

200400290 B

厚生労働科学研究費補助金

長寿総合研究事業

高齢化社会に適応する人工関節の開発  
—MPCポリマーによる長寿命人工関節に関する戦略的研究—

平成15～16年度 総合研究報告書

主任研究者 中村耕三

平成17（2005）年 4月

## 目次

I.	総括研究報告	
	高齢化社会に適応する人工関節の開発	
	—MPC ポリマーによる長寿命人工関節に関する戦略的研究—	----- 1
	中村耕三	
II.	主任・分担研究報告	
1.	MPC ポリマーでナノ表面処理した人工関節摺動面の 耐摩耗特性に関する研究 —股関節シミュレーターによる評価—	-----18
	安富義幸・水野峰男・瀧川順庸・高玉博朗	
2.	MPC ポリマー処理した人工関節ポリエチレンライナーの解析 —ライナー表面の SEM 観察と三次元形状測定による評価—	-----27
	松下富春	
3.	MPC ポリマー処理したポリエチレン表面の解析	-----35
	石原一彦	
4.	MPC ポリマー処理した関節摺動面の摩擦トルクと 金属骨頭の解析	-----56
	塙隆夫・丸山典夫	
5.	MPC ポリマー摩耗粉が骨吸収に与える影響に関する研究	-----63
	中村耕三・高取吉雄・川口浩	
6.	MPC ポリマーの生物学的安全性に関する検討	-----82
	高取吉雄・川口浩・茂呂徹	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	-----102
IV.	研究成果の刊行物・別刷	-----106

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合 研究事業）

## 総括研究報告書

### 高齢化社会に適応する人工関節の開発 —MPC ポリマーによる長寿命人工関節に関する戦略的研究—

主任研究者 中村耕三（東京大学医学部整形外科・脊椎外科 教授）

研究要旨：人工関節の弛みは重要かつ深刻な合併症である。長寿命型人工関節の開発のため、関節摺動面のポリエチレン（PE）ライナー表面に MPC ポリマーを光学的にグラフトする手法を創製した（MPC ポリマー処理）。この技術が人工関節の寿命の延長に与える効果を、① 摩耗粉産生の抑制に与える影響、② MPC ポリマー摩耗粉が骨吸収に与える影響、③ 生体内の安全性、の点から検討した。股関節シミュレーター試験を用いた検討では、PE ライナー表面を MPC ポリマー処理することでその摩耗を著明に抑制することができ、その効果は試験終了時まで持続していた。また、この処理効果は、 $\gamma$ 線滅菌、骨頭径、MPC ポリマー処理のための紫外線照射の影響を受けなかった。さらに、骨頭にセラミックスを使うことで、より強力な摩耗抑制効果がみられた。MPC ポリマーのナノ微粒子を *in vitro* / *vivo* mouse osteolysis model の実験系に用いると、マクロファージによる貪食、骨吸収を誘導する液性因子の分泌、RANKL の発現、破骨細胞の形成・活性化、骨吸収の誘導が抑制された。また、MPC ポリマーの生体内での安全性も確認できた。今回の研究により、MPC ポリマー処理が PE ライナーの摩耗を低減して長期の力学的負荷に耐えられること、MPC ポリマー摩耗粉が骨吸収を誘導しないこと、MPC ポリマーは生体内で安全であること、が明らかになった。これらの研究成果により、長寿命型人工股関節の開発を達成できる強い確信を得た。

#### 分担研究者

高取吉雄（東京大学医学部整形外科・脊椎外科 助教授）  
川口浩（東京大学医学部整形外科・脊椎外科 助教授）  
茂呂徹（東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター 助手）  
石原一彦（東京大学大学院工学系研究科マテリアル工学専攻 教授）  
安富義幸（財団法人ファインセラミックスセンター 副所長）  
水野峰男（財団法人ファインセラミックスセンター 室長）  
高玉博朗（財団法人ファインセラミックスセンター 副主任研究員）  
瀧川順庸（大阪府立大学大学院工学系研究科 助教授）  
塙隆夫（東京医科歯科大学学生体材料工学研究所 教授）  
丸山典夫（独立行政法人物質・材料研究機構 主幹研究員）  
松下富春（日本メディカルマテリアル株式会社 顧問）

## A. 研究目的

人工股関節置換術 (THR) は、高齢者に多い大腿骨頸部骨折・変形性股関節症・関節リウマチ患者に対し、疼痛の改善、よりよい ADL (activities of daily living) ・ QOL (quality of life) の獲得に大きな役割を果たしている。また、2003 年度我が国では 7 万件の手術が行われており、手術件数は年率約 8% の割合で増加している。しかしながら、手術後約 10 年で生じる人工関節の弛み (loosening) は、常にその予後を決定する最大の合併症である。Loosening は人工関節周囲の骨吸収を伴い進行性であるため、再置換手術を余儀なくされる。したがって人工関節を受けた患者は再置換術の潜在的な対象であり、人口の高齢化が進む我が国において、その件数は今後増加し続けると予想される。また、特に高齢者においては再置換手術による歩行能力の低下や全身的な合併症の発症が問題になっている。さらに高齢者の場合、他の全身的合併症により再置換手術が禁忌となって車椅子や寝たきりの生活を余儀なくされることもある。これらは患者自身の QOL のみならず医療費の問題、労働力という社会資本を考えた場合、深刻な社会問題であり、人工関節の寿命を延長することは、医療行政における緊急かつ重要な検討課題である。

Loosening は、関節摺動面を構成するポリエチレン (PE) の摩耗粉をマクロファージ (MΦ) が貪食して液性因子を分泌し、これが破骨細胞の形成・

活性化を促進して人工関節周囲の骨吸収が生じる結果として発生する。そこで、loosening の対策手法は従来、1) 摩耗粉を減少させる、2) 骨吸収を抑制する、の 2 つの方向性で検討されてきた。

摩耗粉を減少させる試みとしては、1) PE の性質の改良、2) PE を使わない人工関節の開発、などがなされてきた。PE を硬化させる試みは実用化に至ったものの短期間に loosening が生じ失敗に終わった。金属対金属の関節面を持つ人工関節は長期成績の不良例が報告されており金属イオンの毒性の問題も指摘されている。セラミックスの人工関節はセラミックス特有の脆弱性が問題となっており体内での破損例も報告されている。この一方で、テフロン、カーボンなどで PE 表面を被覆する試みも行われてきたが、これらには、1) 結合力が弱くすぐに脱落してしまう、2) 結合により PE を改質・損傷してしまう、3) PE 表面より摩擦特性が高く摩耗をおこしやすい、4) 材料自体の摩耗粉が骨吸収を強力に誘導する、などの問題があり、実用化には至らなかった。一方、骨吸収を抑制するためには抗サイトカイン抗体などを用いた試みもなされているが、全身への影響による副作用が避けられない問題として残っている。

我々は、摺動面に潤滑性を付加し、かつ摩耗粉が発生した際の破骨細胞の活性化を阻止すれば loosening を抑制できると考えた。この目的で、生体適合性ポリマーである MPC ポリマー

でナノスケールの処理を施した PE 表面を創製した (MPC ポリマー処理・特許申請中)。MPC ポリマーは分担研究者の石原によって開発・合成された全くオリジナルな日本発の高分子生体材料であり、医用材料として認可を受けて臨床応用されている。MPC ポリマーが他の人工関節材料と比較して期待される点は、1) 潤滑特性に優れ、関節面の摩擦係数をさげて摩耗粉を減少させる、2) 生体適合性に優れ、摩耗粉が MΦ に貪食されず、破骨細胞性の骨吸収を誘導しない、3) PE 表面に分子間で結合するため、結合力が強く本質的に PE を改質しない、という 3 点である。また、早期の臨床応用ということ考えた場合、MPC ポリマーが新規の材料でなく、既に人工関節と同等のクラス III の医療材料として認可を受けた材料であることも利点と考えている。

本研究の目的は、人工関節の PE ライナー表面を MPC ポリマー処理することで人工関節の loosening を抑制する、長寿命型人工関節を開発することである。本研究により、MPC ポリマー処理が PE ライナーの摩耗を低減して長期の力学的負荷に耐えられること、MPC ポリマー摩耗粉 (微粒子) が骨吸収を誘導しないことを明らかにし、人工関節の寿命を延長することは、高齢者の ADL・QOL 向上や医療費の軽減に多大な貢献をもたらすことが十分に期待できる。

## B. 研究方法

### ① MPC ポリマー処理が PE ライナーの摩耗に与える影響

ファインセラミックスセンターの股関節シミュレーターを使用した。ライナーは PE ライナーとクロスリンク PE ライナー (CLPE) を用いた。これらはいずれも市販品である。ライナー表面を MPC ポリマー処理し、直径 26 mm のコバルトクロムモリブデン合金製骨頭との間で 1000 万サイクルの連続試験を行った。試験条件は ISO/DIS 14242-1 に準じ、潤滑液には 25% 牛血清 (0.1% のアジ化ナトリウム (NaN<sub>3</sub>) と 20 mM のエチレンジアミン四酢酸三ナトリウム (3Na-EDTA) も含有) を用い、液量約 750 ml で、毎秒 1 回の歩行周期 (1Hz) に 183 kgf と 280 kgf の 2 つのピークをもつ Double Peak Paul の歩行条件で行った。50 万サイクル毎にライナーを回収し、試験開始前のライナーと対比し、下記の検討を行った。

- 1) MPC ポリマー処理群と未処理群における関節摺動面での摩擦トルクとその経時的変化を調べた (分担研究者 松下富春)。
- 2) PE ライナーの摩耗量を質量変化から計測した (分担研究者 水野峰男・高玉博朗・瀧川順庸)。また三次元解析装置を用い、その形状変化を計測した (分担研究者 松下富春)。
- 3) シミュレーター試験終了後の PE ライナー表面を走査型電子顕微鏡 (SEM) にて観察し、摩耗の

- 程度を観察した(分担研究者 松下富春)。
- 4) X線光電子分光法(XPS)を用い、PEライナー表面のMPCポリマー処理の残存の有無を判定した(分担研究者 石原一彦)。
  - 5) 走査型電子顕微鏡を用い、股関節シミュレーター試験前後における骨頭表面の性状及び表面粗さの変化を観察した(分担研究者 塙隆夫・丸山典夫)。
  - 6) 股関節シミュレーター試験の潤滑液を50万サイクル毎に回収して摩耗粉の抽出操作を行い、その形状を検討した(分担研究者 水野峰男・高玉博朗・瀧川順庸)。
  - 7) 臨床応用された場合を想定し、MPCポリマー処理の際の紫外線照射が基材のPEライナーに与える影響を検討するため、PEライナー表面に紫外線を照射して、①に示した条件で1000万サイクルの股関節シミュレーター試験を行い、PEライナーの質量変化で摩耗量を計測した(分担研究者 水野峰男・高玉博朗・瀧川順庸)。
  - 8) 骨頭に直径26mmのジルコニアセラミックスを用い、MPCポリマー処理したCLPEライナーとの間で、①に示した条件で1000万サイクルの股関節シミュレーター試験を行い、PEライナーの質量変化で摩耗量を計測した(分担研究者 水野峰男・高玉博朗・瀧川順庸)。
  - 9) 骨頭に直径22mmのコバルトクロムモリブデン合金製骨頭を用い、①に示した条件で300万サイクルの股関節シミュレーター試験を行い、PEライナーの質量変化で摩耗量を計測した(分担研究者 安富義幸・水野峰男・高玉博朗・瀧川順庸)。
  - 10)  $\gamma$ 線滅菌がMPCポリマー処理に与える影響を検討するため、MPCポリマー処理後のCLPEライナー表面に2.5 Mradの $\gamma$ 線照射を行った後、その表面性状をXPSで解析した(分担研究者 石原一彦)。さらに、①に示した条件で1000万サイクルの股関節シミュレーター試験を行い、CLPEライナーの質量変化で摩耗量を計測した(分担研究者 水野峰男・高玉博朗・瀧川順庸)。
- ② MPCポリマー処理摩耗粉(微粒子)が骨吸収に与える影響
- 1) 人工関節の弛みの主因となる直径500nmのMPCポリマー処理微粒子を作製した(主任研究者 中村耕三)。
  - 2) 1)で作成したMPCポリマー処理微粒子を、マウス腹腔内M $\phi$ に暴露し、食食試験を行った(主任研究者 中村耕三)。
  - 3) J774.1細胞(マウス・M $\phi$ 細胞株)を培養した後、上記のMPCポリマー処理微粒子と未処理微粒子に暴露して、conditioned mediumを作成した。このmedium中の、破骨細胞の形成・

活性化を促進して骨吸収を誘導する液性因子 (TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$ 、IL-6、プロスタグランジン E<sub>2</sub>) の濃度を測定した (主任研究者 中村耕三)。

- 4) 3) で作成した conditioned medium の存在下でマウス骨芽細胞の培養を行い、RT-PCR、realtime PCR にて、破骨細胞分化因子・receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) の mRNA の発現を検討した。(主任研究者 中村耕三)。
- 5) 3) で作成した conditioned medium の存在下でマウス骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養を行い、破骨細胞数を計測した。また、この実験系に抗サイトカイン抗体、OPG、COX-2 抑制剤を用いた抑制実験を行い、どの因子が骨吸収誘導に関与しているかを検討した (分担研究者 高取吉雄・川口浩)。
- 6) *In vivo* osteolysis model  
MPC ポリマー処理微粒子または未処理微粒子をマウスの calvaria 上に移植した。7 日後に頭蓋骨を採取し、これを固定、脱灰した後、イメージアナライザーにて破骨細胞数、吸収窩の面積、を計測した。また、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (tartrate-resistant acid phosphatase: TRAP) 染色を行い、骨吸収の有無を観察した (主任研究者 中村耕三)。

### ③ 生体内の安全性の評価

MPC ポリマー処理した PE の基礎的な生物学的安全性を調べる目的で、細菌を用いた復帰突然変異試験、培養細胞を用いたコロニー形成阻害試験、染色体異常試験、感作性試験及びラットにおける骨内埋植試験を行った。これらの試験は、「医療用具の製造 (輸入) 承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方」別添「医療機器の生物学的安全性評価の基本的考え方」、「生物学的安全性試験の基本的考え方に関する参考資料について」別添「医療機器の生物学的安全性評価のための試験法について」に基づいて実施した (分担研究者 高取吉雄・川口浩・茂呂徹)。

(倫理面への配慮)

すべての動物実験は「動物の保護及び管理に関する法律」、「実験動物の飼育及び保管等に関する基準総理府告示」、「東京大学医学部動物実験指針」に従って、東京大学医学部倫理委員会の承諾の下で行った。

### C. 研究結果

#### ① MPC ポリマー処理が PE ライナーの摩耗に与える影響

- 1) MPC ポリマー処理した PE ライナー表面の摩擦トルクは、未処理 PE ライナー表面の約 1/10 と改善していた。
- 2) PE ライナーの摩耗量を質量で計測した。MPC ポリマー処理した PE ライナーの摩耗量は著明に抑

制されていた。また三次元解析装置を用いた計測で、MPC ポリマー処理した PE ライナーは、ほとんど摩耗がみられなかった。

- 3) 1000 万サイクル終了後の PE ライナー表面を走査型電子顕微鏡にて観察すると、MPC ポリマー処理 CLPE ライナーは、MPC ポリマー処理無し CLPE ライナーと比較して摺動部/非摺動部の境界が不明瞭であり、摺動による摩耗は低減されていることが示唆された。
- 4) 1000 万サイクル終了後の PE ライナー表面を X 線光電子分光法で解析した。MPC ポリマー由来の N 元素を有する結合エネルギーが摩耗試験後においても確認され、MPC ポリマー処理層が残存していることが確認できた。
- 5) 金属骨頭は、人工股関節シミュレーター試験前後で、その表面粗さに変化は無く、良好な表面性状を示した。また、金属組織観察より、対合する PE ライナーの MPC ポリマー処理の有無に関わらず、金属骨頭表面は同様の形態であることが確認された。以上から、MPC ポリマー処理によって PE ライナーは、長期に渡る摩耗試験においても良好な摩擦特性を有し、対合する金属骨頭への攻撃性も認められないことが確認された。
- 6) PE ライナーから発生した摩耗粉では、他 2 種と比べると、顆粒状のものはやや少なく、ねじれた繊維状のものが多く、比較的大きい

繊維状の摩耗粉も混在していた。CLPE ライナーから発生した摩耗粉では、PE に比べると繊維状のものはやや少なく、顆粒状の集合体が多数を占めていた。

MPC-CLPE ライナーから発生した摩耗粉でも、顆粒状と繊維状のものが混在しており、CLPE ライナーから抽出した摩耗粉と形状の上で有意な差が見られなかった。

- 7) PE ライナーは、MPC ポリマー処理過程の紫外線照射の影響を受けなかった。
- 8) 相手材の骨頭としては、ジルコニアの方がコバルトクロム合金に比べて優れた摩耗特性を示した。
- 9) MPC ポリマー処理効果は、骨頭径による影響をうけなかった。
- 10) MPC ポリマー処理した CLPE ライナー表面に 2.5 Mrad の  $\gamma$  線を照射しても、CLPE 表面の MPC ポリマーの性状に変化はみられなかった。また、股関節シミュレーター試験においても、 $\gamma$  線照射滅菌の有無で摩耗量に有意な差はみられなかった。

## ② MPC ポリマー摩耗粉

(微粒子) が骨吸収に与える影響

- 1) 人工関節の弛みの主因となる直径 500 nm の MPC ポリマー微粒子を作製した。
- 2) MPC ポリマー微粒子は、M $\phi$  に異物として認識されないため、貪食されなかった。



- 3) MPC ポリマー処理/未処理微粒子を暴露した conditioned medium を用いた共存培養では、未処理微粒子を暴露した群と比して破骨細胞の形成を約 1/7 に抑制した。また、MPC ポリマー処理微粒子暴露群の破骨細胞形成能を、溶液のみを暴露したコントロール群と比較すると、有意な差が見られなかった。Conditioned medium に抗 TNF- $\alpha$  抗体、抗 IL-1 抗体、抗 IL-6 抗体、celecoxib、osteoprotegerin をそれぞれ添加して行った共存培養においては、全ての抗体・阻害剤で破骨細胞の形成が抑制されたが、この抑制効果は、MPC ポリマー処理微粒子を暴露した conditioned medium を加えた場合と有意な差が見られなかった。
- 4) MPC ポリマー処理/未処理微粒子を暴露した conditioned medium をマウス骨芽細胞培養系に添加し RANKL の mRNA の発現を比較したところ、未処理微粒子暴露群では RANKL の発現を強力に誘導したのに対し、MPC ポリマー処理微粒子暴露群では、コントロール群と同様、これらを全く誘導しなかった。
- 5) マウス calvaria 上に微粒子を移植する *in vivo* mouse osteolysis model を用いた実験の結果、未処理の微粒子を移植した群では強力に骨吸収が誘導されたの対

し、MPC ポリマー処理微粒子を移植した群ではこれらがみられなかった。また、MPC ポリマー処理微粒子を移植した群では、破骨細胞形成・吸収窩の形成も抑制されていた。

### ③ 生体内の安全性の評価

細菌を用いた復帰突然変異試験、培養細胞を用いたコロニー形成阻害試験、染色体異常試験、感作性試験及びラットにおける骨内埋植試験の試験結果とも陰性であり、MPC ポリマーのナノ表面処理による生物学的安全性への影響はないと判断された。

### D. 考察

長寿命型人工関節の開発のため、人工関節摺動面の PE ライナー表面を MPC ポリマー処理し、その処理効果を、① 摩耗粉産生の抑制に与える影響、② MPC ポリマー摩耗粉が骨吸収に与える影響、③ 生体内の安全性、の点から検討した。

股関節シミュレーター試験を用いた検討では、PE ライナー表面を MPC ポリマー処理することでその摩耗を著明に抑制することができ、その効果は試験終了時まで持続していた。また、この処理効果は、 $\gamma$ 線滅菌、骨頭径、MPC ポリマー処理のための紫外線照射の影響を受けなかった。さらに、骨頭にジルコニアセラミックスを使うことで、より強力な摩耗抑制効果がみられた。

MPC ポリマーのナノ微粒子(径 500

nm) を *in vitro* / *vivo* mouse osteolysis model の実験系に用いると、Mφによる貪食、骨吸収を誘導する液性因子の分泌、RANKL の発現、破骨細胞の形成・活性化、骨吸収の誘導が抑制された。また、MPC ポリマーの生体内での安全性も確認できた。

以上の結果は、高齢者の ADL・QOL の向上を達成する長寿命型人工関節の開発に確信を得るに十分な結果であった。この他、MPC ポリマーは PE 表面に分子間で結合するため結合力が強く本質的に PE を改質しないこと、MPC ポリマーは新規の材料でなく既に人工関節と同等のクラスⅢの医療材料として認可を受けた材料であることも、臨床応用を考えた場合の利点と考えている。また、我が国の人工関節の市場規模は 2001 年度で 625 億円であるが、その 80%以上が海外製品で占められている。一方で高齢者には小柄な体型が多く、これら海外製品では適合が困難な症例もみられ、日本人の体型に合った日本独自の人工関節の開発が期待されている。MPC ポリマーは分担研究者の石原が開発した日本独自の材料であり、本研究により海外製品に勝る性能を獲得する事は確実であり、この分野の産業育成と貿易不均衡の是正に大きな貢献を果たす。

#### E. 結論

今回の研究により、MPC ポリマー処理が PE ライナーの摩耗を低減して長期の力学的負荷に耐えられること、MPC ポリマー摩耗粉（微粒子）が骨

吸収を誘導しないこと、MPC ポリマーが生体内で安全であること、を明らかにした。以上の研究により人工関節の寿命を延長することは、高齢者の ADL・QOL 向上や医療費の軽減に多大な貢献をもたらすことが十分に期待できる。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Koshizuka Y, Yamada T, Hoshi K, Ogasawara T, Chung U, Kawano H, Nakamura Y, Nakamura K, Ikegawa S, and Kawaguchi H: Cystatin 10, a novel chondrocyte-specific protein, may promote the last steps of the chondrocyte differentiation pathway. *J Biol Chem* 278: 48259-48266, 2003.
2. Akiyama T, Bouillet P, Miyazaki T, Kadono Y, Chikuda H, Chung U, Fukuda A, Hikita A, Seto H, Okada T, Inaba T, Sanjay A, Baron R, Kawaguchi H, Oda H, Nakamura K, Strasser A, and Tanaka S: Regulation of osteoclast apoptosis by ubiquitylation of proapoptotic BH3-only Bcl-2 family member Bim. *EMBO J* 22: 6653-6664, 2003.
3. Saegusa M, Murakami M,

- Nakatani Y, Yamakawa K, Katagiri M, Matsuda K, Nakamura K, Kudo I, and Kawaguchi H: Contribution of membrane-associated prostaglandin E<sub>2</sub> synthase (mPGES) to bone resorption. *J Cell Physiol* 197: 348-356, 2003.
4. Itaka K, Yamauchi K, Harada A, Nakamura K, Kawaguchi H, Kataoka K: Polyion complex micelles from plasmid DNA and poly (ethylene glycol)-poly (L-lysine) block copolymer as serum-tolerable polyplex system: Physicochemical properties of micelles relevant to gene transfection efficiency. *Biomaterials* 24: 4495-4506, 2003.
  5. Kawano H, Sato T, Yamada T, Matsumoto T, Sekine K, Watanabe T, Nakamura T, Fukuda T, Yoshimura K, Yoshizawa T, Aihara K, Yamamoto Y, Nakamichi Y, Metzger D, Chambon P, Nakamura K, Kawaguchi H, and Shigeaki Kato: Suppressive function of androgen receptor in bone resorption. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 9416-9421, 2003.
  6. Seichi A, Nakajima S, Takeshita K, Kitagawa T, Akune T, Kawaguchi H, and Nakamura K: Image-guided resection of the thoracic ossification of the ligament flavum. *J Neurosurg* 99: 60-63, 2003.
  7. Ogihara S, Seichi A, Iwasaki M, Kawaguchi H, Kitagawa T, Tajiri Y, and Nakamura K: Concurrent spinal schwannomas and meningiomas. Case illustration. *J Neurosurg* 98: 300, 2003.
  8. Moro T, Takatori Y, Ishihara K, Konno T, Takigawa Y, Matsushita T, Chung U, Nakamura K, Kawaguchi H: Surface grafting of artificial joints with a biocompatible polymer for preventing periprosthetic osteolysis. *Nat Mater* 3: 829-836, 2004
  9. Itaka K, Harada A, Yamasaki Y, Nakamura K, Kawaguchi H, Kataoka K: In situ single cell observation by fluorescence resonance energy transfer reveals fast intra-cytoplasmic delivery and easy release of plasmid DNA complexed with linear polyethylenimine. *J Gene Med* 6: 76-84, 2004.
  10. Hoshi K, Ogata N, Shimoaka T, Terauchi Y, Kadowaki T, Kenmotsu S, Chung U, H Ozawa H, Nakamura K, Kawaguchi H: Deficiency of insulin receptor substrate-1 impairs skeletal growth through early closure of

- epiphyseal cartilage. *J Bone Miner Res* 19: 214-223, 2004.
11. Matsubara T, Tsutsumi S, Pan H, Hiraoka H, Oda R, Nishimura M, Kawaguchi H, Nakamura K, Kato Y: A new technique to expand human mesenchymal stem cells using basement membrane extracellular matrix. *BBRC* 313: 503-508, 2004
  12. Goto T, Motoi N, Motoi T, Okuma T, Kawano H, Yamamoto A, Nakamura K: Spindle cell lipoma of the knee: a case report. *J Orthop Sci* 9: 86-89, 2004
  13. Akune T, Ohba S, Kamekura S, Yamaguchi M, Chung U, Kubota N, Terauchi Y, Harada Y, Azuma Y, Nakamura K, Kadowaki T, Kawaguchi H: PPAR-gamma insufficiency enhances osteogenesis through osteoblast formation from bone marrow progenitors. *J Clin Invest* 113: 846-855, 2004.
  14. Shoda N, Takeshita K, Seichi A, Akune T, Nakajima S, Anamizu Y, Nakamura K: Measurement of occipitocervical angle. *Spine* 29: 204-208, 2004
  15. Shimoaka T, Kamekura S, Chikuda H, Hoshi K, Chung U, Akune T, Maruyama Z, Komori T, Ogawa W, Terauchi Y, Kadowaki T, Nakamura K, Kawaguchi H: Impairment of bone healing by insulin receptor substrate-1 deficiency. *J Biol Chem* 279: 15314-15322, 2004.
  16. Goto T, Kawano H, Yamamoto A, Yokokura S, Iijima T, Motoi T, Nakamura K: Simple curettage without bone grafting for enchondromas of the foot. *Arch Orthop Trauma Surg* 124: 301-305, 2004
  17. Ogasawara T, Katagiri M, Yamamoto A, Hoshi K, Takato T, Nakamura K, Tanaka S, Okayama H, Kawaguchi H: Osteoclast differentiation by RANKL requires NF-kB-mediated down-regulation of cyclin-dependent kinase 6 (Cdk6). *J Bone Miner Res* 19: 1128-1136, 2004
  18. Yamada T, Kawano H, Sekine K, Matsumoto T, Fukuda T, Azuma Y, Itaka K, Chung UI, Chambon P, Nakamura K, Kato S, Kawaguchi H: SRC-1 is necessary for skeletal responses to sex hormones in both males and females. *J Bone Miner Res* 19: 1452-1461, 2004
  19. Seto H, Fujii T, Kamekura S, Miura T, Yamamoto A, Chikuda H, Ogata T, Imamura T, Miyazono K, Oda H, Nakamura

- K, Kurosawa H, Chung U, Kawaguchi H, Tanaka S: Regulation of chondrogenic differentiation of synovial fibroblasts: segregation of the roles of Smad pathways and p38 MAP kinase pathways. *J Clin Invest* 113: 718-726, 2004
20. Oohori Y, Seichi A, Kawaguchi H, Tajiri Y, Oda H, Nakamura K: Retroodontoid pseudotumor resected by a high cervical lateral approach in a rheumatoid arthritis patient: a case report. *J Orthop Sci* 9: 90-93, 2004
21. Saito T, Anamizu Y, Nakamura K, Seichi A: Case of idiopathic thoracic spinal cord herniation with a chronic history. *J Orthop Sci* 9: 94-98, 2004
22. Kawanishi M, Ushida T, Kaneko T, Niwa H, Fukubayashi T, Nakamura K, Oda H, Tanaka S, Tateishi T: New Type of biodegradable porous scaffolds for tissue-engineered articular cartilage. *Materials Science and Engineering C* 24: 431-435, 2004
23. Ogasawara T, Kawaguchi H, Jinno S, Hoshi K, Itaka K, Takato T, Nakamura K, Okayama H: Bone morphogenetic protein 2-induced osteoblast differentiation requires smad-mediated down-regulation of cdk6. *Mol Cell Biol* 24: 6560-6568, 2004
24. Seichi A, Takeshita K, Kawaguchi H, Nakajima S, Akune T, Nakamura K: Postoperative expansion of intramedullary high-intensity areas on T2-weighted magnetic resonance imaging after cervical laminoplasty. *Spine* 29: 1478-1482, 2004
25. Chikuda H, Kugimiya F, Hoshi K, Ikeda T, Ogasawara T, Shimoaka T, Kawano H, Kamekura S, Tsuchida A, Yokoi N, Nakamura K, Komeda K, Chung U, Kawaguchi H: Cyclic GMP-dependent kinase II is a molecular switch from proliferation to hypertrophic differentiation of chondrocytes. *Genes Dev* 18: 2418-2429, 2004
26. Itaka K, Kanayama N, Nishiyama N, Jang WD, Yamasaki Y, Nakamura K, Kawaguchi H, and Kataoka K: Supramolecular nanocarrier of siRNA from PEG-based block cationic copolymer carrying diamine side-chain distinctive pKa directed to enhance intracellular gene silencing. *J Am Chem Soc* 126: 13612-13613, 2004.
27. Ikeda T, Kamekura S, Mabuchi A, Kou I, Seki S, Nakamura K, Kawaguchi H, Ikegawa S, and Chung UI: Combination of SOX5,

- SOX6 and SOX9 (the SOX trio) provides signals sufficient for chondrogenesis. *Arthritis Rheum* 50: 3561-3573, 2004.
28. Chung UI, Kawaguchi H, Takato T, and Nakamura K: Distinct osteogenic mechanisms of bone of distinct origins. *J Orthop Sci* 9: 410-414, 2004.
29. Moro T, Ogasawara T, Chikuda H, Ikeda T, Ogata N, Maruyama Z, Komori T, Hoshi K, Chung UI, Nakamura K, Okayama H, and Kawaguchi H: Inhibition of Cdk6 expression through p38 MAP kinase is involved in differentiation of mouse prechondrocyte ATDC5. *J Cell Physiol* in press.
30. 茂呂徹、高取吉雄、中村耕三、川口浩、石原一彦：新素材による人工股関節の開発。 *整・災外* 48: 245-250 (2005).
31. 茂呂徹、高取吉雄、中村耕三、川口浩：関節のナノ表面処理による人工股関節の弛みの阻止。 *整形外科* 56: 170 (2005).
2. 学会発表
1. 星地亜都司、竹下克志、川口浩、中島勸、阿久根徹、筑田博隆、中村耕三：頸椎椎弓形成術後にみられるMRI 髄内変化の拡大 - 前向き研究 -。第 32 回日本脊椎脊髄病学会。2003. 4. 4-6 (福岡)。
2. 星地亜都司、中島勸、北川知明、竹下克志、阿久根徹、筑田博隆、川口浩、中村耕三：コンピューターナビゲーションシステムを用いた頸椎インストルメンテーション再手術。第 32 回日本脊椎脊髄病学会。2003. 4. 4-6 (福岡)
3. 川口浩、亀倉暁、池田敏之、池川志郎、中村耕三：Reverse & forward genetics を用いた変形性関節症の病態解明へのアプローチ。第 47 回日本リウマチ学会総会 (シンポジウム：変形性関節症の発症機序と治療)。2003. 4. 24-25 (京王プラザホテル、東京)。
4. 位高啓史、原田敦史、山崎裕一、中村耕三、川口浩、片岡一則：fluorescence resonance energy transfer (FRET) を用いた polyethylenimine/DNA polyplex の細胞内挙動の観察。第 3 回遺伝子・デリバリー研究会。2003. 5. 9 (KKR ホテル東京、東京)。
5. 星地亜都司、竹下克志、川口浩、中島勸、阿久根徹、筑田博隆、中村耕三：頸椎椎弓形成術後の上肢麻痺 - MRI による検討 -。第 76 回日本整形外科学会学術集会。2003. 5. 22-25 (石川県立音楽堂、金沢)。
6. 竹下克志、星地亜都司、岩崎元重、阿久根徹、川口浩、中村耕三：頸椎砂時計腫に対する片側椎弓・椎間関節切除に固定は必要か。第 76 回日本整形外科学会学術集会。2003. 5. 22-25 (石川県立音楽堂、金沢)。
7. 阿久根徹、川口浩、緒方直史、星地亜都司、大西五三男、中村耕三：脊

- 椎後縦靭帯骨化症の骨化傾向と糖代謝関連因子の検討. 第76回日本整形外科学会学術集会. 2003. 5. 22-25 (石川県立音楽堂、金沢).
8. 松田浩一、井上耕一、阿久根徹、星和人、河野博隆、山川聖史、中村祐輔、中村耕三、川口浩：メカニカルストレスに反応して骨量維持に働く新規遺伝子 Znt5 (Zinc transporter 5) の単離と機能解析 (学会奨励賞受賞). 第21回日本骨代謝学会 (IBMS-JSBMR 2003). 2003. 6. 3-7 (大阪国際会議場、大阪).
  9. 池田敏之、馬淵昭彦、亀倉暁、福田明、平岡久忠、鄭雄一、川口浩、高取吉雄、滝川正春、木村友厚、須藤啓広、内田淳正、中村耕三、池川志郎：Sox9によるIX型コラーゲン $\alpha$ 3鎖遺伝子の転写誘導は変形性膝関節症の発症に関与する (学会奨励賞受賞). 第21回日本骨代謝学会 (IBMS-JSBMR 2003). 2003. 6. 3-7 (大阪国際会議場、大阪).
  10. 亀倉暁、星和人、下赤隆、筑田博隆、鄭雄一、中村耕三、川口浩：マウス変形性関節症(OA)誘発モデルの確立とこれを用いたOA発症におけるMMP-13の関与. 第21回日本骨代謝学会 (IBMS-JSBMR 2003). 2003. 6. 3-7 (大阪国際会議場、大阪).
  11. 池田敏之、亀倉暁、馬淵昭彦、関庄二、黄郁代、筑田博隆、鄭雄一、木村友厚、川口浩、中村耕三、池川志郎：軟骨再生医療を目指したSOX9/SOX5/SOX6の遺伝子同時導入による軟骨誘導. 第21回日本骨代謝学会 (IBMS-JSBMR 2003). 2003. 6. 3-7 (大阪国際会議場、大阪).
  12. 大庭伸介、池田敏之、矢野文子、釘宮典孝、筑田博隆、高戸毅、中村耕三、Alex Lichter、川口浩、鄭雄一：COL1-GFPマーカー遺伝子導入による幹細胞から骨芽細胞への分化モニタリングシステムの開発. 第21回日本骨代謝学会 (IBMS-JSBMR 2003). 2003. 6. 3-7 (大阪国際会議場、大阪).
  13. Hirotaka Chikuda, Kazuto Hoshi, Takashi Shimoaka, Toru Akune, Hirotaka Kawano, Ken-ichi Kawano, Kozo Nakamura, Kajuro Komeda, Ung-il Chung, Hiroshi Kawaguchi: Dysfunction of cGMP-dependent protein kinase 2 causes dissociation of proliferation and differentiation of growth plate chondrocytes in Minature rat Ishilawa (Travel Award 受賞). IBMS-JSBMR 2003. 2003. 6. 3-7 (大阪国際会議場、大阪).
  14. 位高啓史、原田敦史、山崎裕一、中村耕三、川口浩、片岡一則：Linearポリエチレンイミンの高遺伝子発現メカニズム-FRETを用いた細胞内観察. 第19回日本DDS学会. 2003. 6. 19-20 (国立京都国際会館、京都).

15. Koichi Matsuda, Koichi Inoue, Kiyofumi Yamakawa, Hirotaka Kawano, Toru Akune, Kazuto Hoshi, Yusuke Nakamura, Kozo Nakamura, Hiroshi Kawaguchi: Zinc transporter 5 (Znt5) is an essential molecule for mechanical stress signaling in bone (Young Investigator Award). 25th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2003. 9.19-23 (Minneapolis, Minnesota, USA).
16. Takashi Yamada, Hirotaka Kawano, Toru Fukuda, K. Yoshimura, Takashi Nakamura, Satoru Kamekura, Ung-il Chung, Yu Koshizuka, Kozo Nakamura, Shigeaki Kato, Hiroshi Kawaguchi: Cystatin 10, a novel chondrocyte-specific protein, contributes to pathogenesis of osteoarthritis and ectopic ossification through chondrocyte calcification (Young Investigator Award). 25th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2003. 9.19-23 (Minneapolis, Minnesota, USA).
17. Satoru Kamekura, Kazuto Hoshi, Takashi Shimoaka, Ung-il Chung, Hirotaka Chikuda, Kozo Nakamura, Hiroshi Kawaguchi: Establishment of novel experimental osteoarthritis models in mice. 25th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2003. 9.19-23 (Minneapolis, Minnesota, USA).
18. Toshiyuki Ikeda, Akihiko Mabuchi, Akira Fukuda, Satoru Kamekura, Ikuko Kou, S. Seki, Hisatada Hiraoka, Alira Kawakami, Seizo Yamamoto, Ung-il Chung, Yoshio Takatori, M. Takigawa, Hiroya Sakai, A. Sudo, A. Uchida, Kozo Nakamura, Hiroshi Kawaguchi, Shiro Ikegawa: Transcriptional induction of the gene encoding  $\alpha 3$  chain of type IX collagen (*COL9A3*) by SOX9 contributes to the susceptibility of knee osteoarthritis. 25th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2003. 9.19-23 (Minneapolis, Minnesota, USA).
19. Toshiyuki Ikeda, Hiroshi Kawaguchi, Satoru Kamekura, Akihiko Mabuchi, I. Kou, Kazuto Hoshi, Kozo Nakamura, Shiro Ikegawa, Ung-il Chung: Combination of SOX5, SOX6 and SOX9 is sufficient for chondrogenesis. 25th annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. 2003. 9.19-23 (Minneapolis, Minnesota, USA).



20. 茂呂徹、高取吉雄、石原一彦、金野智浩、瀧川順庸、松下富春、中村耕三、川口浩：生体適合性に優れた人工材料・MPCによるナノ表面処理を用いた人工関節の弛緩防止—耐摩耗特性と摩耗粉に対する生体反応の評価—。第18回日本整形学会基礎学術集会。2003.10.16 (北九州国際会議場、小倉)。
21. 茂呂徹、高取吉雄、石原一彦、金野智浩、瀧川順庸、松下富春、中村耕三、川口浩：ライナー表面のMPCポリマー処理は人工股関節のlooseningを抑制する。第30回日本股関節学会学術集会。2003.10.31-11.1 (ホテル日航東京、東京)。
22. 茂呂徹、中村耕三、高取吉雄、川口浩、石原一彦、金野智浩、瀧川順庸、松下富春、山脇昇：ポリエチレンライナー表面のMPCポリマー処理による人工関節の長寿命化。第25回バイオマテリアル学会。2003.12.16-17 (大阪国際会議場、大阪)。
23. 茂呂徹、中村耕三、高取吉雄、川口浩、石原一彦、金野智浩、瀧川順庸、松下富春、山脇昇：MPCポリマーによる関節摺動面のナノ表面処理は人工股関節の弛みを抑制する—長寿命型人工股関節の開発—。第34回日本人工関節学会。2004.1.30-31 (幕張メッセ国際会議場、千葉)。
24. Toru Moro, Yoshio Takatori, Kazuhiko Ishihara, Hiroshi Kawaguchi, Tomohiro Konno, Yorinobu Takigawa, Tomiharu Matsushita, Noboru Yamawaki, Kozo Nakamura: Grafting of biocompatible polymer on the polyethylene liner for improving longevity of the artificial joints. 50<sup>th</sup> Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society. 2004.3.6-10 (Moscone West Convention Center, San Francisco, California, USA)
25. Toru Moro, Yoshio Takatori, Kazuhiko Ishihara, Tomohiro Konno, Yorinobu Takigawa, Kozo Nakamura, Hiroshi Kawaguchi: Improved longevity of the artificial joints by grafting of biocompatible phospholipid polymer on the polyethylene liner. 7<sup>th</sup> World Biomaterial Congress. 2004.5.17-21 (Sydney, Australia)
26. 茂呂徹、高取吉雄、石原一彦、金野智浩、中村耕三、川口浩：MPCポリマーのナノ表面処理による関節摺動面の人工関節の弛緩防止効果—長寿命型人工関節の開発—。第2回PCサーフェイステクノロジー研究会。2004.7.23 (東京ドームホテル、東京)
27. 茂呂徹、高取吉雄、石原一彦、鄭雄一、中村耕三、川口浩：MPCポリマーのナノ表面処理による人工関節の弛緩防止効果—長寿命型人工関節の開発—。第2回医工連携研究会。2004.9.3 (東京大学医学部附属病院、東京)

28. Toru Moro, Yoshio Takatori, Kazuhiko Ishihara, Tomohiro Konno, Yorinobu Takigawa, Hiroaki Takadama, Kozo Nakamura, Hiroshi Kawaguchi: Biocompatible phospholipid polymer nano-grafting onto articular surface of the artificial hip joint prevents aseptic loosening. Nano-technology to prolong the longevity of the artificial joint. 17<sup>th</sup> Annual Symposium of the International Society for Technology in Arthroplasty (ISTA). 2004.9.23-25 (Roma, Italy)
29. 茂呂徹、高取吉雄、石原一彦、瀧川順庸、高玉博朗、山脇昇、中村耕三、川口浩: ポリエチレンライナーの MPC 処理は 1000 万サイクルまで摩耗を抑制する—ナノ表面制御による長寿命型人工股関節の開発—. 第 31 回日本股関節学会学術集会. 2004.10.15-16 (長崎ブリックホール、長崎)
30. 茂呂徹、高取吉雄、石原一彦、瀧川順庸、中村耕三、川口浩: 整形外科における医工連携の課題 MPC ポリマーを用いたナノテクノロジーによる人工股関節の弛みの抑制耐摩耗性と生体適合性に優れた長寿命型人工股関節の開発. 日本整形外科学会基礎学術集会. 2004.10.21-22 (新高輪プリンスホテル、東京).
31. Toru Moro, Yoshio Takatori, Kazuhiko Ishihara, Hiroaki Takadama, Takao Hanawa, Norio Maruyama, Kozo Nakamura and Hiroshi Kawaguchi: Inhibition of aseptic loosening of artificial hip joints by a novel biocompatible polymer MPC. 4<sup>th</sup> Asian International Symposium on Biomaterials (AISB). 2004.11.16-18 (Tsukuba International Congress Center, Ibaraki, Japan)
32. Toru Moro, Kazuhiko Ishihara, Ung-il Chung, Yoshio Takatori, Kozo Nakamura and Hiroshi Kawaguchi: Nano-grafting of biocompatible MPC polymer on the polyethylene liner surface for preventing aseptic loosening of the artificial hip joints. Opening Seminar of "The Nano-Bioengineering Education Program, The University of Tokyo". 2004.11.19 (Faculty of Engineering, The University of Tokyo, Japan)
33. Toru Moro, Yoshio Takatori, Kazuhiko Ishihara, Hiroaki Takadama, Kozo Nakamura, Hiroshi Kawaguchi: New biocompatible and wear-resistant articulating surface of artificial joints for preventing aseptic loosening. 51<sup>st</sup> Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society.

2005.2.20-23 (Washington D.C.,  
USA)

34. Toru Moro, Yoshio Takatori,  
Kazuhiko Ishihara, Tomohiro  
Konno, Kozo Nakamura, Hiroshi  
Kawaguchi: Biocompatible  
polymer grafting inhibits  
loosening of artificial joint based

on macrophage activation. 72<sup>nd</sup>  
Annual Meeting of the American  
Academy of Orthopaedic  
Surgeons. 2005.2.23-27  
(Washington D.C., USA)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし。

厚生労働科学研究費補助金(長寿総合研究事業)

(総合) 研究報告書

MPC ポリマーでナノ表面処理した人工関節摺動面の耐摩耗特性に関する研究  
—股関節シミュレーターによる評価—

分担研究者 安富義幸 (財団法人ファインセラミックスセンター試験研究所  
副所長)  
水野峰男 (財団法人ファインセラミックスセンター試験研究所  
室長)  
高玉博朗 (財団法人ファインセラミックスセンター試験研究所  
副主任研究員)  
瀧川順庸 (大阪府立大学大学院工学系研究科 助教授)

研究要旨：人工関節の弛みの阻止を目指し、生体適合性高分子材料・MPC ポリマーでナノスケールの処理を施した PE ライナー表面を創製し、その耐摩耗特性を股関節シミュレーター試験で評価した。この結果、MPC ポリマー処理は、1000 万回という長期試験においても PE ライナーの摩耗を著しく抑制することが明らかになった。MPC ポリマー処理効果は、骨頭径による影響をうけなかった。また、PE ライナーは、 $\gamma$ 線滅菌操作、MPC ポリマー処理過程の紫外線照射の影響を受けなかった。相手材の骨頭としては、ジルコニアの方がコバルトクロム合金に比べて優れた摩耗特性を示した。本研究の結果により、長寿命型人工関節の開発が期待できる。

A. 研究目的

人工関節置換手術は、機能を喪失した関節を人工関節に置換し関節機能の再建を図る手術である。今日では、人工股関節、人工膝関節を始めとして多種類の関節に対して臨床応用され、変形性関節症、関節リウマチ、外傷などの患者の荒廃した関節の疼痛を寛解し、よりよい ADL (activity of daily living)・QOL (quality of life)の獲得に大きな役割を果たしている。とくに我が

国のような高齢社会では有病者が増加し、例えば人工股関節については、日本だけでも年間7万件以上の手術が行われている。しかし、その耐用年限(寿命)は一般的に約10年とされる。

人工関節の寿命を決める主因は、骨に固定された人工関節の部品の周囲に骨吸収が生じ、固定性が失われること(弛み: loosening)である。looseningを生じた人工関節は加速的に周囲の骨を吸収し、患者の QOL を著しく低