

曝露群ではこれらの誘導がみられず、コントロール群と有意な差はみられなかった。未処理微粒子曝露群における破骨細胞形成・活性化は、TNF- α 、IL-1、IL-6それぞれの抗体、cyclooxygenase-2阻害剤、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MPC処理による抑制効果と有意な差がみられなかった。

次に*in vivo*マウス骨吸収モデルにおいて、微粒子をマウス頭蓋骨上に移植して7日後に頭蓋骨を採取し、標本を作製して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。顕微鏡におい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多数形成され骨吸収が強力に誘導されたが、MPC処理微粒子を曝露した群ではこれらが誘導されなかった(図5)。

以上の*in vitro/in vivo*マウス骨吸収モデルを用いた検討により、MPCポリマーは生体細胞膜類似構造を構築し異物としての認識を受けないため、MPCの微小粉はM Φ 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。

おわりに

これらの研究成果により、人工股関節摺動面の2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)ポリマーによるナノ表面処理は、弛みの主因となる超高分子量ポリエチレン(ultra high molecular weight polyethylene ; PE)摩耗粉の産生を著減させること、仮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が同時に解決できることが示された。また、MPCポリマー処理した医用材料がすでに国内外で認可を受け臨床応用されていること、MPCポリマー処理がナノオーダーの処理で表層以外のPEの性質に影響を与えないことも利点と考えている。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股関節の開発につながり、従来手術の適応になりにく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。これまでの人工股

関節は、生体の股関節構造により近づけることで可動域などの性質の向上をはかってきたが、その表面構造を生体に近づける試み、つまり人工股関節の関節摺動面に生体軟骨表面に類似した構造を付加する試みは行われてこなかった。こうした画期的な試みとして、現在臨床試験の準備を進めている。

また、今回の研究開発は、体重の数倍という厳しい荷重を受け、臨床上もっと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。

文 献

- 1) Charnley J. The long-term results of low-friction arthroplasty of the hip performed as a primary intervention. *J Bone Joint Surg Br* 1972 ; 54 : 61.
- 2) 茂呂 徹, 高取吉雄. 生体材料. In : 中村耕三・監. 整形外科クルズス. 第4版. 東京: 南江堂 ; 2003. p. 82.
- 3) Jacobs JJ, Roebuck KA, Archibeck M, et al. Osteolysis : basic science. *Clin Orthop* 2001 ; 393 : 71.
- 4) McKellop H, Shen FW, DiMaio W, et al. Wear of gamma-crosslinked polyethylene acetabular cups against roughened femoral balls. *Clin Orthop* 1999 ; 369 : 73.
- 5) Black J. Metal on metal bearings. A practical alternative to metal on polyethylene total joints? *Clin Orthop* 1996 ; 329 : 244.
- 6) Callaway GH, Flynn W, Ranawat CS, et al. Fracture of the femoral head after ceramic-on-polyethylene total hip arthroplasty. *J Arthroplasty* 1995 ; 10 : 855.
- 7) Childs LM, Paschalis EP, Xing L, 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* 2002 ; 17 : 192.
- 8) Goater JJ, O'Keefe RJ, Rosier RN, et al. Efficacy of *ex vivo* OPG gene therapy in preventing wear debris induced osteolysis. *J Orthop Res* 2002 ; 20 : 169.

- 9) Kirk TB, Wilson AS, Stachowiak GW. The morphology and composition of the superficial zone of mammalian articular cartilage. *J Orthop Rheumatol* 1993 ; 6 : 21.
- 10) 茂呂 徹, 高取吉雄, 石原一彦, ほか. 生体膜類似構造を持つMPCの人工関節への応用に関する検討 MPCポリマーはポリエチレンライナーの摩耗を低減する[会]. *日整会誌* 2002 ; 76 : 150.
- 11) Ishihara K, Ueda T, Nakabayashi N. Preparation of phospholipid polymers and their properties as polymer hydrogel membrane. *Polym J* 1990 ; 22 : 355.
- 12) Ishihara K, Nomura H, Mihara T, et al. Why do phospholipid polymers reduce protein adsorption? *J Biomed Mater Res* 1998 ; 39 : 323.
- 13) Ishihara K, Miyazaki H, Kurosaki T, 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* 1995 ; 29 : 181.
- 14) Kihara S, Yamazaki K, Litwak KN, et al. *In vivo* evaluation of a MPC polymer coated continuous flow left ventricular assist system. *Artif Organs* 2003 ; 27 : 188.
- 15) Lewis AL, Tolhurst LA, Stratford PW. Analysis of a phosphorylcholine-based polymer coating on a coronary stent pre- and post-implantation. *Biomaterials* 2002 ; 23 : 1697.
- 16) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, et al. Surface grafting of artificial joints with a biocompatible polymer for preventing periprosthetic osteolysis. *Nat Mater* 2004 ; 3 : 829.
- 17) Ishihara K, Iwasaki Y, Ebihara S, et al. Photoinduced graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on polyethylene membrane surface for obtaining blood cell adhesion resistance. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2000 ; 18 : 325.
- 18) 茂呂 徹. 人工関節 新素材採用で長寿命化に成功. *治療* 2005 ; 87 : 1642.
- 19) 茂呂 徹, 高取吉雄, 中村耕三, ほか. 新素材による人工股関節の開発. *整・災外* 2005 ; 48 : 245.
- 20) 茂呂 徹, 高取吉雄, 中村耕三, ほか. 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* 2005 ; 56 : 170.
- 21) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, et al. New biocompatible and wear-resistant articulating surface of artificial joints for preventing aseptic loosening[abstract]. *ORS* 2005 ; 51 : 406.
- 22) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, et al. Biocompatible polymer grafting inhibits loosening of artificial joint based on macrophage activation[abstract]. *AAOS* 2005 ; 72 : 318.
- 23) 茂呂 徹, 高取吉雄, 石原一彦, ほか. 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[会]. *日整会誌* 2004 ; 78 : 944.
- 24) Konno T, Kurita K, Iwasaki Y, et al. Preparation of nanoparticles composed with bioinspired 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymer. *Biomaterials* 2001 ; 22 : 1883.

* * *

総説

人工細胞膜表面構築による超機能人工関節の開発

石原一彦*, 茂呂 徹**, 金野智浩*

1. はじめに

生体組織の機能が低下したり、不全になったりした場合には、その機能を代替する医療デバイス、いわゆる人工臓器が適用される。完全な生体機能の修復が達成できない場合も多いが、中には成功して患者のQOLの改善の役割を十分に果たしている場合も少なくない。

人工股関節置換術は、変形性関節症、突発性大腿骨頭壊死、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、高齢社会を迎えた我が国においては、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はその長期予後を決する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我が国においてはその件数は今後増加し続けると予想される。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。この摩耗粉はマクロファージ (Mφ) に貪食される。このために、Mφが活性化しサイトカインやプロスタグランジンなどを分泌する。これらの生体活性物質は周囲の間葉系細胞に作用し、破骨細胞分化因子やNF-κB リガンド受容体活性化因子(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、人工股関節周囲の骨吸収に至る²⁾。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、ポリエチレンの

改質やポリエチレンを使わない人工関節の開発などが進められてきている。ポリエチレンを高温・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。γ線照射をすることでポリエチレンの非晶部分を架橋させた架橋ポリエチレンは、摩耗の抑制には有効であるものの、摩耗粉が骨吸収を誘導するという問題は全く解決されていない。金属/金属の摺動面を持つ人工関節は金属イオンの毒性の問題が指摘されており、セラミックスの人工関節は少数ではあるが体内での破損例も報告されている。また、骨吸収を抑制する試みとしては、抗サイトカイン抗体などを用いた薬物治療や遺伝子治療が研究されているが、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。以上のように、弛みの抑制のため、数多くの研究開発が行われてきたが、摩耗と骨吸収のどちら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いない。したがって、その双方の抑制を同時にかなえることができる人工股関節の開発研究が強く求められている。

筆者らは、人工股関節摺動面の潤滑性を改善し、かつ摩耗粉による細胞系の活性化を抑制すれば弛みを阻止できると考えた。生体の関節軟骨表面にはナノスケールのリン脂質の層が存在し、表面潤滑の改善の役割を果たしている³⁾。そこで、リン脂質極性基を側鎖に担持した2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン (MPC: 図1)を創製し、これのポリマーを利用して人工細胞膜表面を関節摺動面に作成することによる表面機能化を目指した⁴⁾。

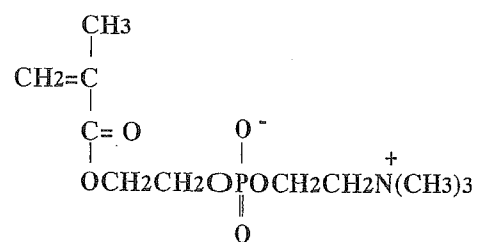


図1 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン (MPC)の化学構造。

平成17年5月20日受付

* 東京大学大学院工学系研究科材料工学専攻: 東京都文京区本郷 7-3-1

The University of Tokyo, School of Engineering, Department of Materials Engineering, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, Japan

** 東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター: 東京都文京区本郷 7-3-1

The University of Tokyo, School of Medicine, Center for Disease Biology and Integrative Medicine, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan

2. 人工細胞膜表面の機能

金属, セラミックスのようないわゆる硬い材料は, 人工関節など運動系人工臓器や人工歯根, 人工骨あるいは欠損部を補填する補綴材として歯科, 整形外科治療に利用されてきた。これらは強度や加工性が主たる選択の理由となってきたが, 最近では循環器系人工臓器として金属が利用されるようになり, 力学的特性以外にも表面における血液凝固反応の阻止や, 埋め込み部位によっては軟組織との適合性が強く求められている。これら生体環境において役割を果たすことができ, かつ生体に悪影響を与えない材料は医療デバイスを開発する際に不可欠である⁷⁾。

生体適合性表面として理想的で, 模範となるものは血管内皮細胞表面と考えられる。正常な血管内表面では, 細胞はもとよりタンパク質の吸着, 活性化は生じしない。一方, 材料が血液と接触すると血液凝固反応や免疫反応など生命防御のために生体反応が引き起こされる。そこで細胞膜表面の構造あるいは性質をうまく材料に組み込めばこの生体反応の制御が可能と考えるのは至極当然である。細胞膜表面はリン脂質分子の二分子膜中にタンパク質がモザイクのようにはめ込まれ, また表面から外側に向かって親水性の多糖が出ている(図2)。細胞膜での生体反応のほとんどはタンパク質が関与し, その構造変化や分布状態の変化により外部からの信号が細胞内に伝達される。多糖も外部の信号を受容するアンテナ分子として働いている。これらに対して, リン脂質分子は機能分子であるタンパク質を一定の空間位置に配置する役割, すなわちマトリックスとして働いているにすぎない。リン脂質分子の極性基が細胞内外で大きく異なっていることが知られている。他の分子や組織と接触する機会が多い細胞外側では中性の極性基であるホスホリルコリン(PC)基を持つリン脂質(ホスファチジルコリン, スフィンゴミエリン)が多い。一方, 細胞膜内面に存在する

リン脂質はホスファチジルエタノールアミンやホスファチジルセリンで, いずれも酸性脂質である。すなわち, 細胞膜の外表面は中性のリン脂質分子を配列させて, 明らかに生体反応の不活性な場を作り出している。

細胞膜構造を材料表面に構築することは分子の高度な配向, 組織化を実現することである。そこで“人工細胞膜バイオインターフェイス”といえるリン脂質分子を集積化した材料表面を提案する。すなわち, 21世紀の高度先端医療を支える高機能医療デバイスを開発するために不可欠な表面のポリマーナノ処理を考えたい。

著者らはいち早く人工細胞膜構造の優れた血液適合性に着目し, バイオマテリアルとしての適用について研究してきた^{5,6)}。まず効果的に医療デバイスの表面処理ができるようにPC基を有するMPCの大量合成法を開発し, 材料特性を高めることを考慮しながら分子構造やシーケンスを変化させて様々なMPCポリマーを合成した。さらにMPCポリマーが, 抗凝固剤を添加していない血液と接触しても血栓形成が効果的に抑制され, 予想通り極めて優れた血液適合性を示すことを報告してきた。

なぜ人工細胞膜構造表面では優れた血液適合性を発現するのであろうか? また最近の結果では表面へのタンパク質吸着量が処理前後で1/1000程度になることも見いだしているが⁷⁾, このタンパク質吸着を阻止する性質は何に起因するのであろうか? MPCポリマーの場合, MPCユニットの増加に伴い含水率が増加するが, その水中の自由水分率は他のポリマーに比較して高いことが明らかとなった。この結果をタンパク質吸着量と相関させて考えてみると, 自由水分率の増加に伴い明らかにタンパク質吸着量が低下する傾向となった⁸⁾。特に, 80%以上が自由水で占められているMPCポリマー上ではタンパク質吸着量が単分子吸着層形成までも至っていないことが認められた。

これまでMPCポリマーのように親水性にもかかわらず自由水分率の高いポリマーは全く知られておらず, MPCポリマーの特異性が示された。MPCポリマーの表面電位は -0.4mV と, 電気的にも中性である。細胞膜表面でも生体反応の選択性の向上にホスファチジルコリンが重要な役割を果たしているが, おそらく表面近傍の水の構造と深く関わっていると考えられる。この特異的な水の構造を持つMPCポリマーが, 関節摺動面においても極めて特徴的な振る舞いを起こす。

3. 人工関節への人工細胞膜構造の適用

筆者らは人工股関節の弛みの抑制のため, ポリエチレンライナー表面へMPCポリマーをグラフト重合させる手法

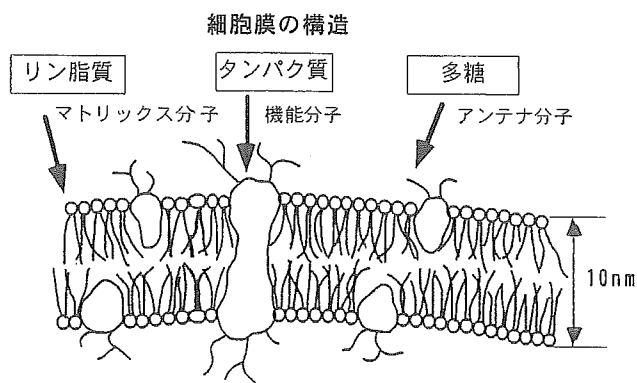


図2 細胞膜を構成する分子群

を創案した (MPC ポリマー処理). この処理は, 紫外線を用いて, MPC ポリマー鎖とポリエチレンの炭素原子同士に安定な共有結合をさせるもので, 表層のみの処理であり, 基材であるポリエチレン自体には影響を及ぼさない⁹⁾.

具体的には, 光増感剤であるベンゾフェノンを用いて, MPCモノマー溶液に浸漬した. これに 350nm 程度の紫外光を照射することにより, ベンゾフェノンを活性化し, 水素引き抜き反応を誘起させた. これによりポリエチレン表面にラジカルが生じ, これを開始点として MPC の重合が進行する. 結果として, MPC ポリマー鎖がグラフトされる. 電界放射型透過電子顕微鏡 (FE-TEM) による表面観察で, その処理厚みが約 100-200 nm と, ナノスケールであることが明らかになっている (図 3).

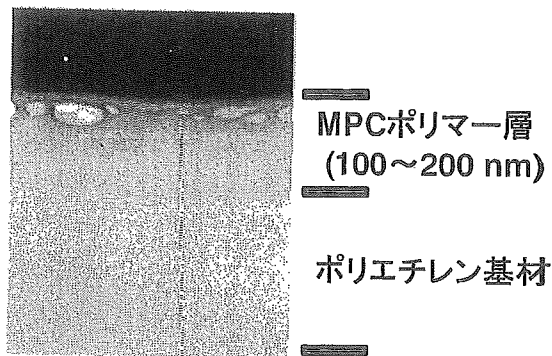


図 3 MPC ポリマーをグラフトしたポリエチレンライナーの表面 (FE-TEM による断面像)

筆者らは人工股関節のポリエチレンライナー表面の 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, 人工股関節の寿命を飛躍的に延長し得る知見を得た¹⁰⁾.

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. ライナーは架橋ポリエチレン表面を MPC ポリマー処理したもの (MPC ポリマー処理架橋ポリエチレン) を用い, ポリエチレンおよび未処理の架橋ポリエチレンと比較した.

ポリエチレン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. このため, 関節摺動面の摩擦トルクを測定すると, MPC ポリマー処理

架橋ポリエチレンのトルクは未処理群の約 1/10 と改善していた. 経時的にライナーの重量変化を計測すると, MPC ポリマー処理架橋ポリエチレンの摩耗量はポリエチレンの 1/40, 架橋ポリエチレンの 1/4 であった (図 4). 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 ポリマー処理架橋ポリエチレンでは残存しており, 摩耗が著明に抑制されていた. また, ライナー表面を微小粗さ測定した三次元解析でも, 未処理群では顕著な摩耗が観察できたのに対し, MPC ポリマー処理架橋ポリエチレンはほとんど摩耗していなかった (図 5). 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 (XPS), FE-TEM により検討した. 試験終了後の MPC ポリマー処理架橋ポリエチレンライナー表面を 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

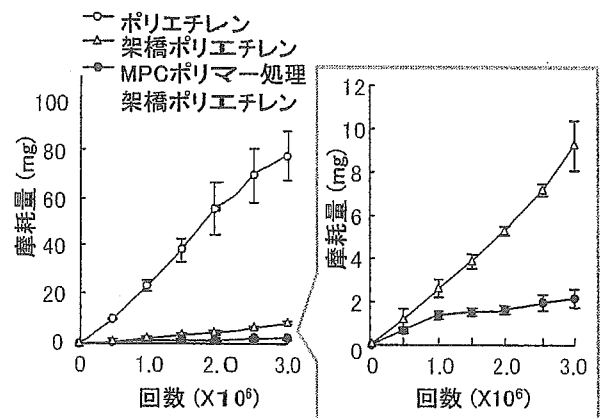


図 4 シミュレーターによる摩耗試験結果 (右図は拡大して表示)

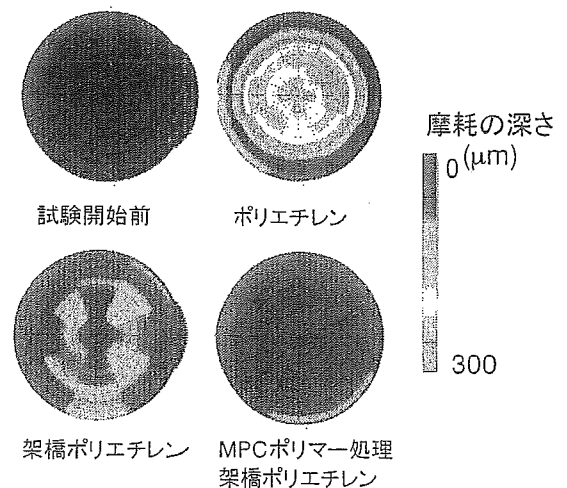


図 5 表面荒さ測定による三次元解析結果

有のリン及び窒素原子のスペクトルが観察できた。また、試験終了後の MPC ポリマー処理架橋ポリエチレンライナーを 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 ポリマー処理が、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考えている。

4. 生体への適合性について

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 ポリマー処理架橋ポリエチレン、未処理架橋ポリエチレンとも、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 500 nm の MPC ポリマー微粒子を作製し、MPC ポリマー微小摩耗粉が骨吸収に与える影響を間接的に検討した。

まず、微粒子を蛍光物質で標識し、マウス腹腔内 Mφ 培養系に暴露して貪食実験を行った。この結果、未処理の微粒子は Mφ に大量に貪食されたが、MPC ポリマー微粒子は 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 ポリマー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、以下の実験に用いた。まず培養上清中の骨吸収を誘導するサイトカイン濃度 (TNF- α , IL-1, IL-6, PGE₂) 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 ポリマー微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 (図 6)。つぎに培養上清をマウス骨芽細胞培養系に添加して RANKL の mRNA の発現を検討した。その結果、未処理微粒子暴露群では RANKL の発現を強力に誘導したが、MPC ポリマー微粒子暴露群では誘導されなかった。さらに培養上清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た。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 ポリマー微粒子ではコントロール群と有意な差がみられなかった。

生体内での反応を追跡するために、マウス頭蓋骨上に MPC ポリマー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

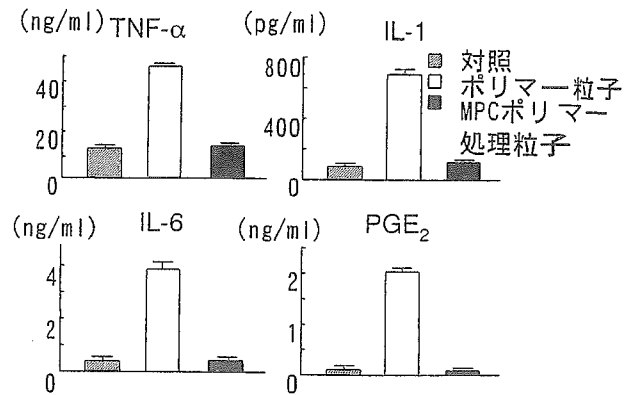


図 6 骨芽細胞に対するポリマー微粒子 (摩耗粉) の影響

酸性ホスファターゼ (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 ポリマー微粒子を暴露した群ではこれらが誘導されなかった (図 7)。

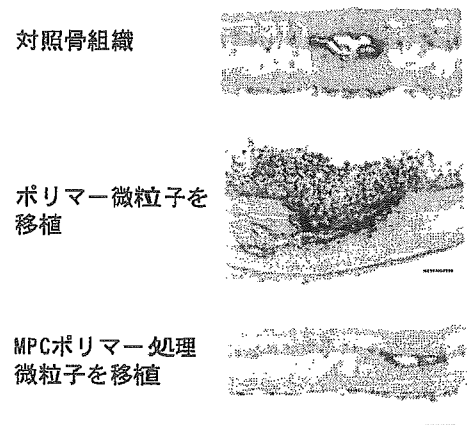


図 7 ポリマー微粒子 (摩耗粉) が骨組織に与える影響

以上の生体内外での実験結果より、MPC ポリマー微粒子は 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。このことはポリエチレンの摩耗粉が生じて、まったく生体系には影響しないことを示しており、破骨細胞の誘起による人工関節のゆるみを原因より効果的に阻止していることを示す。

5. おわりに

人工股関節摺動面の MPC ポリマー処理は、弛みの主因となるポリエチレン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 2,000 万サイクル以上の歩行負荷（通常の生活にして約 25 年分）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ている。これは金属とポリマーを摺動すると、必ずポリマーが摩耗するというこれまでの固定概念を根本から覆す結果であり、界面に自由水含率の高いポリマー層をナノスケールで形成させると高い潤滑効果が維持でき、結果としてポリマー側の摩耗が抑制されるという材料科学的にも興味深い発見である。

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、カテーテルなどはすでに欧米で認可され、ポリマーとしての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画期的な新技術である。現在、医工連携の下、臨床試験の準備を進めている。

MPC モノマー、ポリマーを世に出すためには多くの障壁があったが、一方で幸運であったとも言える。特に製品とする上で、安全性を重視した施設で工業的規模の合成をすることが不可欠である。工業所有権は科学技術振興機構に委託して権利化し、これを国内化学メーカーにライセンスした。1997 年に工業プラントが稼働し、年間トンのオーダーでモノマー、ポリマーが得られるようになった。研究室で白色結晶ができて 10 年目であった。

MPC ポリマーで表面処理した医療デバイス、ソフトコンタクトレンズなどは国外においてすでに臨床応用されている。国内では手続きの問題があり、医療用途ではほとんど認可されていないが、一方、化粧品原料、コンタクトレンズ保存液、臨床検査試薬などでは多くの製品がでてい

に適合する人工細胞膜表面を作り出しているといえよう。

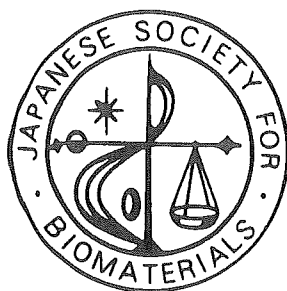
筆者らはリン脂質ポリマーを利用して人工細胞膜表面の適用領域をさらに拡大するとともに、今後のバイオテクノロジーの発展により貢献したいとの願望を持っている。人工細胞膜構造の有効性と機能性を材料表面に実装できる、普遍的な表面処理技術として適用できるように、“PC サーフェイステクノロジー”を提案した。まず、細胞やバイオ分子の非特異的吸着抑制表面を創製し、これに選択的にバイオ分子・細胞と反応する部位を導入することにより、あたかも細胞膜表面の機能を構築するというものである。PC 基が高度に配列した表面は、バイオ工学を想定したとき極めて大きな可能性に富んでいる。バイオ分子や細胞との界面での反応を制御することだけでも、今後、バイオチップ、バイオセンサー、バイオリクターなどを微小化するためには不可欠な技術であろう¹⁰⁾。また再生医療、組織工学など細胞、組織を対象とする場合にも重要であることはいまでもない。

参考文献

- 1) 石原一彦, 畑中研一, 大矢裕一, 山岡哲二: バイオマテリアルサイエンス, 東京化学同人 (2003).
- 2) J.J. Jacobs, *et al.*, *Clin Orthop* **393**, 71 (2001).
- 3) T.B. Kirk, *et al.*, *J Orthop Rheumatol* **6**, 21 (1993).
- 4) T.Moro, T.Konno, K.Ishihara, *et al.*, *Nature Mater.*, **3**, 829 (2004).
- 5) K.Ishihara, *et al.*, *J.Biomed.Mater.Res.*, **24**, 1069 (1990).
- 6) K.Ishihara, *et al.*, *J.Biomed.Mater.Res.*, **25**, 1397 (1991).
- 7) W.Feng, K.Ishihara, *et al.*, *Langmuir*, **21**, 5980 (2005).
- 8) K.Ishihara, *et al.*, *J.Biomed.mater.Res.*, **39**, 323 (1998).
- 9) K.Ishihara, *et al.*, *Colloid and Surfaces B: Biointerfaces*, **18**, 325 (2000).
- 10) 高井まどか: BIO INDUSTRY, **20**(12), 44 (2003).

バイオマテリアル -生体材料-

Journal of Japanese Society for Biomaterials



Vol.23
2005. JULY No.

4

Offprint

Title

Name

Department

Institution

Address

Postal Code

City

Country

Phone

Fax

JJSIB

日本バイオマテリアル学会

**Journal of Japanese Society
for Biomaterials**

高潤滑人工関節インターフェイス



茂 呂 徹*

JJSB

Highly wear-resistant interface prevents aseptic loosening of the artificial joint

人工股関節周囲の骨吸収と弛みは人工股関節手術の深刻な合併症であり、その主因は関節面から生じるポリエチレンの摩耗粉である。筆者らは、生体の関節軟骨表面の構造に着目し、生体適合性リン脂質ポリマー：MPCポリマーでナノ表面処理した高潤滑人工関節インターフェイスを創製した。耐摩耗性評価のため股関節シミュレーター試験を行った結果、摩耗量は著明に抑制され、その効果は試験終了時も持続していた。すでに報告したり、MPC摩耗粉は骨吸収を誘導しないという研究成果と併せると、人工股関節の寿命を延長する新技術として実用化が期待できる。

Toru Moro*

Key words : aseptic loosening, artificial joint, osteolysis, wear, biocompatible polymer

生体内には数多くの関節が存在し、生体の運動のほとんどは関節を介して行われる。関節は、変形性関節症、関節リウマチ、骨壊死などの疾患や、骨折などの外傷により、その性質、形状に変化をきたす(図1)。これらが進行すると疼痛や運動制限の原因となり、関節の機能が喪失する。人工股関節手術は機能を喪失した股関節を人工関節に置き換え、股関節機能の再建と除痛を図るすぐれた治療法であり、人工股関節は、人工膝関節と並んで代表的な人工関節である。

生体の股関節は、骨盤の寛骨臼という受け皿(くぼみ)に大腿骨の骨頭という球状の構造が嵌り込むように出来ているが(図1)、人工股関節の形状はこれらの構造を模してデザインされている。つまり、骨盤側には受け皿となる寛骨臼コンポーネントを固定し、大腿骨側には、先端に骨頭部分を持つ大腿骨コンポーネントを固定するのである。関節運動は、寛

骨臼コンポーネントの内面と骨頭との間で摺動することによって起きる(図2)。

人工股関節手術は1890年代より行われていたとされているが、1961年にJohn Charnleyが¹⁾発表した、寛骨臼側の関節摺動面が超高分子量ポリエチレン(ultra high molecular weight polyethylene: PE)製ライナーからなるlow friction arthroplastyが、現在の人工股関節の原型とされている²⁾。以後、手術手技、デザインや材質などさまざまな改良が行われてきたが、人工股関節手術は実用化から40年以上が経過し、重症の股関節症に悩む患者の疼痛を寛解し、よりよいADL(activities of daily living)、QOLの獲得に大きな役割を果たしている³⁾。特にわが国のような高齢化社会では有病者が増加し、年間7万件以上の手術が行われており、その件数は年率約8%の割合で増加している⁴⁾。

しかし、骨に固定された人工股関節の周囲に骨吸収が起き、固定性が失われる弛み(loosening)は、その長期予後(寿命)を決定する最大かつ深刻な合併症である⁵⁾。ひとたび固定性を失った人工股関節は加速的に周囲の骨を吸収し、疼痛や歩行障害、関節の可動域制限の原因となり、患者のQOLを著しく低下させる。このため、入れ換え(再置換手術)が必要となるが、この手術はたんなる人工股関節の交換で

* Center for Disease Biology and Integrative Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo 東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター

[略歴] 1992年 東京大学医学部整形外科教室入室。1998年 東京大学医学部附属病院整形外科助手。2004年 東京大学大学院医学系研究科外科学専攻修了(医学博士)。同年 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特任教員、現在に至る。日本整形外科学会専門医、日本整形外科学会認定リウマチ医、日本整形外科学会スポーツ医、日本整形外科学会脊椎脊髄医、日本医師会健康スポーツ医。専門：整形外科学、生体材料科学、分子生物学。趣味：野球、読書

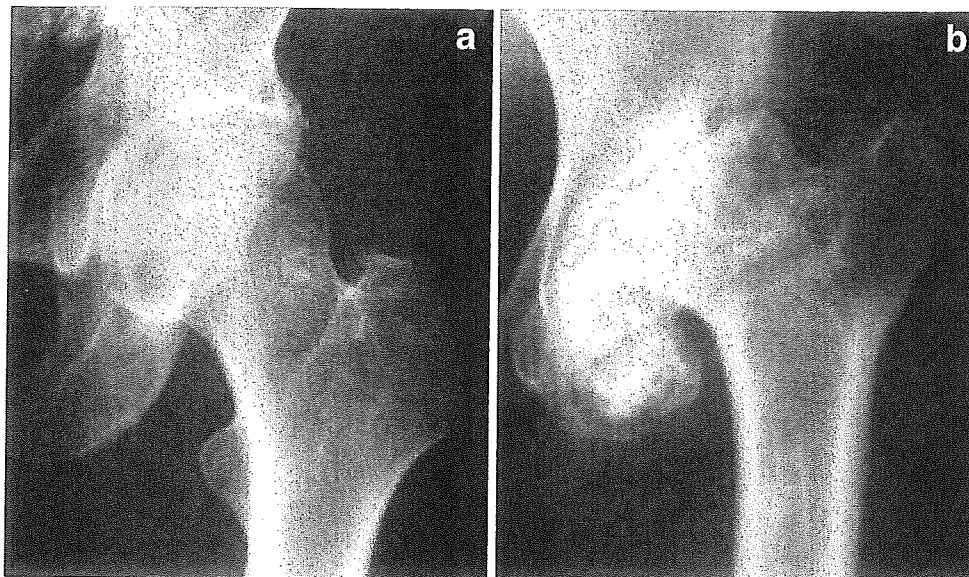


図1
左股関節の正面X線像
a: 正常股関節
骨盤の寛骨臼という受け皿(くぼみ)に大腿骨骨頭という球状の構造が嵌り込む。
b: 変形をきたした股関節
関節の隙間(関節裂隙)が消失し、骨頭も著しく変形している。

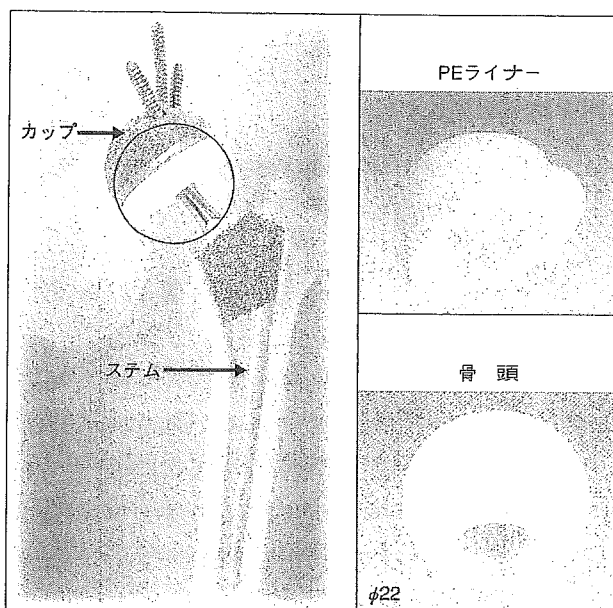


図2 代表的な人工股関節の構造
寛骨臼コンポーネントは金属製のカップを骨盤に固定し、その関節面側にはPE製のライナーを固定する。大腿骨コンポーネントは、大腿骨の側には金属製のステムを固定し、金属あるいはセラミックス製の骨頭をその先端に固定する。関節運動はPEライナーと骨頭との間で摺動することによって起きる。

はなく、新規の人工股関節を再度固定するため吸収された骨を補填する必要があるなど難度が高く^{6,7)}、長期の入院を要する(図3)。一方、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、人工股関節を受けた患者は再置換手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つづけることが予想される。また、特にわが国においては、将来の再置換手術回数をなるべく減らすため、基本的に人工股関節手術の適応が中高年以降となることが多く、若年者には骨切り術などの別の手術方法が選択されることが多いが、実際の臨床場においては人工股関節手術以外では治療しえない末期の股関節症の若年患者も少なくなく、治療に難渋することも多い⁸⁾。したがって、人工股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。

当初、弛みの主因は、人工股関節を固定する poly (methyl methacrylate) (PMMA) 骨セメントであると考えられ、弛みは“cement disease”とよばれていた。このため、骨セメントを用いないセメントレス固定の人工股関節も開発された。しかし、このセメントレス固定の人工股関節でも同様の弛みがみられたことから、関節摺動面を構成する PE の摩耗粉が主因となる“particle disease”であることが諸家によって明らかにされた(図4)⁹⁾。この摩耗粉はマクロファージ (MΦ) に貪食され、MΦは tumor necrosis factor- α (TNF- α)、interleukin-1 (IL-1)、IL-6などのサイトカインや、プロスタグランジン E₂ (PGE₂) 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- κ B ligand (RANKL) の発現を誘導する。その結果、破骨

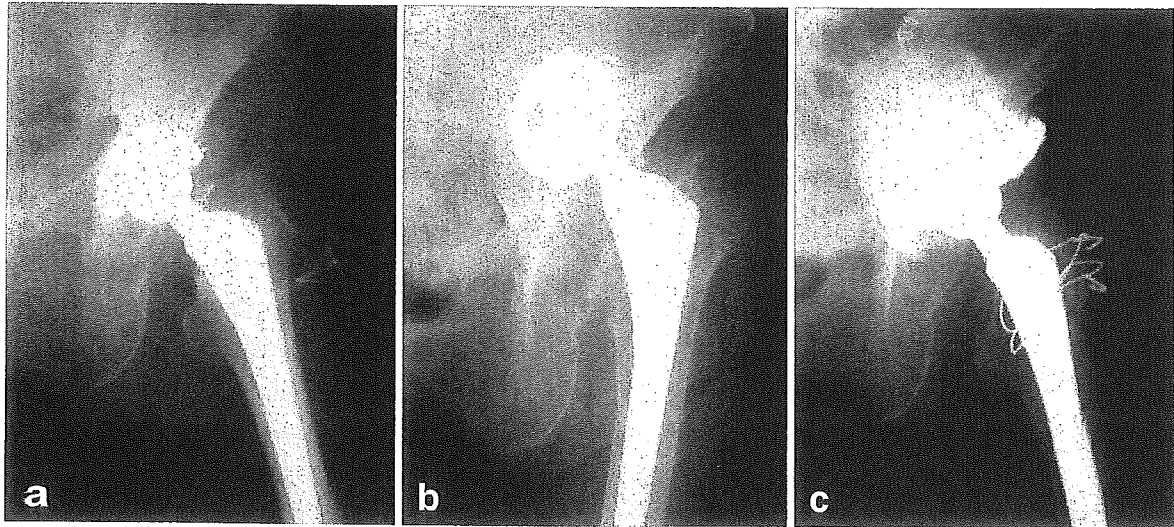


図3 人工股関節の弛みと再置換手術

a:手術直後. b:手術後8年. c:再置換手術後

手術後8年で人工股関節の周囲に広範な骨吸収を生じた。人工股関節全体が上方に移動し、特にカップは骨盤の壁を穿通し、骨盤腔内に移動しており、完全に脱臼している。激しい疼痛で歩行不能となり、再置換手術を行った。再置換手術においてはサポートリングを用いて骨盤壁を再建後、自家骨で骨吸収部を充填し、人工股関節を再固定した。

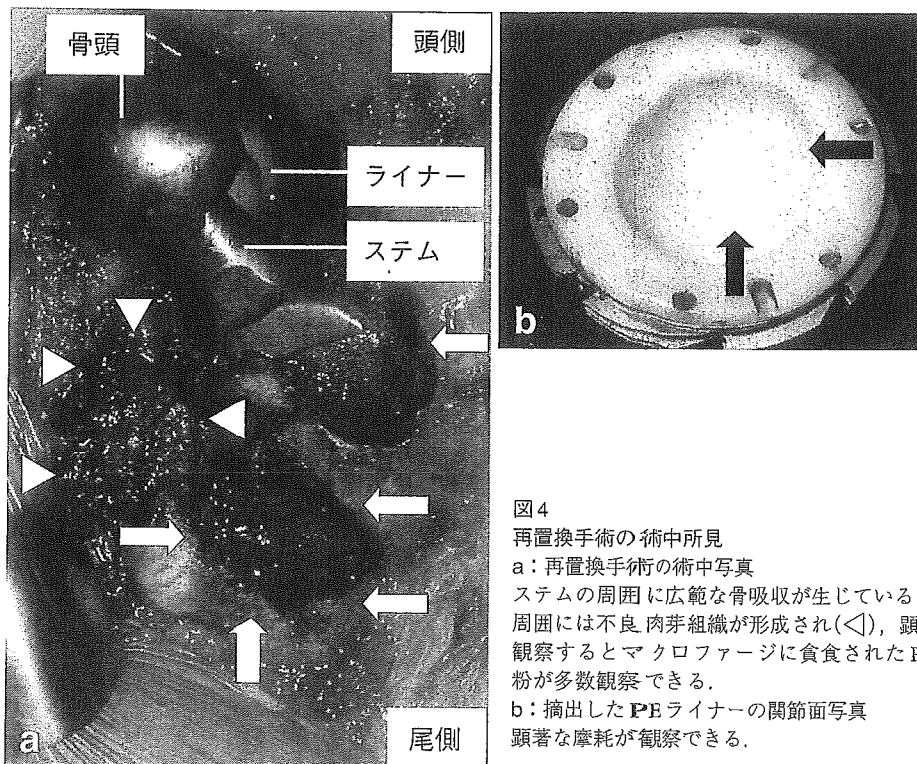


図4

再置換手術の術中所見

a:再置換手術の術中写真

ステムの周囲に広範な骨吸収が生じている(◁▷). 周囲には不良肉芽組織が形成され(◁|), 顕微鏡で観察するとマクロファージに貪食されたPE摩耗粉が多数観察できる.

b:摘出したPEライナーの関節面写真

顕著な摩耗が観察できる.

細胞の形成・活性が促進されて人工股関節周囲に骨吸収を生じ、弛みに至る⁵⁾.

したがって、現在までの弛み抑制のための研究開発は、PE摩耗粉を減少させること、あるいは、摩耗粉による骨吸収の誘導を抑制することの二つの方向

性で検討されてきた。

PE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¹⁰⁾。γ線照射をすることでPEの非晶部分の架橋(crosslink)を増加させた架橋ポリエチレン(crosslinked PE: CLPE)は、摩耗抑制に有効な技術として実用化されているものの¹¹⁾、摩耗粉が骨吸収を誘導するという問題は解決されていない。

金属対金属の関節面を持つ人工股関節も実用化されており、長期成績も報告されている。金属同士での摩擦では摩耗粉は少ないものの、CoやCrなどの金属イオンの溶出も報告されており、局所のみならず全身的な影響も指摘されている¹²⁾。金属骨頭の代わりにアルミナセラミックス骨頭を用いた人工股関節も摩耗を抑制する手法として実用化されているが¹³⁾、セラミックス特有の脆弱性の問題があり、少数ではあるが体内での破損例も報告されている¹⁴⁾。ジルコニアセラミックスは、骨頭に用いた場合アルミナに匹敵する摩耗特性を示し、かつアルミナの約2倍の力学的強度があるため、アルミナに代わる材料として実用化されたが、生体内で結晶構造が正方晶形から単斜晶形に経年的に変化し、力学的強度が劣化する可能性が指摘され¹⁵⁾、アルミナほど臨床では使用されていない。また、骨吸収を抑制する試みとしては、抗サイトカイン抗体などを用いた薬物治療や遺伝子治療が研究されているが、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^{16, 17)}。

以上のように、弛みの抑制のため、数多くの研究開発が行われてきたが、摩耗と骨吸収のどちら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叶えることができる人工股関節が求められている。筆者らは、人工股関節摺動面の潤滑性を高め、かつ摩耗粉による細胞系の活性化を抑制すれば弛みを阻止できると考えた。そこで、生体の関節軟骨の表面構造に着目した。

生体の関節軟骨の表面構造

生体の関節軟骨は、生涯にわたり荷重や運動の負荷を受けつづけるにもかかわらず、少なくとも数十年にわたり関節面を保護し、その潤滑機構を改善するなど、すぐれた表面構造を構築する。人工股関節

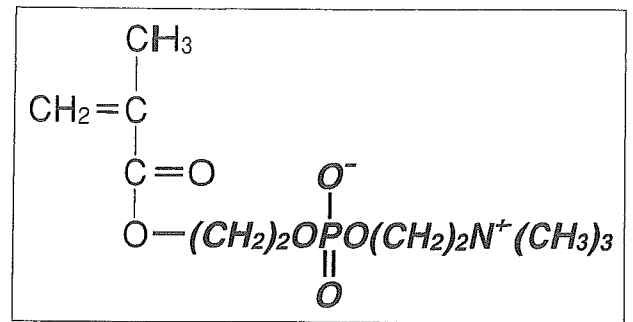


図5 MPCの構造

の構造は生体本来のものに近づくように設計されているにもかかわらず、関節面に関しては、PE、金属、セラミックスの組み合わせが用いられており、その表面構造を生体の関節軟骨表面に近づける試みは行われていない。そこで筆者らは、人工股関節の関節面に軟骨と同様の構造を構築できればすぐれた潤滑特性を獲得できると考えた。

関節軟骨表面にナノスケールのリン脂質の組織化層が存在し、この層が関節面の保護と潤滑機構の改善に寄与していることが報告されている^{18, 19)}。したがって、人工股関節の関節表面にナノスケールのリン脂質層を構築できれば、人工股関節の関節面を生体の軟骨に近づけることができる。一方、荷重という特殊な環境下で表面処理が早期に剥離したり、剥離した材料自体が骨吸収を誘導したり、あるいは表面処理により基材の性質を変化させたりすると、人工股関節の弛みの阻止を達成できない。

以上の事実により、生体適合性とリン脂質の構造を併せ持つポリマーにより関節摺動面にインターフェイスを創製すると、人工股関節の弛みの阻止に有効であると考えた。そこで、ポリマーバイオマテリアルとして利用されているリン脂質ポリマー、2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) ポリマーに着目し、このポリマー鎖のグラフトを検討した。

MPCポリマーによる高潤滑人工関節インターフェイスの創製

MPCポリマーは、筆者の共同研究者の石原らが合成・開発したバイオマテリアルである。石原らは細

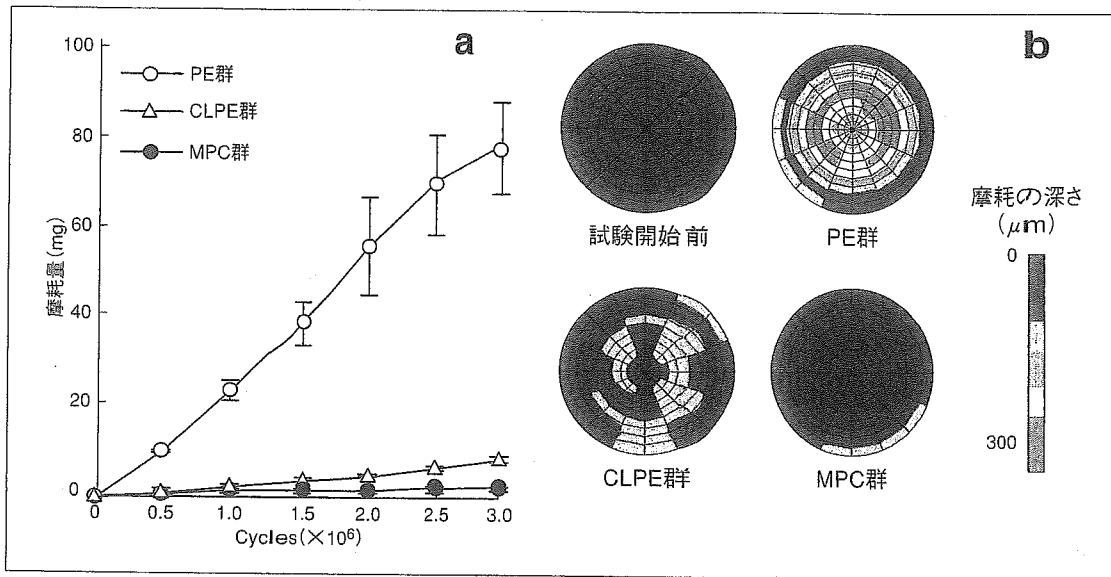


図6 股関節シミュレーター試験の結果 (Moro T et al., 2004¹⁾より一部改変)
 a: ライナーの摩耗量. MPC群の摩耗量はPE群の1/40, CLPE群の1/4と, 著明に抑制された.
 b: ライナーの三次元解析. PE群, CLPE群では顕著な摩耗が観察できたが, MPC群ではほとんど摩耗していなかった.

胞膜表面のリン脂質極性基が配列した構造に着目し, 側鎖にリン脂質極性基(ホスホリルコリン基)を有するメタクリル酸エステル, MPCを合成・開発した²⁰⁾. MPCポリマーで処理した表面は細胞膜類似構造を有するため, 生体内で異物として認識を受けず, すぐれた生体適合性を発揮するほか, 生体との相互作用も抑制される. すなわち, MPCポリマーにより蛋白質吸着や血栓形成の抑制が可能となる(図5)²¹⁾. また, MPCポリマーは親水性であり, ポリマー表面に水の薄膜層を形成できる. これらの特性を活かし, 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, 医療デバイスとしてすでに認可を受け, 国内外で臨床応用されるなどバイオマテリアルとしての生体内安全性は確立されている²²⁾.

筆者らは, 高潤滑人工関節インターフェイスを創製し, 人工関節の弛みを抑制するため, 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). 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, 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²³⁾. また, 電界放射型透過電子顕微鏡(FE-TEM)による表面観察で, その処理厚

みが約100~150nmとナノスケールであることが明らかになっている. 筆者らは, MPCポリマーによりナノ表面処理した高潤滑人工関節インターフェイスが弛みの阻止に与える影響を検討し, 人工関節の寿命を飛躍的に延長しうる知見を得た.

高潤滑人工関節インターフェイスの耐摩耗特性

生体の股関節は, その歩行周期のなかでさまざま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, 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, 手術後の患者の片足連続300万歩分(300万サイクル)の歩行負荷を掛け, 耐摩耗効果を検討した. 骨頭はコバルトクロム合金骨頭(径22mm)を用いた. ライナーにCLPE表面をMPCポリマー処理したもの(MPC群)を用い, 通常のPE(PE群)および未処理のCLPE(CLPE群)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, 関節摺動面の摩擦トルクを測定すると, MPC群のトルクはPE群, CLPE群の約1/10と改善していた. つぎに, ライナーの重

量を50万サイクルごとに計測し、その摩耗量を検討すると、MPC群の摩耗量はPE群の1/40、CLPE群の1/4と著明に改善していた(図6a)。さらに、試験終了後のライナー表面を三次元解析装置で解析すると、PE群、CLPE群では顕著な摩耗がみられたのに対し、MPC群ではほとんど摩耗していなかった(図6b)。また、走査電子顕微鏡(SEM)を用い、ライナー加工時に表面に形成される同心円状のマシンマークの有無を観察すると、PE群、CLPE群ではこのマークが消失しており顕著な摩耗がみられたのに対し、MPC群では残存しており、ほとんど摩耗していなかった。

ライナー表面のMPCポリマー残存の有無は、X線光電子分光分析装置(XPS)、FE-TEMにより検討した。試験終了後のMPC群のライナー表面をXPSで解析すると、試験前の解析結果と同様、表面にMPCユニット特有のリン(P)および窒素(N)原子のスペクトルが観察できた。また、試験終了後のMPC群のライナーをFE-TEMで解析しても、MPCポリマー処理層が確認できた。

おわりに

以上の研究成果により、MPCポリマーでナノ表面処理した高潤滑人工関節インターフェイスが人工股関節の弛みの主因となるPEの摩耗粉の産生を抑制すること、その処理効果は長期の歩行負荷を掛けても持続することが明らかになった。また、筆者らは、*in vitro/in vivo*のマウス骨吸収モデルを用い、MPCポリマーの微小摩耗粉が骨吸収を誘導しないことを明らかにしている¹⁾。今回の研究成果と考え併せると、この高潤滑人工関節インターフェイスは、人工股関節の弛みを阻止する画期的な新技術であると結論づけられた。この技術を基盤として、現在、国内メーカーが臨床応用に向けて検討を開始しており、近い将来、人工股関節再置換の時間延長、あるいはまったく不要となる時代がくることを期待している。

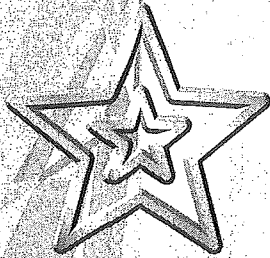
本稿で紹介した内容は、東京大学医学部整形外科・脊椎外科の中村耕三教授、高取吉雄助教授、川口浩助教授、東京大学大学院工学系研究科マテリア

ル工学専攻の石原一彦教授をはじめ、研究室の諸先生方との共同研究の成果です。この場を借りて感謝の意を表します。

文献

- 1) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, Konno T, Takigawa Y, Matsushita T, Chung UI, Nakamura K, Kawaguchi H : Surface grafting of artificial joints with a biocompatible polymer for preventing periprosthetic osteolysis. *Nature Mater* 2004, 3 : 829-836.
- 2) Charnley J : The long-term results of low-friction arthroplasty of the hip performed as a primary intervention. *J Bone Joint Surg Br* 1972, 54 : 61-76.
- 3) Visuri T, Turula KB, Pulkkinen P, Nevalainen J : Survivorship of hip prosthesis in primary arthrosis : influence of bilaterality and interoperative time in 45,000 hip prostheses from the Finnish endoprosthesis register. *Acta Orthop Scand* 2002, 73 : 287-290.
- 4) Merx H, Dreinhofer K, Schrader P, Sturmer T, Puhl W et al. : International variation in hip replacement rates. *Ann Rheum Dis* 2003, 62 : 222-226.
- 5) Jacobs JJ, Roebuck KA, Archibek M, Hallab NJ, Glant TT : Osteolysis : basic science. *Clin Orthop* 2001, 393 : 71-77.
- 6) Paprosky WG, Magnus RE : Principles of bone grafting in revision total hip arthroplasty. Acetabular technique. *Clin Orthop Relat Res* 1994, 298 : 147-155.
- 7) Harris WH : Management of the deficient acetabulum using cementless fixation without bone grafting. *Orthop Clin North Am* 1993, 24 : 663-665.
- 8) 茂呂 徹, 高取吉雄, 金井宏幸, 中村 茂, 森本修平, ニノ宮節夫 : 人工関節によらない末期変形性股関節症の治療。寛骨臼回転骨切り術。整形・災害外科 2001, 44 : 5 : 637-642.
- 9) Goodman SB, Chin RC, Chiou SS, Schurman DJ, Woolson ST, Masada IMP : A clinical-pathologic-biochemical study of the membrane surrounding loosened and nonloosened total hip arthroplasties. *Clin Orthop* 1989, 244 : 182-187.
- 10) Livingston BJ, Chmell MJ, Spector M, Poss R : Complications of total hip arthroplasty associated with the use of an acetabular component with a hylamer liner. *J Bone Joint Surg Am* 1997, 79 : 1529-1538.
- 11) McKellop H, Shen FW, DiMaio W, Lancaster JG : Wear of gamma-crosslinked polyethylene acetabular cups against roughened femoral balls. *Clin Orthop* 1999, 369 : 73-82.
- 12) Bullough PG : Metallosis. *J Bone Joint Surg Br* 1994, 76 : 687-688.
- 13) Zichner LP, Willert HG : Comparison of alumina-polyethylene and metal-polyethylene in clinical trials. *Clin Orthop Relat Res* 1992, 282 : 86-94.
- 14) Callaway GH, Flynn W, Ranawat CS, Sculco TP : Fracture of the femoral head after ceramic-on-polyethylene total hip arthroplasty. *J Arthroplasty* 1995, 10 : 855-859.
- 15) Haraguchi K, Sugano N, Nishii T, Miki H, Oka K, Yoshikawa H : Phase transformation of a zirconia ceramic head after total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br* 2001, 83 : 996-1000.
- 16) Childs LM, Paschalis EP, Xing L, Dougall WC, Anderson D et al. : *In vivo* RANK signaling blockade using the receptor activator of NF- κ B : Fc effectively prevents and ameliorates wear debris-induced osteolysis via osteoclast depletion without inhibiting osteogenesis. *J Bone Miner Res* 2002, 17 : 192-199.
- 17) Goater JJ, O'Keefe RJ, Rosier RN, Puzas JB, Schwarz EM : Efficacy of *ex vivo* OPG gene therapy in preventing wear debris induced osteolysis. *J Orthop Res* 2002, 20 : 169-173.
- 18) Hills BA, Butler BD : Surfactants identified in synovial fluid and their ability to act as boundary lubricants. *Ann Rheum Dis* 1984, 43 : 641-648.

- 19) Kirk TB, Wilson AS, Stachowiak GW : The morphology and composition of the superficial zone of mammalian articular cartilage. J Orthop Rheumatol 1993, 6 : 21-28.
- 20) Ishihara K, Ueda T, Nakabayashi N : Preparation of phospholipid polymers and their properties as polymer hydrogel membrane. Polym J 1990, 22 : 355-360.
- 21) Ishihara K, Ohta S, Yoshikawa T, Nakabayashi N : Protein adsorption resistible membrane for biosensor composed of polymer with phospholipid polar group. J Polym Sci Polymer Edn 1992, 30 : 929-932.
- 22) Lewis AL, Furze JD, Small S, Robertson JD, Higgins BJ : Long-term stability of a coronary stent coating post-implantation. J Biomed Mater Res 2002, 63 : 699-705.
- 23) 茂呂 徹 : 人工関節—新素材採用で長寿命化に成功. 治療 2005, 87 : 1642-1645.



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

治療(J.Therap.)別刷

Vol.87, No.4 <2005.4>

株式会社 南山堂



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

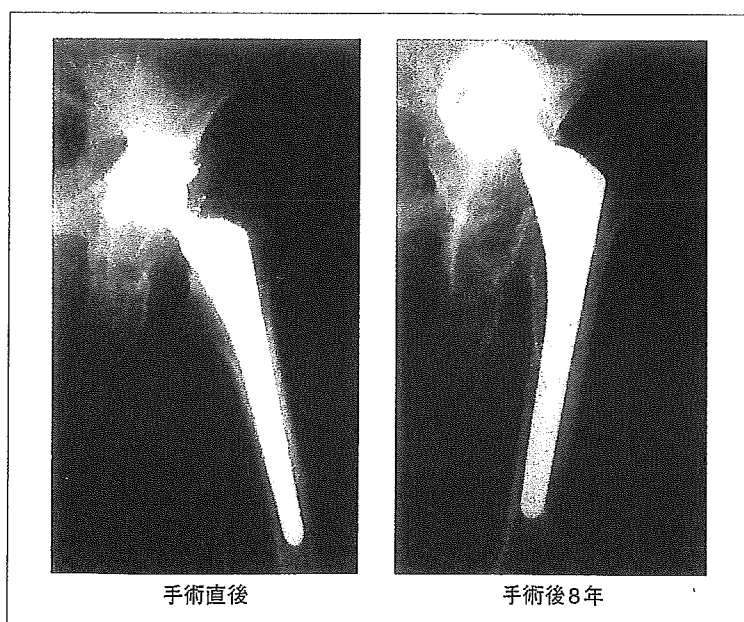


図1 人工股関節の弛み

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- κ 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¹⁾。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²⁾。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³⁾。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)⁴⁾。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はなく、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⁵⁾。

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ナノ微粒子を作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- α , IL-1, IL-6, PGE₂)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

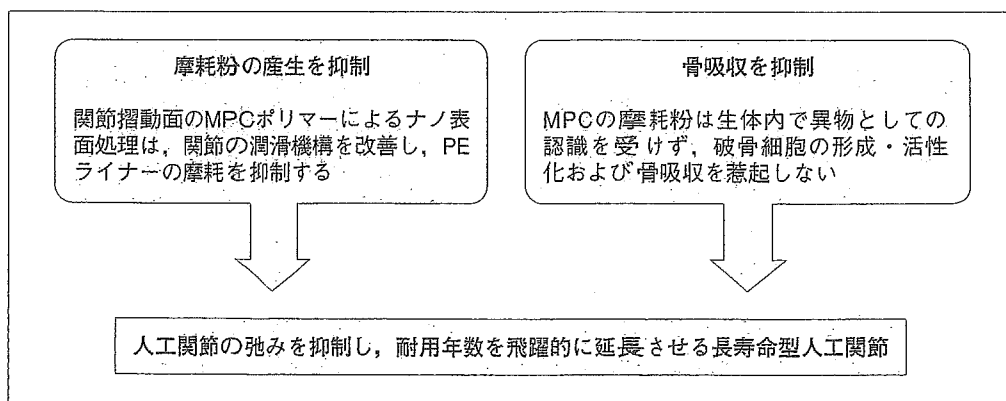


図2 MPCポリマーのナノ表面処理による人工関節の長寿命化

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.