

表1 PCRに用いたPrimer

Gene		Primer sequence (5' → 3')	Amplicon size (bp)
SERPINE1	1	Forward: GACCCTGGGAGAGAAGTTTGAA Reverse: GCAGGCAGTACAAGAGTGAT	239
	2	Forward: GCCTGTCTTCCAGAACGATTC	284
	3	Reverse: TGGTTTTCTCCTCCTGTTGT	
	4	Forward: CTCATCAGCCACTGGAAAGG Reverse: GGGAGGGATGATTGCAAGAC	233
	5	Forward: AAACCAGTCTCAGAGGATG Reverse: GTCTTAGAACAGAGGGATGCT	407
CYP2C9	1	Forward: GTAAATACTTCATGCCTTTCTCAGC Reverse: GGAGTTCTTGGGTACCTCAC	310
	2	Forward: TGTGATTGGCAGAAACCGGA Reverse: CCCAAACTGGAAACAAGAGAAAG	315
	3	Forward: ATCATGCTAAATCAGGCTTAGC Reverse: CATGCACACCTACCAAATCC	250
F2	1	Forward: TCTGGAGTCTCCACGGCTA Reverse: CAGGTGGATGTCTGAAGACTG	273
	2	Forward: TAGACCAGGGCCAGTTGAAA Reverse: CAGCAGTTCTCCATTCACTC	201
	3	Forward: GAGAGTCGCTACCCACATA	394
	4	Reverse: CTCCCAAAGTGCTGGGATTAC	
	5	Forward: TTCTGGGCCTGGCTCTGATA Reverse: GTGAAACCCACCAGTCTCTACTAA	299
	6	Forward: CTGGGAGAACTGAGTTGTGC Reverse: GGTCCCTGCTGTATACCCTAGAA	301
F7	Forward: GACAAGGATGACCAGCTGAT Reverse: TAAGATAATCCTAGTGGGACAGGG	205	
F9	Forward: CAGAATCACCAGGCCTCATC Reverse: CAGTACTTACCAACCTGCGT	211	
F10	1	Forward: GAAGAGCTGGCTTCTCAGTC Reverse: TCACTTACCTACCCTCACCTTG	200
	2	Forward: CTCTCATCTCTGCAGCCTGGA Reverse: TGTGGTGGCAGATGGCTAAC	324
	3	Forward: ATTCCTAAAAGTGACTTCCATTGGG Reverse: GTGGTTACCTTAGTCGGGAATCT	489
	4	Forward: GGAAGAGACCTGCTCATACG Reverse: GGCCGAGACCATGACTATTG	387
	5	Forward: GCAATGAGCCAAGATCATGC Reverse: AAGGCCAAGAGAATGGCTGAAA	363
	6	Forward: CAGATGCATTCATCCCATTTGG Reverse: GGGAGAAGAGTCAGAGAGCC	295
GGCX	Forward: CCTACCCTATCCTGGAATCCTCTA Reverse: CTCAAAGGGTCTCAAGTTTGCATAA	306	
VAMP8	1	Forward: GGGCTGCACTTGTACTCTTATAAT Reverse: CCGAGCAGCATTCTCTGTAG	327
	2	Forward: CACAGGAGGAAGCCAGTGAA Reverse: GGAGACTCAGCTCACATCAG	310
TGFβ1	Forward: GAGGACCTCAGTTTTCCCTC Reverse: GCAGCTTGGACAGGATCTGG	304	
TGFβR1	Forward: GAAAGCCAGCCATTGCTCATA Reverse: TGGAAAGGGCAACCTTTCATC	364	
TGFβR2	1	Forward: CAGAACACTTCCAGAGCAGTTTG Reverse: GGTGCTTCTTCCAGAGGATATT	379
	2	Forward: GGCTCCAGAAGTCCCTAGAATC Reverse: GCTTTATGCTCCAAATGTGGC	326

表2-1 Typing PCRに用いたPrimer (1)

Gene	SNP base	Primer sequence (5' → 3')	Amplicon size (bp)	Program No.
SERPINE1	1	T specific Forward: ACTGAGGCCCTTTGCACCGAT	108	2
		Reverse: GCAGGCAGTACAAGAGTGAT		
		C specific Forward: ACTGAGGCCCTTTGCACCGAC		
		Reverse: GCAGGCAGTACAAGAGTGAT		
	2	G Forward: GCCTGTCTCCAGAACGATTC	113	1
		G specific Reverse: CCTTACCAAAAGATAACGGC		
		A Forward: GCCTGTCTCCAGAACGATTC		
		A specific Reverse: CCTTACCAAAAGATAACGGT		
	3	G Forward: GCCTGTCTCCAGAACGATTC	119	2
		G specific Reverse: GCAGACCCCTTCACCAAIGAC		
		A Forward: GCCTGTCTCCAGAACGATTC		
		A specific Reverse: GCAGACCCCTTCACCAAIGAT		
	4	T specific Forward: GTTGAATTCACAGATCTGAGAT	104	2
		Reverse: GGGAGGGATGATTGCAAGAC		
		C specific Forward: GTTGAATTCACAGATCTGAGAC		
Reverse: GGGAGGGATGATTGCAAGAC				
5	A Forward: AAACCAGGCTCAGAGGATG	106	2	
	A specific Reverse: CAAAGTGCTGGATTACTIGGT			
	T Forward: AAACCAGGCTCAGAGGATG			
	T specific Reverse: CAAAGTGCTGGATTACTIGGA			
1	C Forward: GTAATACTTCATGCCITTCACG	198	2	
	C specific Reverse: CCCAATAATTAGGATGTATCAAGAG			
	Forward: GTAATACTTCATGCCITTCACG			
	T specific Reverse: CCCAATAATTAGGATGTATCAAGAA			
2	A Forward: TGTGATTGGCAGAAACCGGA	108	2	
	A specific Reverse: CTGGTGGGAGAAAGGTGAAT			
	C Forward: TGTGATTGGCAGAAACCGGA			
	C specific Reverse: CTGGTGGGAGAAAGGTGAAG			
3	T specific Forward: TGAAGGAAGCCCTGATTGITCT	97	3	
	Reverse: CATGCACACCTACCAAATCC			
	C specific Forward: TGAAGGAAGCCCTGATTGITCC			
	Reverse: CATGCACACCTACCAAATCC			

表2-2 Typing PCRに用いたPrimer (2)

Gene	SNP base	Primer sequence (5' → 3')	Amplicon size (bp)	Program No.
F2	1	C specific Forward: CAGAGAAGCAAGCGAGCAAC	188	2
		Reverse: CAGGTGGATGTCGAAGACTG		
	2	T specific Forward: CAGAGAAGCAAGCGAGCAAT	78	4
		Reverse: CAGGTGGATGTCGAAGACTG		
	3	T specific Forward: CACCGACAGTGCCTGACAT	138	1
		Reverse: CAGCAGTTCTCCCATTCACIC		
	4	C specific Forward: CACCGACAGTGCCTGACAC	212	2
		Reverse: CAGCAGTTCTCCCATTCACIC		
	5	Forward: GAGGAGTCGCTACCCACATA	110	2
		C specific Reverse: TGTAGCACCCAGGGTCCCG		
	6	Forward: GAGGAGTCGCTACCCACATA	267	2
		T specific Reverse: TGTAGCACCCAGGGTCCCG		
F7	C	Forward: GACAAGGATGACCAGCTGAT	114	1
		C specific Reverse: CAGCAGAGATACCCGTCG		
F9	A	Forward: ATATCTGATGCTGTCTTCA	95	2
		Reverse: CAGTACTTACCAACCTGCGT		

表2-3 Typing PCRに用いたPrimer (3)

Gene	SNP base	Primer sequence (5' → 3')	Amplicon size (bp)	Program No.
F10	T	T specific Forward: AGGGTTCTGTGGTGGIACT	101	2
		Reverse: TCACCTACCTACCCCTCACCTTG		
	C	C specific Forward: AGGGTTCTGTGGTGGIACC		
		Reverse: TCACCTACCTACCCCTCACCTTG		
	A	Forward: CTCTCATCTGTCAGCCCTGGA		
		A specific Reverse: ACTGIGTCTCCGTTTACCT		
	G	Forward: CTCTCATCTGTCAGCCCTGGA		
		G specific Reverse: ACTGIGTCTCCGTTTACCC		
	A	A specific Forward: CCTGAATTCCTTTCTGCTTTTGTACTA		
		Reverse: GTGGTTACCTTAGTGGGAATCT		
	C	C specific Forward: CCTGAATTCCTTTCTGCTTTTGTACTC		
		Reverse: GTGGTTACCTTAGTGGGAATCT		
C	Forward: GGAAGAGACCTGCTCATACG			
	C specific Reverse: TGGATGGACGGAGCTGGC			
T	Forward: GGAAGAGACCTGCTCATACG			
	T specific Reverse: TGGATGGACGGAGCAGCA			
T	T specific Forward: TTGCCATCCATTCCC G CCT	86	1	
	Reverse: AAGGCCAAGAGAAJGGCTGAAA			
delT	delT specific Forward: TTGCCATCCATTCCC G CCT			
	Reverse: AAGGCCAAGAGAAJGGCTGAAA			
A	A specific Forward: GCAAACCCGACAGCGCCIACA			
	Reverse: GGGAGAAAGAGTCAGAGAGCC			
G	G specific Forward: GCAAACCCGACAGCGCCIACG			
	Reverse: GGGAGAAAGAGTCAGAGAGCC			
C	C specific Forward: GAAACAGGAGTTTGAAC T CGTC			
	Reverse: CTCAAAGGGTCTCAAGTTTGCATAA			
T	T specific Forward: GAAACAGGAGTTTGAAC T CGTT			
	Reverse: CTCAAAGGGTCTCAAGTTTGCATAA			
GGCX	C	Forward: GAAACAGGAGTTTGAAC T CGTC	146	2
		Reverse: CTCAAAGGGTCTCAAGTTTGCATAA		

表2-4 Typing PCRに用いたPrimer (4)

Gene	SNP base	Primer sequence (5' → 3')	Amplicon size (bp)	Program No.
VAMP8	1	Forward: GGGCTGCACCTTGACTCTTATAAT	138	3
		G specific Reverse: CACGTTCTCCACCAGAAATTT		
	2	Forward: GGGCTGCACCTTGACTCTTATAAT		
		A specific Reverse: CACGTTCTCCACCAGAAATTC		
		C specific Forward: ACTTGGAAACATCTCCGGAAC		
		Reverse: GGAGACTCAGCTCACATCAG		
TGFβ1	C	T specific Forward: ACTTGGAAACATCTCCGGAAAT	176	2
		Reverse: GGAGACTCAGCTCACATCAG		
TGFβR1	C	Forward: GAGGACCTCAGCTTCCCTC	232	1
		G specific Reverse: AGCGGTAGCAGCAGCG		
	T	Forward: GAGGACCTCAGCTTCCCTC		
		T specific Reverse: AGCGGTAGCAGCAGCA		
		A specific Forward: CAAACCCACAGAGTGGGIACA		
		Reverse: TGGAAGGGCAACCTTTCATC		
C	C specific Forward: CAAACCCACAGAGTGGGIACC			
	Reverse: TGGAAGGGCAACCTTTCATC			
TGFβR2	1	A specific Forward: CTGAGGAGCGGAAGAGGGA	243	4
		Reverse: GGTCGTTCTTACCGAGGATATT		
	T	T specific Forward: CTGAGGAGCGGAAGAGGGGT		
		Reverse: GGTCGTTCTTACCGAGGATATT		
		Forward: GGCTCCAGAAGTCTAGAATC		
		T specific Reverse: CCGTCTGCTTGAAGGACACAA		
2	C	Forward: GGCTCCAGAAGTCTAGAATC	62	4
	C specific Reverse: CCGTCTGCTTGAAGGACACAG			

表3-1 SNPタイピングの結果(1)

Gene	Location		Type	Healthy volunteers (PSC Cell)		Patients																		
				Allele1 (frequency)	Allele2 (frequency)	adverse events					no adverse events													
						TT	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC								
SERPINE1 (PAI-1)	1	3'UTR	c.1570C>T	SNP	C (0.545)	T (0.455)	TT	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC			
	2	CDS (Ala/Thr)	c.43G>A	SNP	G (0.925)	A (0.075)	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG		
	3	CDS (Ile/Val)	c.49G>A	SNP	G (0.995)	A (0.005)	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	
	4	INTRON	c.700+1921C>T	SNP	C (0.545)	T (0.455)	TT	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	
	5	INTRON	c.1087+859T>A	SNP	T (0.545)	A (0.455)	AA	AT	TT	AT	TT	AT	TT	AT	TT	AT	TT	AT	TT	AT	TT	AT	TT	
CYP2C9	1	INTRON	c.1149+147C>T	SNP	C (0.705)	T (0.295)	CC	CC	CT	CT	CC	CT	CC	CT	CC	CT	CC	CT	CC	CT	CC	CT	CC	
	2	CDS (Ile/Leu)	c.1075A>C	SNP	A (0.990)	C (0.010)	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
	3	CDS (Leu/Pro)	c.269T>C	SNP	T (0.990)	C (0.010)	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
F2 (prothrombin)	1	INTRON	c.240+83T>C	SNP	T (0.560)	C (0.440)	TT	CC	CT	CC	CT	CT	CC	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	
	2	INTRON	c.316+2125C>T	SNP	C (0.580)	T (0.420)	CC	TT	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	
	3	INTRON	c.422+90G>C	SNP	G (0.635)	C (0.365)	GG	CC	CG	CG	CG	CG	CG	CG	CG	CG	CG	CG	CG	CG	CG	CG	CG	
	4	CDS (Met/Thr)	c.494T>C	SNP	T (0.580)	C (0.420)	TT	CC	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT
	5	INTRON	c.1472+251C>T	SNP	C (0.635)	T (0.365)	CC	TT	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC	TC
	6	INTRON	c.1654+290C>T	SNP	C (0.580)	T (0.420)	CC	TT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT
F7	CDS-synonymous	c.525C>T	SNP	C (0.915)	T (0.085)	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	
F9	INTRON	c.88+75A>G	SNP	A (0.890)	G (0.110)	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	
F10	1	CDS-synonymous	c.792T>C	SNP	T (0.590)	C (0.410)	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	CC	TC	
	2	INTRON	c.70+270A>G	SNP	A (0.675)	G (0.325)	AG	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	
	3	INTRON	c.256+98A>C	SNP	A (0.905)	C (0.095)	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	
	4	INTRON	c.231+64C>T	SNP	C (0.620)	T (0.380)	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	
	5	INTRON	c.502+2115~2116	INDEL	- (1.000)	T (0.000)	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
	6	INTRON	c.502+2531A>G	SNP	A (1.000)	G (0.000)	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
GGCX	INTRON	c.2084+408C>T	SNP	C (0.685)	T (0.315)	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	

表3-2 SNPタイピングの結果(2)

Gene	Location		Type	Healthy volunteers (PSC Cell)		Patients															
				Allele1 (frequency)	Allele2 (frequency)	adverse events						no adverse events									
VAMP8	1	CDS-synonymous	c.201A>G	SNP	A (0.605)	G (0.395)	AG	GG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	
	2	CDS-synonymous	c.138C>T	SNP	C (0.680)	T (0.320)	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	
TGFβ1		CDS-synonymous	c.29C>T	SNP	T (0.535)	C (0.465)	CC	CT	CC	CT	CC	CT	CC	TT	CC	TT	CC	CT	CC	CC	
TGFβRI		CDS-synonymous	c.1125A>C	SNP	A (1.000)	C (0.000)	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
TGFβRII	1	CDS(Glu/Val)	c.946A>T	SNP	A (1.000)	T (0.000)	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
	2	CDS(Ala/Val)	c.1606T>C	SNP	T (1.000)	C (0.000)	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT

9. 人工関節用 UHMWPE の疲労特性評価手法の 開発

迫田 秀行

厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
分担研究報告書

人工関節用 UHMWPE の疲労特性評価手法の開発

分担研究者 迫田秀行 国立医薬品食品衛生研究所 療品部

研究要旨

人工関節置換術は広く普及した治療法であるが、不具合に伴う再置換例も増加している。このような不具合では、摺動面に使用される超高分子量ポリエチレン (UHMWPE) の耐久性が問題になることが最も多い。特に、長寿命化を目指した次世代型人工関節の開発に伴い、UHMWPE の疲労特性評価の重要性が増している。そこで、本研究では UHMWPE という材料特有の問題や人工関節部材という製品特有の問題を考慮した、既存の規格や従来の試験法の枠にとらわれない、新しい人工関節用 UHMWPE の疲労特性評価法の開発を目指した。

試料は代表的な製品の製造方法と類似した方法で作製し、長期間の埋植を模擬した加速酸化を行った後、3種類の方法で疲労特性の評価を試みた。

その結果、単純な引張疲労試験による疲労特性評価は困難であることがわかったが、平板状の試験片の片側にクラックのある試験片を用いた試験法 (ECT 試験) により疲労特性が推定可能であり、酸化劣化による疲労特性の低下が評価できることがわかった。この評価方法は疲労特性パラメータの推定が可能であるだけでなく、汎用の装置を使用し簡便であること、実際の製品や不具合により取り出された抜去品などに幅広く応用が可能であるなどの特徴があり、有効な評価方法であると考えられた。

A. 研究目的

人工関節置換術は変形性関節症や関節リウマチの患者で非侵襲的治療が困難な場合に使用される。本邦では年間約 10 万例が行われており、一般的に広く普及した治療法と言える。

それに伴い、人工関節の再置換例も増加している。医薬品医療機器総合機構 (以下、「機構」とする) のホームページ¹⁾において機構が医療機器企業から受け取った平成 16 年 4 月～平成 17 年 6 月分の不具合報告から「関節」で検索を

行ったところ、ヒットした不具合報告はわずか約 200 件であった。しかし、再置換の原因がインプラントの不具合として捉えられることは稀であり、矢野経済研究所の市場調査によると、2004 年度の再置換用人工関節の市場規模は、股関節が 1,765 ユニット、膝関節が 593 ユニットであり、それぞれ市場の 2.5%、1.5%を再置換用人工関節が占めるまでになっている²⁾。

再置換術は患者にとって大きな負担となる。不具合を起こしたインプラント

の抜去が必要であることや、インプラントを支える骨の量が初回の手術に比べ減少しているなどの理由で、再置換術は初回の手術に比べ困難な手術となり、成功率も低下すると言われている。従って、再置換の原因を分析し、再置換の必要のないインプラントの開発が急務となっている。

人工関節の再置換の原因は、合併症や転倒事故による骨折など患者に起因するものや、設置位置不良など手術手技に起因するものなども考えられるが、インプラントに起因するものとしては、摺動面に使用される超高分子量ポリエチレン（Ultra-high molecular weight polyethylene、以下、「UHMWPE」とする）部品の耐久性が問題になることが多い。

例えば、人工膝関節の場合、デラミネーション破壊と呼ばれる疲労破壊が問題になっている。近年ではUHMWPE製コンポーネントがポスト部を持った、PSタイプと呼ばれる人工膝関節も多く使用されているが、この部分は特に力学的に過酷な条件となるため、UHMWPEの疲労特性の重要性は高まっていると思われる。

一方、人工股関節の場合、従来、摩耗粉の発生に起因するゆるみが最大の問題として研究が行われてきた。人工股関節の摺動面で発生するUHMWPE摩耗粉により関節周囲のマクロファージが活性化され、最終的に関節周囲の骨溶解に至ることが知られてきたのである³⁾。その結果、人工股関節インプラントを支える周囲の骨がなくなってしまい、緩みを生じ、人工関節の機能低下や疼痛により再置換に至るのである。

これらの研究の過程で、滅菌のために行われるガンマ線照射によりUHMWPE内部に発生したフリーラジカルが長年にわたる酸化劣化の原因になること、酸化劣化により摩耗量が大幅に増大すること、引張特性などの機械的性質も低下することなどがわかってきた⁴⁾。そこで現在では、空気中におけるガンマ線照射は行われなくなり、不活性ガスを充填した密封包装を使用するなどの酸素非存在下でガンマ線照射を行うなどの対策を行っている。しかし、UHMWPE内部に発生したフリーラジカルが除去されるわけではないので、長期の埋植期間中に酸化劣化が進行する可能性も否定できない。

また、1990年代後半より摩耗と摩耗粉の発生を抑制するため、架橋ポリエチレン（Highly cross-linked polyethylene、以下「HXLPE」とする）と呼ばれる材料が開発され、市場に投入された⁴⁾。この材料はUHMWPEにガンマ線や電子線などの放射線を照射することでUHMWPEの分子鎖に架橋を施し、耐摩耗性を向上させたものである。しかし、放射線照射で発生したフリーラジカルは酸化劣化の原因になるため、これらの材料では架橋を施す放射線照射の工程と、発生したフリーラジカルを除去するための熱処理の工程が必要となる。従って、これらの材料では、製造方法によっては十分にフリーラジカルを除去できない可能性があること、熱処理によりUHMWPEの機械的強度が低下することが、問題点として指摘されている⁵⁾。臨床においても、HXLPEを用いた人工股関節の短期の臨床研究において、酸化劣化の進

行^{6, 7)}や疲労破壊^{8, 9)}と思われる観察結果が報告されている。

以上のように、人工膝関節、人工股関節の両分野において UHMWPE の疲労特性の評価の重要性が高まっている。

プラスチック材料、特に人工関節用 UHMWPE は金属材料に比べて、破断伸びが大きく、粘弾性の特性を示すなど、金属材料を対象とした疲労試験をそのまま適用することは困難である。また、製品の分析や抜去品の分析など、小試験片での試験が行えることが望ましく、既存の規格や従来の試験法の枠にとらわれない新しい試験方法が必要である。

以上のような理由により、本研究では人工関節用 UHMWPE の疲労特性評価法の開発を目指した。

B. 研究方法

薬事承認などでの応用が考えられるため、以下のような点を考慮した。第一に、特殊な技術や装置を必要としないことである。特殊な技術や専用の装置が必要な評価方法では、メーカーなどにとって大きな負担になるため、一般的な試験機により実施可能な試験方法を検討した。第二に、小さなサンプルで評価可能なことである。整形インプラントの場合、不具合などによって抜去された製品や市場の製品を分析することが重要であることから、製品から試験用サンプルが作製可能であることが望ましいため、小さなサンプルで評価可能な試験方法を検討した。第三に絶対評価は必ずしも求めないことである。絶対評価が可能になれば文献値などとの比較による評価が可能になるなど便利であるが、一方で絶

対評価に必要な理想的な力学状態を実現しようとする試片寸法や試験方法が制限されてしまい、上述の要件が満たされなくなってしまう。そこで、医療機器の場合、従来品との比較により新規開発品の評価を行うことが一般的であることから、力学的に正しい絶対値を求めるのではなく、対象試料との相対評価ができることを目標とした。

(1) 材料

人工関節用 UHMWPE で、現在あるいは過去に本邦で市販されているもののうち代表的な製品の製造方法と類似した方法でサンプルを作製した。また、抗酸化能が高い材料として近年研究されているビタミン E 添加 UHMWPE (VEPE) も対象とした。製造方法の概略を図 1 に示す。サンプル A は成型された UHMWPE をそのまま用いたもので、比較のために使用した。B はエチレンオキシドガス (EOG) 滅菌を行ったもの、C は空気中でガンマ線滅菌を行ったもの、D は窒素ガス中でガンマ線滅菌を行ったものである。H は抗酸化能が高いとされるビタミン E 添加 UHMWPE (VEPE) で、通常の UHMWPE パウダーに 0.3% のビタミン E を添加し成型したものに EOG 滅菌を行った。

(2) 加速酸化

UHMWPE の酸化劣化は、製造後数年から数十年をかけて徐々に進行していくため、長期間の埋植を評価するためには加速試験を行う必要がある。加速酸化の方法はいくつか提案されている^{10, 11)}が、そのうち二つの方法が 2000 年に ASTM

に規格化された¹²⁾。Method Aは80℃の空气中で21日間加速酸化するものであり、Method Bは70℃、5気圧の純酸素中で14日間加速酸化するものである。これらの試験法の問題点として、施設間における大きなばらつき¹³⁾、様々な試験条件の違いにより結果が大きく左右されること¹⁴⁾が指摘されている。しかし、本研究の目的は相対評価を可能にすることであることから、試験条件の違いによる影響はないと考え、これらの加速酸化方法を採用した。なお、これらの試験方法のうちMethod Aは2002年版¹⁵⁾では削除されたが、耐圧容器を必要とせず簡便な方法であるため、Method Bとあわせ、二つの方法で加速酸化を行った。

Method Aはガスクロマトグラフィー（ヒューレットパッカー、5890 Series II）のオープンを使用し、室温から毎分0.5℃の割合で80℃まで昇温を行った。Method Bは耐圧ガラス容器（耐圧硝子工業株式会社 ハイパーガラスターTEM-V1000N）を使用し、70℃で5気圧となるよう酸素を容器内へ導入後、室温から毎分1℃の割合で70℃まで昇温を行った。加速酸化はそれぞれ21日、14日間行い、加速酸化終了後は自然放冷により室温まで冷却した。

加速酸化後のサンプルはマイクロトーム（大和光機工業株式会社、小型回転式マイクロトーム PR-50）でおよそ100マイクロメートルの薄片を作製し、フーリエ変換赤外分光光度計（FTIR、日本電子株式会社、SPX200）に顕微ユニット（日本電子株式会社、顕微赤外ユニット IR-MAU110）を取り付け、透過モードで酸化度を測定した。アパーチャーサイズ

を100x100マイクロメートル、スキャン回数を8回とし、酸化度の計算方法はASTM規格^{13, 15)}を参考にした。表面から100マイクロメートル毎に測定を行い、深さ方向のプロファイルを作成した。

（3）疲労試験

疲労試験は油圧サーボ式疲労試験機（株式会社島津製作所、サーボパルサー EHF-LV010K1-A10）を使用した。なお、加速酸化したサンプルについては全て上記Method Bで加速酸化を行った。

試験は以下の三種類の方法で行った。

1) 引張疲労試験

圧縮成型により製作されたJIS K7113に規定されるダンベル状の2号型試験片を使用した。試験片の厚さは3mmであった。チャック間距離20mmで引張試験用治具に固定し、最大荷重360N（平均応力20MPa）、応力比0.1、周波数1Hzの正弦波の繰り返し荷重を加えた。試験は300万サイクルまで行った。

2) CCT試験

平板状の試験片の中央にクラックのある試験片（Centre cracked tensile、CCT）を用いた疲労試験を行った。試験片の寸法は4x8x24mmであった。中央部にドリルで直径2mmの穴を作製後、医療用のメスで穴の両端に長さ0.5mmのクラック（合計でクラック長は3mm）を作製した。試験片の両端5mmをチャックし、最大荷重320N（平均応力10MPa）、応力比0.1、周波数1Hzの正弦波の繰り返し荷重を加えた。試験終了後、デジタルマイクロスコープ（KEYENCE、VH-8000C）と走査型電子顕微鏡（SEM、日本電子株式会社、JSM-5800LV）により破断面の観

察と初期クラックの正確な長さの計測を行った。

CCT試験片のK値の計算は以下の式に従って行った¹⁸⁾。初期クラックがクラック成長方向に対して垂直でなかった場合は、両端および中央部の長さの平均値を初期クラック長とした。

$$K = \sigma (\pi a)^{0.5} F(x)$$

$$F(x) = (1 - 0.025x^2 + 0.06x^4) (\cos \beta)^{-0.5}$$

ただし、

2a : クラック長

W : 試験片幅

$$x = a/W$$

$$\beta = \pi x/2$$

3) ECT試験

平板状の試験片の片側にクラックのある試験片 (Eccentrically cracked tensile, ECT) を用いた疲労試験を行った。試験片の寸法は4x8x24mmであった。試験片の片側にカッターと医療用のメスで長さ1mmのクラックを作製した。試験片の両端5mmをチャックし、最大荷重40N (平均応力1.25MPa) から480N (平均応力15MPa)、応力比0.1、周波数1Hzの正弦波の繰り返し荷重を加えた。試験終了後、デジタルマイクロスコープにより初期クラックの正確な長さの計測を行った。また、SEMにより破断面の観察を行った。

ECT試験片のK値の計算は以下の式に従って行った¹⁸⁾。初期クラックがクラック成長方向に対して垂直でなかった場合は、両端および中央部の長さの平均値を初期クラック長とした。

$$K = \sigma (\pi a)^{0.5} F(x)$$

$$F(x) = (\beta^{-1} \tan \beta)^{0.5} (0.752 +$$

$$2.02 x + 0.37 (1 - \sin \beta)^3) (\cos \beta)^{-1}$$

ただし、

a : クラック長

W : 試験片幅

$$x = a/W$$

$$\beta = \pi x/2$$

ECT試験では、試験開始時の応力拡大係数 K_0 を変化させ、破断までのサイクル数で結果を整理した。また、試験は10万サイクルまで行った。これは、UHMWPEの場合クラックが成長する限界値 K_{th} 付近でのクラック成長速度 da/dN が急激に変化し、およそ $10^{-4} \sim 10^{-5} \text{mm/Cycle}$ になることから決定した^{16, 17)}。これにより、試験開始時のK値 K_0 が K_{th} よりわずかでも大きければ10万サイクルの試験でクラックが1mm以上成長することになり、破壊に至ることになる。一方、10万サイクルで破壊されない場合は、試験開始時のK値 K_0 が K_{th} より小さかったと判断し、より大きな K_0 で再度試験を行った。これにより、材料毎の K_{th} の値の推定を行った。

C. 研究結果

(1) 加速酸化

図2に加速酸化前後の酸化度の測定結果を示す。

ガンマ線照射をしていないサンプルA、B、Hはいずれの加速酸化の方法でも酸化度が変化せず、高い抗酸化能を有していることがわかった。これに対し、ガンマ線照射を行ったサンプルではいずれも酸化が進行することがわかった。また、加速酸化の方法としては、Method AよりMethod Bの方が材料にとってより厳しい条件であることがわかった。

Method Aで加速酸化を行った場合、

窒素中でガンマ線照射を行ったサンプル D の酸化度は空气中でガンマ線照射を行ったサンプル C より低く、ガンマ線滅菌を不活性ガス中で行うことに一定の効果があることがわかった。しかし、Method B で加速酸化を行った場合は逆に高い酸化度を示しており、生体中で酸化劣化が進行する可能性があることが示唆された。

(2) 引張疲労試験

滅菌、加速酸化ともに行っていない UHMWPE の引張疲労試験を行った。その結果、その大きなクリープ変形のために疲労試験機のアクチュエータの可動域 ($\pm 25\text{mm}$) を超えてしまうことがわかった。可動域を超えてしまった場合は一度サンプルを取り外し、クロスヘッド位置を調整した上で試験を再開した。図 3 に引張疲労試験の結果を示す。ただし、変位はクロスヘッドの移動分を考慮に入れその変化が滑らかになるよう、加工した。

これより、以下のような結果が得られた。

- 1) 2000 サイクル程度までは試験片のクリープ変形の進行速度が大きいいため荷重制御がうまくできず、荷重の目標値に達していない。
- 2) 試験片のクリープ変形の進行速度は 10000 サイクル程度で落ち着くものの、300 万サイクルを過ぎても安定には達しない。
- 3) 300 万サイクルでも破断しない。

(3) CCT 試験

滅菌、加速酸化ともに行っていない

UHMWPE の CCT 試験片による疲労試験を行った。図 4 に破断面の写真を示す。その結果、破断後の試験片の初期クラック近傍のひずみが大きく、正確な初期クラック長さの測定が困難であることがわかった。また、初期クラックを試験片の中央部に製作するため、向きや長さの調整が困難であることがわかった。

(4) ECT 試験

ECT 試験では、初期クラック近傍において試験中に応力がほとんど加わらないため変形が少なく、試験後の破断面観察によって初期クラック長の測定が容易に行えることがわかった。図 5 に初期クラック付近の破断面の例を、図 6 に破断面観察で計測した初期クラック長から計算された試験開始時の K 値 K_0 と破断までのサイクル数で整理した ECT 試験の結果を示す。酸化度測定で酸化が認められなかったサンプル A、B、H は互いにほぼ同様の結果で、いずれも右下がりの直線上に分布した。 $K_0 < 1$ の場合に 10 万サイクルでも破断せず、これらの材料では、

$K_{th}=1$

と推定された。

これに対し、酸化度測定で酸化が認められたサンプル C、D では $K_0=0.26$ でも比較的 low サイクルで破断に至っており、疲労特性が大幅に低下していた。なお、結果には含めていないが、試験機への取り付け中に破断してしまうサンプルも散見され、大きな材料劣化が示唆された。10 万サイクルの試験で破断しなかった試験片はなく、 K_{th} の推定はできなかった。

D. 考察

(1) 加速酸化

加速酸化の方法により酸化劣化の進行に差があることがわかった。本研究では Method B のほうが酸化劣化の評価法としては厳しい条件であった。どちらの方法が臨的に妥当かは今後、抜去インプラント解析などを行い検討する必要があると考えられるが、従来より市販されている EOG 滅菌品 (サンプル B) や現在開発が進んでいる抗酸化能を付与した製品 (サンプル H) ではいずれの加速酸化の方法でも酸化劣化が進行していないことや、より長期間の使用に耐える次世代型インプラントの開発が望まれている状況では、より厳しい条件での評価が望まれる。その意味では、現在も行われている Inert ガス中のガンマ線滅菌 (サンプル D) でも、酸化劣化の原因になるとして既に行われなくなった空気中におけるガンマ線滅菌 (サンプル C) と同様に酸化劣化が進行することが Method B による加速酸化で示されており、注意を要すると思われる。

(2) 疲労試験

引張疲労試験では UHMWPE 特有の粘弾性特性のために、その伸びが試験機の可動域を超えてしまうことがわかった。そのため、たびたび試験を中止して再取り付けを行い、試験を再開する必要があった。また、最取り付けに要する時間が異なると、再開後の挙動も多少異なることがわかった。市販の疲労試験機の可動域は今回使用した装置とほぼ同様で、いずれの試験機を使用しても同様の問題は生じると考えられた。さらに、300 万サ

イクルでも破断にいたらず、試験に時間がかかることも問題と考えられた。

CCT 試験では、初期クラックの製作が困難であること、試験片の変形のために初期クラック長さの測定が困難であることがわかった。

これに対し、ECT 試験では、上記のようなほかの試験法で生じた問題が起らず、UHMWPE の疲労特性評価が可能であった。

その結果、EOG 滅菌品 (サンプル B) や VEPE (サンプル H) では Virgin 品 (サンプル A) とほぼ同様の疲労特性を示した。また、推定された Kth の数値も他の試験法で測定した文献とほぼ一致した^{16, 17)}。これに対し、酸化劣化が進行したサンプルでは Kth の推定ができないほど疲労特性が低下していた。このことは人工関節用 UHMWPE において酸化劣化を防ぐことが重要であることを示すと同時に、今回開発した疲労特性試験法が有効であることを示している。

人工関節用 UHMWPE の疲労特性の評価方法として、コンパクトテンション (CT) 試験片を使用する方法^{19, 20)}や Fatigue punch testing (FPT) 試験²¹⁾が報告されている。CT 試験は線形弾性材料の試験法として規格化されており、Kth など疲労特性を絶対的に評価することが可能である。しかし、理想的な力学状態を実現するために試験片寸法が大きく、実際の製品から試験片を作製することができない。従って CT 試験による研究は専用に加工された試験片を用いたものに限られ、抜去品や製品の分析には使われない。FPT 試験はこのような問題を解決し、抜去品などの機械特性を評価する

ために開発された試験法である。試験片は直径 6mm、厚さ 0.5mm の円板を使用する。試験片の寸法が小さいため、抜去品や製品の内部での機械特性の違い、例えば摺動面からの深さによる機械特性の変化などを評価することが可能である。この試験法の問題点は、専用の治具が必要であることのほか、試験片の加工が非常に困難であることである。特に 0.5mm の厚さに精度よく一様に切り出すためには、専用の装置を必要とする。また、試験片に加える荷重値が低いので、使用する疲労試験機についても専用の装置が必要になる。

ECT 試験では、抜去品や製品から切り出すことが可能な大きさの試験片を使用できる。また、その形状は単純で、機械加工で容易に作製可能である。疲労試験機は市販の一般的なものでよく、金属製コンポーネントの疲労試験用の装置を共通で使用できる。一回の試験はおおよそ 1 日で終了し、通常、常時観察する必要もない。このように、ECT 試験は、簡便で適用範囲が広く、有効な評価方法であると考えられる。

E. 結論

人工膝関節のデラミネーション破壊や高機能化、架橋ポリエチレンの臨床応用、長寿命化のニーズなどを背景に、UHMWPE の疲労特性評価の重要性が増している。本研究で開発した ECT 試験法は、簡便であるだけでなく、抜去品や製品からも試験片を作製可能であるなど応用範囲が広く、また、Kth など疲労特性パラメータの推定も可能であった。

ECT 試験の結果、酸化劣化した製品は

疲労特性が大幅に低下することがわかった。また、現在市販されている製品でも酸化劣化する可能性のあるものがあり、引き続き検討する必要があることが示唆された。

G. 研究発表

特になし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

I. 参考文献

1. www.pmda.go.jp
2. 2005 年版 メディカルバイオクス（人工臓器）市場の中期予測と参入企業の徹底分析. 矢野経済研究所. (2005)
3. Ingham E and Fisher J Biological reactions to wear debris in total joint replacement. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H, 2000, 214, 21-37
4. Kurtz SM, Muratoglu OK, Evans M and Edidin AA Advances in the processing, sterilization, and crosslinking of ultra-high molecular weight polyethylene for total joint arthroplasty. Biomaterials, 1999, 20, 1659-1688
5. Collier JP, Currier BH, Kennedy FE, Currier JH, Timmins GS, Jackson SK and Brewer RL Comparison of cross-linked polyethylene materials for orthopaedic applications. Clinical

- Orthopaedics and Related Research, 2003, 414, 289-304
6. Bhattacharyya S, Doherty AM, Wannomae KK, Oral E, Freiberg AA, Harris WH and Muratoglu OK Severe in vivo oxidation in a limited series of retrieved highly-crosslinked UHMWPE acetabular components with residual free radicals. Orthopaedic Research Society, 50th Annual Meeting, 2004, 50, 276
 7. Currier BH, Mayor MB, Currier JH, Lyford KA and Collier JP Crossfire retrievals - what can we learn? Orthopaedic Research Society, 51st Annual Meeting, 2005, 51, 1182
 8. Simis KS, Chawan AD, Hedrick T, Ries M and Pruitt L Comprehensive assessment of surface damage on early retrieved highly-crosslinked UHMWPE acetabular liners. Orthopaedic Research Society, 49th Annual Meeting, 2003, 49, 1417
 9. Furman BD, Holley K, Babalola OM, Lipman JD, Haywood AM, Padgett DE and Wright TM Acetabular component impingement increases wear and damage of elevated crosslinked and conventional UHMWPE. Orthopaedic Research Society, 50th Annual Meeting, 2004, 50, 185
 10. Currier JH, Currier BH, Rice PJ, VanCitters DW and Collier JP A clinically relevant method for accelerated aging of UHMWPE. Orthopaedic Research Society, 51st Annual Meeting, 2005, 51, 1665
 11. Mazzucco DC, Dumbleton J and Kurtz SM Accelerated methods for aging of gamma-sterilized UHMWPE in aqueous environments. Orthopaedic Research Society, 51st Annual Meeting, 2005, 51, 1666
 12. ASTM F2003-00 Standard guide for accelerated aging of ultra-high molecular weight polyethylene. 2000
 13. Kurtz SM, Muratoglu OK, Buchanan F, Currier B, Gsell R, Greer K, Gualtieri G, Johnson R, Schaffner S and Sevo K Interlaboratory reproducibility of standard accelerated aging methods for oxidation of UHMWPE. Biomaterials, 2001, 22, 1731-1737
 14. Lu S, Buchanan FJ and Orr JF Analysis of variables influencing the accelerated ageing behaviour of ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE). Polymer Testing, 2002, 21, 623-631
 15. ASTM F2003-02 Standard guide for accelerated aging of ultra-high molecular weight polyethylene after gamma irradiation in air. 2002
 16. Bradford LL, Baker D, Ries M and Pruitt L Mechanisms of fatigue in

- crosslinked ultra-high molecular weight polyethylene.
Orthopaedic Research Society,
49th Annual Meeting, 2003, 49,
1424
17. Gencur SJ, Rimnac CM and Kurtz SM
Fatigue crack propagation
resistance of virgin and highly
crosslinked thermally treated
ultra-high molecular weight
polyethylene. *Biomaterials*,
2006, 27, 1550-1557
18. 成澤 郁夫 プラスチックの破壊靱
性. シグマ出版, 1993, p16
19. ASTM E0647-00 Standard test
method for measurement of fatigue
crack growth rates. 2000
20. Gencur SJ, Rimnac CM and Kurtz SM
Fatigue crack propagation
resistance of virgin and highly
crosslinked thermally treated
ultra-high molecular weight
polyethylene. *Biomaterials*,
2006, 27, 1550-1557
21. Kurtz SM *The UHMWPE handbook*.
Ultra-high molecular weight
polyethylene in total joint
replacement. Elsevier academic
press, 2004, pp. 301-305

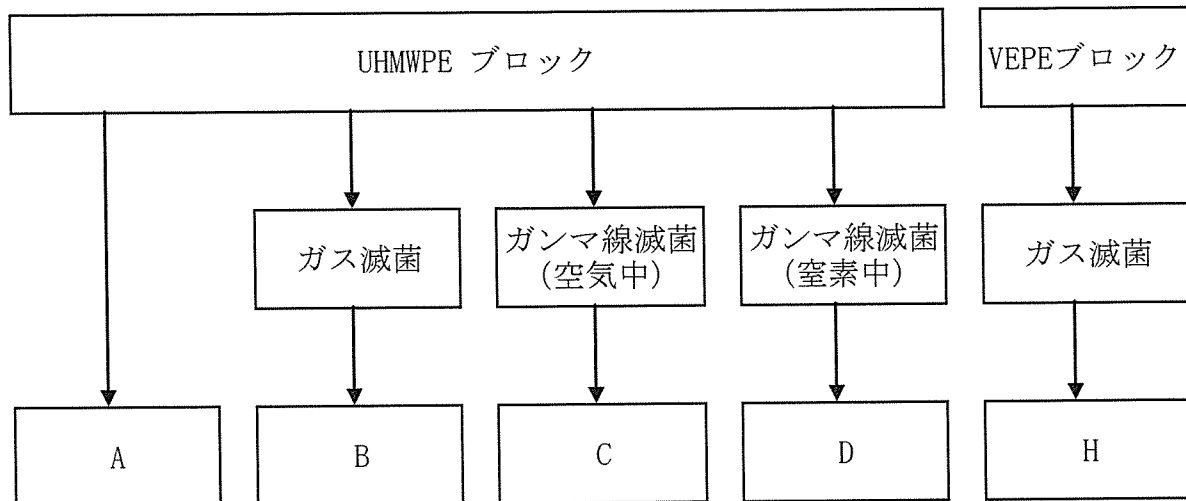


図1 本研究に使用した試料の製造工程

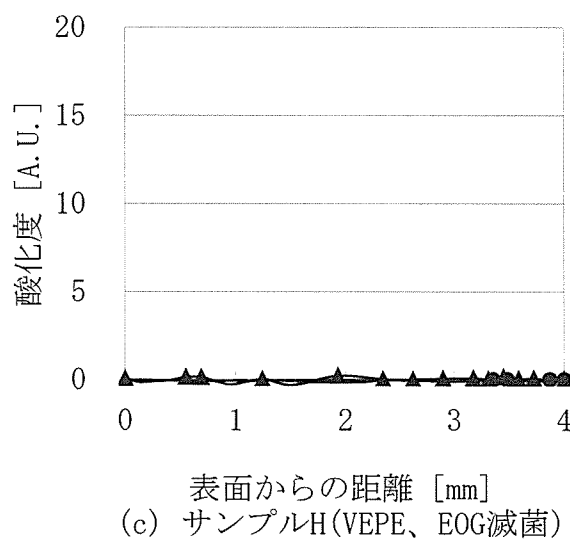
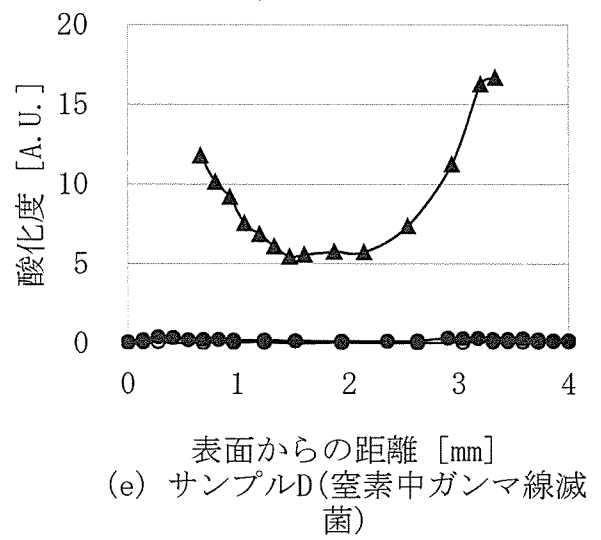
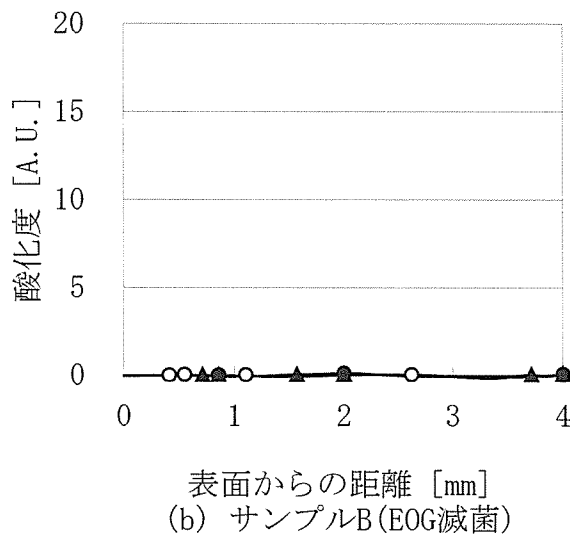
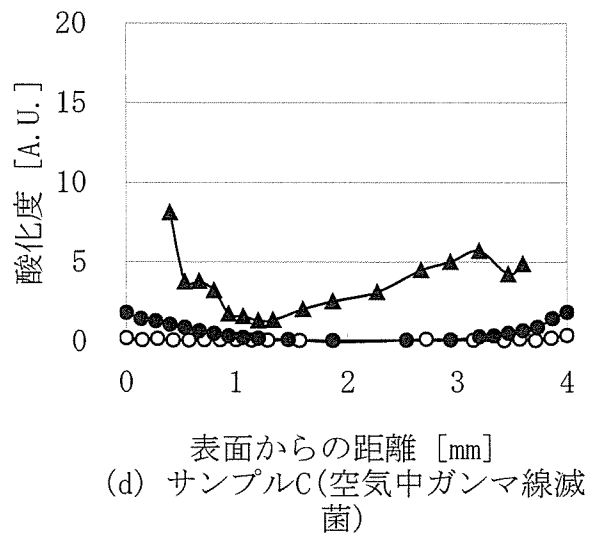
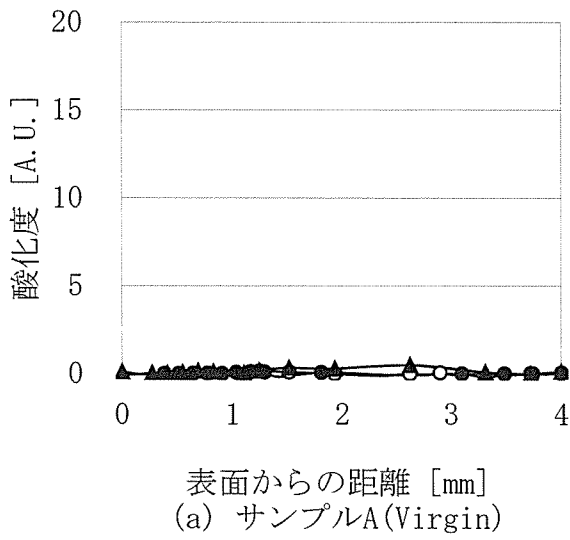


図2 加速酸化前後の酸化度
 ○：加速酸化前
 ●：加速酸化後 (Method A)
 ▲：加速酸化後 (Method B)