PIXE) 法にて Ti 濃度を測定した。PIXE 法は全く手を加えない毛髪に直接イオンビームを照射し定量分析を行うものであり、他法と比べ試料調製の手順は著しく軽減される。さらに試料調製に伴う不確定要素が排除されるため、極めて精度の高い結果を与えることが可能である。

術後経時的に 2 回の毛髪採取が可能であった 14 例の患者について検討した、初回の平均経過期間は 37.5±18.7 カ月 (7~80 カ月)、2 回目採取時の平均経過期間は 51.6±22.8 カ月 (17~94 カ月)、初回と 2 回目の間隔の平均は 13.6±7.3 カ月 (6~31 カ月) であった。初回採取時の断端部、2 回目採取時の断端部、断端より

3cm 及び 6cm のそれぞれの Ti 濃度を測定し、断端部は直近の、断端部より 3cm 及び 6cm の部位はそれぞれ 3 及び 6 ヶ月前の生体内 Ti 濃度を反映するものとして計 4 時点における経時的变化を検討した。毛髪内 Ti 変化量は症例個々における 4 時点の最大値と最小値の差とした。対照群も同様に初回採取時の毛髪断端部、断端より 3cm 及び 6cm のそれぞれの Ti 濃度を測定し、計 3 時点における経時的变化を検討した。

患者群と対照群について以下の 5 項目を検討した。

- (1) 患者群と対照群の血清・毛髪内の Ti 濃度の比較
- (2) 留置 Ti 総量と血清・毛髪内 Ti 濃度との相関
- (3) 術後経過期間と血清・毛髪内 Ti 濃度との相関
- (4) 6 名の同一患者の血清・毛髪を用いた術直前（術前 1 ヶ月以内）と術後早期（術後 12 ヶ月未満）の毛髪内 Ti 濃度の比較
- (5) 14 例の術後毛髪内 Ti 濃度の経時的变化

両群間の比較には Mann-Whitney U 検定を、相関の検討には Spearman の順位相関係数検定を用い、有意水準は危険率 5% 未満とした。

3 測定方法

2~3cm、7~8 本の毛髪をアセトンで洗浄後、ターゲットホルダー（パナック株式会社、東京）に直接貼りつけた。そのターゲットに直接 2.9MeV の陽子ビーム（70~12w0nA）を照射し、発生した X 線を 2 台の Si(Li) 半導体検出器（一台は 300 μ m ポリスチレンの X 線吸収体を装着、もう一方は吸収体なし）で同時に検出することにより¹⁾、Na 以上の全元素の測定が 5 分程度の照射で可能となった。

血清試料は内部標準法²⁾に基づき調製・分析が行われた。試料に 1000ppm の原子吸光分析用 In (indium ; 以下 In) 標準液 (和光純薬 大阪府) を 100ppm になるように加え、Vortex ミキサー (IKA-Works Staufen, Germany) で均一化した後、バックリング膜として用いる 4 μ m プローレンフィルム (IKA-Works Staufen, Germany) 上に 5 μ L 滴下し、クリーンベンチ内で数時間乾燥させターゲットとした。照射条件・時間はほぼ毛髪試料と同様であるが、機知濃度の In ピークを基準とし、上記 3 つの物理量から他元素の濃度を求める手順とした。

スペクトル解析としては、同センターで開発され多施設で使用されている SAPIX (spectrum analysis for PIXE)^{3,4)}を用いて行われ、定量計算プログラムとしてはやはり同センターで開発された KEI (keisan)³⁾が用いられた。後者においては、上記 3 つの物理量がデータファイルから読み込まれ、内部標準元素もしくは指標元素とのピーク収量の比から、全元素濃度が求められる。血清・毛髪各々の検出限界値は、統計誤差を反映する誤差行列系統的誤差から 0.02 μ g/g 程度と見積もられたため、検出限界値以下の試料に対しては 0.02 μ g/g とした。

4 結果

(1) 患者群と対照群の初回採取時の血清・毛髪内 Ti 濃度を比較した結果、血清 Ti 濃度は患者群では $0.18 \pm 0.26 \mu\text{g/g}$ (0.02~1.00 $\mu\text{g/g}$)、対照群では $0.13 \pm 0.18 \mu\text{g/g}$ (0.02~0.90 $\mu\text{g/g}$) であった。(Fig 1 a) 毛髪内 Ti 濃度は患者群では $17.43 \pm 14.36 \mu\text{g/g}$ (1.22~72.40 $\mu\text{g/g}$)、対照群では $14.86 \pm 5.39 \mu\text{g/g}$ (4.67~35.89 $\mu\text{g/g}$) であった。血清、毛髪とも患者群で軽度高値を呈したが、対照群との間に有意差を認めなかった (Fig 1 b)。

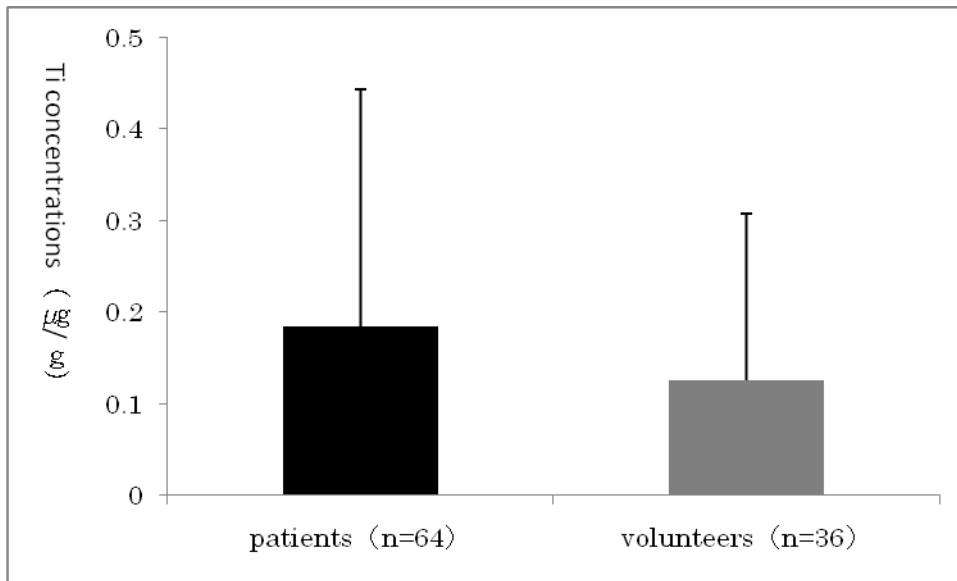


Fig 1 a

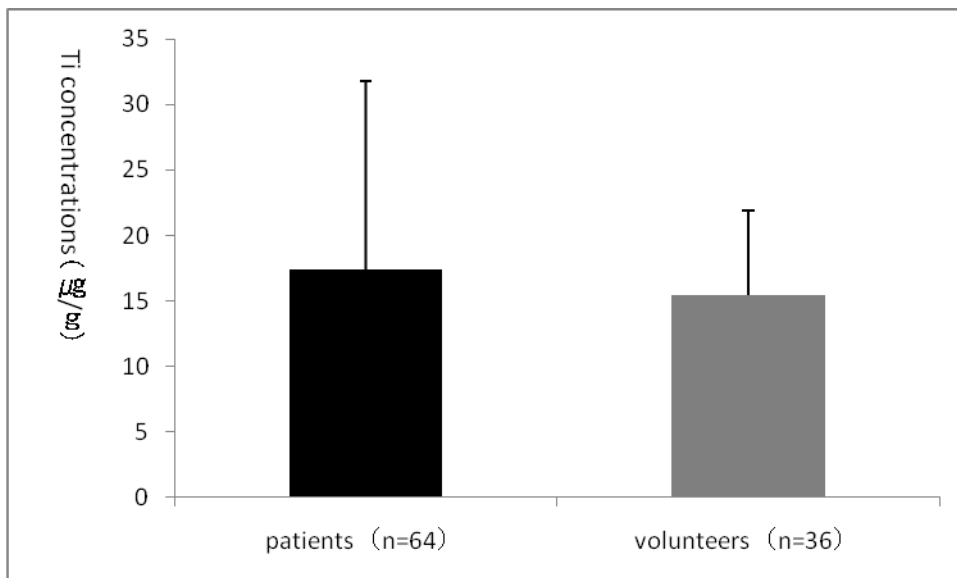


Fig 1 b

(2) 患者群 64 名について留置 Ti 総量と血清及び毛髪断端部 Ti 濃度との相関を検討した結果、血清では $r=-0.27$ 、 $p=0.03$ 、毛髪では $r=0.07$ 、 $p=0.57$ で相関は認められなかった。

(3) 患者群 64 名について術後 114 カ月までの経過期間と血清及び毛髪断端部 Ti 濃度との相関を検討した結果、血清では $r=-0.01$ 、 $p=0.96$ 、毛髪では $r=-0.22$ 、 $p=0.08$ で相関は認められなかった。

(4) 同一患者 6 名の術直前(術前 1 カ月以内)と術後早期(術後 12 カ月未満)の毛髪 Ti 濃度の比較では、術直前では $10.69 \pm 6.53 \mu\text{g/g}$ ($0.32 \sim 17.96 \mu\text{g/g}$)、術後早期では $26.90 \pm 14.99 \mu\text{g/g}$ ($2.04 \sim 40.71 \mu\text{g/g}$) で、術直前より術後早期に高値を示した ($p=0.03$) (Fig 2)。

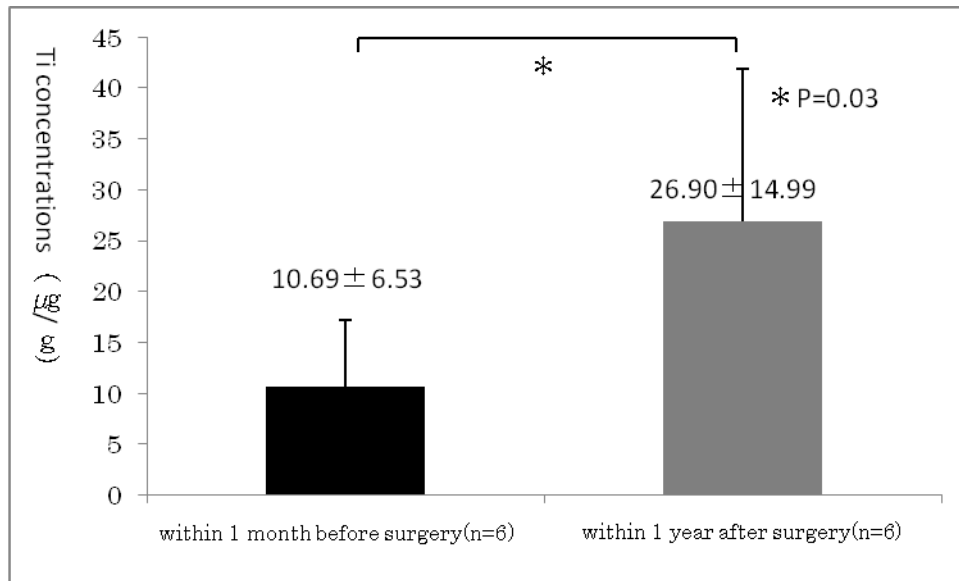


Fig 2

(5) 毛髪を経時的に2回採取できた14名の患者について、毛髪内Ti濃度の経時的变化を検討した結果、術後36ヵ月以後に比べ36ヵ月未満において特に濃度変化量に大きな変化が認められたことから (Fig 3)、36ヵ月で区切り、前後の変化量を比較した結果、36ヵ月未満では $25.26 \pm 6.34 \mu\text{g/g}$ ($16.68 \sim 30.22 \mu\text{g/g}$)、以後では $8.10 \pm 2.82 \mu\text{g/g}$ ($4.19 \sim 13.45 \mu\text{g/g}$) で36ヵ月以後に比べ36ヵ月未満の変化量が有意に大きかった ($p=0.005$) (Fig 4)。

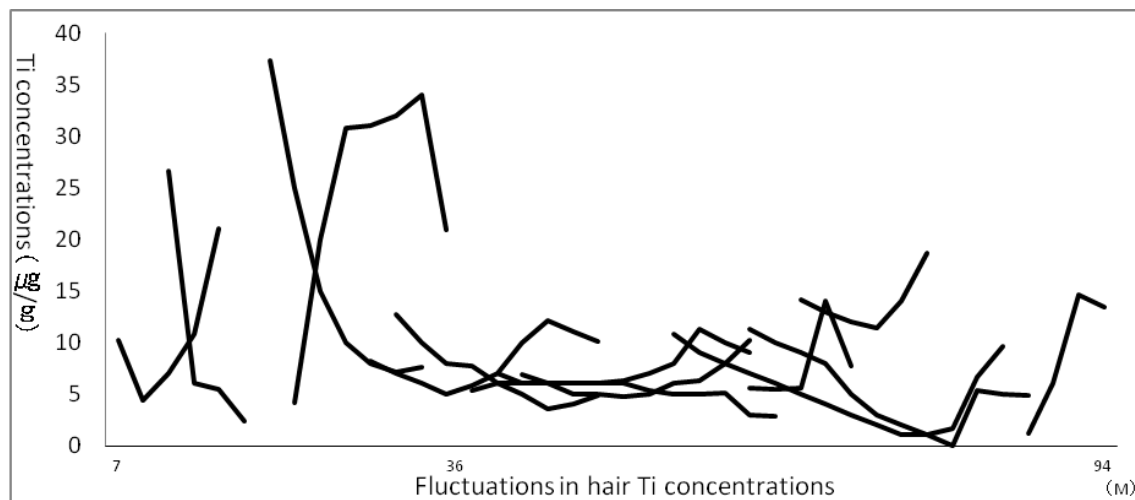


Fig 3

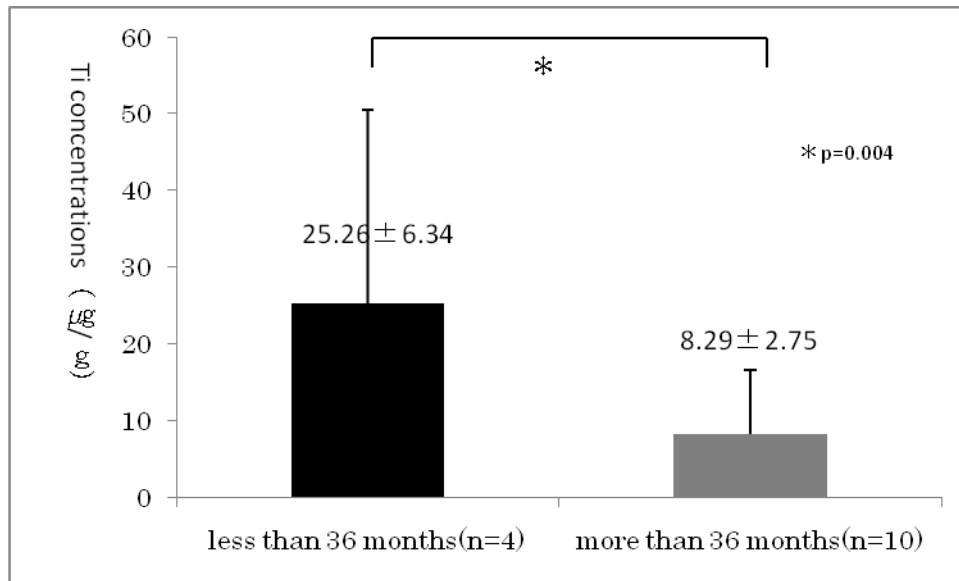


Fig 4

36 ヶ月未満は対照群の変化量 $12.57 \pm 11.14 \mu\text{g/g}$ ($1.93 \sim 57.47 \mu\text{g/g}$) に比べ高値を示した ($p=0.01$)。36 ヶ月以後は対照群の変化量と有意差を認めなかった (Fig 5)。

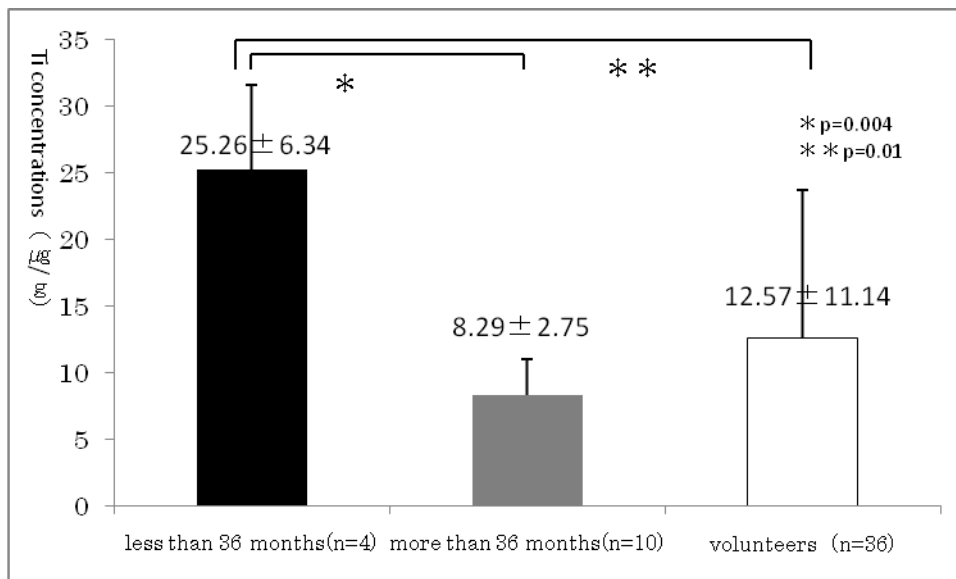


Fig 5

5 考察

脊柱側弯症の手術では術中のインプラントベンディング・設置操作と術後の広範インプラント長期留置を要するため、不動態被膜が損傷され、溶出と摩耗粉の体内 Ti 蓄積による全身への影響が懸念される。Richardson らは、Ti 合金インプラントの後方矯正固定患者の血清 Ti 量は対照群と比較して高値であったと報告している⁵⁾。高橋らは、Ti 合金は機械的ストレス下では不動態被膜が剥離されやすくなり、溶出や摩耗粉が発生しやすくなると報告している⁶⁾。

Ti は体内にとって必須元素でも微量必須元素でもなく、現在 Ti の体内量やその分布、摂取、代謝、排泄などについては明らかではない。バイオマテリアルから微量溶出した Zn (zincum ; Zn)、Cr (chromium ; Cr)、

Se (selenium ; Se) などの必須微量元素は、タンパクと結合して血液・リンパ液に移行し、各臓器に輸送されるとされている⁷⁾ (Fig 6)。

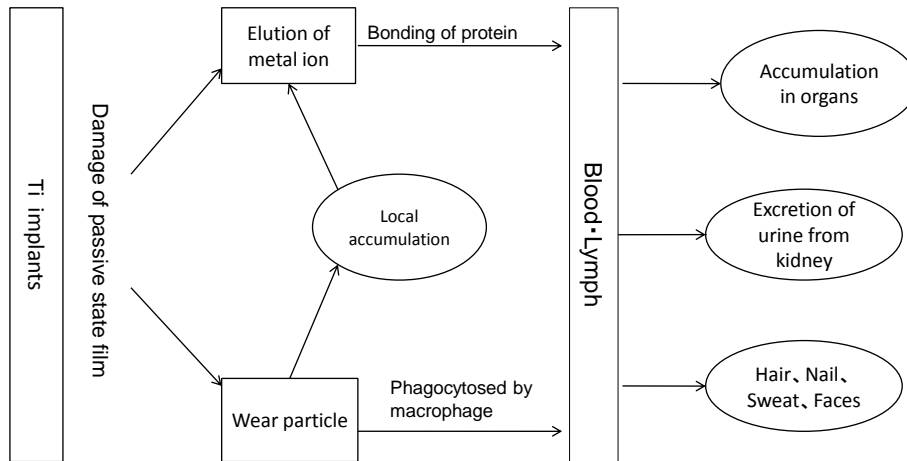


Fig 6

Liu らは、溶出した金属イオンはタンパクと複合体を形成し、尿や便、唾液や汗として排出されると推察している⁸⁾。また、摩耗粉はマクロファージにより貪食され局所へ蓄積されると報告されている⁷⁾。よって局所へ蓄積された摩耗粉より再度溶出がおこるといふサイクルを繰り返し、これがタンパクと複合体を形成し、血液やリンパ液に移行し体内循環によって各種臓器に蓄積、あるいは毛髪や爪、尿、汗、便へ移行すると考えられる。

本研究では、患者群と対照群の血清・毛髪断端部内 Ti 濃度は、いずれも両群間に有意差を認めなかった。

Bianco らは、Ti のフェルト繊維のウサギ脛骨埋入実験で、埋入 1 年後にコントロール群の血清・尿との間に Ti 量の差を認めず、その原因は埋入材からの溶出量は著しく高値ではなく、測定可能な値以下のためと報告している⁹⁾。本研究において血清・毛髪断端部内 Ti 濃度で患者群と対照群の間に有意差がなかったことより、インプラント由来の Ti 溶出は極微量であったものと考えられる。

術直前(1 ヶ月以内)と術後早期(12 ヶ月未満)の毛髪内 Ti 濃度の比較では、術後早期に高値を示した ($p=0.03$)。術後 2 回毛髪採取例の Ti 濃度の経時的変化では、36 ヶ月未満の変化量は 36 ヶ月以後に比べ高値であった ($p=0.005$)。対照群の変化量との比較では、36 ヶ月未満で高値を示し ($p=0.01$)、36 ヶ月以後では有意差を認めなかった。人工関節の Ti 合金インプラントは摺動部の対摩耗性が弱く、一度傷がつくとそこから摩耗が進行することが報告されている¹⁰⁾。また、骨とインプラント間やインプラントとインプラント間の表面に生じる摩擦摩耗をまねく微小運動 (以下、マイクロモーション) は良好な骨癒合により減少することが知られている¹¹⁾。

術後早期の毛髪内 Ti 濃度増加は、術中のスクリュー設置やロッドベンディング、コネクタ締結などの手術操作によるインプラント表面の微細損傷による摩耗粉と溶出の影響があると推察する。36 ヶ月未満では手術操作の影響、骨癒合未完了時期のマイクロモーション、あるいはその両者による変化量の増大と解釈する。

本研究ではインプラントからの Ti 溶出は長期経過においては極微量と考えられ、近年報告されている Ti アレルギー¹²⁾ のような有害事象も現時点では認めておらず、Ti 合金インプラントの長期留置による生体への

不適合性の存在は否定的であることが示唆された。

参考文献

- 1) Sera K, Yanagisawa T, Tsunoda H, et al. : Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron). *J PIXE*, 2-3, 325-330, 1992.
- 2) Futatsugawa S, Hatakeyama S, Saitou Y, et al. : Present status of NMCC and sample preparation method of biosamples. *J PIXE*, 3-4, 319-328, 1993.
- 3) Sera K, Futatsugawa S : Personal computer aided data handling and analysis for PIXE. *Nucl instr and meth, B* 109/110, 99-104, 1996.
- 4) Sera K, Futatsugawa S : Spectrum analysis taking account of the tail, escape functions and sublines. (SAPIX version 4). *J PIXE*, 10-3, 101-114, 2000.
- 5) Richardson TD, Pineda SJ, Strenge KB, et al. : Serum titanium levels after instrumented spinal arthrodesis. *Spine* 33, 792-796, 2008.
- 6) 高橋好文, 小南克子, 青山哲也, 他. : 試作チタン合金 2 種 (Ti-5Nb-5Ta, Ti29Nb-13Ta-4.6Zr) からの組成金属の溶出と細胞毒性について. *愛知大歯誌* 42, 337-344, 2004.
- 7) 佐藤温重: バイオマテリアルと生体 副作用と安全性, pp. 48-61, 中山書店, 東京, 1998.
- 8) Liu TK, Liu SH, Chang CH, et al. : Concentration of metal elements in the blood and urine in the patients with cementless total knee arthroplasty. *Tohoku J Ext Med* 185, 253-262, 1998.
- 9) Bianco PD, Ducheyne P, and Cuckler JM : Titanium serum and urine levels in rabbits with a titanium implant in the absence of wear. *Biomaterials* 20, 1937-1942, 1996.
- 10) 浜中人士 : 生体用金属材料の開発と応用. *バイオマテリアル-生体材料*, pp50-52, 日本医学館, 東京, 2005.
- 11) 酒井利奈, 佐藤祐輔, 糸満盛憲, 他. : マイクロモーションと von Mises 応力によって評価した Al-Hip cementless stem 有限要素モデルの初期固定性. *バイオメカニズム会誌* 33, 73-79, 2009.
- 12) Lalor PA, Revell PA, Gray AB, et al. : Sensitivity to titanium. *J Bone Joint Surg* 73-B, 25-28, 1991.

Serum and hair titanium concentrations after scoliosis surgery

R. Uchimura¹, K. Yamazaki¹, H. Murakami¹, S. Yoshida¹,
T. Shimamura¹ and K. Sera²

¹ Department of Orthopaedic Surgery, School of Medicine, Iwate Medical University
19-1 Uchimaru, Morioka, Iwate 020-8505 Japan

² Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

Abstract

Posterior spinal fixation using titanium implants is a common procedure for correcting scoliosis. Surgical intervention for scoliosis is usually performed while the patient is in the teen-age years and the titanium implants remain in situ for the rest of the patient's life. However, the long-term consequences of titanium implants are unclear. We investigated the associations among serum and hair titanium concentrations and spinal implants. Serum and hair samples were collected from 64 scoliosis patients and 36 unaffected volunteers. Titanium concentrations were measured using particle-induced X-ray emission. The mean serum and hair titanium concentrations were slightly higher in patients than those in volunteers, although this difference was not statistically significant. The mean concentrations of titanium elution due to implant wear during a mean of 41.3 months after surgery was extremely small. Hair titanium concentrations were found to be increased early after surgery. These findings suggest that damage due to implant wear and titanium debris from surgery resulted in increased hair titanium concentrations. However, the fluctuation began to decrease more than 36 months after surgery. This decrease appears to be of the result of the decreasing of micromotion during the union period.