

Z00500265A

厚生労働科学研究費補助金

基礎研究成果の臨床応用推進研究事業

長寿命型人工関節の臨床応用推進に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 高取吉雄

平成18（2006）年 4月

目次

I.	総括研究報告	
	長寿命型人工関節の臨床応用推進に関する研究	1
	高取吉雄	
II.	分担研究報告	
1.	MPC ポリマー処理の同定方法および至適処理条件の確立	16
	高取吉雄・石原一彦	
2.	MPC ポリマー処理した関節摺動面の耐摩耗性の評価	27
	水野峰男・高玉博朗・瀧川順庸	
3.	股関節シミュレーター試験における関節摺動面の評価	38
	茂呂徹	
4.	股関節シミュレーター試験における摩耗粉の解析	50
	中村耕三	
5.	人工膝関節用ポリエチレンインサートの表面処理と 膝関節シミュレーター試験に関する検討	61
	山脇昇	
6.	人工関節金属表面の MPC ポリマー処理に関する検討	72
	塙隆夫・岩崎泰彦	
7.	MPC ポリマー処理したポリエチレン表面の生体内安全性の検討	82
	川口浩	
8.	臨床試験データ登録・管理システムの構築	90
	中村孝志	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	96
IV.	研究成果の刊行物・別刷	99

厚生労働科学研究費補助金（基礎研究成果の臨床応用推進研究事業）

総括研究報告書

長寿命型人工関節の臨床応用推進に関する研究

主任研究者 高取吉雄（東京大学医学部附属病院 助教授）

研究要旨：長寿命型人工関節の臨床応用推進のため、① 長寿命型人工股関節の臨床応用のための検討、② 長寿命型人工膝関節の臨床応用のための検討、③ MPC ポリマー処理したポリエチレン表面の生体内安全性の検討、④ 臨床試験データ登録・管理システムの構築、を行った。

長寿命型人工股関節の臨床応用のための検討では、まず MPC ポリマー処理の同定方法と至適処理条件を確立した。股関節シミュレーターによる耐摩耗性の検討では、片足連続 1500 万歩分（1500 万サイクル）の負荷をかけ、MPC ポリマー処理がポリエチレンライナーの摩耗を顕著に抑制すること、その処理効果は 1500 万サイクル後も残存することを明らかにし、摩耗抑制機序を検討した。

長寿命型人工膝関節の臨床応用のための検討では、ポリエチレンインサート表面の MPC ポリマー処理方法を確立した。また、耐摩耗性を評価するための膝関節シミュレーターの試験条件を設定・確立した。さらに、予備試験として短期摩耗試験を開始し、股関節と同様、摩耗抑制効果が期待できる試験結果を得た。

MPC ポリマー処理したポリエチレン表面の生体内安全性の検討では V79 細胞を用いる接触法による細胞毒性試験を行い、毒性がないことを確認した。

臨床試験データ登録・管理システムの構築では、日本整形外科学会インプラント委員会を中心に人工股関節と膝関節の登録用紙を作成し、メンバーが所属する 10 施設を登録施設として、登録の試行を開始した。

以上の結果は、長寿命型人工関節の臨床応用推進の確信を得るに十分な結果であった。

分担研究者

中村耕三（東京大学医学部附属病院 教授）
川口浩（東京大学医学部附属病院 助教授）
茂呂徹（東京大学大学院医学系研究科 科学技術振興特任教員）
石原一彦（東京大学大学院工学系研究科 教授）
塙隆夫（東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 教授）
岩崎泰彦（東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 助教授）
水野峰男（財団法人ファインセラミックスセンター 主席研究員）
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）
山脇昇（日本メディカルマテリアル株式会社 研究開発部副部長）
中村孝志（京都大学大学院医学系研究科 教授）

A. 研究目的

人工関節手術は、機能を喪失した関節の疼痛を寛解し、よりよい Activities of Daily Living (ADL) ・ Quality of Life (QOL) の獲得に大きな役割を果たしている。また、我が国では年間10万件以上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、手術後約10年で生じる弛み (loosening) は最大の合併症である。弛みは人工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。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。

弛みの主因は、関節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が貪食して惹起される人工関節周囲の骨吸収である。この問題の解決のため、我々は分担研究者の石原らが開発した生体適合性ポリマー・MPC (2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine: 特許登録番号2890316, 287072) を人工関節摺動面の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を確立した (特許申請中)。これまでの基礎研究で、1) MPCポリマー処理が人工股関節の関節面からの摩耗粉の産生を著しく抑制すること、2) MPCの摩耗粉が骨吸収を誘導しないこと、を明らかにした (*Nature Mater* 3,829-836, 2004) (長寿科学総

合研究事業 H15-長寿-020 平成16年度で終了)。

本研究ではこれらの基礎研究の成果を臨床の現場に迅速に応用するため、人工股関節に関する生体工学的研究、生体内安全性の評価を完成させるとともに、人工股関節と並んで手術件数の多い人工膝関節への本技術の応用を目指し、生体工学的な検討を行う。また、実用化のため、MPCポリマー処理の非侵襲的同定方法を確立し、至適処理条件、滅菌操作の影響、長期保存の影響、を検討する。さらに、臨床試験データ登録・管理システムの構築を行う。

本研究は医工・産学連携による研究であり、人工股関節については平成19年度上期、人工膝関節については平成19年度下期の臨床試験開始を目標とするものである。

B. 研究方法

① 長寿命型人工股関節の臨床応用のための検討

1) MPCポリマー処理の同定方法および至適処理条件の確立

(分担研究者 高取吉雄、石原一彦)

MPCポリマー処理したポリエチレンライナー表面の分析方法として、X線光電子分光法 (XPS) 分析、フーリエ変換赤外分光 (FT-IR) 分析、水による静的接触角の測定、蛍光物質ローダミン6Gを用いた染色による顕微鏡観察、透過電子顕微鏡 (TEM) 観察を検討した。

また、MPCポリマー処理の処理時間を変え、上記の同定方法を用いて至適な条件を検索した。

2) MPCポリマー処理した関節摺動面の耐摩耗性の評価

(分担研究者 水野峰男、高玉博朗、瀧川順庸)

a) 長期の摩耗特性の評価

耐摩耗性の評価は、人工股関節の手術後の歩行を再現する股関節シミュレーターを用いて行った。試験部材のライナーには、架橋 PE ライナー (CLPE) に MPC ポリマー処理を行ったライナー (MPC-CLPE) を使用した。対照には通常 PE ライナー (PE)、未処理 CLPE を用い、片足連続 1500 万歩分 (1500 万サイクル) という長期の摩耗特性の違いを評価した。骨頭には、直径 26 mm のコバルトクロムモリブデン合金製 (CoCr) 骨頭を使用した。

b) 紫外線照射時間の影響

MPC ポリマー処理過程における紫外線 (UV) 処理時間の影響を評価するために、種々の時間 (0.375h、0.75h、1.5h、3.0h) で MPC ポリマー処理した MPC-CLPE を用い、摩耗特性の違いも評価した。

c) MPC ポリマー処理による摩耗抑制機序の検討

MPC ポリマー処理をライナー全面あるいは一部のみ施した MPC-CLPE を用い、摩耗特性の違いも評価した。本試験では、骨頭が接触する部位のみ MPC ポリマー処理したライナー (マスキング)、骨頭が接触しない辺縁部のみ処理したもの (逆マスキング) の 2 種を対照試料として評価を実施した。

3) 股関節シミュレーター試験における関節摺動面の評価

(分担研究者 茂呂徹)

分担研究者の水野らが行った股関節シミュレーター試験の試料 (ポリエチレンライナー、金属骨頭) の解析を行った。

a) ポリエチレンライナー表面の LSM 観察

1500 万回の股関節シミュレーター試験後における MPC ポリマー処理 CLPE ライナーと未処理 CLPE ライナーの摺動表面観察を、走査型共焦点レーザー顕微鏡 (LSM) にて、観察倍率 5 倍で観察した。観察部位はライナー天頂部とした。シミュレーター試験後の試験体に対し、既報を参考にして融点を超える温度にて熱処理を行い、“形状記憶”によるクリープ変形の回復を行い、摺動表面を観察した。

b) ポリエチレンライナー表面の 3 次元形状測定

1500 万回の人工股関節シミュレーター試験前後による MPC ポリマー処理 CLPE ライナーと未処理 CLPE ライナーの摩耗を調査するため、ライナー摺動部の 3 次元形状測定を行った。

c) 金属骨頭表面の解析

人工股関節シミュレーター試験前後のコバルトクロム合金骨頭について、表面粗さ測定、表面観察を行った。

4) 股関節シミュレーター試験における摩耗粉の解析

(分担研究者 中村耕三)

股関節シミュレーターを用いた摩耗試験で発生する摩耗粉を回収し、SEMにより観察した。

② 長寿命型人工膝関節の臨床応用のための検討

1) 人工膝関節用ポリエチレンインサートの表面処理と膝関節シミュレーター試験に関する検討

(分担研究者 山脇昇)

a) 人工膝関節用 MPC ポリマー処理ポリエチレンインサートの創製
ポリエチレンインサート表面を MPC ポリマー処理し、X 線光電子分光分析 (XPS)、フーリエ変換赤外分光分析 (FT-IR) および水による静的接触角測定を行った。

b) 膝関節シミュレーター試験方法の検討

MPC ポリマー処理された人工膝関節用ポリエチレンインサートの耐摩耗特性を評価するため、膝関節シミュレーター試験方法を検討した。

c) 短期摩耗試験

上記 b) で検討した膝関節シミュレーター試験により MPC ポリマー処理された人工膝関節用ポリエチレンインサートを評価した。

2) 人工関節金属表面の MPC ポリマー処理に関する検討

(分担研究者 埴隆夫、岩崎泰彦)

人工関節の関節摺動面に用いられるコバルトクロムモリブデン合金 (CCM 合金) 表面における MPC ポリマーの修飾安定性を獲得するために、金属酸化膜とイオン結合する 4-メタクリロイル

オキシエチルトリメリット酸無水物 (4-META) で予め CCM 表面を処理し、引き続き 4-META と MPC を光重合した。

そして、この処理効果を判定するため、MPC ポリマー処理した CCM 合金の表面を接触角測定ならびに X 線光電子分光分析 (XPS) により解析した。

③ MPC ポリマー処理したポリエチレン表面の生体内安全性の検討
(分担研究者 川口浩)

人工関節用ポリエチレン表面に対し、MPC ポリマー処理した。これらを用い、厚生労働省医薬審発第 0213001 号「医療用具の製造承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方について」に従い、ISO 10993 に準拠して、MPC ポリマー処理 PE の V79 細胞を用いる細胞毒性試験 (接触法) を行った。

④ 臨床試験データ登録・管理システムの構築

(分担研究者 中村孝志)

人工関節の登録制を施行している国々の実施状況および問題点を、文献を収集して検討した。これらを参考にして、本研究における人工股関節・膝関節の登録・管理システムのガイドラインの検討を日本整形外科学会のインプラント委員会を中心に開始した。

(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 長寿命型人工股関節の臨床応用のための検討

1) MPC ポリマー処理の同定方法および至適処理条件の確立

a) XPS 分析

MPC ポリマー処理 CLPE には C-O に帰属されるピーク (532 eV)、 $-N^+(CH_3)_3$ に帰属されるピーク (403 eV)、リン酸基に帰属されるピーク (134 eV) が観察された。

b) FT-IR 分析

MPC ポリマー処理 CLPE において、1240、1080 および 970 cm^{-1} にリン酸基に帰属されるピークが、1720 cm^{-1} にケトン基に帰属されるピークが観察された。

c) 水による静的接触角の測定

MPC ポリマー処理することにより、接触角は小さくなり、濡れ性が高まった。

d) 蛍光染色による顕微鏡観察

蛍光物質ローダミン 6G を用いた染色し、蛍光顕微鏡にて観察すると、MPC ポリマー処理 CLPE では、表面全域において発光が見られた。

e) TEM 観察

MPC ポリマー処理 CLPE 表面には、厚さ 100~200 nm の MPC ポリマー層が観察された。

f) 至適処理条件の検索

一般にラジカル重合では、重合時

間はポリマー鎖の数に対応するため、光照射時間の制御により表面にグラフト化される MPC ポリマーの密度が変化する。これに基づき、高密度の MPC ポリマー層を得るために、紫外線の照射時間 (重合時間) を制御した。紫外線照射時間 (重合時間) が延長するに従って、表面の原子組成において窒素、リンの濃度が増加することにより確認された。重合時間 90 分の MPC ポリマー処理 CLPE の原子濃度は 5.1、5.2 であり、理論的な MPC ポリマーの値とほぼ同じであった。紫外線照射時間を長くするに伴って、CLPE の表面上に MPC ポリマー層が形成し、45 分間以上の重合時間で CLPE の表面の全てを覆った。形成する MPC ポリマー層の厚みは、何れの状態でも 100~200 nm であった。しかし、MPC ポリマーが CLPE 表面を覆い、その表面静的接触角が約 15° 試験体において、FT-IR/ATR を用いて算出した MPC ポリマーに由来するリン酸指数が 0.3~0.5 と変化した。これは CLPE 表面を覆っている MPC ポリマー層において、ポリマー鎖密度が変化していることに対応している。表面のリン酸指数が高い MPC ポリマー処理 CLPE 試験体は、定常摩耗率が低いと期待される。

2) MPC ポリマー処理した関節摺動面の耐摩耗性の評価

a) 長期の摩耗特性の評価

MPC-CLPE ライナーの重量は、1500 万サイクルまで単調増加し続けた。その増加量は、約

17 mg 程度であり、含水量が摩耗量を大きく上回ったためと考えられた。一方、対照の CLPE では、最初は含水量が摩耗量を上回り重量増加を示したものの、100 万サイクル以降は摩耗量が含水量を上回り単調減少し続けた。また PE では、最初から大きく単調減少した。これらの結果から、MPC ポリマー処理は 1500 万サイクル試験後まで十分に残存し、摩耗を低減させる効果を持続しうるということが明らかとなった。

b) 紫外線 (UV) 照射時間の影響
UV 処理時間が、0.375 時間の試料の場合は、およそ 300 万サイクル以降、重量減少した。一方、処理時間が 0.75、0.5、3.0 時間の試料の場合は、500 万サイクルまで、重量増加し続けた。ただし処理時間が 0.75 時間の試料では、400 万サイクル以降、重量増加幅が極めて小さくなった。これらの結果から、UV 処理時間が 0.375 または 0.75 時間の試料では、MPC ポリマー処理の効果が摩耗試験過程で失われるか、または非常に小さいことが明らかとなった。そのため、十分な MPC ポリマー処理効果を発揮するためには、処理時間は 1.5 時間以上が好ましいと考えられた。

c) MPC ポリマー処理による摩耗抑制機序の検討
ライナーの辺縁部をマスキングし、骨頭が接触する部位にのみ MPC ポリマー処理を施した試料

(マスキング)では、大きな摩耗を示さず、逆に重量増加した。ただし、その重量増加勾配は、通常の表面処理した試料より、少し小さかった。一方、逆にライナーの天頂部をマスキングし、骨頭非接触部にのみ MPC ポリマー処理を施した試料(逆マスキング)では、MPC 未処理の試料と比較して摩耗の抑制効果は見られたものの、その効果は軽度であった。これらの結果から、MPC ポリマー処理表面が摺動部に残存すると、摩耗が大幅に抑えられること、骨頭非接触部の MPC ポリマーが、関節摺動面に水を引き込むなど、流体潤滑の改善に何らかの寄与をしている可能性があることが示唆された。

3) 股関節シミュレーター試験における関節摺動面の評価

a) ポリエチレンライナー表面の LSM 観察

MPC ポリマー処理、未処理に関わらず人工股関節シミュレーター試験前のライナー摺動表面には、全域に機械加工によるマシンマーク(研磨痕)が見られた。クリープ回復処理を施した人工股関節シミュレーター試験 1200 万サイクル後の未処理の CLPE ライナーでは、摩耗(クリープ変形を含まない)により、マシンマークは完全に消失していた。一方、MPC ポリマー処理 CLPE ライナーでは、摺動表面全域に機械加工によるマシンマークが認められた。クリープ回復処理を施した人工股関節シミュレーター試験 1500 万サイクル後の

MPC ポリマー処理 CLPE ライナーでは、一部マシンマークが消失した部分があるものの、摺動表面のほぼ全域に機械加工によるマシンマークの残存が認められた。これらのことから、摩耗試験 1500 万サイクル後においても、MPC ポリマー処理 CLPE はほとんど摩耗していないといえる。未処理 CLPE に比べ、長期間におよぶ著しい摩耗量の低減が示唆された。

- b) ポリエチレンライナー表面の 3 次元形状測定
人工股関節シミュレーター試験 1200 万サイクル後の CLPE ライナーの形状変化は、従来のポリエチレンライナーのそれと比較して、大幅に減少していた。CLPE ライナーの形状変化は、クリープ変形を含む摩耗に起因するものと推察された。一方、MPC ポリマー処理 CLPE ライナーでは僅かな形状変化が認められた。しかし、CLPE ライナーに比べ、その形状変化量は大幅に減少していた。また、1200 万サイクルから 1500 万サイクルへと摺動回数が増加するに伴って、僅かに形状変形量が増加した。
- c) 金属骨頭表面の解析
試験前後における骨頭の表面粗さに変化は見られなかった。対合する MPC ポリマー処理 CLPE ライナーによる影響も認められなかった。また、人工股関節シミュレーター試験後のコバルトクロム合金骨頭表面

を SEM にて観察したところ、対合する CLPE ライナーの MPC ポリマー処理による影響を調査したが、有意な差異は確認されなかった。

4) 股関節シミュレーター試験における摩耗粉の解析

摩耗粉の回収分散液は、PE の場合、白濁していたが、CLPE および MPC-CLPE の場合ではほぼ透明で、明らかに摩耗粉の産生量に差が現れた。

MPC-CLPE ライナーから発生した摩耗粉では、顆粒状と繊維状のものが混在していた。繊維状の摩耗粉に比べて顆粒状の摩耗粉の方が多く観察された。また顆粒状の摩耗粉は、多くの場合、凝集体として存在していた。

PE ライナーから発生した摩耗粉では、他 2 種と比べると、顆粒状のものは少なく、比較的大きいねじれた繊維状のものが多く観察された。また摩耗粉量も多かった。

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。またそのサイズも小さかった。MPC-CLPE に比べると、その集合体を形成する粒子状の摩耗粉の一粒の大きさは同程度であったが、その集合体の大きさは大きかった。

② 長寿命型人工膝関節の臨床応用のための検討

1) 人工膝関節用ポリエチレンインサートの表面処理と膝関節シミュレーター試験に関する検討

- a) 人工膝関節用 MPC ポリマー処理ポリエチレンインサートの創製
XPS 分析では C-O に帰属されるピーク (532 eV)、 $-N^+(CH_3)_3$ に

帰属されるピーク (403 eV)、リン酸基に帰属されるピーク (134 eV) が認められた。FT-IR 分析では、1240、1080 および 970 cm^{-1} にリン酸基に帰属されるピークが、1720 cm^{-1} にケトン基に帰属されるピークが観察された。未処理ポリエチレンインサートの静的接触角は約 80° であった。一方、MPC ポリマー処理ポリエチレンインサートの静的接触角は約 50° であった。両群には、有意な差が認められた。

b) 膝関節シミュレーター試験方法の検討

人工膝関節用 MPC ポリマー処理ポリエチレンインサートに対する膝関節シミュレーター試験では平地歩行を想定し、屈曲/伸展および荷重は PS.

Walker, A. Seireg らの報告を参考に最大屈曲角度 70 度、最大荷重 4.0 kN を与えるものとした (荷重は 1 周期中に heel strike 時 3.5 kN、toe off 時 4.0 kN の 2 ヶ所のピークがある)。また、脛骨コンポーネントの回旋運動と、大腿骨コンポーネントの前後運動を同期させることで、Medial Pivot 運動を再現することとした。なお、主な試験条件は下記の通りとした。

Axial Load: 0-4.0 kN

Extension/Flexion: 0-70 deg.

Int./Ext. Rotation: 0-8.6 deg.

A/P Translation: 0-3.5 mm

c) 短期摩耗試験

50 万回までの、短期シミュレーター試験において、未処理のポリエチレンインサートは摩

耗により徐々に重量減少したのに対し、MPC ポリマー処理ポリエチレンインサートは、僅かに重量が増加した。MPC ポリマー処理ポリエチレンの重量増加は、ほとんど摩耗せず、潤滑血清中の水分を吸収したために重量が増加したと考えられる。今回の予備試験結果は、N 数が少なく (N=1)、あるいはサイクル数が少ない (50 万回) ため、18 年度は N 数およびサイクル数を増やして試験を継続する予定であるが、今回の結果は人工膝関節における MPC ポリマー処理の摩耗抑制効果を期待させるものである。

2) 人工関節金属表面の MPC ポリマー処理に関する検討

MPC ポリマーを処理した表面では、光電子の放出角度に関わらず、リン元素に由来するスペクトルが顕著に観察された。各金属に由来するスペクトルも観察されたが、未処理の表面に比べ若干の強度低下が認められた。XPS 解析より表面の元素分析を行うと、MPC ポリマーを修飾することによりリン元素の割合が著しく増加した。また、MPC ポリマーを構成する元素 C、O、N、P の各元素の割合は検出深さによって大きな変化は認められなかった。MPC ポリマーは親水性が高く、接触角測定にもポリマーの存在が影響すると予測できる。未処理の CCM 合金の接触角を測定したところおよそ 75° であった。一方、MPC ポリマー処理した CCM 合金では表面の接触角が 10-15° に低

下した。

③ MPC ポリマー処理したポリエチレン表面の生体内安全性の検討

MPC ポリマー処理ポリエチレン群では、被検物質上面には細胞が接着せずコロニー形成はされなかったが、ウェル中に陰性材料である組織培養用プラスチックシートおよび陰性対照と同程度のコロニーが形成された。一方、陽性の標準材料 B である 0.25% ZDBC 含有ポリウレタンフィルムを用いた場合にはコロニーは形成されなかった。以上の結果から、今回行った試験条件下において、MPC ポリマー処理ポリエチレンには V79 細胞のコロニー形成を阻害する細胞毒性作用はないことが示された。

④ 臨床試験データ登録・管理システムの構築

これまでの調査に基づき人工股関節と膝関節の登録用紙を作成し、日本整形外科学会インプラント委員会のメンバーが所属する 10 施設を登録施設として、登録の試行を開始した。

D. 考察

長寿命型人工関節の臨床応用推進のため、① 長寿命型人工股関節の臨床応用のための検討、② 長寿命型人工膝関節の臨床応用のための検討、③ MPC ポリマー処理したポリエチレン表面の生体内安全性の検討、④ 臨床試験データ登録・管理システムの構築、を行った。

長寿命型人工股関節の臨床応用のための検討では、まず MPC ポリマー処理の同定方法として、X線光電子分

光法 (XPS) 分析、フーリエ変換赤外分光 (FT-IR) 分析、水による静的接触角の測定、蛍光物質ローダミン 6G を用いた染色による顕微鏡観察、透過電子顕微鏡 (TEM) 観察を確立した。さらに、この同定方法、および下記のシミュレーター試験を用い、至適 MPC ポリマー処理条件を確立した (特許申請中)。股関節シミュレーターを用いた耐摩耗性の検討では、片足連続 1500 万歩分 (1500 万サイクル) の歩行負荷をかけ、MPC ポリマー処理がポリエチレンライナーの摩耗を顕著に抑制すること、その処理効果は 1500 万サイクル後も残存することを明らかにした (この試験は平成 18 年度まで継続し、サイクル数を増やす予定である)。さらに、ポリエチレンライナーの骨頭接触部/非接触部のみを MPC ポリマー処理したライナーを作製し、摩耗抑制機序を検討した。

長寿命型人工膝関節の臨床応用のための検討では、ポリエチレンインサート表面の MPC ポリマー処理方法を確立した。また、耐摩耗性を評価するための膝関節シミュレーターの試験条件を設定・確立した。さらに、予備試験として短期摩耗試験を開始し、股関節と同様、摩耗抑制効果が期待できる試験結果を得た。平成 18 年度は、N 数、サイクル数を増やし、更に検討を続ける予定である。また、関節摺動面の金属表面の処理方法を開発した (特許申請準備中)。

MPC ポリマー処理したポリエチレン表面の生体内安全性の検討では V79 細胞を用いる接触法による細胞毒性試験を行い、毒性がないことを確認した。

臨床試験データ登録・管理システムの構築では、日本整形外科学会インプ

ラント委員会を中心に人工股関節と膝関節の登録用紙を作成し、メンバーが所属する 10 施設を登録施設として、登録の試行を開始した。

以上の結果は、長寿命型人工関節の臨床応用推進の確信を得るに十分な結果であった。この他、MPC ポリマーはポリエチレン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。

人工関節手術時の 1 か月あたりの入院費用は、材料費を含めて約 250 万円であり、手術月だけを見ても年間 2500 億円の医療費が費やされていることになる。このうち 10% が再置換手術と考えると、長寿命型人工関節の実用化により、少なくとも年間 250 億円の医療費を削減することができる。また、現在の人工関節の耐用年数を考えた場合、若年者は人工関節手術の適応になり難いというのが実情であるが、長寿命型の人工関節の実用化により、若年者にも積極的に手術をおこなうことが可能となり、国民の健康維持・増進、労働力の確保に多大な貢献をもたらすことになる。

我が国の人工関節の市場規模は 625 億円であるが、80% 以上が海外製品で占められている。一方で日本人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 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、貿易不均衡の是正に大きな貢献を果た

す。また、全世界での人工関節の市場規模は 1 兆円を超えるが、海外においても本技術は注目を集めており、本開発により国際競争力を獲得し、この分野での産業育成に貢献することは確実である。

E. 結論

今年度の研究により、長寿命型人工関節の臨床応用を推進しうる結果を得ることができた。人工股関節については平成 19 年度上期、人工膝関節については平成 19 年度下期の臨床試験開始を目標とし、来年度以降も長期摩耗抑制効果、安全性等の検討を継続する。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 茂呂徹, 高取吉雄, 中村耕三, 川口浩, 石原一彦: ポリエチレンライナー表面の MPC ポリマー処理は人工股関節の弛みを抑制する—ナノ表面制御による長寿命型人工股関節の開発—. *Hip Joint* 31 469-474, 2005
- 2) 茂呂徹, 石原一彦: MPC ポリマー. *整形外科* 56 (12) 1600, 2005
- 3) 茂呂徹: 生体適合性ポリマーのナノ表面処理による人工股関節の弛みの阻止. *バイオマテリアル* 23 (6) 407-412, 2005
- 4) 茂呂徹: ナノ表面制御による新しい人工股関節の開発. *リウマチ科* 33 (6) 639-645, 2005

- 5) 石原一彦, 茂呂徹, 金野智浩: 人工細胞膜表面構築による超機能人工関節の開発. *材料科学* 42 (4) 2-6, 2005
- 6) 茂呂徹: 高潤滑人工関節インターフェイス. *バイオマテリアル* 23 (4) 296-302, 2005
- 7) 茂呂徹: 人工関節 新素材採用で長寿命化に成功. *治療* 87 (4): 1642-1645, 2005
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 茂呂徹, 高取吉雄: 人工臓器 最近の進歩 人工関節. *人工臓器* 34(3): 166-170, 2005
- 11) Konno T, Hasuda H, Ishihara K, Ito Y: Photo-immobilization of a Phospholipid Polymer for Surface Modification. *Biomaterials* 26 (12): 1381-1388, 2005
- 12) Patel J, Iwasaki Y, Ishihara K, and Anderson JM: Phospholipid polymer surfaces yield reduced bacterial and leukocyte adhesion under dynamic flow conditions. *J. Biomed. Mater. Res.* 73A: 359-366, 2005
- 13) Iwasaki Y, Tabata E, Kurita K, Akiyoshi K: Selective cell attachment to a biomimetic polymer surface through the recognition of cell-surface tags. *Bioconjugate Chem.* 16: 567-575, 2005
- 14) Morimoto N, Endo T, Ohtomi M, Iwasaki Y, Akiyoshi K: Hybrid nanogels with physical and chemical cross-linking structures as drug carrier. *Macromol. Biosci.* 5: 710-716, 2005
- 15) Iwata R, Iwasaki Y, Akiyoshi K, Takahara A: Well-controlled nanobiointerface generated from phosphorylcholine block copolymers brushes via a "grafting from process. *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.* 30: 735-738, 2005
- 16) Hashimoto M, Takadama H, Mizuno M and Kokubo T: Enhancement of mechanical strength of TiO₂/high-density polyethylene composites for bone repair with silane-coupling treatment. *Materials Research Bulletin* 41: 515-524, 2005
- 17) Kokubo T and Takadama H: How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials* 27 (15): 2907-2915, 2006
- 18) Hatsuno K, Mukohyama H, Horiuchi S, Iwasaki Y, Yamamoto N, Akiyoshi K, Taniguchi H: Poly(MPC-co-BMA) coating reduces the adhesion of *Candida albicans* to poly(methyl methacrylate) surfaces. *Prosthodont. Res. Pract.* 5: 21-25, 2006
- 19) Iwasaki Y, Akiyoshi K: Synthesis and characterization of amphiphilic polyphosphates with hydrophobic graft chains and cholesteryl groups as

- nanocarriers. *Biomacromolecules* in press.
- 20) Sawada S, Iwasaki Y, Nakabayashi N, Ishihara K: Stress response of adherent cells on a blend polymer surface composed of a segmented polyurethane and MPC copolymers. *J. Biomed. Mater. Res.* in press
- 21) 茂呂徹: ポリマーナノグラフト表面構築を基盤とした耐摩耗人工股関節の創製. *バイオマテリアル* 24 (2) in press
- 22) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, Nakamura K, Kawaguchi H: The Frank Stinchfield Award Grafting of biocompatible MPC polymer on cross-linked polyethylene liner surface for extending longevity of artificial hip joints. *Clin Orthop* in press
- 23) Goda T, Konno T, Takai M, Moro T, and Ishihara K: Biomimetic Phosphorylcholine Polymer Grafting from Polydimethylsiloxane Surface Using Photoinduced Free Radical Polymerization. *Biomaterials* in contribution
- 24) Kyomoto M, Moro T, Konno T, Takadama H, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Yamawaki N, Ishihara K: Effects of photo-induced graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on physical properties of cross-linked polyethylene in artificial hip joints. *J Mater Sci* in contribution
- 25) Kyomoto M, Moro T, Ishihara K, Konno T, Takadama H, Yamawaki N, Takatori Y, Nakamura K, Kawaguchi H: Surface and wear-resistant properties of MPC polymer grafted cross-linked polyethylene. *Biomaterials* in contribution
- 2.学会発表
- ① 国際学会
- 1) Ishihara K, Moro T, Takatori Y, Kawaguchi H, Nakamura K, Konno T: Biomimetic surface on polyethylene liner for obtaining excellent lubrication. *19th European Conference on Biomaterials*. Sorrento, Italy, 2005.9.11-15
- 2) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, Takadama H, Nakamura K, Kawaguchi H: Nano-grafting of biocompatible phospholipid polymer on the polyethylene liner surface for preventing aseptic loosening of the artificial hip joint. *18th Annual Symposium of the International Society for Technology in Arthroplasty (ISTA)*. Kyoto, Japan, 2005.9.30-10.1
- 3) Karita T, Takatori Y, Yamamoto M, Mabuchi A, Moro T, Ushida M, Miura S, Nakamura K: A metal head vs a zirconia head in regard to the rate of polyethylene wear in cementless total hip replacements. *18th Annual Symposium of the International Society for Technology in Arthroplasty (ISTA)*. Kyoto, Japan, 2005.9.30-10.1
- 4) Moro T: Extending longevity of artificial hip joints by surface grafting on cross-linked polyethylene liner with biocompatible MPC polymer. *52nd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS)*. Chicago.,

- USA, 2005.3.19-22
- 5) Moro T: The Frank Stinchfield Award Grafting of biocompatible MPC polymer on cross-linked polyethylene liner surface for extending longevity of artificial hip joints. *73rd Annual Meeting of the American Academy of Orthopaedic Surgeons (AAOS)*. Chicago, USA, 2006.3.22-26
 - 6) Iwata R, Iwasaki Y, Akiyoshi K. Synthesis of well-defined biocompatible phosphorylcholine polymer brushes for nanobiointerfaces. *International symposium on functional colloids and surfaces*, Hiyoshi, 2005.Jan.
 - 7) Iwasaki Y, Tabata E, Akiyoshi K. Control Of Cell Attachment To A Biomembrane-like Surface Through The Recognition Of Cell Surface Tags . *Society For Biomaterials 30th Annual Meeting & Exposition*, Memphis, USA, 2005.Apr.
 - 8) Iwata R, Iwasaki Y, Akiyoshi K. Fabrication of Well-defined Block Polymer Brushes for Nano-biointerfaces. *19th European Conference on Biomaterials*, Naples, Sorrento, 2005. Sep.
 - 9) Iwasaki Y, Tabata E, Akiyoshi K. Specific cell attachment to a phosphorylcholine polymer surfaces through the recognition of cell membrane tags. *Pacific Polymer Conference IX*, Maui, USA, 2005. Dec.
 - 10) Takadama H, Mizuno M: A hip joint simulator study of the effects of each lubricant composition on the wear properties of materials for total hip replacement. *The 18th Annual Symposium of the International Society for Technology in Arthroplasty*. Kyoto, Japan, 2005.9.29-10.2
 - 11) Takadama H, Mizuno M: A simulated synovial fluid for wear characterization of artificial hip joints by a multi-station hip joint simulator. *18th International Symposium on Ceramics in Medicine*. Kyoto, Japan, 2005.12.5-8
 - 12) Takadama, H, Hashimoto, M, Mizuno: Preparation of lubricant solutions with compositions analogous to those of bovine serum for wear characterization of hip joints. *The 30th International Conference & Exposition on Advanced Ceramics & Composites*. Cocoa Beach, USA, 2006.1.22-27
- ② 国内学会
- 1) 茂呂徹, 高取吉雄, 中村耕三, 川口浩: 関節摺動面の MPC ポリマー処理は人工股関節の弛みを抑制する—耐摩耗性と生体適合性に優れた新規人工股関節の開発—. *第49回日本リウマチ学会総会・学術集会*. 横浜, 2005.4.17-20
 - 2) 茂呂徹, 高取吉雄, 石原一彦, 高玉博朗, 山脇昇, 中村耕三, 川口浩: シンポジウム「バイオトライボロジーの最前線」MPC ポリマーのナノ表面処理による長寿命型人工股関節の開発—耐摩耗性と生体適合性の検討—. *第44回生体医工学会大会 (日本エム・イー学会)*. つくば, 2005.4.25-27
 - 3) 茂呂徹, 高取吉雄, 石原一彦, 高玉

- 博朗, 山脇昇, 中村耕三, 川口浩: 生体適合性材料・MPCによる関節摺動面のナノ表面処理は人工関節の弛みを抑制する ー長寿命型人工股関節の開発ー. **第78回日本整形外科学会学術総会**. 横浜, 2005. 5.12-15
- 4) 茂呂徹, 高取吉雄, 石原一彦, 鄭雄一, 高玉博朗, 松下富春, 山脇昇, 中村耕三, 川口浩: 生体適合性ポリマーのナノ表面処理による高潤滑インターフェイスは人工関節の弛みを抑制する. **第8回日本組織工学会**. 東京, 2005.9.1-2.
- 5) 茂呂徹, 高取吉雄, 石原一彦, 金野智浩, 高玉博朗, 松下富春, 山脇昇, 中村耕三, 川口浩: 生体適合性リン脂質ポリマーのナノ表面制御による長寿命型人工股関節の開発. **第32回日本股関節学会学術集会**. 新潟, 2005.11.6-8
- 6) 茂呂徹: ポリマーナノグラフト表面構築を基盤とした耐摩耗人工股関節の創製. **第27回日本バイオマテリアル学会大会**. 京都, 2005.11.28-29
- 7) 茂呂徹, 高取吉雄, 石原一彦, 金野智浩, 高玉博朗, 松下富春, 山脇昇, 中村耕三, 川口浩: ポリマーナノグラフト型人工股関節の生体適合機能. **第27回日本バイオマテリアル学会大会**. 京都, 2005.11.28-29
- 8) 石山典幸, 茂呂徹, 大江隆史, 石原一彦, 金野智浩, 木村美都奈, 三浦俊樹, 中村耕三, 川口浩: 生体内解離性リン脂質ポリマーハイドロゲルの癒着防止効果 **第27回日本バイオマテリアル学会大会**. 京都, 2005.11.28-29
- 9) 木村美都奈, 金野智浩, 高井まどか, 石山典幸, 茂呂徹, 石原一彦: 生体内解離性リン脂質ポリマーハイドロゲルの特性. **第27回日本バイオマテリアル学会大会**. 京都, 2005.11.28-29
- 10) 茂呂徹: ナノ表面制御による人工関節ライナーの低摩擦化と生体適合性に関する研究. **第43回日本人工臓器学会大会**. 東京 2005. 11.30-12.2
- 11) 茂呂徹, 高取吉雄, 石原一彦, 金野智浩, 高玉博朗, 松下富春, 山脇昇, 中村耕三, 川口浩: シンポジウム「日本発の人工臓器: 基盤技術の創出と開発の現況」生体適合性ポリマーのナノ表面処理による長寿命型人工股関節の開発. **第43回日本人工臓器学会大会**. 東京 2005.11.30-12.2
- 12) 高取吉雄, 茂呂徹, 石原一彦, 高玉博朗, 山脇昇, 川口浩, 中村耕三: シンポジウム「ポリエチレン摩耗の問題」MPCポリマーによるポリエチレンライナーのナノ表面処理. **第36回日本人工関節学会**. 京都, 2006.2.3-4
- 13) 岩田綾子, 岩崎泰彦, 秋吉一成. タンパク質集積に適した精密ブロックポリマー表面の調製. **第54回高分子学会年次大会**, 横浜, 2005年5月.
- 14) 岩田綾子, 岩崎泰彦, 秋吉一成. 高密度リン脂質ポリマーブレイによるバイオインターフェイスの精密制御. **第34回医用**

高分子シンポジウム, 東京, 2005年8月.

15) 岩崎泰彦, 秋吉一成, 越野有子, 栗田公夫. 生体に倣った両親媒性ポリマーの精密設計と会合特性. 第34回医用高分子シンポジウム, 東京, 2005年8月.

16) 岩田綾子, 岩崎泰彦, 秋吉一成. 高感度バイオ認識界面の創製を目指し

たブロックポリマーブラシの精密設計. 第54回高分子討論会, 山形, 2005年9月.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1) 特願 2006-28529 「低摩耗性摺動部材及びそれを用いた人工関節」

2) 特許出願予定 「生体材料、及びそれを用いた人工関節並びにその製造方法」

厚生労働科学研究費補助金（基礎研究成果の臨床応用推進研究事業）

分担研究報告書

MPC ポリマー処理の同定方法および至適処理条件の確立

分担研究者 高取吉雄（東京大学医学部附属病院 教授）
石原一彦（東京大学大学院工学系研究科 教授）

研究要旨：長寿命型人工股関節の開発のため、人工股関節用超高分子量ポリエチレン（UHMWPE）ライナー表面に生体適合性材料 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) ポリマーを光開始ラジカルグラフト重合（MPC ポリマー処理）し、著しい低摩耗を実現した。更に、本研究では、人工股関節における生体工学的な研究を完成させることを目的とし、MPC の分析方法および至適処理条件の確立について検討した。MPC ポリマー処理した PE 分析方法として、XPS 分析、FT-IR 分析、水による静的接触角の測定、蛍光物質ローダミン 6G を用いた染色による顕微鏡観察、TEM 観察を検討した。いずれの方法においても、PE に処理された MPC、もしくは、MPC ポリマー処理された PE の特性を把握するのに有用であると考えられた。また、至適処理条件検討の結果、光照射時間（重合時間）の制御により表面にグラフト化される MPC ポリマーの密度が制御できた。重合時間 90 分において、理論的な MPC ポリマーにより、高密度な状態で覆われた CLPE の調製ができた。これにより、将来的に長寿命型人工股関節として実用化することが期待できる。

A. 研究目的

人工関節手術は、外傷や疾患で喪失した関節の機能を再建する優れた治療法であり、我が国で年間約 13 万件の手術が行われている。しかし、手術後に生じるインプラントの弛みは最大の合併症であり、これを防止し耐用年限（寿命）を延長することは、重要かつ緊急の課題である。弛みは、関節面を構成するポリエチレンの摩耗粉をマクロファージ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。したがって摩耗の抑制あるいは

骨吸収の抑制のいずれかを目指した研究が行われてきた。近年では、1998 年より 50～105 kGy のガンマ線や電子線による高エネルギー線照射による架橋ポリエチレン（CLPE）が人工関節システムに投入され、広く臨床使用されている。しかしながら、摩耗の抑制あるいは骨吸収の抑制を同時に達成する、決定的な解決策は得られていない。

我々は関節面の耐摩耗性と生体適合性を同時に達成できれば弛みを阻止できると考え、生体の関節軟骨表面

で数十年にわたり潤滑性の改善に寄与している、ナノオーダーのリン脂質層に着目した。人工関節の関節摺動面表面を生体適合性の高いリン脂質で覆うことができれば、生体軟骨表面と同様の構造を構築できると考え、分担研究者の石原らが開発した生体適合性リン脂質ポリマー・MPC (2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) をナノオーダーでグラフトした PE 表面を開発した。この処理は、表層のみの処理であり基材となる PE の性質に影響を与えない。また、MPC は生体細胞膜と同様の構造を有するため生体内で異物として認識されず、優れた生体適合性を発揮する。この特性をいかし、複数の医用材料として既に実用化されており、生体内での安全性は確立されている。これまでの基礎研究で、1) MPC ポリマーによる人工関節のナノ表面処理は短期間の摩耗試験では PE の摩耗量を著減させること、2) MPC 微小粉が骨吸収を誘導しないこと、を明らかにしてきた。

本研究においては、人工股関節における生体工学的な研究を完成させることを目的とし、MPC の同定方法および至適処理条件の確立について検討した。

B. 研究方法

1. MPC の分析方法の検討

MPC ポリマー処理した CLPE 分析方法として、X 線光電子分光 (XPS) 分析、フーリエ変換赤外分光 (FT-IR) 分析、水による静的接触角の測定、蛍光物質ローダミン 6G を用いた染色による顕微鏡観察、透過電子顕微鏡 (TEM) を用いる手法を検討した。

① XPS 分析

MPC ポリマー処理前後の CLPE 試験体の表面元素状態について、XPS 分析を行った。XPS 分析には、KRATOS ANALYTICAL 社製 XPS 分析装置 AXIS-HSi165 型を用い、X 線源は Mg-K α 線、印加電圧を 15kV、光電子の放出角度を 90° とした。

② FT-IR 分析

MPC ポリマー処理前後の CLPE 試験体の官能基振動について、FT-IR 分析を行った。FT-IR 分析には、パーキンエルマー社製 FT-IR 分析装置 1650 型を用い、ATR 法により行った。分解能 4 cm^{-1} 、積算回数 100 回とした。得られたスペクトルから MPC ポリマーに含まれるリン酸基を定量することで、CLPE 試験体表面に結合している MPC ユニット量を相対的に評価した。その相対量をリン酸指数として定義し、以下の式により算出した。

$$\text{リン酸指数} = \frac{1080\text{cm}^{-1} \text{ピーク強度}}{1460\text{cm}^{-1} \text{ピーク強度}}$$

③ 水による静的接触角の測定

試験体表面の静的なぬれ性 (静的表面接触角) について、協和界面科学社製表面接触角測定装置 DM300 を用い、液滴法により評価した。静的表面接触角は ISO 15989 規格に準拠し、液滴量 1 μL の純水を液滴後、60 秒時点において測定した。

④ 蛍光物質ローダミン 6G を用いた染色による顕微鏡観察

200 ppm に調製したローダミン 6G 水溶液を染色に用いた。蛍光発光イメージングには、カールツァイス社製蛍光顕微鏡モデル Axioskop 2 plus が使

用された。レンズ倍率は、5倍で、サンプルによって、適切な感光時間にて撮影した。

⑤ TEM 観察

MPC ポリマー処理前後の CLPE 試験体表面の MPC ポリマーグラフト層について、TEM を用いて断面観察した。観察前、試験体をエポキシ樹脂に包埋し、四塩化ルテニウム染色後超薄切片を切り出した。TEM 観察には、日本電子製 JEM-1010 型を用い、加速電圧 100 kV とした。

2. MPC ポリマー処理の至適処理条件の検討

関節表面の MPC ポリマー処理について処理時間をかえ、上記の同定方法を用いて、至適な処理条件について検討した。

コンプレッションモールド成型 UHMWPE (GUR1020 resin, Poly-Hi, US) 材に、不活性雰囲気にて 50 kGy のガンマ線を照射した。照射後、120℃の熱処理を行ない、CLPE を得た。徐冷後、機械加工により CLPE 試験体を作製した。得られた試験体に対し、MPC グラフト処理を行った。CLPE 試験体を 10 g/L に調製したベンゾフェノン含有アセトン溶液に 30 秒間浸漬した後、速やかに引き上げた。室温にて試験体表面のアセトン溶媒を除去した。完全に脱気した純水を用いて、MPC 水溶液 (0.5 mol/L) を調製した。ベンゾフェノンを表面にコーティングした CLPE 試験体を、MPC 水溶液に浸漬し、5 mW/cm² の紫外線 (中心波長 350 nm) を 10~360 分間照射することでグラフト重合を行った。照射中、MPC 水溶液を 60℃になるよう調整した。重合後、CLPE 試験体を超純水およびエタノー

ルにて十分に洗浄し、MPC ポリマー処理 CLPE 試験体を得た。

得られた MPC ポリマー処理 CLPE 試験体について、XPS 分析、FT-IR 分析、水による静的接触角の測定、TEM 観察を行った。

C. 研究結果

1. MPC ポリマー処理の同定方法の検討

① XPS 分析

図 1 に、CLPE および MPC ポリマー処理 CLPE の XPS スペクトル (C_{1s} 、 O_{1s} 、 N_{1s} 、 P_{2p}) を示す。 C_{1s} スペクトルにおいて、CLPE、MPC ポリマー処理 CLPE ともに、C-C、C-H に帰属されるピーク (285 eV) が観察された。 O_{1s} スペクトルにおいて、MPC ポリマー処理 CLPE には C-O に帰属されるピーク (532 eV) が観察された。CLPE においても、CLPE 表面の酸化もしくはコンタミネーションに由来する弱いピークが認められた。 N_{1s} スペクトルおよび P_{2p} スペクトルにおいて、MPC ポリマー処理 CLPE にのみ、各々、 $-N^+(CH_3)_3$ に帰属されるピーク (403 eV)、リン酸基に帰属されるピーク (134 eV) が認められた。

