

- Society for Biomaterials 30th Annual Meeting & Exposition*, Memphis, USA, April, 2005.
- 6) Iwata R, Iwasaki Y, Akiyoshi K: Fabrication of Well-defined Block Polymer Brushes for Nano-biointerfaces. *19th European Conference on Biomaterials*, Naples, Sorrento, September, 2005.
 - 7) 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, December, 2005.
 - 8) 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, March 19-22, 2006.
 - 9) 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, March 22-26, 2006.
 - 10) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, Konno T, Takadama H, Yamawaki N, Kyomoto M, Yamamoto M, Karita T, Nakamura K, Kawaguchi H: Biocompatible MPC polymer grafting prevents aseptic loosening of the artificial hip joints. *JOA-KOA Joint Symposium*. Yokohama, Japan, May 18-21, 2006.
 - 11) Kimura M, Konno T, Takai M, Ishiyama N, Moro T and Ishihara K: Antiadhesion by a Spontaneously Formed Phospholipid Polymer Hydrogel. *7th Asian Symposium on Biomedical Materials (ASBM-7)*. Jeju Island, Korea, August 20-23, 2006.
 - 12) Kyomoto M, Moro T, Konno T, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Yamawaki N, Ishihara K: Surface and bulk properties of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine grafted cross-linked polyethylene. *19th Annual Symposium of the International Society for Technology in Arthroplasty (ISTA)*. New York, USA, October 6-9, 2006.
 - 13) Nakamura K: Biocompatible MPC polymer grafting prevents aseptic loosening of the artificial hip joint. *50th Anniversary Congress Korean Orthopaedic Association*. Korea, October 20, 2006.
 - 14) Ishihara K, Moro T, Takatori Y, Kawaguchi H, Nakamura K, Konno T: Antiwearable and biocompatible surface of artificial hip joints by nano-scaled grafting with phospholipid polymers. *AIChE Annual Meeting*. San Francisco, USA, November 12-17, 2006.
 - 15) Kitano K, Konno T, Takai M, and Ishihara K: Nanoscale surface grafting with phospholipid polymer to lubricate polypropylene surface. *NanoBio-Tokyo 2006*. Tokyo, Japan, December, 2006.
 - 16) Iwasaki Y: Phosphorylcholine Polymers for Biomaterials. *Seminar*,

- Chemical Engineering*. Nashville, USA, April, 2006.
- 17) Iwasaki Y: Design of phosphorylcholine polymers for biomaterials. *Seminar, Physico-Chimie des Polymères et Milieux Dispersés ESPCI*. Paris, France, September, 2006.
 - 18) Maie H, Iwasaki Y, Akiyoshi K: Polymeric nanoparticles as cell-specific drug carriers. *Society for Biomaterials 31st Annual Meeting & Exposition*, Pittsburgh, USA, April, 2006.
 - 19) Iwasaki Y, Akiyoshi K: Spontaneous enrichment of phosphorylcholine groups on polyolefin surface with perfluoroalkylated lipids additives. *Society for Biomaterials 31st Annual Meeting & Exposition*, Pittsburgh, USA, April, 2006.
 - 20) Iwasaki Y, Takamiya M, Iwata R, Akiyoshi K: Surface Modification of Silicone with Well-Defined Phospholipid Polymer. *20th European Conference on Biomaterials*, Nantes, France, September, 2006.
 - 21) Iwata R, Iwasaki Y, Akiyoshi K: Covalent Immobilization of Nanoparticle Uptake by Endothelial Cells. *20th European Conference on Biomaterials*, Nantes, France, September, 2006.
 - 22) Iwasaki Y, Akiyoshi K: Amphiphilic Biodegradable Polyphosphoesters. *The Annual Hamburg Macromolecular Symposium*, Hamburg, Germany, October, 2006.
 - 23) Iwata R, Iwasaki Y, Akiyoshi K: Protein Immobilized Block Copolymer Brushes for Well-defined Biointerface. *The Annual Hamburg Macromolecular Symposium*, Hamburg, Germany, October, 2006.
 - 24) Takadama H, Hashimoto M, Mizuno M: Preparation of Lubricant Solutions with Compositions Analogous to those of Bovine Serum for Wear Characterization of Hip Joint: *30th International Cocoa Beach Conference and Exposition on Advanced Ceramics & Composites*, Florida, U.S.A, January 26, 2006.
 - 25) Ishiyama N, Moro T, Ohe T, Miura T, Ishihara K, Konno T, Kimura M, Nakamura K, Kawaguchi H: Biocompatible phospholipid polymer hydrogel prevents tendon adhesion without impairing the healing. *53rd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS)*. San Diego, USA, February 11-14, 2007.
 - 26) Kyomoto M, Moro T, Konno T, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Miyaji F, Yamawaki N, Ishihara K: Advanced wear resistance of MPC grafted surface with various phosphate density on cross-linked polyethylene. *53rd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS)*. San Diego, USA, February 11-14, 2007.
 - 27) Kyomoto M, Moro T, Konno T, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Miyaji F, Ishihara K: High density grafting of nano-polymer makes ultra-longevity for artificial joints. *The 2007 Society for Biomaterials Annual Meeting and Exposition (SFB)*. Chicago, USA, April 18-21,

- 2007.
- 28) Kitano K, Matsuno R, Konno T, Takai M, Ishihara K: Surface grafting of biocompatible phospholipid polymers for obtaining excellent lubrication. *The 2007 Society for Biomaterials Annual Meeting and Exposition (SFB)*. Chicago, USA, April 18-21, 2007.
- 29) Goda T, Konno T, Takai M, Ishihara K: Biomembrane mimetic polymer layer constructed on polydimethylsiloxane: antibiofouling characteristics. *The 2007 Society for Biomaterials Annual Meeting and Exposition (SFB)*. Chicago, USA, April 18-21, 2007.
- 30) Ishihara K: Bioinspired phospholipid polymer for medical devices. *The American Association for the Advancement of Science*. Boise, USA, June 18, 2007.
- 31) Takadama H, Hashimoto M, Mizuno M: Artificial Lubricant Solution Analogous to Bovine Serum as a Test Medium for Wear Characterization of Artificial Hip Joint. *10th International Conference and Exhibition of the European Ceramic Society*. Berlin, Germany, June 17-21, 2007.
- 32) Hanawa T, Tanaka Y, Doi H, Kobayashi E, Yoneyama T: Immobilization of poly(ethylene glycol) to titanium surface. *The 11th World Conference on Titanium (JIMIC-5)*, Kyoto, Japan, June, 2007.
- 33) Sakamoto H, Hirohashi Y, Doi H, Tsutsumi Y, Yoneyama T, Hanawa T: Creation of titanium and segmented polyurethane composite through silane coupling agent for artificial organs. *The 6th International Symposium on Titanium in Dentistry*, Kyoto, Japan, June, 2007.
- 34) Tanaka Y, Saito H, Matsuo Y, Tsutsumi Y, Doi H, Yoneyama T, Hanawa T: Biofunctionalization of metal surface with electrodeposition. *The 6th International Symposium on Titanium in Dentistry*, Kyoto, Japan, June, 2007.
- 35) Oya K, Nakagawa R, Sakamoto H, Ito Y, Kimura T, Kobayashi E, Doi H, Kishida A, Hanawa T: Bone differentiation property of osteoblast-like cells on titanium and gold. *The 6th International Symposium on Titanium in Dentistry*, Kyoto, Japan, June, 2007.
- 36) Nishimura D, Doi H, Tsutsumi Y, Hanawa T, Kobayashi E: Elucidation of phosphate precipitation mechanism on Ti and Zr by cathodic polarization in Hanks' solution. *The 6th International Symposium on Titanium in Dentistry*, Kyoto, Japan, June, 2007.
- 37) Ishihara K: Polymer Biomaterials with Artificial Cell Membrane Surface. *SBE's 3rd International Conference on Bioengineering and Nanotechnology*. Biopolis, Singapore, August 15, 2007.
- 38) Goda T, Ishihara K: Biocompatible interface by brush structured phospholipid polymers. *SBE's 3rd International Conference on Bioengineering and Nanotechnology*. Biopolis, Singapore, August 15, 2007.

- 39) Iwata R, Iwasaki Y, Akiyoshi K: Oriented immobilization of antibody fragments on polymer brushes for highly sensitive biorecognition. **234th ACS National Meeting**, Boston, USA, August, 2007.
- 40) Tanaka Y, Tsutsumi Y, Doi H, Yoneyama T, Hanawa T: Electrodepositional immobilization manners of poly(ethylene glycol) on titanium. **BIOSURF VII Functional Interfaces for Directing Biological Response**, Zurich, Switzerland, Aug, 2007.
- 41) Iwasaki Y, Takami U, Shinohara K, Akiyoshi K: Control of cell function on carbohydrate-immobilized phosphorylcholine polymer surfaces, **Biosurf VII**, Zurich, Switzerland, September, 2007.
- 42) Iwata R, Iwasaki Y, Akiyoshi K: Site-directed immobilization of antibodies on well-defined polymer brushes. **Biosurf VII**, Zurich, Switzerland, September, 2007.
- 43) Kyomoto M, Moro T, Miyaji F, Hashimoto M, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Ishihara K: Nano-scale modification with 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymer brings to ultra-longevity for orthopaedic bearing. **3rd UHMWPE International Meeting**. Madrid, Spain, September 14-15, 2007.
- 44) Ishiyama N, Moro T, Miura T, Ohe T, Nakamura K, Kawaguchi H, Nakamura K: Biodissociatable phospholipid polymer hydrogel prevents tendon adhesion without impairing. **62nd annual meeting of the American Society for Surgery of the Hand (ASSH)**. Seattle, USA, September 27-29, 2007.
- 45) Hashimoto M, Mizuno M, Kitaoka S: Influence of Lubricant on Morphology of UHMWPE Debris in Hip Joint Simulator. **Archives of BioCeramics Research Volume 7**, Osaka, Japan, September 25-28, 2007.
- 46) Hashimoto M, Mizuno M, Kitaoka S, Kokubo T, Goto K and Nakamura T: Mechanical and Bioactive Behaviors of PMMA/TiO₂ Bone Cement. **The 24th International Japan-Korea Seminar on Ceramics**, Shizuoka, Japan, November 20-22, 2007.
- 47) Isihara K: Polymer Biomaterials with Artificial Cell Membrane Surface. **Polymeric Biomaterials in Future Medicine at Ajyu University**. Suwon, Korea, November 23, 2007.
- 48) Ishihara K: Polymer Biomaterials with Artificial Cell Membrane Surface. **Korean Society for Biomaterials**. Seoul Korea, November 23, 2007.
- 49) Iwasaki Y: Interfacing biomembrane-mimetic polymer surfaces with living cells. **The 1st International Symposium on Surface and Interface of Biomaterials**, Chengdu, China, November, 2007.
- 50) Sakamoto H, Hirohashi Y, Doi H, Noda K, Hanawa T: Effects of cross-linkage and hydroxyl groups on bonding strength between titanium and segmented polyurethane through 3-(trimethoxysilyl) propyl

- methacrylate. *The 6th Pacific Rim International Conference on Advanced Materials and Processing (PRICM6)*, Jeju Island, Korea, November, 2007.
- 51) Tanaka Y, Matsuo Y, Saito H, Tsutsumi Y, Doi D, Yoneyama T, Imai H, Hanawa T: Biofunctionalization of metal surface by immobilization of poly(ethylene glycol) terminated amine. *The 6th Pacific Rim International Conference on Advanced Materials and Processing (PRICM6)*, Jeju Island, Korea, November, 2007.
- 52) Kobayashi M, Matsuda Y, Kaido M, Suzuki A, Ishihara K, Takahara A: Enhance,emt of wear resistance in hydrophilic cross-linked polyelkectrolyte brushes under a wet condition. *10th Pacific Polymer Conference*. Kobe, Japan, December 4, 2007.
- 53) Matsuo Y, Tanaka Y, Tsutsumi Y, Doi H, Imai H, Hanawa T: Surface characterization of the orientation of poly(ethylene glycol) immobilized on titanium surface. *1st Asian Biomaterials Congress*, Tsukuba, Japan, December, 2007.
- 54) Nakamura K: Surface nano-grafting with biocompatible polymers for longevity of artificial hip joint. *The 6th UT-SNU Joint Coference 2008*. Tokyo, Japan, Frbruary 15, 2008.
- 55) Moro T, Takatori Y, Ishihara K, Kyomoto M, Motoi Y, Karita T, Ito H, Nakamura K, Kawaguchi H: Advanced wear resistance of artificial hip joints by nano-scaled grafting with biocompatible phospholipid polymers. *54th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS)*. San Francisco, USA, March 2-5, 2008.
- 56) Kyomoto M, Moro T, Konno T, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Miyaji F, Yamawaki N, Ishihara K: Advanced wear resistance of MPC grafted surface with various phosphate density on cross-linked polyethylene. *54th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS)*. San Francisco, USA, March 2-5, 2008.
- 57) Ishiyama N, Moro T, Miura T, Ohe T, Itoh S, Konno T, Yoshikawa M, Oyama T, Ishihara K, Nakamura K, Kawaguchi H: Biocompatible anti-adhesion effect of biodissociated phospholipid polymer hydrogel. *54th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (ORS)*. San Francisco, USA, March 2-5, 2008.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
- 1) 「低摩耗性摺動部材及びそれを用いた人工関節」
特願：2006-28529
出願日：2006.2.6
同様の内容で国際出願を予定
- 2) 「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」
特願：2006-91544
出願日：2006.03.29
同様の内容で国際出願を予定
- 3) 「低摩耗性摺動部材及びそれを用いた人工関節」
特願：2006-338601
出願日：2006.12.15
同様の内容で国際出願を予定

- 4) 「生体適合性および低摩擦性部材及びそれを用いた人工関節並びにその製造方法」

特願：2007-260191

出願日：2007.10.3

同様の内容で国際出願を予定

- 5) 「医療用具及びその製造方法」

特願 2007-330917

出願日：2007.12.21

同様の内容で国際出願を予定

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 （東京大学大学院医学系研究科 特任教授）
石原一彦 （東京大学大学院工学系研究科 教授）

研究要旨：高齢化が進む現在、外傷や疾患により関節がその機能を発揮できなくなったとき、その代替として用いられている人工関節の役割は益々大きくなっている。人工関節の寿命を左右する弛みは、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（Osteolysis）が主因である。したがって、我々は長寿命型人工股関節の開発のため、摩耗粉の抑制を目指し、人工股関節用超高分子量架橋 PE（CLPE）表面に生体適合性材料 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine ポリマー（PMPC）を光開始ラジカルグラフト重合（PMPC 処理）し、高い耐摩耗特性を実現した。本報告では、人工股関節における工学的な研究を完成させることを目的とし、MPC の至適処理条件：①紫外線の照射時間（重合時間）、②重合に用いられるモノマー濃度、③PMPC 処理後滅菌処理（ガンマ線滅菌）について検討した。重合時間を制御することで、CLPE 表面にグラフト結合される PMPC の密度が制御できた。90 分以上の重合により PMPC 処理することで、高密度 PMPC で覆われた CLPE の調製ができた。続いて、重合に用いるモノマー濃度の制御することで、表面に形成される PMPC 層の厚さが制御できた。0.25～0.50 mol/L の MPC モノマー水溶液において、均一な PMPC 層（厚さ 10～150 nm）により覆われた CLPE の調製ができた。また、PMPC 処理 CLPE を人工関節などの医療機器として使用する場合、不可欠である滅菌処理において、ガンマ線滅菌を選択することで、安定した非常に高い耐摩耗特性を得ることできると分かった。照射線量 25～50 kGy の照射を行なっても PMPC 処理 CLPE の特性に変化はなく、この範囲は適当なガンマ線照射線量であると分かった。以上の結果により、MPC の至適処理条件を見出すことができた。得られた条件により PMPC 処理を施すことで長寿命型人工股関節の実現が期待される。

A. 研究目的

高齢化が進む現在、外傷や疾患により関節がその機能を発揮できなくなったとき、その代替として用いられている人工関節の役割は益々大きくなっている。人工関節置換術は、30 年以上におよぶ実績のある手術方法である。この人工関節置換術においてイ

ンプラントの弛みは合併症の一つとして大きな問題となっている。これを防止することは、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（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（Osteolysis）が主因である。したがって、摩耗粉の抑制を

目指した様々な研究が行われてきた。近年では 1998 年頃より 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 PE (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。製造される条件は、メーカーにより様々であるが、多くの既報により CLPE によって *in vitro* における摩耗量は従来の PE に比較して 80~90% の低減を果たしている。臨床成績においても、CLPE は、良好な耐摩耗特性が確認され始めている一方で、*in vivo* における摩耗量は 40~60% 程度の低減にとどまっておき、さらなる改善が求められている。

我々は、人工関節面の耐摩耗性と生体適合性を同時に達成できれば、人工関節インプラントの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。そこで、分担研究者の石原らが開発した優れた生体適合性をもつ 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine ポリマー (PMPC) をナノオーダーでグラフト結合した CLPE 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 CLPE 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。この特性を活かし、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、を明らかにした。

本研究の目的は、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：①紫外線の照射時間（重合時間）、②重合に用いられるモノマー濃度、③PMPC 処理後滅菌処理（ガンマ線滅菌）について検討した。

B. 研究方法

1. PMPC の分析方法の検討

PMPC 処理 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

PMPC 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

PMPC 処理前後の CLPE 試験体の表面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 PMPC 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。

リン酸指数＝

1080cm^{-1} ピーク強度/ 1460cm^{-1} ピーク強度

③ 水による静的接触角の測定

CLPE 表面の静的な濡れ性(水による静的接触角)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。水による静的接触角は ISO 15989 規格に準拠し、液滴量 $1\ \mu\text{L}$ 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

PMPC 処理前後の CLPE 試験体表面の PMPC 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. PMPC 処理の至適条件の検討

① 紫外線の照射時間(重合時間)

CLPE 表面の PMPC 処理条件について、紫外線の照射時間(重合時間)を変化

させ、前述の同定方法を用いて評価を行い、至適な処理条件について検討した。

PE(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°C 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、PMPC 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 ($0.5\ \text{mol/L}$) 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、 $5\ \text{mW/cm}^2$ の紫外線(中心波長 350nm)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°C 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、PMPC 処理 CLPE 試験体を得た。

得られた MPC 処理 CLPE 試験体について、1 項に記述した条件にて、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。

② 重合に用いられるモノマー濃度

CLPE 表面の PMPC 処理条件について、モノマー処理濃度を変化させて、至適な処理条件について検討した。

2-①項において記述された CLPE 試験体と同じ CLPE 試験体に対し、PMPC 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、0~1.0 mol/L の MPC 水溶液を調製した。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 90 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°C 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、PMPC 処理 CLPE 試験体を得た。

得られた MPC 処理 CLPE 試験体について、1 項に記述した条件にて、XPS 分析、FT-IR 分析、水による静的接触角の測定、TEM 観察、ローダミン 6G を用いた蛍光顕微鏡観察を行なった。また、MPC 処理前後の CLPE 試験体の摩擦係数について、Ball-on-Flat 型摩擦試験機 (Tribostation 32, 新東科学(株)) により評価した (図 1)。すべり速度 50 mm/min、すべり距離 25 mm、荷重 0.98 N、運動周波数は 1 Hz とし、潤滑液には蒸留水 (室温) を用いた。



図 1. Ball-on-Flat 摩擦試験機

③ PMPC 処理後のガンマ線滅菌

CLPE 表面の PMPC 処理後のガンマ線滅菌について照射線量を変化させ、至

適な条件について検討した。

2-①項において記述された CLPE 試験体と同じ CLPE 試験体に対し、PMPC 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、0.5 mol/L の MPC 水溶液を調製した。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 90 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°C 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 処理 CLPE 試験体を得た。

得られた MPC 処理 CLPE 試験体について、窒素雰囲気中において 25 kGy 及び 50 kGy の照射線量によるガンマ線滅菌を行なった。

得られた MPC 処理 CLPE 試験体について、1 項に記述した条件にて、XPS 分析、FT-IR 分析、水による静的接触角の測定、2-②項に記述した条件にて、Ball-on-Flat 摩擦試験を行った。また、MTS 社製の人工股関節シミュレーターを用いて摩耗試験を行なった。人工股関節シミュレーターを用いた摩耗試験の試験条件は ISO 14242-1 に準じ、潤滑液には 0.1% のアジ化ナトリウムと 20 mM のエチレンジアミン四酢酸三ナトリウム (3Na-EDTA) を含有する 25% 牛血清を用い、毎秒 1 回の歩行周期 (1 Hz) に 183 と 280 kgf の 2 つのピークをもつ Double Peak Paul の歩行条件で行った。摩耗量は試験体の重量の変化を計測することにより求めた。

C. 研究結果

1. PMPC 処理の同定方法の検討

図2に、未処理CLPEおよびPMPC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、PMPC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、PMPC処理CLPEにはC-Oに帰属されるピーク(532 eV)が観察された。未処理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、PMPC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。

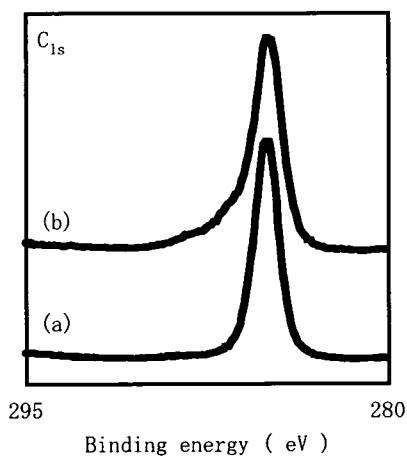


図2-A. CLPEおよびPMPC処理CLPEのXPSスペクトル(C_{1s})
(a) CLPE, (b) PMPC処理CLPE

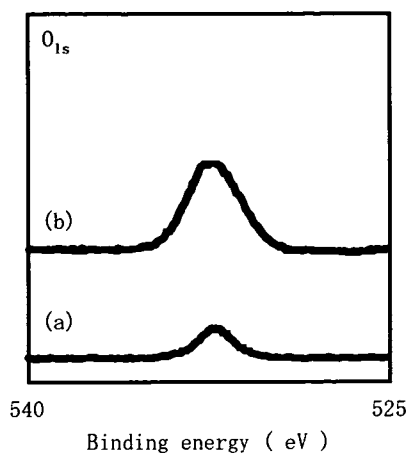


図2-B. CLPEおよびPMPC処理CLPEのXPSスペクトル(O_{1s})
(a) CLPE, (b) PMPC処理CLPE

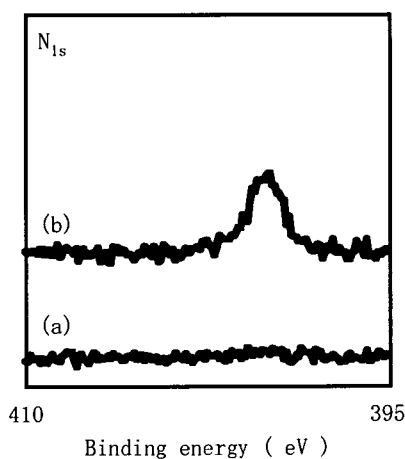


図2-C. CLPEおよびPMPC処理CLPEのXPSスペクトル(N_{1s})
(a) CLPE, (b) PMPC処理CLPE

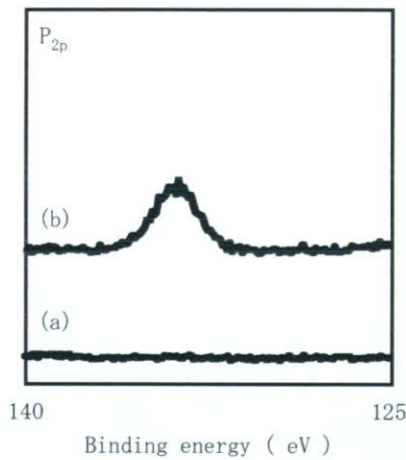


図 2-D. CLPE および PMPC 処理 CLPE の XPS スペクトル(P_{2p})
(a) CLPE, (b) PMPC 処理 CLPE

図 3 に、未処理 CLPE および PMPC 処理 CLPE の FT-IR/ATR スペクトルを示す。

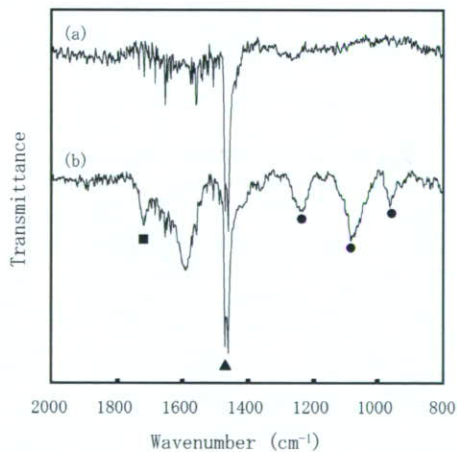


図 3. CLPE および PMPC 処理 CLPE の FT-IR/ATR スペクトル
(a) CLPE, (b) PMPC 処理 CLPE
● : P=O, ▲ : CH₂, ■ : C=O

未処理 CLPE、PMPC 処理 CLPE とともに 1460 cm⁻¹ 付近にメチレンに帰属されるピークが観察された。一方、PMPC

処理 CLPE にのみ 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。

図 4 に、未処理 CLPE および PMPC 処理 CLPE の水による接触角測定結果を示す。PMPC 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。

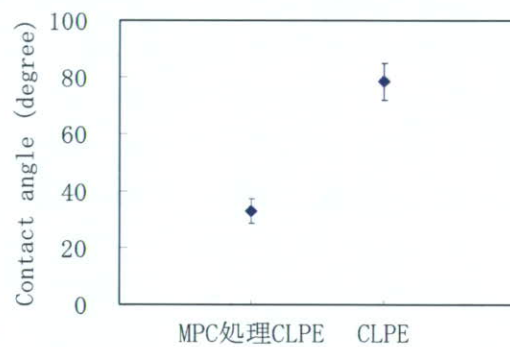


図 4. CLPE および PMPC 処理 CLPE の水による静的接触角

図 5 に、未処理 CLPE および PMPC 処理 CLPE の蛍光顕微鏡写真を示す。CLPE では、ほとんど蛍光発光が見られないのに対し、PMPC 処理 CLPE では、表面全域において発光が見られた。

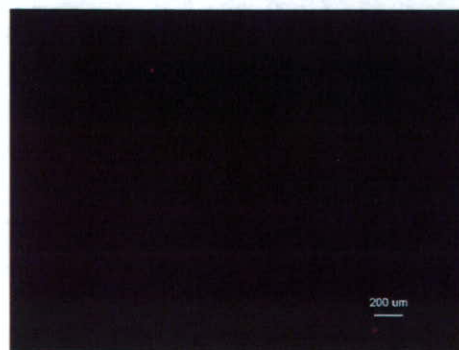


図 5-A. CLPE の蛍光顕微鏡写真 (5 倍)

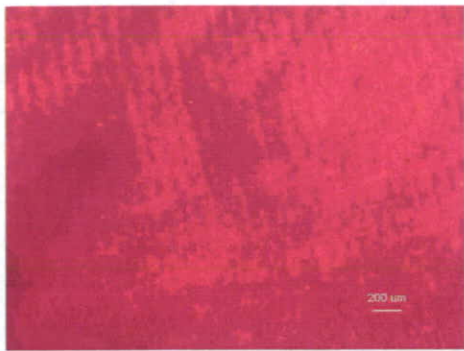


図 5-B. PMPC 処理 CLPE の蛍光顕微鏡写真 (5 倍)

図 6 に、未処理 CLPE および PMPC 処理 CLPE 試験体断面の TEM 写真を示す。CLPE 中には長さ約 100~400 nm、厚さ約 20 nm のラメラ構造が観察され、特に表面付近ではラメラ厚さが薄くなっていた。PMPC 処理 CLPE 表面には、厚さ 100~200 nm の PMPC 層が観察された。

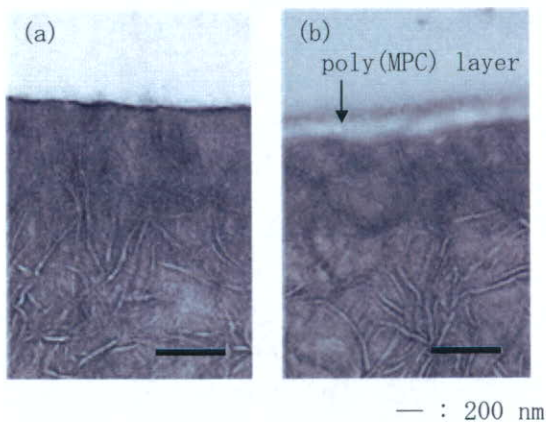


図 5. CLPE および PMPC 処理 CLPE の断面 TEM 写真

(a) CLPE, (b) PMPC 処理 CLPE

2. PMPC 処理の至適条件の検討

① 紫外線の照射時間 (重合時間)

表 1 に、照射時間 (重合時間) を変

えた PMPC 処理 CLPE の表面 XPS 原子濃度をまとめる。重合時間の増加とともに、N、P 原子濃度は増加した。重合時間 90 分において、表面原子組成は、理論的な PMPC のそれとほぼ同じであった。

表 1 重合時間を変えた PMPC 処理 CLPE の表面原子濃度 (atom%)

重合時間 (min)	C	O	N	P
0 (未処理 CLPE)	99.6	0.4	0.0	0.0
12	96.6	3.4	0.0	0.0
23	78.5	17.0	1.9	2.7
45	60.4	30.2	4.1	5.3
90	61.2	27.9	5.1	5.2
MPCポリマー*	57.9	31.6	5.3	5.3

*:理論的な MPC ポリマーの原子組成

表 2 に、処理時間を変えた PMPC 処理 CLPE の FT-IR/ATR スペクトルより算出したリン酸指数をまとめる。重合時間の増加とともに、リン酸指数は増加した。重合時間 45 分以上にて、リン酸指数はほぼ一定であった。

表 2 重合時間を変えた PMPC 処理 CLPE のリン酸指数

重合時間 (min)	リン酸指数 (P ₁₀₈₀ /P ₁₄₆₀)
0 (未処理CLPE)	0
12	0.11
23	0.32
45	0.46
90	0.48

表 3 に、処理時間を変えた PMPC 処理 CLPE の水による静的接触角をまと

める。重合時間の増加とともに、水による静的接触角は低下した。滅菌後の PMPC 処理 CLPE は、重合時間 23 分以上にて 15° 以下にまで低下し、極めて高い濡れ性を示した。

表 3 重合時間を変えた MPC 処理 CLPE の水による静的表面接触角

重合時間 (min)	接触角 滅菌前 (deg.)	接触角 滅菌後 (deg.)
0 (未処理CLPE)	90	90
12	70	52
23	56	13
45	42	13
90	25	14

図 6 に、処理時間を変えた PMPC 処理 CLPE の断面 TEM 写真を示す。重合時間が 45 分以上の PMPC 処理 CLPE 表面には、厚さ 100~200 nm の PMPC 層が観察された。重合時間が 23 分間の CLPE 表面は、PMPC 層が覆っている部分と覆っていない部分があった。覆っている PMPC 層の厚さは 100~200 nm であった。重合時間が 10 分間の CLPE 表面においては、PMPC 層の形成が認められなかった。

② 重合に用いられるモノマー濃度

表 4 に、種々の濃度の MPC 水溶液を用いて調整した PMPC 処理 CLPE 試験体表面の原子濃度をまとめる。また、特に MPC に由来する N、P 濃度と MPC 濃度の関係を図 7 に示す。グラフト重合に用いる MPC 水溶液の濃度が増加する ($0 \sim 0.5 \text{ mol/L}$) につれて、徐々に MPC に由来する N、P 濃度が増加した。その後、更に MPC 水溶液の濃度が増加する ($0.5 \sim 1.0 \text{ mol/L}$) につれて、N、P 濃度が減少した (表 1 および図 7)。

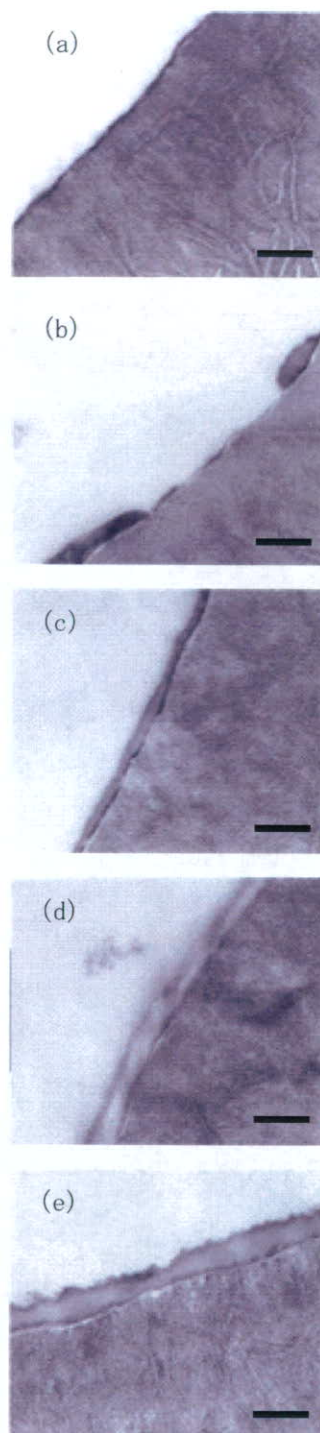


図 6 重合時間を変えた PMPC 処理 CLPE の断面 TEM 写真

- (a) 重合時間 12 分 PMPC 処理 CLPE
- (b) 重合時間 23 分 PMPC 処理 CLPE
- (c) 重合時間 45 分 PMPC 処理 CLPE
- (d) 重合時間 90 分 PMPC 処理 CLPE
- 重合時間 360 分 MPC 処理 CLPE

表 4. 種々の濃度の MPC 水溶液により調製した PMPC 処理 CLPE 試験体表面の原子濃度 (atom%)

MPC monomer concentration (mol/L)	(n=5)			
	C	O	N	P
0.00 (untreatment CLPE)	99.5 (0.2)	0.6 (0.2)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)
0.06	93.6 (3.4)	5.7 (2.9)	0.3 (0.3)	0.3 (0.3)
0.13	85.7 (4.1)	11.8 (3.8)	1.2 (0.1)	1.3 (0.3)
0.17	71.1 (4.8)	21.9 (2.9)	2.8 (0.2)	3.4 (0.2)
0.25	64.4 (1.8)	27.4 (1.8)	3.9 (0.3)	4.3 (0.2)
0.33	67.1 (4.6)	23.6 (3.4)	4.7 (0.4)	4.6 (0.6)
0.50	59.1 (1.3)	30.6 (1.1)	5.2 (0.1)	5.2 (0.3)
0.67	78.3 (1.9)	15.5 (1.7)	3.7 (0.4)	3.0 (0.3)
1.00	81.3 (3.5)	13.1 (2.7)	2.8 (0.5)	2.8 (0.4)
MPC polymer*	57.9	31.6	5.3	5.3

* : Theoretical elemental composition of MPC polymer
The standard deviations are shown in parentheses.

0.5 mol/L の MPC 濃度により重合した PMPC 処理 CLPE において、表面原子組成は、理論的な PMPC のそれとほぼ同じであった。

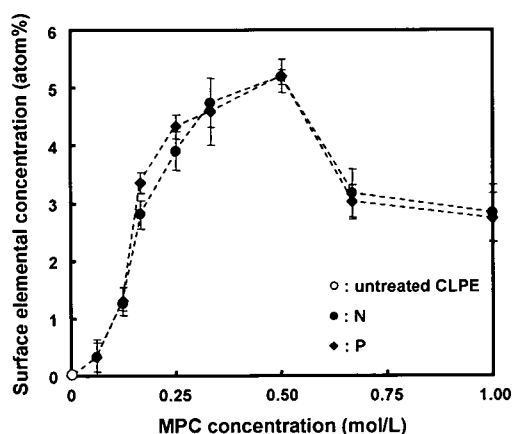


図 7. 種々の濃度の MPC 水溶液を用いて重合した PMPC 処理 CLPE 試験体表面の原子 (N、P) 濃度

用いて重合した PMPC 処理 CLPE の FT-IR/ATR スペクトルを示す。

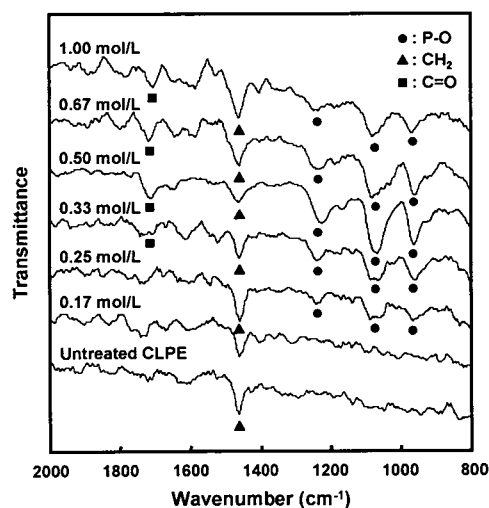


図 8. 種々の濃度の MPC 水溶液を用いて重合した PMPC 処理 CLPE 試験体表面の FT-IR/ATR スペクトル

● : P-O, ▲ : CH₂, ■ : C=O

図 8 に、種々の濃度の MPC 水溶液を

未処理 CLPE、MPC 処理 CLPE とともに

1460 cm^{-1} 付近にメチレンに帰属されるピークが観察された。一方、PMPC 処理 CLPE にのみ 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。グラフト重合に用いる MPC 水溶液の濃度が増加する (0 ~ 0.5 mol/L) につれて、徐々に MPC に由来するリン酸基に帰属されるピーク強度が増加した。その後、更に MPC 水溶液の濃度が増加する (0.5 ~ 1.0 mol/L) につれて、リン酸基に帰属されるピーク強度が減少した。

図 9 に、未処理 CLPE および PMPC 処理 CLPE の接触角測定結果を示す。

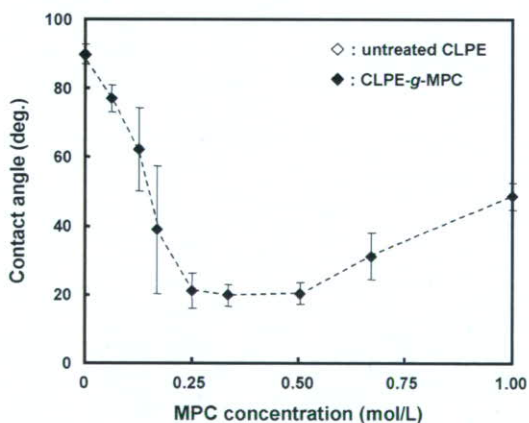
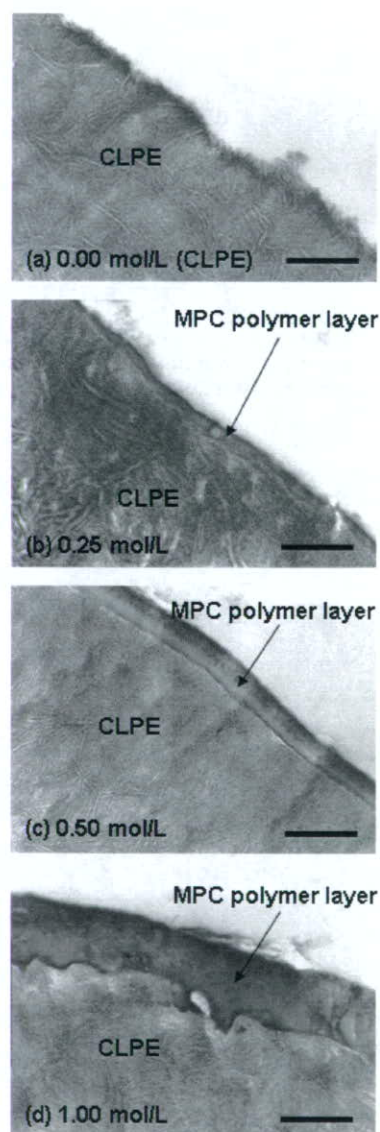


図 9. 種々の濃度の MPC 水溶液を用いて重合した PMPC 処理 CLPE 試験体表面の水による静的接触角

PMPC 処理することにより、水による静的接触角は小さくなり、濡れ性が高まった。MPC 水溶液の濃度が増加するにつれて、接触角は徐々に低下した。特に、0.25~0.50 mol/L の MPC 水溶液により重合した PMPC 処理 CLPE 表面の接触角は約 20° にまで低減した。その

後、0.67 mol/L 以上の MPC 水溶液により重合した PMPC 処理 CLPE 表面では、接触角が増加した。

図 10 に、種々の濃度の MPC 水溶液を用いて重合した PMPC 処理 CLPE の断面 TEM 写真を示す。



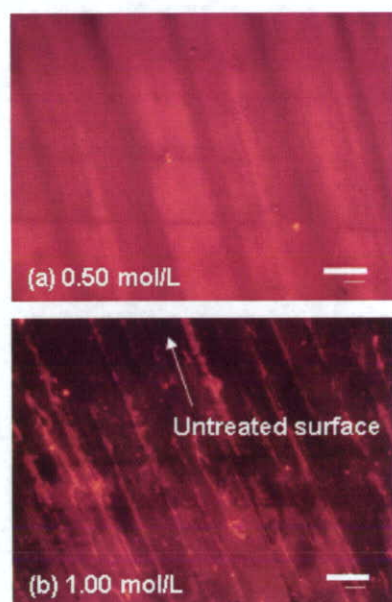
Bar: 200 nm

図 10. 種々の濃度の MPC 水溶液を用いて重合した PMPC 処理 CLPE の断面 TEM 写真

- (a) 未処理 CLPE
- (b) PMPC 処理 CLPE (MPC 濃度 0.25 mol/L)
- (c) PMPC 処理 CLPE (MPC 濃度 0.50 mol/L)
- (d) PMPC 処理 CLPE (MPC 濃度 1.00 mol/L)

0.25 mol/L 以上の MPC 水溶液により重合した PMPC 処理 CLPE 表面には、厚さ 10~250 nm の PMPC 層が観察された。重合に用いた MPC 水溶液の濃度が増加するにつれて、CLPE 表面に形成する PMPC 層の厚さも増大した。しかしながら、この報告書で最も厚い 250 nm の PMPC 層形成をみせた 1.00 mol/L の MPC 水溶液により重合した PMPC 処理 CLPE 表面では、部分的に PMPC 層が形成していない箇所も認められた。また、0.25 mol/L 未満の MPC 水溶液により重合した PMPC 処理 CLPE においても、表面に PMPC 層は認められなかった。

図 11 に、0.50 および 1.00 mol/L の MPC 水溶液により重合した PMPC 処理 CLPE の蛍光顕微鏡写真を示す。



Bar: 20 μ m

図 11. 0.50 および 1.00 mol/L の MPC 水溶液により重合した PMPC 処理 CLPE の蛍光顕微鏡写真 (5 倍)

- (a) MPC 処理 CLPE (MPC 濃度 0.50 mol/L)
- (b) MPC 処理 CLPE (MPC 濃度 1.00 mol/L)

0.50 mol/L の MPC 水溶液により重合した MPC 処理 CLPE では、表面全域において発光が見られたのに対し、1.00 mol/L の MPC 水溶液により重合した MPC 処理 CLPE では、一部に発光していない部分、つまり、MPC ポリマー層に覆われていない CLPE 表面が認められた。縦に走る線は、CLPE 試験体の機械加工時のマシンマークである。

図 12 に、種々の濃度の MPC 水溶液を用いて重合した PMPC 処理 CLPE の静摩擦係数 (μ_s) および動摩擦係数 (μ_d) を示す。

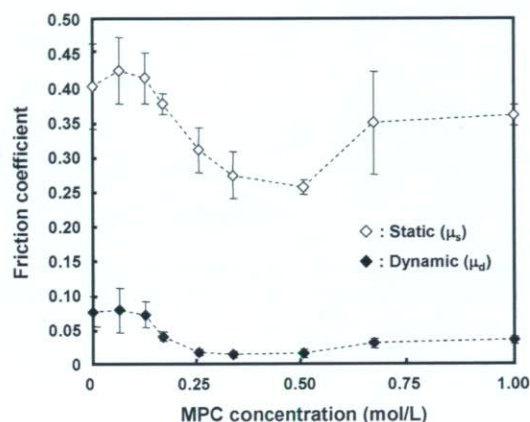


図 12. 種々の濃度の MPC 水溶液を用いて重合した PMPC 処理 CLPE の Ball-on-Flat 試験による摩擦係数

重合に用いた MPC 水溶液の濃度の増加とともに、PMPC 処理 CLPE の Ball-on-Flat 試験による静摩擦係数、動摩擦係数は低下した。0.25~0.50 mol/L の MPC 水溶液により重合した PMPC 処理 CLPE 表面の動摩擦係数は約 0.01~0.02 まで著しく低下した。これらの値は、未処理 CLPE のその約 1/8 であり、非常に低い値であった。

③ PMPC 処理後のガンマ線滅菌

図 13 にガンマ線滅菌前後における

PMPC 処理 CLPE の XPS スペクトルを示す。C_{1s} スペクトルにおいて、ガンマ線滅菌後において、C-C、C-H に帰属されるピーク強度が相対的に増加することが観察された。O_{1s} スペクトルにおいて、ガンマ線滅菌後、O²⁻ に帰属されるピーク強度が相対的に低下することが観察された。

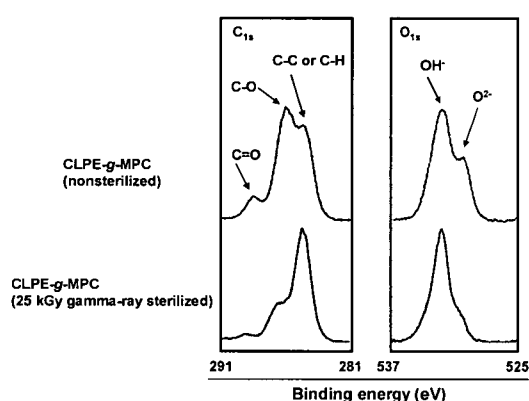


図 13. PMPC 処理 CLPE (CLPE-g-MPC) のガンマ線滅菌前後における XPS スペクトル (C_{1s} 及び O_{1s})

表 5 に、ガンマ線滅菌前後の CLPE および PMPC 処理 CLPE 試験体表面の原子濃度をまとめる。PMPC 処理 CLPE において、表面 N および P 原子組成は、理論的な PMPC のそれら (N = 5.3 atom%、

P = 5.3 atom%) とほぼ同じであった。また、ガンマ線滅菌後において、これらの値は変化しなかった。一方、ガンマ線滅菌後の PMPC 処理 CLPE の表面 C 原子濃度は、滅菌前の PMPC 処理 CLPE のそれと比較して、わずかに増加していた。

図 14 に、ガンマ線滅菌前後における PMPC 処理 CLPE の FT-IR/ATR スペクトルを示す。CLPE、PMPC 処理 CLPE ともに 1460 cm⁻¹ 付近にメチレンに帰属されるピークが観察された。一方、PMPC 処理 CLPE にのみ 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。ガンマ線滅菌前後において、PMPC 処理 CLPE の FT-IR/ATR スペクトルに変化は認められなかった。特に、照射線量 50 kGy のガンマ線滅菌を行なった場合においても同様に変化は認められなかった。

表 5. ガンマ線滅菌前後の CLPE 及び PMPC 処理 CLPE (CLPE-g-MPC) 表面の原子濃度 (atom%) (n = 5)

Sample (sterilization method)	C	O	N	P
CLPE (non-sterilized)	99.8 (0.3)**	0.2 (0.3)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)
CLPE (25 kGy γ -sterilized)	99.5 (0.2)	0.6 (0.2)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)
CLPE (50 kGy γ -sterilized)	99.1 (0.2)	0.9 (0.2)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)
CLPE-g-MPC (non-sterilized)	58.0 (0.2)	31.5 (0.2)	5.2 (0.1)	5.3 (0.1)
CLPE-g-MPC (25 kGy γ -sterilized)	63.7 (2.3)	26.0 (2.3)	5.2 (0.1)	5.1 (0.2)
CLPE-g-MPC (50 kGy γ -sterilized)	65.0 (0.6)	24.6 (0.5)	5.2 (0.1)	5.2 (0.1)
MPC polymer*	57.9	31.6	5.3	5.3

*Theoretical elemental composition of MPC polymer.

**The standard deviation is in parentheses.

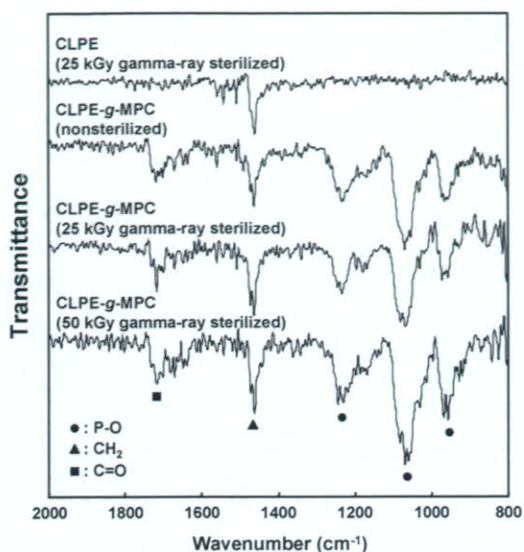


図 14. ガンマ線滅菌前後における PMPC 処理 CLPE (CLPE-g-MPC) 表面の FT-IR/ATR スペクトル
● : P-O, ▲ : CH₂, ■ : C=O

図 15 に、ガンマ線滅菌前後における CLPE および PMPC 処理 CLPE の水による静的接触角測定結果を示す。

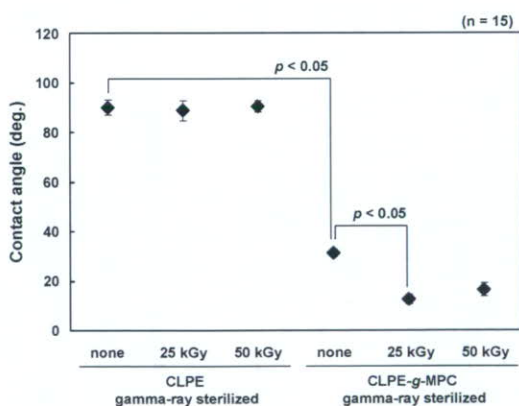


図 15. ガンマ線滅菌前後における CLPE および PMPC 処理 CLPE (CLPE-g-MPC) 表面の水による静的接触角

ガンマ線滅菌前後において、CLPE の接触角に変化は認められなかった。

照射線量 50 kGy のガンマ線滅菌を行った場合においても同様に変化は認められなかった。一方、PMPC 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。また、ガンマ線滅菌後、更に接触角は低下した。照射線量による違いは認められなかった。

図 16 に、ガンマ線滅菌前後における PMPC 処理 CLPE の静摩擦係数および動摩擦係数を示す。

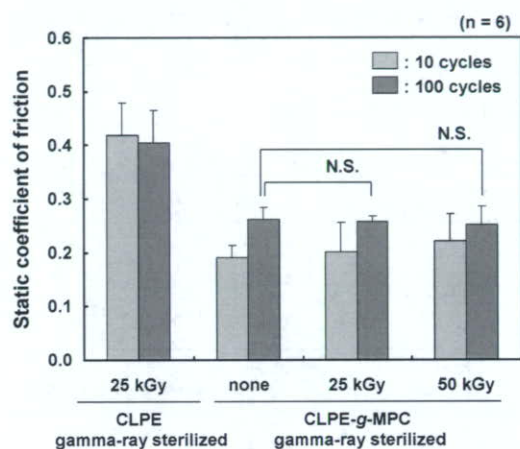


図 16-A. ガンマ線滅菌前後における PMPC 処理 CLPE (CLPE-g-MPC) 表面の静摩擦係数

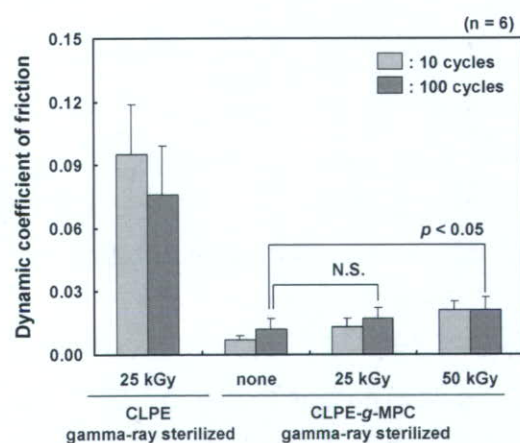


図 16-B. ガンマ線滅菌前後における PMPC 処理 CLPE (CLPE-g-MPC) 表面の動摩擦係数

PMPC 処理 CLPE 表面の静摩擦係数は約 0.2 であった。これらの値は、未処理 CLPE のその約 1/2 であった。ガンマ線滅菌の照射量による違いは認められなかった。PMPC 処理 CLPE 表面の動摩擦係数は約 0.01~0.02 まで著しく低下した。これらの値は、未処理 CLPE のその約 1/8 であり、非常に低い値であった。また、MPC 処理 CLPE 表面の動摩擦係数は、ガンマ線滅菌の照射量が増加するに伴って、わずかに増加した。

図 17 に、500 万サイクルの人工股関節シミュレーション試験による CLPE および PMPC 処理 CLPE の摩耗特性を示す。

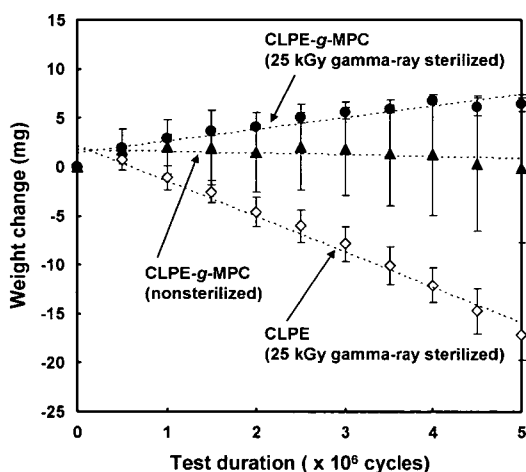


図 17. 人工股関節シミュレーション試験による PMPC 処理 CLPE (CLPE-g-MPC) の摩耗特性

PMPC 処理 CLPE は、未処理 CLPE と比較して低い摩耗量であった。特に、ガンマ線滅菌を行なった PMPC 処理 CLPE は、非常に低い摩耗量であり、安定した特性を示した。ガンマ線滅菌を行っていない PMPC 処理 CLPE の摩耗量は、

個体による差が大きかった。

D. 考察

PMPC 処理 CLPE 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、CLPE に処理された PMPC、もしくは PMPC 処理された CLPE の特性を把握するのに有用であると考えられた。しかしながら、一方で多くの分析方法は被験物質の破壊を伴い、これについては、今後の更なる分析技術向上が望まれる。

また、本報告書では、上記分析技術を用いて、MPC 処理の至適処理条件の確立について検討した。一般にラジカル重合では、重合時間は反応するモノマー数（開始点の数）に対応する。従って、紫外線照射時間の制御により表面にグラフト結合される PMPC の密度が変化すると考えられた。これに基づき、高密度の PMPC 層を得るため、紫外線の照射時間（重合時間）を制御した。表 1 に示めされるように、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る。重合時間 90 分の PMPC 処理 CLPE の原子濃度は 5.1、5.2 であり、理論的な PMPC の値とほぼ同じになっている。紫外線照射時間を長くするに伴って、CLPE の表面上に PMPC 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 PMPC 層の厚みは、何れの状態でも 100~200 nm であった。しかし、PMPC 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