

## 関節面のナノ表面処理による人工股関節の弛みの阻止

人工股関節手術後に生じる弛み (loosening) は、その長期成績を決定する最大かつ深刻な合併症であるが、現在までに有効な解決策は得られていない。弛みは、関節面から生じるポリエチレン (PE) の摩耗粉をマクロファージ (MΦ) が貪食して惹起される人工関節周囲の骨吸収が主因である。われわれは摩耗粉の産生を抑制し、かつ摩耗粉による骨吸収の誘導を阻止すればこの問題を解決できると考えた。生体の関節軟骨表面にはナノスケールのリン脂質層が存在し潤滑機構の改善に寄与している。そこでわれわれは、生体適合性リン脂質ポリマー・2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) ポリマーを PE ライナー表面にナノスケール (約 100 nm) で光学的にグラフトする方法 (MPC 処理) を創案した。MPC ポリマーは、生体細胞膜と同様にホスホリルコリン基を有するため、生体内で異物としての認識を受けず、優れた生体適合性を発揮する。われわれは今回、耐摩耗性と摩耗粉が骨吸収に与える影響の観点から、MPC 処理によって人工関節の長寿命化を期待できる知見を得た。

耐摩耗性の評価は、連続 300 万歩分の股関節シミュレータを用いて行った。骨頭には CoCrMo 合金骨頭を用いた。ライナーは架橋 PE (CLPE) 表面を MPC ポリマー処理したもの (MPC-CLPE) を用い、PE および未処理の CLPE と比較した。まず摺動面の摩擦トルクを計測すると、MPC-CLPE のトルクは未処理群の約 1/10 と改善していた。次に、ライナーの摩耗量を重量変化で計測すると、MPC-CLPE の摩耗量は PE の 1/40、CLPE の 1/4 であった。試験終了時のライナーの三次元解析でも MPC-CLPE はほとんど摩耗しておらず、また、X 線光電子分光分析装置 (XPS)、電界放射型透過電子顕微鏡 (FE-TEM) による表面解析でも、MPC ポリマー処理効果は持続していた。

摩耗粉が骨吸収に与える影響は、MPC 処理した

径 500 nm の微粒子を *in vitro/vivo* のマウス骨吸収モデルに用いて評価した。まず微粒子をマウス MΦ 培養系に曝露し、培養上清中の TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6、PGE<sub>2</sub> 濃度を測定したところ、MPC 微粒子は貪食されず、液性因子濃度は未処理微粒子曝露群の 1/4~1/20 に抑制されていた。さらにこの培養上清を骨芽細胞培養系に添加して receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) の mRNA の発現を、そしてマウス骨髄細胞と骨芽細胞の共存培養系に添加して破骨細胞形成を調べた。未処理群では RANKL の発現・破骨細胞形成とも誘導したのに対し、MPC 群ではこれらを誘導しなかった。次に、マウス頭蓋骨上に微粒子を移植し、7 日後に骨吸収の有無を判定した。骨吸収は、未処理群では強力に誘導されたが、MPC 群では誘導されなかった。

以上の研究成果により人工関節摺動面の MPC 処理は、弛みの主因となる PE 摩耗粉の産生を著減させること、仮に摩耗粉を生じて骨吸収を誘導しないことが明らかになった。最近では MPC ポリマー処理の方法を改善し、連続 1,000 万歩分の歩行負荷をかけても著明な摩耗抑制効果がみられるという結果を得ている。MPC ポリマーで表面処理したステント、人工肺などの医用材料はすでに認可を受け臨床応用されており、生体内での安全性は確立されている。以上の結果は、人工関節摺動面の MPC 処理が人工股関節の弛みを阻止する画期的な新技術となる可能性を強く示唆しており、現在臨床試験の準備をすすめている。

## 文 献

- 1) Moro T, Takatori Y, Ishihara K et al : Surface grafting of artificial joints with a biocompatible polymer for preventing periprosthetic osteolysis. Nat Mater 3 : 829-836, 2004

(東京大学整形外科・茂呂 徹, 高取 吉雄,  
中村 耕三, 川口 浩)



## 新素材による人工股関節の開発

茂 呂 徹\* 高 取 吉 雄\*\* 中 村 耕 三  
川 口 浩 石 原 一 彦\*\*\*

要旨：人工股関節の弛みの阻止のため、関節摺動面に生体適合性リン脂質ポリマー・MPC をナノ表面処理した人工股関節を開発した。この処理により関節摺動面の潤滑機構が改善し、ポリエチレン摩耗粉の産生が著明に抑制される。また、MPC 微粒子は生体内で異物として認識されず、破骨細胞を形成・活性化しないため骨吸収を誘導しない。以上の研究成果は、この技術が人工股関節の弛みを阻止する画期的な新技術となる可能性を強く示唆している。

### はじめに

人工股関節手術は、変形性関節症、特発性大腿骨頭壊死症、関節リウマチ、外傷などで喪失した関節の機能を再建し、疼痛を寛解する優れた治療法であり、高齢社会を迎えたわが国においては、手術件数が年々増加している。しかし、手術後に生じる弛み (loosening) はその長期予後を決定する最大の合併症である<sup>1)</sup>。弛みは人工股関節周囲の骨吸収を伴い進行性であり、疼痛や歩行障害を引き起こすため、再置換手術が必要になる。したがって、人工股関節手術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わが

国において、その件数は今後増加し続けると予想される<sup>2)</sup>。

弛みの過程は、関節摺動面を構成する超高分子量ポリエチレン (ultra high molecular weight polyethylene; PE) 製ライナーが骨頭との摩擦により摩耗し、微小摩耗粉を生じることから始まる。この摩耗粉は macrophage (MΦ) に食食され、MΦ はサイトカインやプロスタグランジン (PG) を分泌する。これらの生体活性物質は周囲の間葉系細胞に作用し、破骨細胞分化因子・receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) の発現を誘導する。その結果、破骨細胞の形成・活性化が促進され、人工股関節周囲の骨吸収に至る<sup>3)</sup>。したがって、現在までの弛み抑制のための研究は、摩耗粉を減少させること、あるいは骨吸収を抑制することの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、PE の改質や PE を使わない人工股関節の開発などがなされてきた。PE を高温・高圧で処理し、結晶化率を高める試みは実用化に至ったものの、短期間に弛みが生じ失敗に終わった<sup>4)</sup>。γ線照射をすることで PE の非結晶部分の架橋 (crosslink) を増加させたクロスリンクポリエチレン (CLPE) は、摩耗の抑制には有

\* Toru MORO, 東京大学医学系研究科, 疾患生命工学センター

\*\* Yoshio TAKATORI et al, 東京大学医学部, 整形外科学教室

\*\*\* Kazuhiko ISHIHARA, 東京大学大学院工学系研究科

Nano-grafting of biocompatible phospholipid polymer on the polyethylene liner for preventing aseptic loosening of the artificial hip joints

Key words: Total hip replacement, Aseptic loosening, Osteolysis



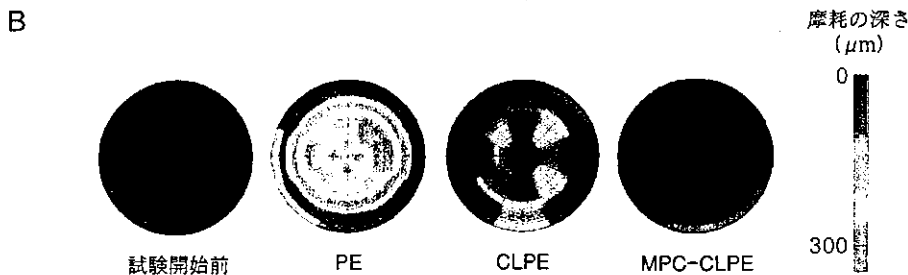
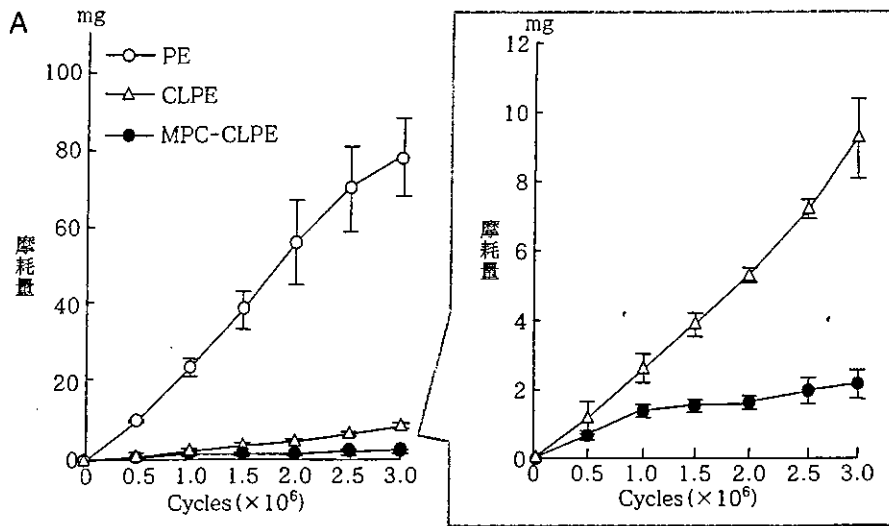


図 3 股関節シミュレーター試験の結果 [文献 15] を一部改変

- A ライナーの摩耗量。MPC-CLPE の摩耗量は PE の 1/40, CLPE の 1/4 と、著明に抑制された。
- B ライナーの三次元解析。未処理のライナーでは顕著な摩耗が観察できたが、MPC-CLPE はほとんど摩耗していなかった。

確立されている<sup>13)14)</sup>。

## II. PE ライナー表面の MPC ポリマー処理

われわれは人工股関節の弛みの抑制のため、PE ライナー表面へ MPC ポリマーをグラフト重合させる手法を創案した (MPC ポリマー処理)<sup>15)</sup>。この処理は、紫外線を用いて MPC と PE の炭素原子同士に強力かつ安定な共有結合をさせるもので、表層のみの処理であり、基材である PE 自体には影響を及ぼさない (図 2 A)<sup>16)</sup>。また、電界放射型透過電子顕微鏡 (Field Emission Transmission Electron Microscope ; FE-TEM) による表面観察で、その処理厚みが約 100 nm と、ナノスケール

であることが明らかになっている (図 2 B)。われわれは人工股関節の PE ライナーの MPC ポリマーによるナノ表面処理が弛みの阻止に与える影響を、耐摩耗性と摩耗粉が骨吸収に与える影響の観点から検討してきたが、今回人工股関節の寿命を飛躍的に延長し得る知見を得たので報告する。

## III. 耐摩耗性の評価

生体の股関節は、その歩行周期の中で様々な方向から体重の数倍の負荷を受ける。そこで、より生体内に近い環境下での耐摩耗効果を観察するため、連続 300 万サイクルの股関節シミュレーター試験を行った。骨頭には市販品のコバルトクロム

モリブデン合金骨頭(径 22 mm)を用いた。ライナーは同じく市販品の CLPE 表面を MPC ポリマー処理したもの (MPC-CLPE) を用い、PE および未処理の CLPE と比較した。

PE 表面は疎水性であるが、親水性の MPC ポリマーでナノ表面処理することにより、表面の「水なじみ」が改善し、関節摺動面の潤滑機構が向上する<sup>17)</sup>。このため、関節摺動面の摩擦トルクを測定すると、MPC-CLPE のトルクは未処理群の約 1/10 と改善していた。

ライナーの摩耗は、重量変化、走査電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscopy ; SEM) による観察、三次元解析を用いて検討した。まず、経時的にライナーの重量変化を計測すると、MPC-CLPE の摩耗量は PE の 1/40、CLPE の 1/4 であった (図 3 A)。試験終了後のライナー表面を SEM で観察すると、未処理群では、製品加工時のマシンマークが摩耗により消失していたが、MPC-CLPE では残存しており、摩耗が著明に抑制されていた。また、ライナーの三次元解析でも、未処理群では顕著な摩耗が観察できたのに対し、MPC-CLPE はほとんど摩耗していなかった (図 3 B)。

ライナー表面の MPC ポリマー処理効果の残存の有無は、X 線光電子分光分析装置 (X-ray Photoelectron Spectroscopy ; XPS)、FE-TEM により検討した。試験終了後の MPC-CLPE ライナー表面を XPS で解析すると、試験開始前の解析結果と同様、表面に MPC ユニット特有のリン (P)・窒素 (N) のスペクトルが観察できた。また、試験終了後の MPC-CLPE ライナーを FE-TEM で解析しても、MPC ポリマー処理層は残存していた。

以上のシミュレーター試験により、人工股関節ライナー表面のナノ MPC 処理が、関節摺動面の潤滑機構を改善し、摩耗粉の産生を著明に抑制すること、その処理効果は少なくとも連続 300 万サイクルの歩行負荷をかけても残存すること、が明らかになった。また、今回の検討では金属骨頭を使用しているが、セラミックス骨頭を使うことで、さらに摩耗抑制効果が期待できるという知見を得

ている。

#### IV. 摩耗粉が骨吸収に与える影響の評価

シミュレーター試験の潤滑液から摩耗粉を抽出すると、MPC-CLPE、未処理 CLPE とも、摩耗粉の 95% 以上はサブミクロンのサイズであり、摩耗粉の粒径分布・形状に明らかな差はみられなかった。そこで、平均粒径約 500 nm の MPC ナノ微粒子を作製し、*in vitro/vivo* particle-induced mouse osteolysis model に用いて MPC 微小摩耗粉が骨吸収に与える影響を検討した<sup>18)</sup>。

##### 1. *In vitro* particle-induced mouse osteolysis model

まず、微粒子を蛍光物質で標識し、マウス腹腔内 MΦ 培養系に曝露して食食実験を行った。この結果、未処理の微粒子は MΦ に大量に食食されたが、MPC 処理微粒子は MΦ に異物として認識されず、ほとんど食食を受けなかった。

ついで、MPC 微粒子あるいは未処理微粒子をマウス MΦ 様細胞株・J 774.1 細胞に曝露して 24 時間後に培養上清を回収し、conditioned medium として以下の実験に用いた。まず conditioned medium 中の骨吸収を誘導する液性因子濃度 (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, PGE<sub>2</sub>) を測定すると、すべての因子において、未処理微粒子曝露群の濃度は溶液のみを加えたコントロール群と比べ 4~20 倍高値を示したが、MPC 処理粒子曝露群ではこれらの濃度上昇がみられず、コントロール群と有意な差がみられなかった (図 4 A)。つぎに conditioned medium をマウス骨芽細胞培養系に添加して RANKL の mRNA の発現を検討すると、未処理微粒子曝露群では RANKL の発現を強力に誘導したが、MPC 処理微粒子曝露群では誘導されなかった。さらに conditioned medium をマウス骨髄細胞と骨芽細胞の共存培養系に添加して破骨細胞形成を調べると、未処理群では溶液のみを加えたコントロール群に比し 7 倍の破骨細胞が形成されたが、MPC 処理微粒子曝露群ではコントロール群と有意な差がみられなかった。未処理群による破骨細胞形成・活性化は、TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 それぞれの抗体、cyclooxygenase-2 阻害剤、

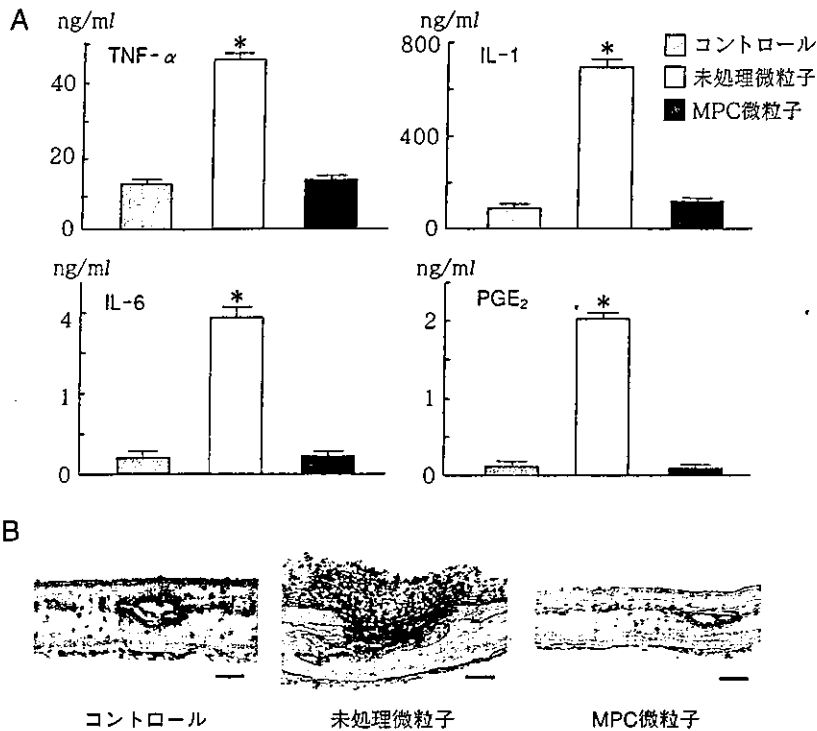


図 4 *In vitro/vivo* particle-induced mouse osteolysis model の結果 (文献 15) を一部改変)

- A 骨吸収を誘導する液性因子濃度。未処理微粒子曝露群の濃度は、溶液のみを加えたコントロール群と比べ、4~20 倍高値を示したが、MPC 処理粒子曝露群ではこれらの濃度上昇がみられず、コントロール群と有意な差がみられなかった。
- B *In vivo* osteolysis model。未処理微粒子を移植した群では骨吸収が強力に誘導されたが、MPC 微粒子を曝露した群ではこれらが誘導されなかった。

破骨細胞形成抑制因子 (osteoprotegerin ; OPG) の添加により抑制されたが、これらの抑制効果は微粒子のナノ MPC 処理による抑制効果と有意な差がみられなかった。

## 2. *In vivo* particle-induced mouse osteolysis model

マウス頭蓋骨上に MPC 微粒子あるいは未処理微粒子を移植し、7 日後に頭蓋骨を採取、これを固定・脱灰した後、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (tartrate-resistant acid phosphatase ; TRAP) で染色を行った。顕微鏡にて標本を観察すると、未処理微粒子を移植した群では TRAP 染色陽性の破骨細胞が形成され、骨吸収が強力に誘導され

たが、MPC 微粒子を曝露した群ではこれらが誘導されなかった (図 4 B)。

以上の *in vitro/vivo* particle-induced mouse osteolysis model を用いた検討により、MPC のナノ微小粉は MΦ の食食を受けず、破骨細胞の形成・活性化、骨吸収を誘導しないことが明らかになった。

### おわりに

これらの研究成果により、人工股関節摺動面の MPC 処理は、弛みの主因となる PE 摩耗粉の産生を著減させること、仮に摩耗粉を生じて骨吸収を誘導しないこと、が明らかになり、従来の人

人工股関節における課題が同時に解決できることが示された。また、最近では研究を重ねて MPC ポリマー処理方法を改善し、連続 1,000 万サイクル以上の歩行負荷をかけても著明な摩耗抑制効果がみられ、その処理効果も維持されるという結果を得ている。さらに、臨床応用を考えた場合、MPC ポリマーで表面処理したステント、カテーテル等の医用材料の臨床応用によって、生体内での安全性が確立されていることは利点である。本研究は、人工股関節の寿命を飛躍的に延長する長寿命型の人工股関節の開発につながり、手術の適応になり難かった若年の症例でも人工股関節手術を選択肢に加えられるなど、治療方法の選択を変える可能性を秘めている。こうした画期的な新技術として、現在臨床試験の準備を進めている。

#### 文 献

- 1) Jacobs JJ et al : Osteolysis ; basic science. *Clin Orthop* **393** : 71—77, 2001
- 2) Mahomed NN et al : Rates and outcomes of primary and revision total hip replacement in the United States medicare population. *J Bone Joint Surg* **85-A** : 27—32, 2003
- 3) Livingston BJ et al : Complications of total hip arthroplasty associated with the use of an acetabular component with a Hylamer liner. *J Bone Joint Surg* **79-A** : 1529—1538, 1997
- 4) McKellop H et al : Wear of gamma-crosslinked polyethylene acetabular cups against roughened femoral balls. *Clin Orthop* **369** : 73—82, 1999
- 5) Black J : Metal on metal bearings ; a practical alternative to metal on polyethylene total joints? *Clin Orthop* **329** : S 244—255, 1996
- 6) Callaway GH et al : Fracture of the femoral head after ceramic-on-polyethylene total hip arthroplasty. *J Arthroplasty* **10** : 855—859, 1995
- 7) Childs LM et al : In vivo RANK signaling blockade using the receptor activator of NF-kappaB ; Fc effectively prevents and ameliorates wear debris-induced osteolysis via osteoclast depletion without inhibiting osteogenesis. *J Bone Miner Res* **17** : 192—199, 2002
- 8) Goater JJ et al : Efficacy of ex vivo OPG gene therapy in preventing wear debris induced osteolysis. *J Orthop Res* **20** : 169—173, 2002
- 9) Kirk TB et al : The morphology and composition of the superficial zone of mammalian articular cartilage. *J Orthop Rheumatol* **6** : 21—28, 1993
- 10) Ishihara K et al : Preparation of phospholipid polymers and their properties as polymer hydrogel membrane. *Polym J* **22** : 355—360, 1990
- 11) Ishihara K et al : Why do phospholipid polymers reduce protein adsorption? *J Biomed Mater Res* **39** : 323—330, 1998
- 12) Ishihara K et al : Improvement of blood compatibility on cellulose dialysis membrane ; III. Synthesis and performance of water-soluble cellulose grafted with phospholipid polymer as coating material on cellulose dialysis membrane. *J Biomed Mater Res* **29** : 181—188, 1995
- 13) Kihara S et al : In vivo evaluation of a MPC polymer coated continuous flow left ventricular assist system. *Artif Organs* **27** : 188—192, 2003
- 14) Lewis AL et al : Analysis of a phosphorylcholine-based polymer coating on a coronary stent pre- and post-implantation. *Biomaterials* **23** : 1697—1706, 2002
- 15) Moro T et al : Surface grafting of artificial joints with a biocompatible polymer for preventing periprosthetic osteolysis. *Nat Mater* **3** : 829—836, 2004
- 16) Ishihara K et al : Photoinduced graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on polyethylene membrane surface for obtaining blood cell adhesion resistance. *Colloids Surf B Biointerfaces* **18** : 325—335, 2000
- 17) Foy JR et al : Effect of phospholipidic boundary lubrication in rigid and compliant hemiarthroplasty models. *Proc Inst Mech Eng [H]* **213** : 5—18, 1999
- 18) Konno T et al : Preparation of nanoparticles composed with bioinspired 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymer. *Biomaterials* **22** : 1883—1889, 2001

# 人工関節 新素材採用で 長寿命化に成功

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医療ナノテクノロジー人材養成ユニット

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。とくにわが国のような高齢社会では有病者が増加し、たとえば人工股関節については、日本だけでも年間6万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10年から15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起き、固定性が失われること(弛み: loosening)である。弛み

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を著しく低下させる。このため入れ替え(再置換術)が必要となるが、再置換術は難度が高く、長期の入院を要する(図1)。社会の高齢化とともに、人工関節を入れた患者のその後の人生は長期化している。すなわち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、生涯に数回の再置換手術が必要となるため、その件数は今後飛躍的に増加し続けることが予想される。したがって、人工関節の弛みを防止し、寿命を延長することは、重要な課題である。

弛みの過程は、関節摺動面を構成する超高分子量ポリエチレン(PE)製ライナーが金属製あるいはセラミック製人工骨頭との摩擦により摩耗し、微小摩耗粉を生じることから始まる。この摩耗粉は

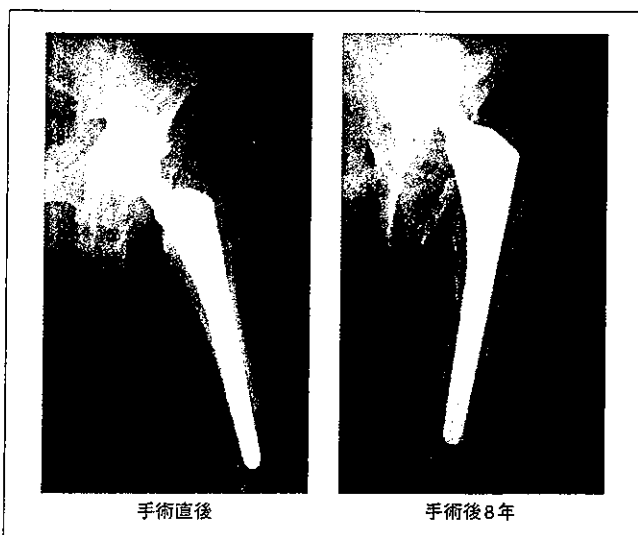


図1 人工股関節の弛み  
人工股関節周囲に骨吸収が生じ、固定性を失った人工関節が体内を上方に移動している。人工股関節は脱臼し、歩行不能となり再置換手術を余儀なくされた。



マクロファージ (MΦ) に貪食され、MΦはサイトカインやプロスタグランジン (PG) を分泌する。これらの生体活性物質は周囲の間葉系細胞に作用し、破骨細胞分化因子である receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) の発現を誘導する。その結果、破骨細胞の形成・活性が促進され骨吸収に至る<sup>1)</sup>。したがって、現在までの弛み抑制のための研究開発は、摩耗粉を減少させること、あるいは、骨吸収を抑制すること、の2つの方向性で検討されてきた。しかしながら、これらのいずれかの抑制を目指した研究では決定的な解決策を得るには至っておらず、その双方の抑制を同時にかなえることができる人工関節が求められている。

われわれは、関節面の摩擦を低下することで摩耗粉の発生を低減し、かつ生じた摩耗粉が骨吸収の誘導を阻止すれば、弛みを抑制できると考えた。生体の関節軟骨表面にはナノオーダーのリン脂質層が存在し、表面潤滑の改善の役割を果たしている<sup>2)</sup>。そこで、生体適合性リン脂質ポリマーである 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) ポリマーに着目した。

MPC ポリマーは、石原らが合成・開発した高分子材料である<sup>3)</sup>。MPC ポリマーは生体細胞膜と同様、ホスホリルコリン基を有するため、生体内で異物として認識をうけず、優れた生体適合性を発揮する。また、生体との相互作用も抑制されるため、MPC ポリマー表面のタンパク吸着や血栓形成が抑制される。これらの優れた特性を活かし、医療分野への応用を目指したさまざまな研究開発が行われており、その一部はすでに認可を受け国内外で実用化されるなど、生体内の安全性は確立されている。

われわれは人工関節の弛みの抑制のため、PE ライナー表面を MPC ポリマーでナノ表面処理する方法を創案した (MPC ポリマー処理)<sup>4)</sup>。この

処理は、紫外線による温和な光開始ラジカル重合法を適用し、PE と MPC ポリマーの炭素原子同士を結合させるものである。安定した共有結合を有するだけでなく、ナノオーダーの表面処理 (100~150nm) であるため摺動面以外の PE の性質に影響を与えない。われわれは、本技術の臨床応用を目指し、PE ライナー表面の耐摩耗性と MPC 摩耗粉が骨吸収に及ぼす影響の観点から、人工関節摺動面の MPC ポリマーによるナノ処理が弛みの阻止に与える影響を検討した<sup>5)</sup>。

人工関節の中で、人工股関節は手術件数が最も多い関節のひとつであるにもかかわらず、その歩行周期の中でさまざまな方向から体重の数倍の負荷を受けるため弛みを生じる頻度が高く、また、荷重関節のため疼痛や可動域制限で再置換手術に至る頻度が高い。そこで、最も条件の厳しい関節で MPC ポリマーによるナノ表面処理効果が確認できれば、ほかの人工関節へも臨床応用もできると考え、生体の歩行周期を再現する股関節シミュレーターを用い、連続 300 万歩分の歩行負荷をかけて耐摩耗効果を観察した。骨頭には市販品のコバルトクロムモリブデン合金骨頭を用いた。ライナーは同じく市販品の架橋 PE (CLPE) 表面を MPC ポリマー処理したもの (MPC-CLPE) を用い、通常の PE および未処理の CLPE と比較した。

まず関節摺動面の摩擦トルクを測定すると、MPC-CLPE のトルクは未処理群の約 1/10 と改善していた。次にライナーの摩耗を重量変化を用いて検討すると、MPC-CLPE の摩耗量は PE の 1/40、CLPE の 1/4 と、著明に抑制されていた。さらに、ライナーの表面を走査電子顕微鏡 (SEM)、三次元解析装置、X 線光電子分光分析装置 (XPS)、透化型電子顕微鏡 (TEM) を用いて観察すると、MPC-CLPE では、ほとんど摩耗が見られず、また、MPC 処理層は試験終了後も残存していた。

以上のシミュレーター試験により、人工股関節

摺動面のMPCポリマーによるナノ表面処理が、関節摺動面の潤滑機構を改善し、摩耗粉の産生を著明に抑制すること、その処理効果は少なくとも連続300万歩分の歩行負荷をかけても残存することが明らかになった。また、今回の検討では金属骨頭を使用しているが、骨頭にセラミックスを使うことで、さらに摩耗抑制効果を得られることが確認できている。

MPCの微小摩耗粉が骨吸収に与える影響は、マウスの骨吸収モデルを用いて検討した。シミュレーター試験で抽出した摩耗粉を解析すると、MPC-CLPE、未処理CLPEとも、摩耗粉の95%以上はサブミクロンのサイズであり、摩耗粉の粒径分布・形状に明らかな差は見られなかった。そこで、平均粒径約500nmのMPCナノ微粒子を複製して実験に使用した。

まず、微粒子をマウス腹腔内MΦ培養系に暴露して貪食実験を行うと、未処理の微粒子はMΦに大量に貪食されたが、MPC処理微粒子はMΦに異物として認識されず、ほとんど貪食を受けなかった。ついで、MPC微粒子あるいは未処理微粒子をマウスMΦ様細胞株・J774.1細胞に暴露して24時間後に培養上清を回収し、上清中の骨吸収を誘導する液性因子濃度(TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6、PGE<sub>2</sub>)を測定すると、すべての因子において未処理微粒子暴露群の濃度は、溶液のみを加えた

コントロール群と比べ、4~20倍高値を示したが、MPC処理粒子暴露群ではこれらの濃度上昇が見られず、コントロール群と有意な差が見られなかった。さらに、これらの培養上清をマウス骨芽細胞培養系および骨髄細胞と骨芽細胞の共存培養系に添加したところ、未処理微粒子暴露群ではRANKLの発現・破骨細胞形成とも強力に誘導したのに対し、MPC処理粒子暴露群ではこれらを全く誘導しなかった。次に*in vivo*の骨吸収モデルにおいて、MPC微粒子あるいは未処理微粒子をマウス頭蓋骨上に移植して7日後に骨吸収の有無を判定したところ、未処理粒子を移植した群では強力に骨吸収が誘導されたが、MPC微粒子を移植した群では全く誘導されなかった。

以上の*in vitro/vivo*のマウス骨吸収モデルを用いた検討により、MPCのナノ微小粉はMΦの貪食を受けず、破骨細胞の形成・活性化、骨吸収を誘導しないことが明らかになった。

これらの研究成果により、人工股関節摺動面のMPCポリマーによるナノ表面処理は、弛みの主因となるPE摩耗粉の産生を著減させること、かりに摩耗粉を生じても骨吸収を誘導しないこと、が明らかになり、従来の人工股関節における課題を同時に解決できることが示された(図2)。また、最近では研究を重ねてMPCポリマー処理方法を改善し、連続1,000万歩以上の歩行負荷をかけて

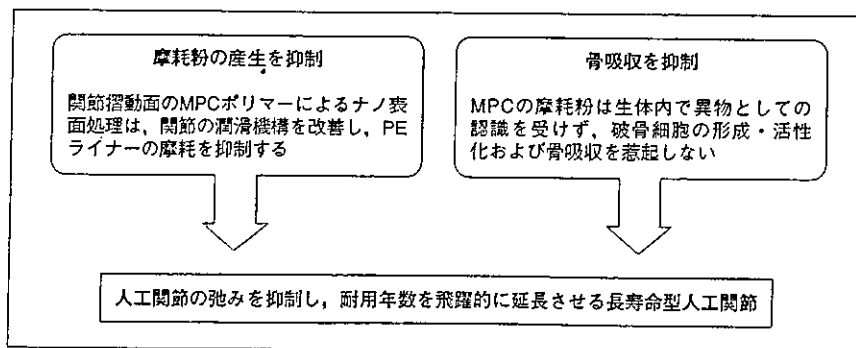


図2 MPCポリマーのナノ表面処理による人工関節の長寿命化

も著明な摩耗抑制効果がみられ、その処理効果も維持されるという結果を得ている。本研究は、人工股関節の寿命を飛躍的に延長する長寿命型の人工関節の開発につながり、手術の適応になり難かった若年の症例でも人工股関節手術を選択肢に加えられるなど、治療方法の選択を変える可能性を秘めている。こうした画期的な新技術として、

現在臨床試験の準備を進めている。また、今回の試験は、体重の数倍という厳しい荷重を受け、临床上最も再置換手術の頻度の高い人工股関節のモデルを用いて行ったが、MPCポリマーのナノ表面処理による弛みの抑制機構は、すべての人工関節に臨床応用できるものと考えており、現在基礎検討を進めている。

#### 参考文献

- 1) Jacobs JJ, Roebuck KA, Archibeck M, Hallab NJ, Glant TT : Osteolysis. basic science, Clin Orthop, 393 : 71-77, 2001.
- 2) Kirk TB, Wilson AS, Stachowiak GW : The morphology and composition of the superficial zone of mammalian articular cartilage. J Orthop Rheumatol, 6 : 21-28, 1993.
- 3) Ishihara K, Ueda T, Nakabayashi N : Preparation of phospholipid polymers and their properties as polymer hydrogel membrane. Polym J, 22 : 355-360, 1990.
- 4) Ishihara K, Iwasaki Y, Ebihara S, Shindo Y, Nakabayashi N : Photoinduced graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on polyethylene membrane surface for obtaining blood cell adhesion resistance. Colloids Surf B Biointerfaces, 18 : 325-335, 2000.
- 5) Moro T, et al : Surface grafting of artificial joints with a biocompatible polymer for preventing periprosthetic osteolysis. Nat Mater, 3 : 829-836, 2004.