

家兎眼における人工合成ハイドロキシアパタイト 義眼台の生体反応の検討

齋藤 了一, 津田 恭央, Imran Ahmed Bhutto, 北岡 隆, 雨宮 次生

長崎大学医学部眼科学教室

要 約

16匹の白色家兎に眼球摘出術を行い、直径13mmの人工合成ハイドロキシアパタイト(HA)球を義眼台として挿入し、1, 2, 3か月後に結膜嚢を観察した後に摘出し、光学顕微鏡と走査型電子顕微鏡を用いて、その組織病理学的所見を検討した。全例において、結膜嚢は広く、術創は癒痕化し、義眼台の露出は認められなかった。経時的に全周からHA球内に膠原線維を主体とする線維血管組織が侵入していく所見が得られた。しかし、完全

に人工的に合成されたHAを使用したにもかかわらず、軽度の大食細胞の浸潤が認められた。(日眼会誌 99: 420-426, 1995)

キーワード: 人工合成ハイドロキシアパタイト球, 膠原線維, 線維血管組織, 組織病理学的所見, 大食細胞

A Study of Living Response to Artificially Synthesized Hydroxyapatite Implant in the Rabbit Orbit

Akira Saitoh, Yasuo Tsuda, Imran Ahmed Bhutto,
Takashi Kitaoka and Tsugio Amemiya

Department of Ophthalmology, Nagasaki University School of Medicine

Abstract

We implanted artificially synthesized hydroxyapatite (a-HA) spheres into the orbits of sixteen rabbits after enucleation. The spheres were removed 1, 2, 3, and 6 months after implantation and examined by light and scanning electron microscopy. Tissue breakdown and exposure of a-HA implants were not observed in any case. As time passed, fibrovascular tissue gradually invaded the pores of the HA spheres deeper and deeper. Although the HA used was completely artificially, we observed a

mild foreign body reaction around the a-HA sphere. HA spheres are appropriate for orbital implants after enucleation without scleral enveloping. (J Jpn Ophthalmol Soc 99: 420-426, 1995)

Key words: Artificially synthesized hydroxyapatite, Scanning electron microscope, Fibrovascular tissue, Histopathologic finding, Macrophage

I 緒 言

Mules¹⁾により義眼台が導入されて以来、様々な材質の義眼台が用いられてきたが、組織離開・脱失などの問題は未だに解決されていない。近年、従来口腔外科・整形外科領域で骨補填材として用いられていた、サンゴから合成した有孔性ハイドロキシアパタイト(HA)球を強膜に包み、外眼筋を縫着して義眼台として挿入し、良好な

生体適合性・義眼の可動性を得ているとの報告²⁾³⁾がある。しかし、本邦においては、法的に強膜使用が認められていないため、強膜に包んでの使用は不可能である。本研究では、HA単独使用の義眼台の有用性を検討することを目的とした。

今回我々は、完全に人工的に合成された有孔性HA球を単独で義眼台として白色家兎の眼に挿入し、経時的に摘出し、走査型電子顕微鏡(SEM)・光学顕微鏡を用いて

別刷請求先: 852 長崎県長崎市坂本町7-1 長崎大学医学部眼科学教室 齋藤 了一
(平成6年6月18日受付, 平成6年11月5日改訂受理)

Reprint requests to: Akira Saitoh, M.D. Department of Ophthalmology, Nagasaki University School of Medicine,
1-7-1 Sakamoto, Nagasaki-shi, Nagasaki-ken 852, Japan

(Received June 18, 1994 and accepted in revised form November 15, 1994)

観察を行った。HA 義眼台挿入後の生体反応に関する組織病理学的報告は、サンゴから合成した HA を強膜に包み挿入した症例の 1 例報告が米国において 2 例あるのみ⁴⁾⁶⁾であり、人工合成 HA に関する組織病理学的報告ならびに HA 単独で挿入した場合の組織病理学的報告は本論文が最初のものである。

II 実験方法

1. 材料

株式会社バイテック日本白色種の白色家兎 16 匹を用いた。実験開始時 16~29 週齢で、体重は 2,400~4,000 g であった。義眼台には、直径 13 mm の人工合成の有孔性 HA 球（気孔率 45~55%；旭光学，東京）を使用した。外眼筋・結膜の縫合にはデキソン糸またはナイロン糸を用いた。

2. 術式

ペントバルビタールナトリウム（ネンプタル®）20~30 mg/kg を耳静脈から注入後、角膜輪部に沿って結膜を切開したのち、4 直筋と斜筋を付着部近くで切断した。次いで、眼球を前方へ牽引して視神経を切断後、眼球を摘出した。HA 義眼台を眼筋漏斗内に挿入し、義眼台の上で外直筋と内直筋、上直筋と下直筋を縫合したのち結膜の縫合を行った⁶⁾。

3. 摘出・固定・検鏡

HA 球挿入後 1 か月後、2 か月後、3 か月後に HA 球を摘出し、10% ホルマリン中に数時間固定後にカミソリ刃で二分割し、断面の写真撮影をし、さらに 2~3 mm の小片に分割した。

1) SEM

分割した試料を流水中に一晚置き、エタノール系列で脱水した後、0.4% 酢酸アルミに浸漬し、臨界点乾燥を行った後、金蒸着し、日立 2360 型 SEM で観察を行った⁷⁾。

2) 光学顕微鏡（光顕）用試料

試料を ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 脱灰後、脱水・パラフィン包埋の後、切片を作成した。脱パラフィン後、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、アザンマロリー染色、マッソン・トリクローム染色を行い、光顕で観察を行った。

III 結果

1. 肉眼的所見

結膜嚢は広く、結膜創は癒痕化し、HA 球は周囲組織に固く包まれ、感染・脱出を思わせる所見は全例において認められなかった（図 1）。

HA 球の断面を観察すると、血管を含む周囲組織が 1 か月後摘出のもので 2~3 mm、2 か月後摘出のもので 2~4 mm、3 か月後摘出のもので 3~4 mm の深さまで HA 球内に侵入している様子が観察された（図 2）。



図 1 3 か月後、義眼台摘出前の結膜嚢の所見。結膜嚢は広く、癒痕化していた。



図 2 1 か月後摘出ハイドロキシアパタイト (HA) 義眼台の断面。周囲組織が 2~3 mm 内部に侵入している。

2. SEM 像

挿入前の HA 球の表面像は、多数の気孔が陥凹として観察され、小孔を介して内部の気孔系と相互に連絡していた（図 3）。

HA 球挿入 1 か月後には、周囲組織から気孔を通して内部へ線維状・膜状の構造物が侵入していた（図 4, 5）。

挿入後 2 か月後では、気孔中により密で強固な結合組織が侵入している様子が認められた。

挿入後 3 か月では、2 か月後の所見よりさらに深くまで侵入していた（図 6）。

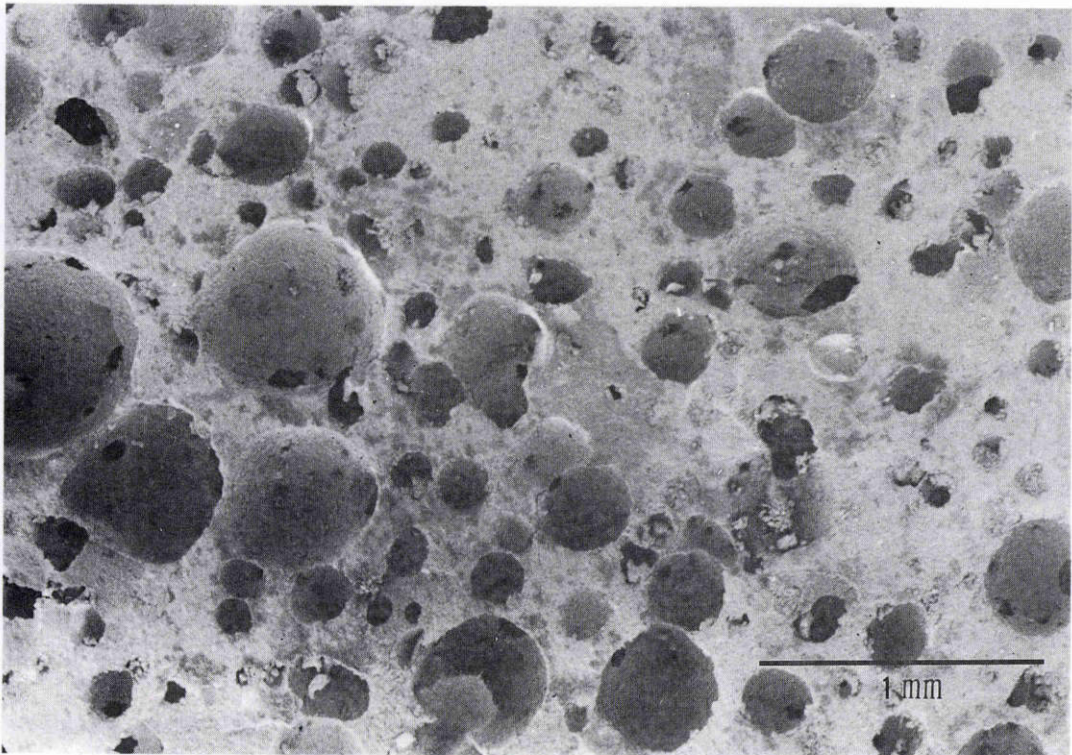


図3 人工合成有孔性 HA 球の正常所見。
気孔が多数の陥凹として認められる。

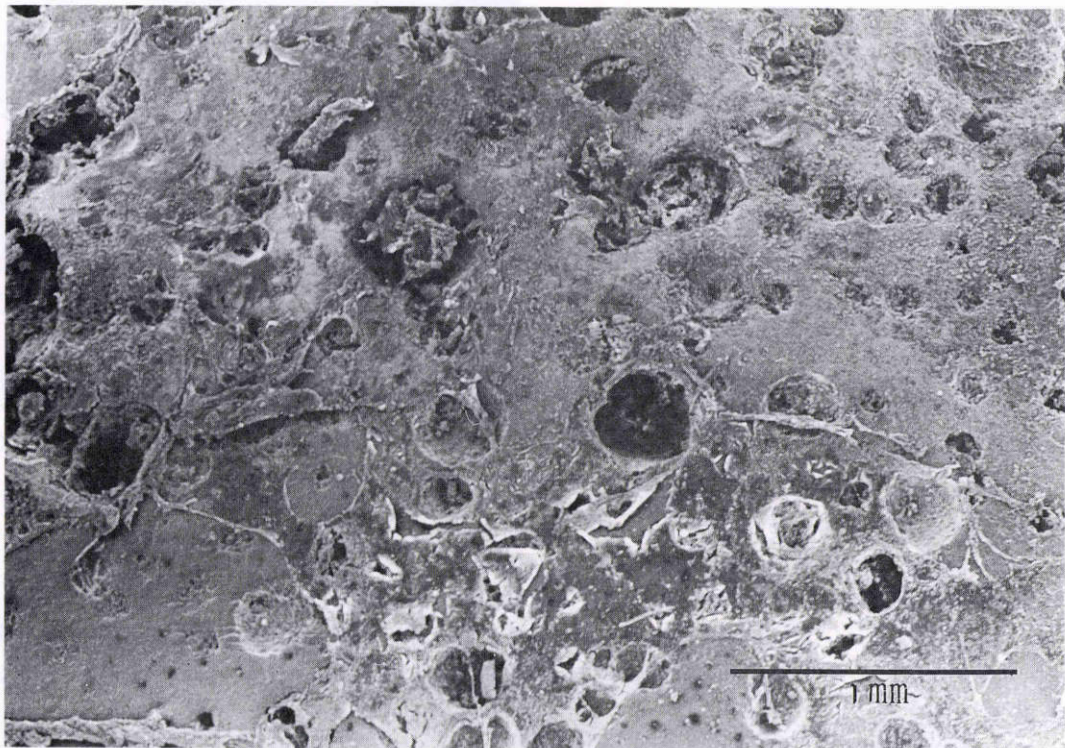


図4 埋没1か月目に摘出した HA 義眼台の表面の走査型電子顕微鏡 (SEM) 像。
周囲組織から気孔中に線状・膜状の結合組織が侵入している。

3. 光顕像

1か月後の気孔内の所見では、赤血球を内腔に含む血管およびその周囲にマッソン・トリクローム染色で青染

する膠原線維および線維芽細胞が広い空間を占め、HAの周囲には異物巨細胞、大食細胞が浸潤している様子が観察された(図7, 8)。

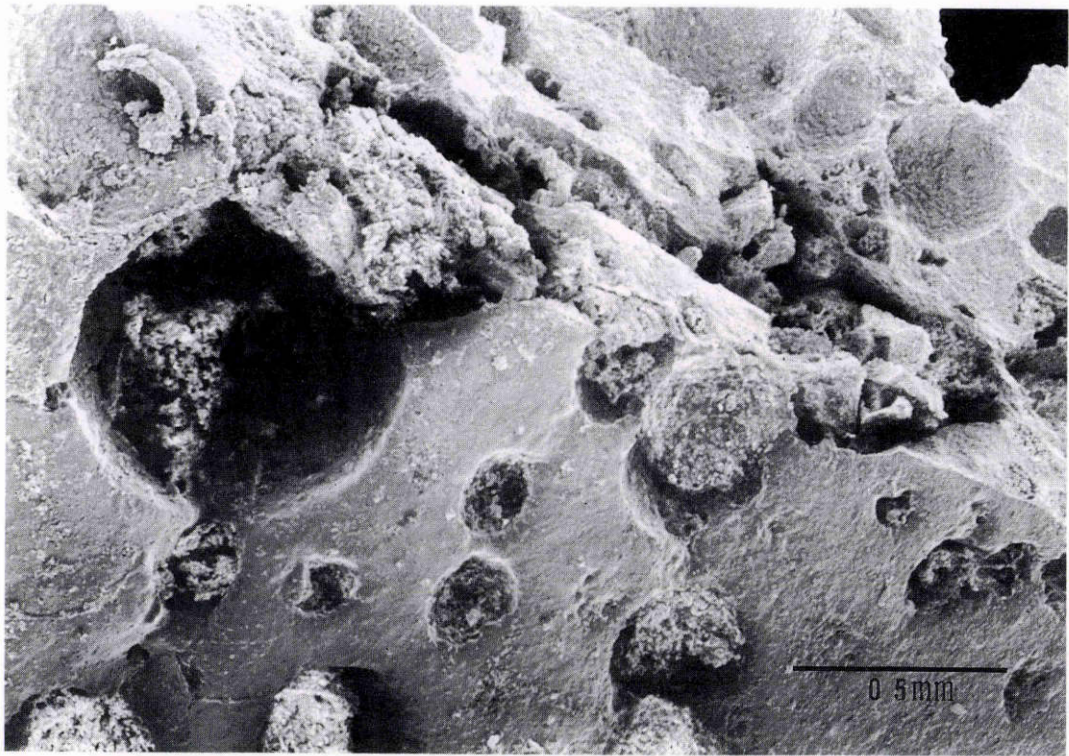


図5 埋没1か月目に摘出した HA 義眼台の表面と割断面の移行部の SEM 像。気孔中に結合組織が侵入し、内部の気孔間の小を通して、深部に侵入していく様子が、観察される。上方が割断面，下方が断面。

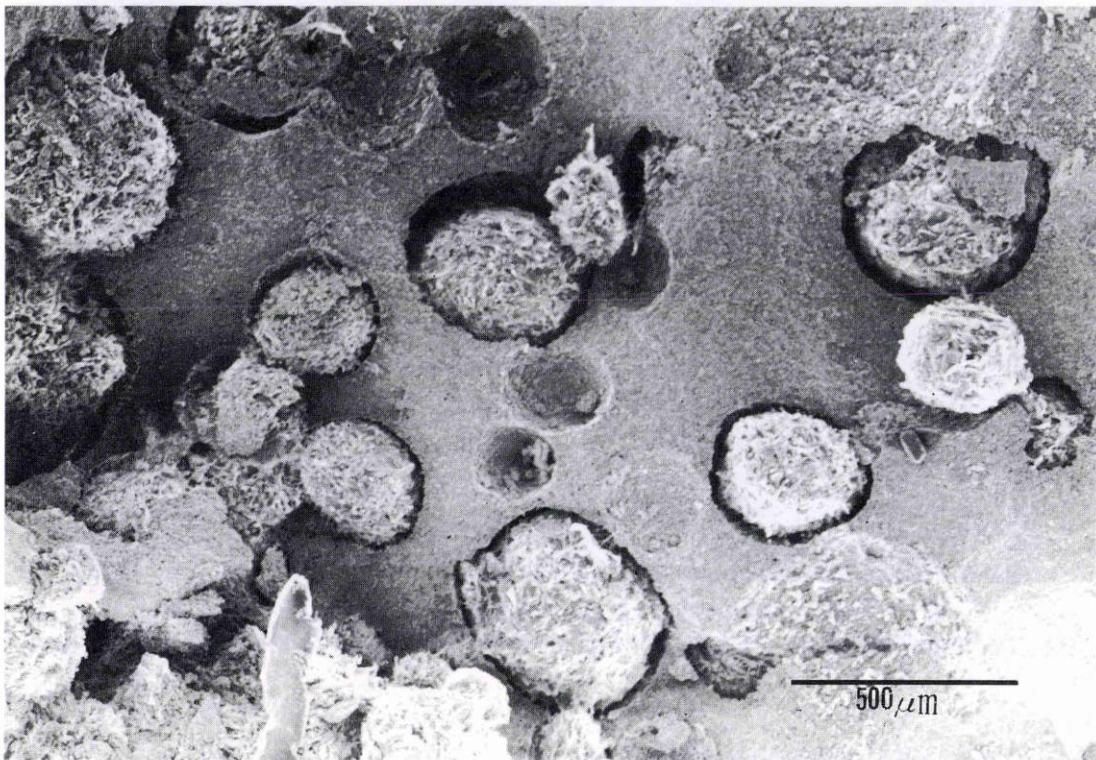


図6 埋没3か月目の HA 義眼台の表面さら約3 mm の深さの、表面とほぼ平行な割断面の SEM 像。この深さでもかなり密な結合組織が侵入している。

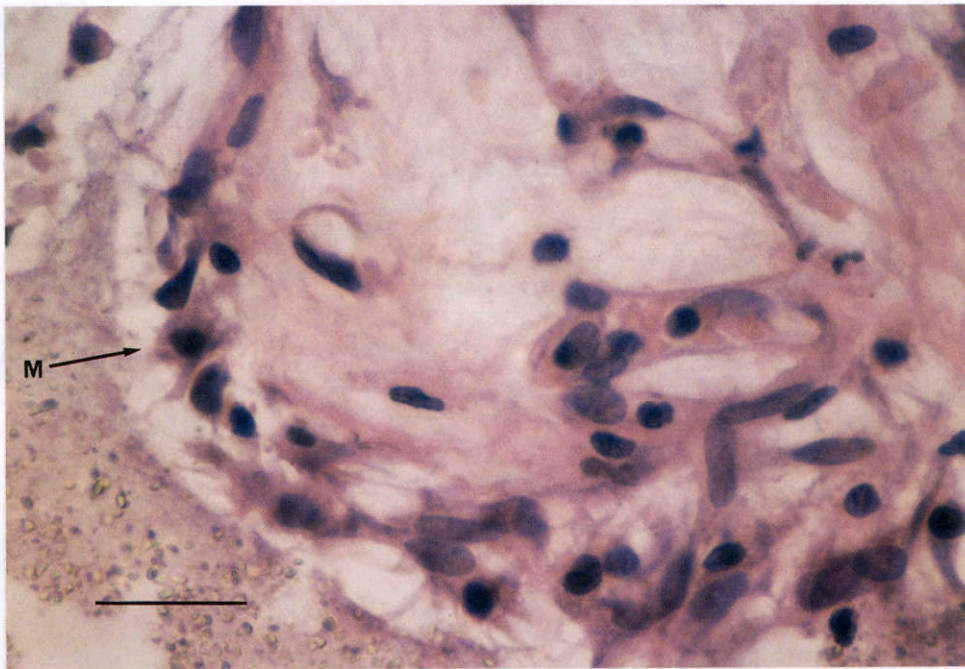


図7 埋没1か月目に摘出した義眼台の断面の光学顕微鏡（光顕）像（ヘマトキシリン・エオジン染色）。
 内腔に赤血球を有する血管, その周囲には線維結合組織および線維芽細胞が認められる. HA 周囲には大食
 細胞が浸潤している. M: マクロファージ. バーは 20 μm

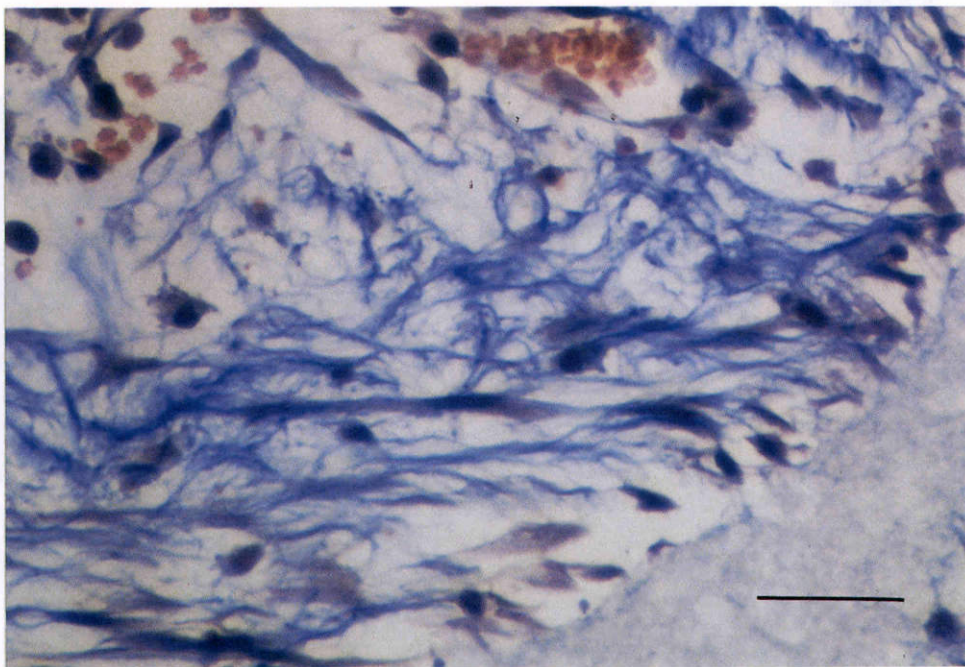


図8 埋没1か月目に摘出した義眼台の光顕像（マッソン・トリクローム染色）。
 気孔内部の線維結合組織は青く染まり, 膠原線維を主体にしたものであることがわかる. バーは 50 μm

2か月後, 3か月後の気孔内の所見では, 線維芽細胞は減少し膠原線維を主体とする線維結合組織が形成されていたが, 大食細胞, 異物巨細胞は依然, HA 周囲に浸潤していた (図9)。

IV 考 按

ハイドロキシアパタイト $\text{Ca}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ は骨の無機質主成分である. 1970年代前半 Weber ら⁸⁾, Roy ら⁹⁾ が高温高压下の交換反応を用いて, 骨に類似した構造を持つ多孔性の HA をサンゴから簡便に製造する方法を

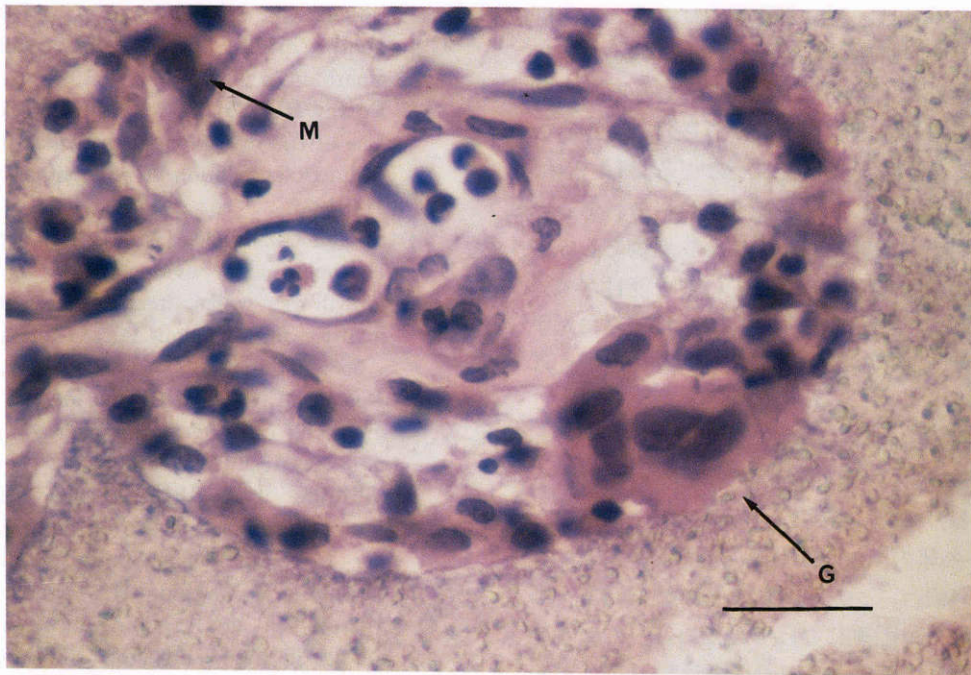


図9 埋没3か月目に摘出した義眼台の断面の光顕像（ヘマトキシリン・エオジン染色）。
 膠原線維が存在し、組織芽細胞は減少しているが、大食細胞、異物巨細胞が浸潤し、依然、異物反応は認められる。M：マクロファージ、G：異物巨細胞。バーは20 μ m

発表して以来、HAは骨補填材料として広く利用されてきた。

眼科領域では近年、HA球をドナーから提供された強膜に包み義眼台として挿入し外眼筋を強膜に縫着し、ピンで着眼と連結することにより、良好な可動性を得ているとの報告²⁾³⁾がある。

米国では、現在においてもサンゴを原料として製造された物が使用されているが、本邦では完全に人工的に無機物質のみから合成された多孔性のHAが市販されている。工程を概説すると、炭酸カルシウムとリン酸カルシウムを混合しメチルセルロースを添加して、高温高压下で焼く。この際にメチルセルロースが気化してHA内部からぬけていく過程で、外部と内部を密に連絡する気孔系が作られる。

整形外科・口腔外科領域ではHA挿入後の生体反応に関しては、いくつかの組織病理学的報告^{10)~12)}がなされている。Misiekら¹³⁾は、形態の異なるHA片を犬の頬部に埋没し、生体反応を調べ、形態とは無関係に軽度の炎症が生じるが、丸いHA片の方が早期に炎症が消退したことを報告している。眼科領域における組織病理学的報告は義眼台挿入後に悪性腫瘍の浸潤が判明し、摘出した症例報告が後述の2例あるのみである。Shieldsら⁴⁾は義眼台挿入4週後にHA球を摘出し、強膜窓から気孔内に線維芽細胞、毛細血管、乳輪状の基質が侵入している様子を報告している。Rosnerら⁵⁾は、挿入19日後にやはり強膜窓から気孔内に線維結合組織が侵入し、HA球周囲に異物巨細胞が浸潤している所見を報告し、サンゴ中に含

まれるある種の起炎性物質が化学処理後にも残存している可能性を示唆している。

従来、成人においても小児においても、サンゴから加工した強膜に包んだHA球義眼台は感染・脱失・偏位・結膜創の離開などの大きな合併症もなく、良好な可動性を示すと報告されてきた。しかし、Buettnerら¹⁴⁾は、強膜に包んだHA球を挿入した37例中8例の結膜離開を報告し、結合組織の気孔内への侵入の遅れと、HAによって引き起こされた炎症反応が原因である可能性があるとしているが、HA球がサンゴを加工したものであることを炎症の原因として挙げている。

今回我々は、完全な人工物から合成した有孔性HAを義眼台の材料として用い、強膜に包まずに眼窩内に埋没したが、埋没後3か月までのところ16例のいずれにも、結膜の離開・義眼台の脱失などの大きな合併症を認めなかった。また、肉眼的所見・SEMによる所見から、HA内にほぼ全周から結合組織が経時的により深く・より密に侵入していく所見が認められた。侵入している組織は血管、膠原線維を主体とするものであったが、これは過去の報告と合致するものであった。しかし、今回我々が用いたHA球が完全に人工的に合成されたものであるにもかかわらず、やはり周囲に軽度の異物反応が認められた。この点について考察してみたい。

体外から難溶性の物質が移入され、生体に異物と認識された場合には、異物を無害化しようとする組織活動が始まる。この際、中心となるのは組織球性細胞（大食細胞）による貪食であり、異物を中心に大食細胞の増生を

みる。異物が小さければ、単に細胞質内にとりこみ処理されるが、通常の大食細胞で処理しきれない場合には異物巨細胞が形成される。今回の我々の所見でも HA 周囲に大食細胞および異物巨細胞の浸潤がみられ、人工合成 HA も異物としての認識を受けたことになる。HA 自体、または加工の過程で混入したメチルセルロース、あるいは生成された物質中の不純物が生体により異物としての認識を受け、異物反応の原因となっている可能性が考えられた。したがって、人工的に合成された HA 球に対する異物反応は軽度であるが、避けられないものと考えられる。

本研究では組織の気孔中への侵入が認められたが、この所見が HA 球の脱失防止に対し重要な役割を演じていると考えられる。また、義眼台の材料として使用されてきたナイロン糸球の Bangerter 型義眼台やメチルメタクリレート製義眼台、シリコン球などの製造が現在中止され、入手が極めて困難になってきている。この時期に生体適合性に優れ、眼窩内の定着に優れた HA 球が使用されはじめたことは意義深い。

米国では、HA 球は強膜に包んで可動性義眼台として使用されているが、本邦では、角膜移植用に提供された強膜を法的に使用することはできない。したがって、この方法ではごく限られた症例にしか使用できないことになる。本邦では、昭和 20 年代に可動性義眼台が盛んに開発されてきたが、やがて用いられなくなった。その原因として 3 つの理由が挙げられる。第 1 点は、義眼をささえる軸が結膜から露出しているために結膜創が離開したり、義眼台が脱出しやすい点である¹⁵⁾。第 2 点は、眼筋が萎縮するため、義眼の可動性が保たれるのは約 8 か月位まで¹⁷⁾である点である。第 3 点は、しばしば肉芽形成のため、摘出を必要とした症例がみられたことである。以上の経緯および、米国の方法の長期予後が報告されていない点から考えて、我々は未だこの方法には懐疑的である。HA 球を可動性義眼台として使用しないのであれば、HA 球を強膜その他の物質で被覆する必要はないのではないかと、著者らは考える。

人工合成の有孔性 HA 単独使用の義眼台は合併症も少なく、生体適応性にも優れ、また加工しやすいという点からも、特にドナー強膜の使用が不可能な本邦においては非常に有用であると考えられた。

ハイドロキシアパタイト球を御提供いただいた旭光学（東京）に感謝します。

文 献

- 1) Mules PH: Evisceration of the globe with artificial vitreous. *Ophthalmol Soc UK* 5: 200—208, 1885.
- 2) Shields CL, Shields JA, Potter PD: Hydroxyapatite orbital implant after enucleation. *Arch Ophthalmol* 110: 333—338, 1992.
- 3) Potter PD, Shields CL, Shields JA, Singh AD: Use of the hydroxyapatite ocular implant in the pediatric population. *Arch Ophthalmol* 112: 208—214, 1994.
- 4) Shields CL, Shields JA, Eagle RC Jr, Potter PD: Histopathologic evidence of fibrovascular in growth four weeks after placement of the hydroxyapatite orbital implant. *Am J Ophthalmol* 111: 363—366, 1991.
- 5) Rosner M, Edward D, Tso MOM: Foreign-body giant-cell reaction to the hydroxyapatite orbital implant. *Arch Ophthalmol* 110: 173—174, 1992.
- 6) Shields JA, Shields CL: Enucleation. *Intraocular Tumors: A text and atlas*. WB Saunders Company. Pennsylvania: 37—38, 1992.
- 7) Amemiya T, Yoshida H, Tagawa T, Mori J: Histological and scanning electron microscopic study of tissue invasion of Bangerter nylon implant after enucleation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 218: 107—109, 1982.
- 8) Weber MR, White EW: A new process for preparing porous ceramic metal, and polymer prosthetic materials. *Science* 176: 922—924, 1972.
- 9) Roy DM, Linnehan SK: Hydroxyapatite formed from coral skeletal carbonate by hydrothermal exchange. *Nature* 247: 220—222, 1974.
- 10) Kenney EB, Lekovic V, Ferreira JCS, Han T, Dimitrijevic B, Carranza FA: Bone formation within porous hydroxyapatite implants in human periodontal defects. *J Periodontol* 57: 76—82, 1986.
- 11) Jarcho M, Kay JF, Gumaer KI: Tissue, cellular and subcellular events at abone-ceramic hydroxyapatite interface. *J Biomed Mater Res* 11: 79, 1977.
- 12) Reznick JB, Gilmore WC: Host response to infection of a subperiosteal hydroxyapatite implant. *Oral Surg Med Oral Pathol* 67: 665—672, 1989.
- 13) Misiek DJ, Kent JN, Carr RF: Soft tissue responses to hydroxyapatite particles of different shapes. *J Oral Maxillofac Surg* 42: 150—160, 1984.
- 14) Buettner H, Bartley GB: Tissue breakdown and exposure associated with orbital hydroxyapatite implants. *Am J Ophthalmol* 113: 669—673, 1992.
- 15) 雨宮次生: 眼球摘出, 眼球内容除去, 義眼. *眼科* 21: 1317—1321, 1979.
- 16) 松田圭子, 樋端みどり, 雨宮次生: 義眼台を摘出した症例の検討 (義眼台とその周囲組織の研究). *眼臨* 77: 18—23, 1983.
- 17) 山本考子, 柴田清子: 可動性義眼台の予後. *臨眼* 21: 467—470, 1967.