

图 7-1

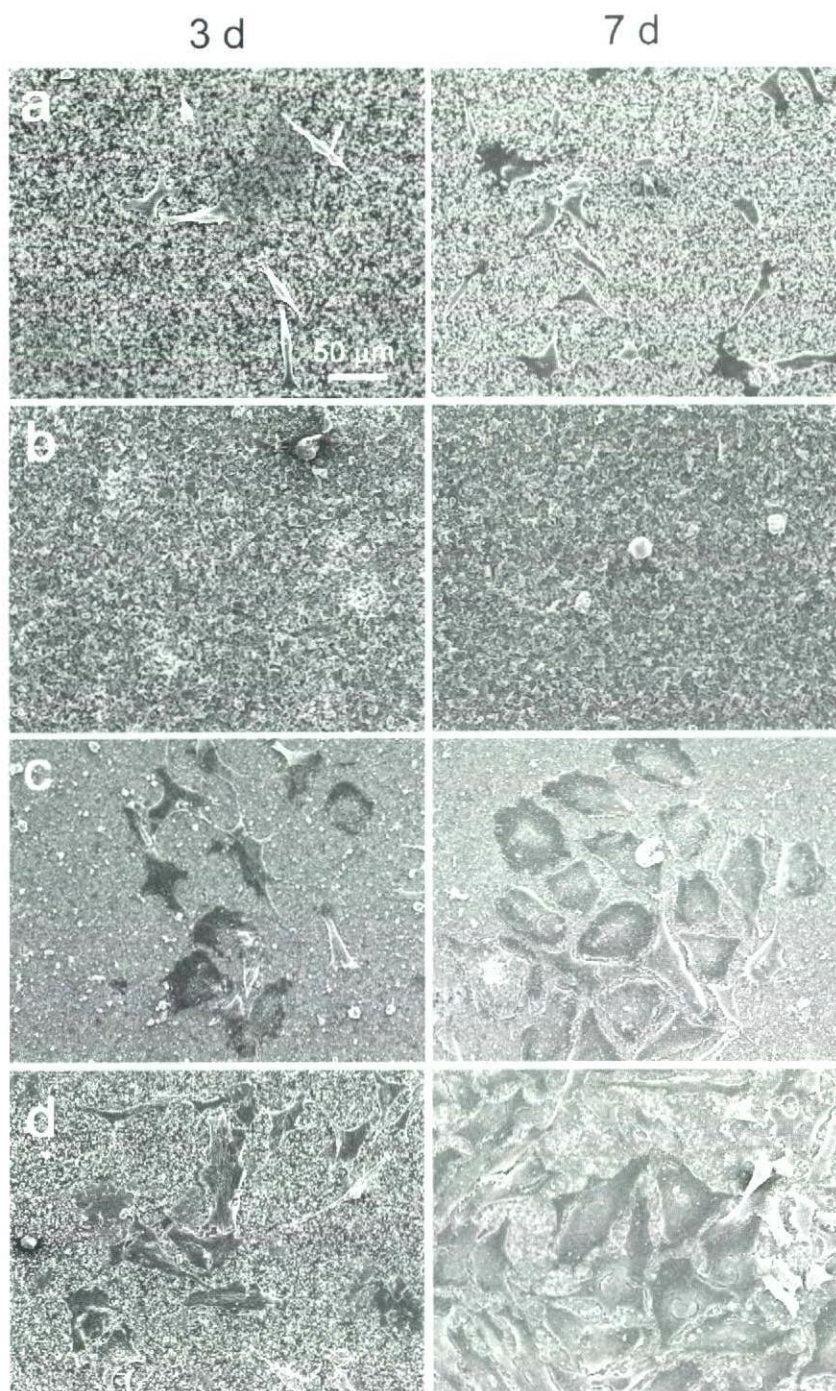


图 7-2

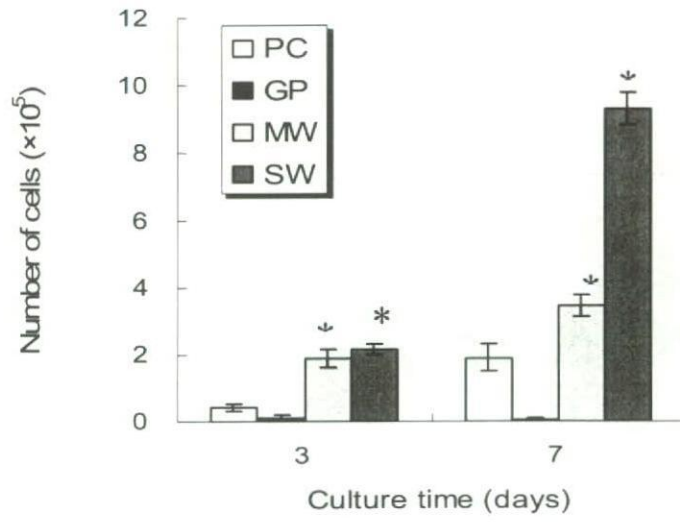


图 7-3

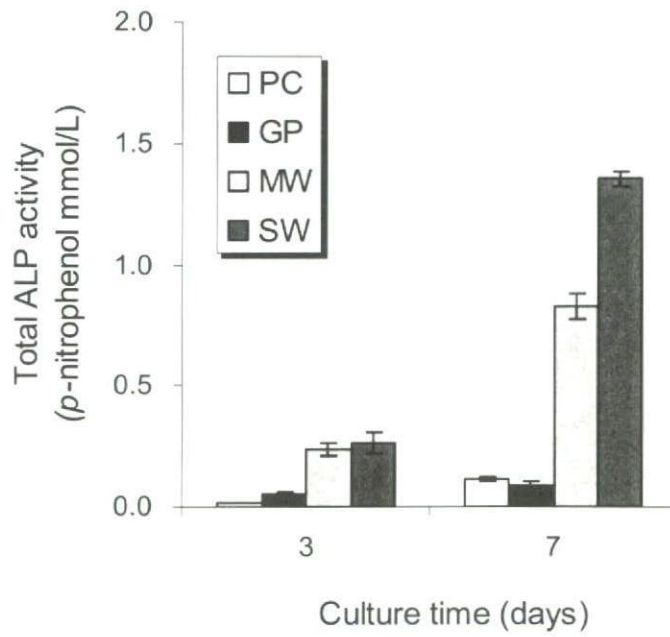


图 7-4

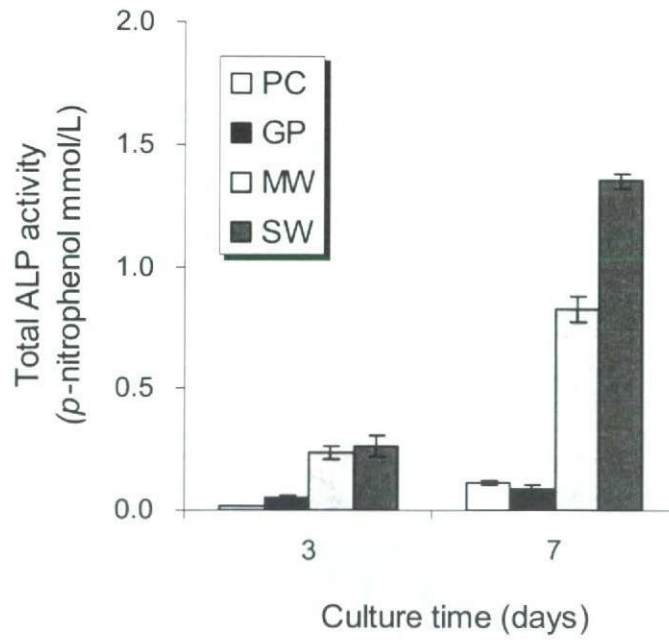


图 7 - 5

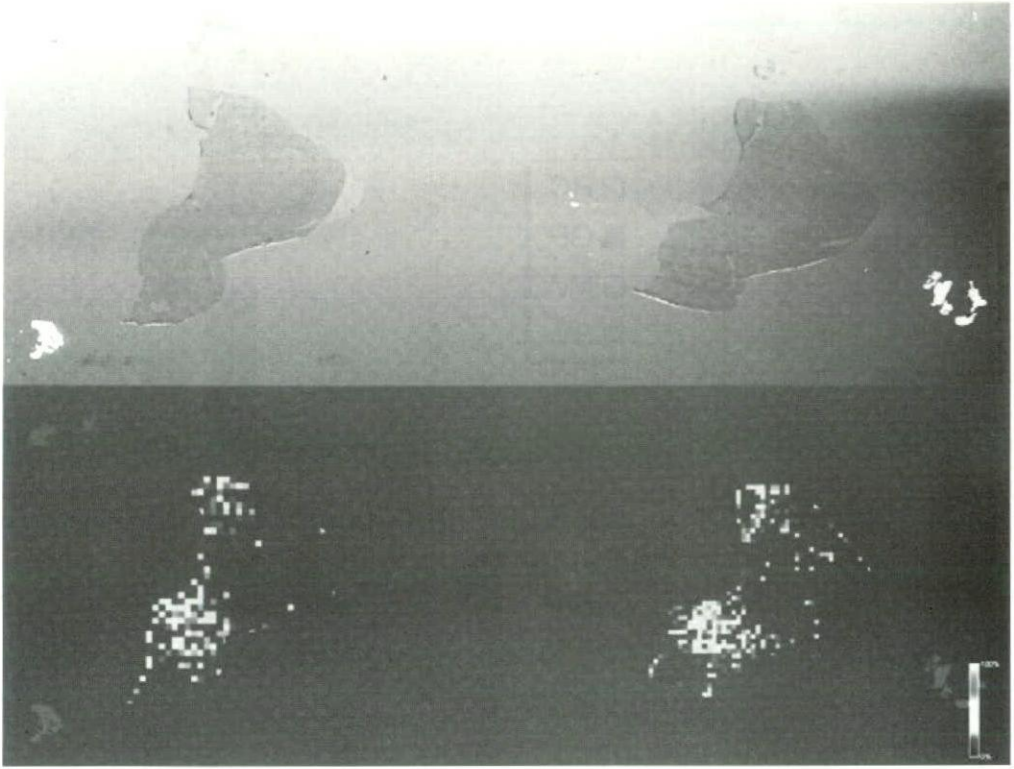


图 8-1

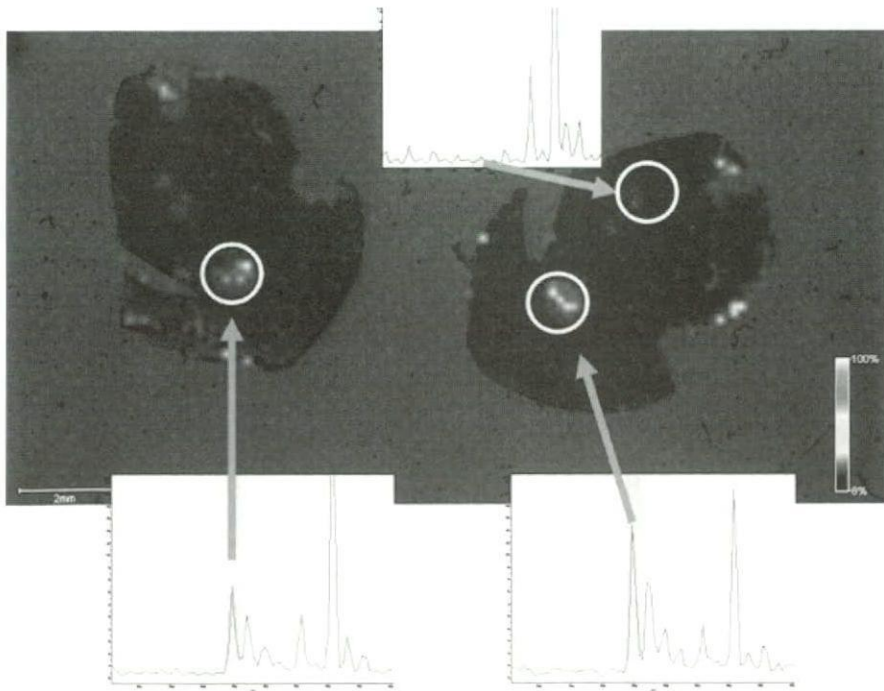


图 8-2

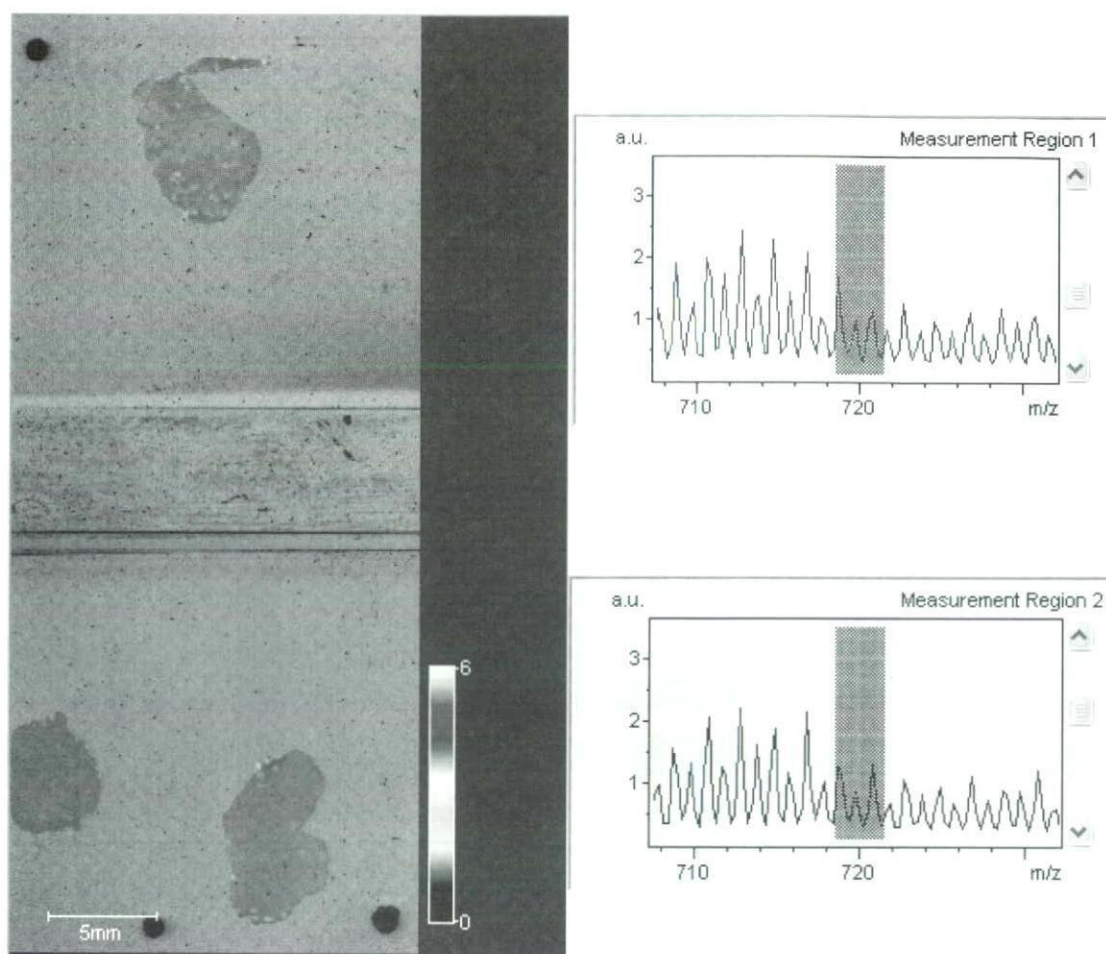


图 8-3

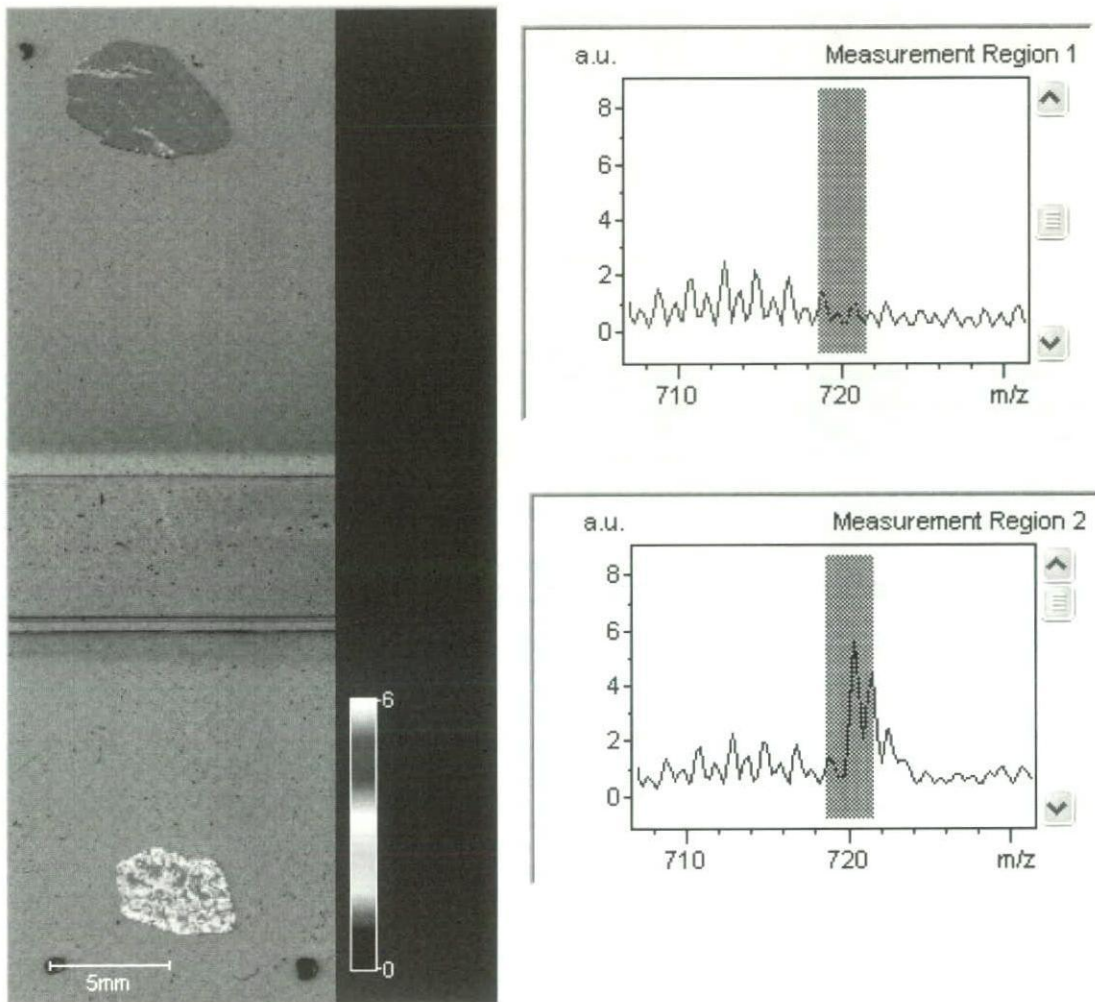


图 8-4

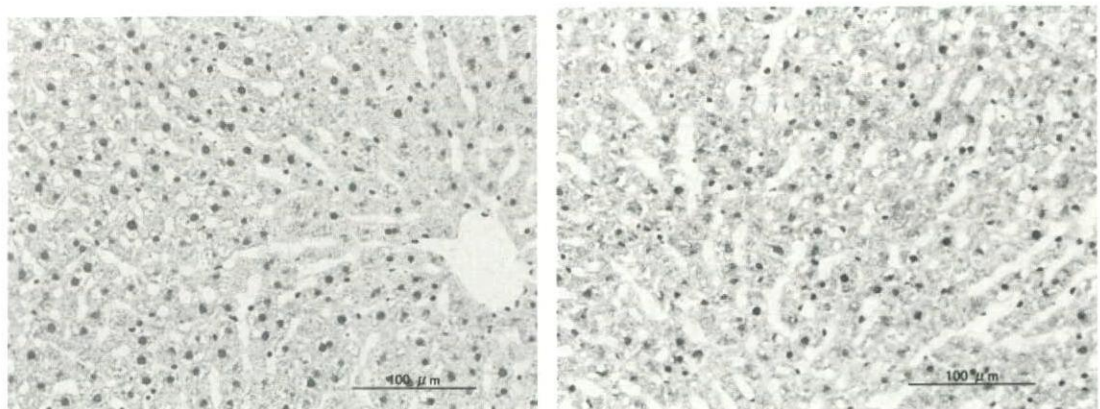
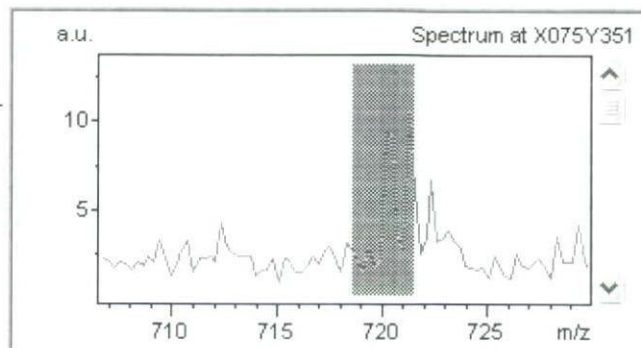
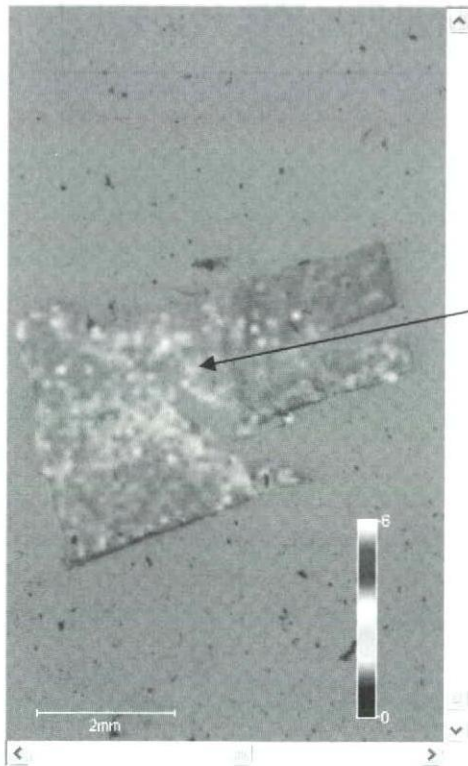
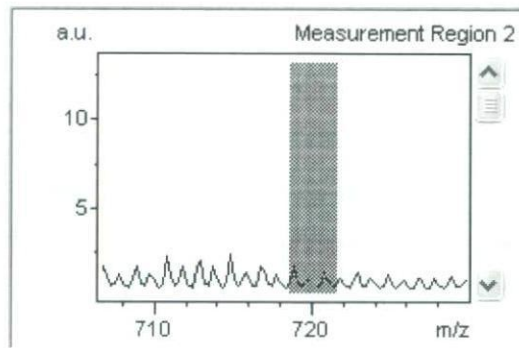
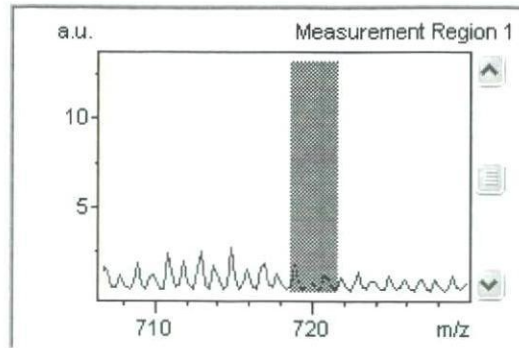
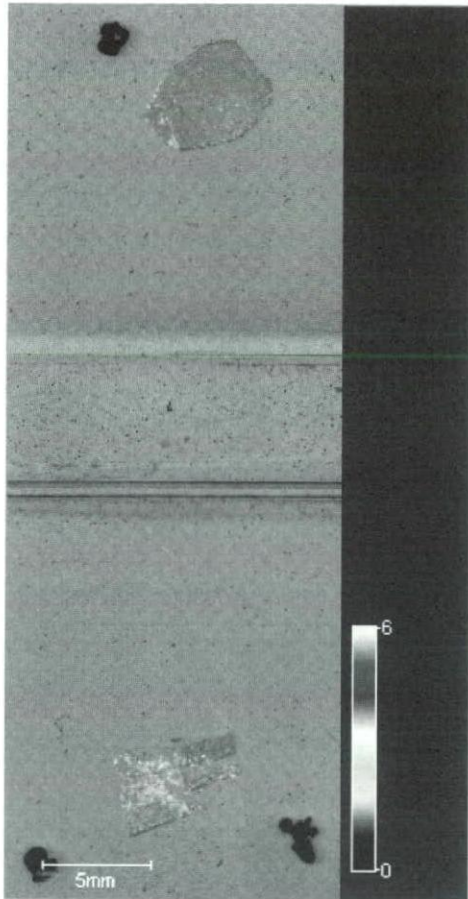


图 8-5



☒ 8 - 6

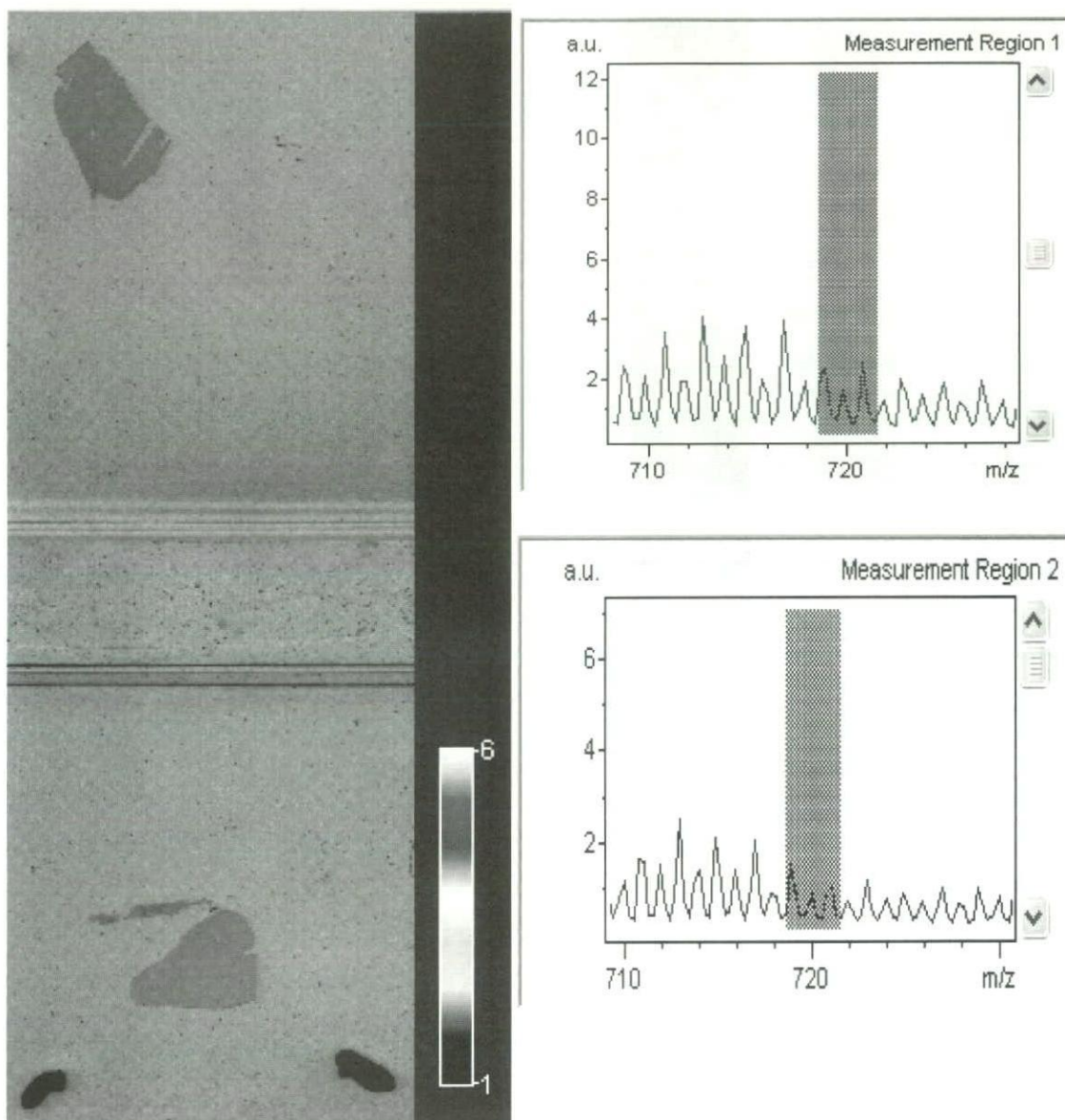


图 8-7

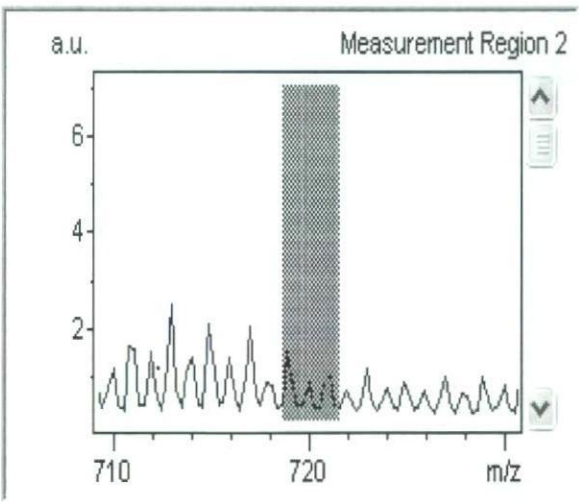
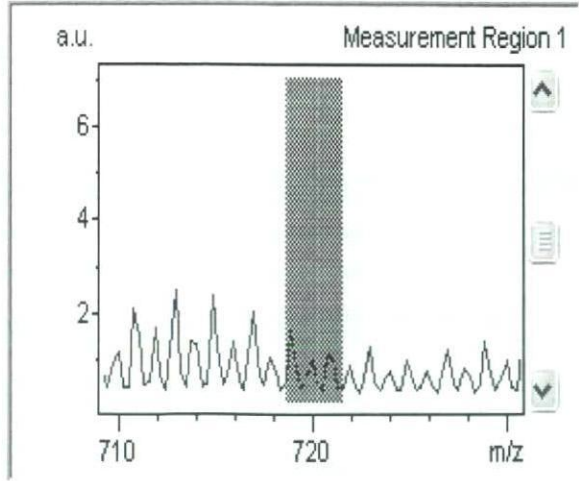
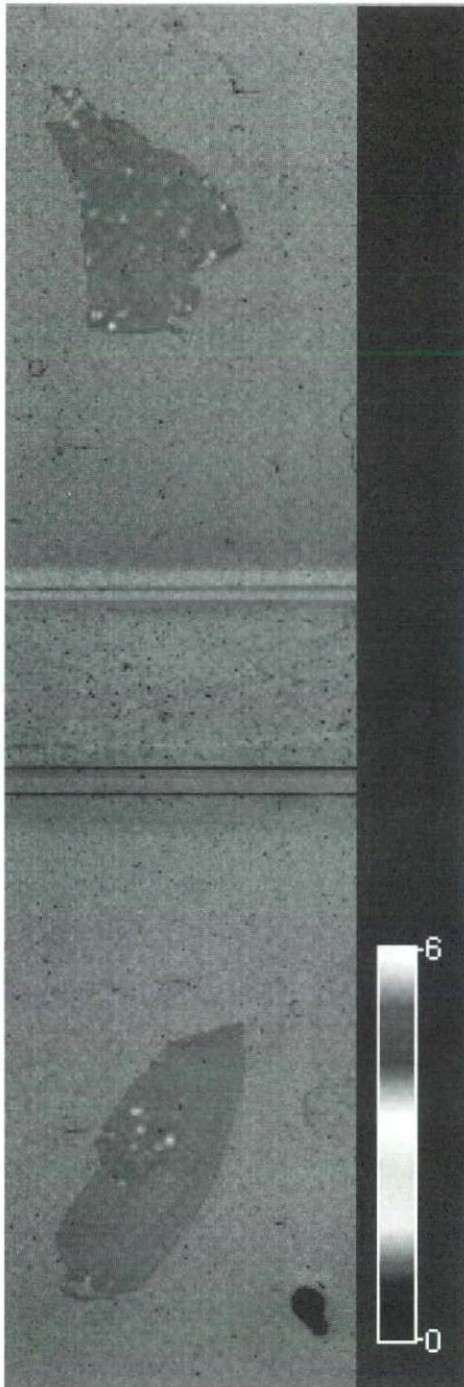


图 8-8

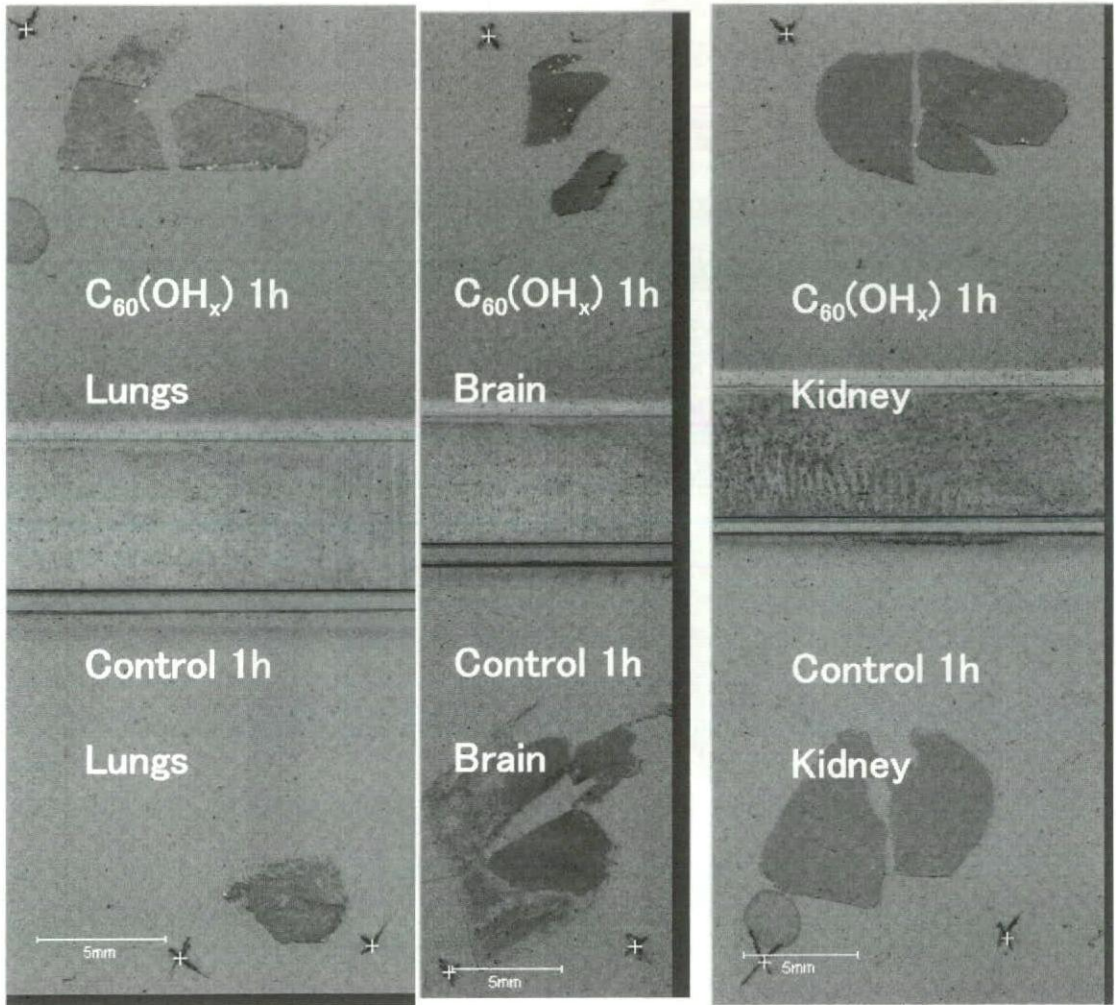


图 8-9

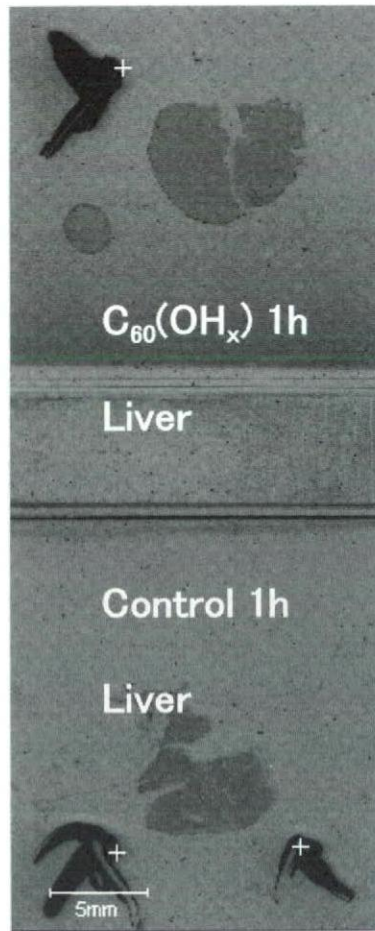


图 8-10

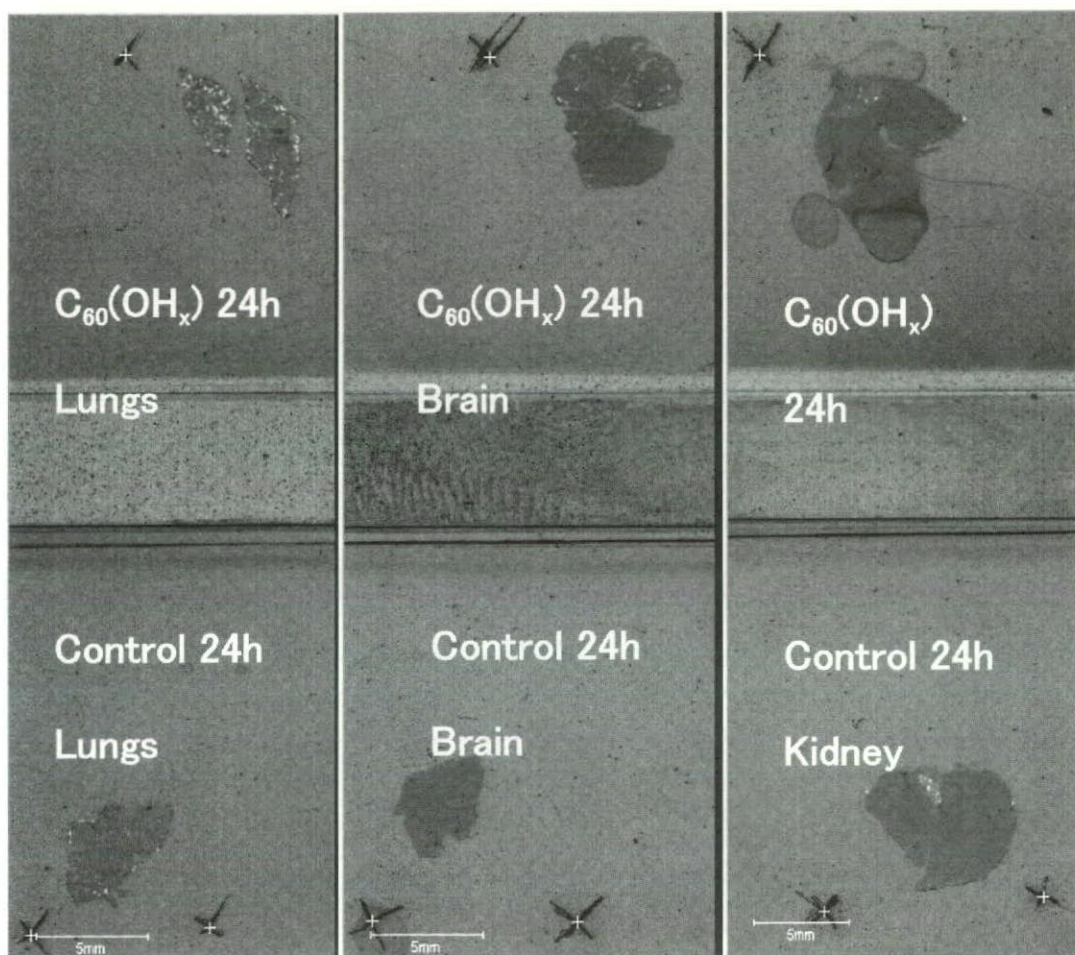
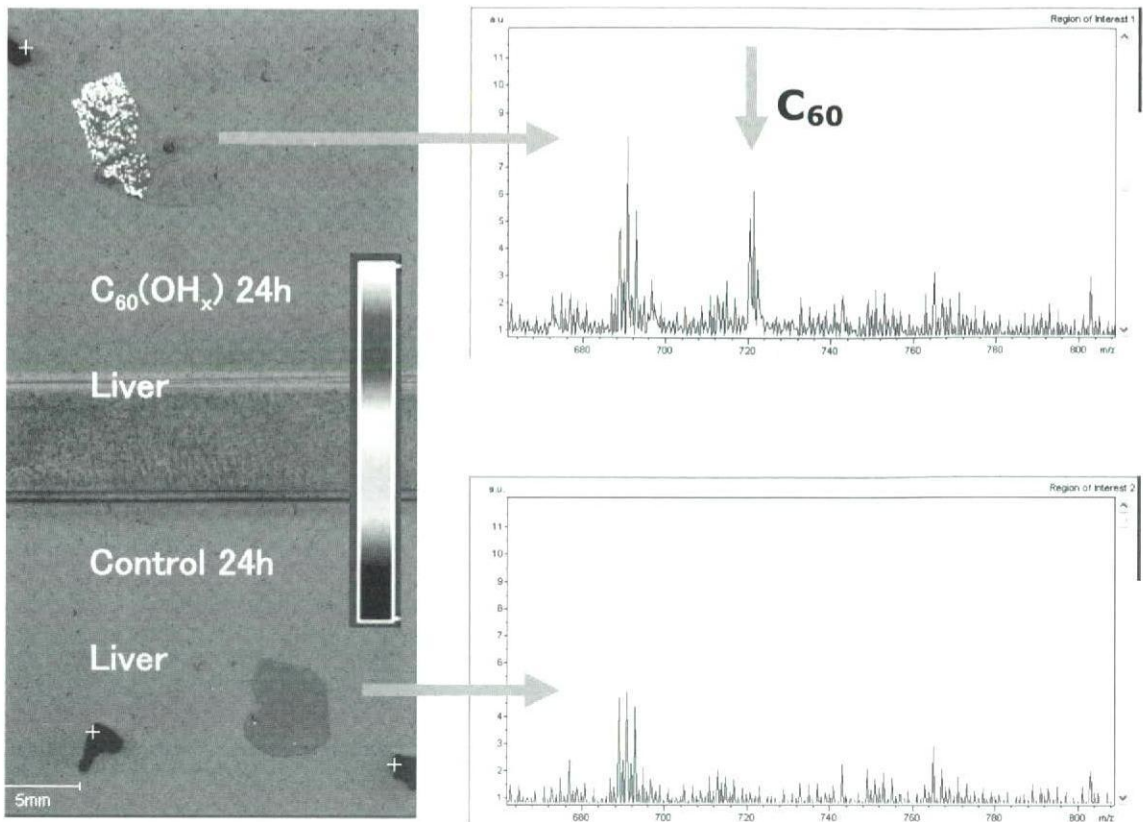


图 8-11



☒ 8 - 1 2

付図説明

図 1

MWCNTs

a: 220MWCNTs b: 825MWCNTs c: TEM 像 d: 220MWCNTs の粒度分布 e: 825MWCNTs の粒度分布

図 2

H-CNFs

a: 600H-CNFs b: 1200H-CNFs c: TEM 像 d: 600H-CNFs の粒度分布 e: 1200H-CNFs の粒度分布 f: H-CNFs のシェーマ

図 3

埋入手術

図 4 - 1

220MWCNTs 埋入 1 週後の光学顕微鏡像

図 4 - 2

220MWCNTs 埋入 1 週後の TEM 像

図 4 - 3

220MWCNTs 埋入 1 6 週後の光学顕微鏡像

図 4 - 4

220MWCNTs 埋入 1 6 週後の TEM 像

図 4 - 5

220MWCNTs 埋入 1 年後の光学顕微鏡像

図 4 - 6

220MWCNTs 埋入 1 年後の光学顕微鏡像 (強拡大)

図 4 - 7

220MWCNTs 埋入 1 年後の TEM 像

図 4 - 8

220MWCNTs 埋入 2 年後の光学顕微鏡像

図 4 - 9

220MWCNTs 埋入 2 年後の光学顕微鏡像 (強拡大)

図 4 - 1 0

220MWCNTs 埋入 2 年後の TEM 像

図 4 - 1 1

825MWCNTs 埋入 1 週後の光学顕微鏡像

図 4 - 1 2

825MWCNTs 埋入 1 週後の TEM 像

図 4 - 1 3
825MWCNTs 埋入 1 週後の TEM 像

図 4 - 1 4
825MWCNTs 埋入 1 週後の高分解能 TEM 像

図 4 - 1 5
825MWCNTs 埋入 1 6 週後の光学顕微鏡像

図 4 - 1 6
825MWCNTs 埋入 1 6 週後の光学顕微鏡像 (強拡大像)

図 4 - 1 7
825MWCNTs 埋入 1 6 週後の TEM 像

図 4 - 1 8
825MWCNTs 埋入 1 6 週後の TEM 像

図 4 - 1 9
825MWCNTs 埋入 1 年後の光学顕微鏡像

図 4 - 2 0
825MWCNTs 埋入 1 年後の TEM 像

図 4 - 2 1
825MWCNTs 埋入 1 年後の超高压超高分解能 TEM 像

図 4 - 2 2
825MWCNTs 埋入 2 年後の光学顕微鏡像

図 4 - 2 3
825MWCNTs 埋入 2 年後の光学顕微鏡像 (強拡大)

図 4 - 2 4
825MWCNTs 埋入 2 年後の高分解能 TEM 像

図 4 - 2 5
825MWCNTs 埋入 2 年後の高分解能 TEM 像

図 5 - 1
600H-CNFs 埋入 1 週後の光学顕微鏡像

図 5 - 2
600H-CNFs 埋入 1 週後の TEM 像

図 5 - 3
600H-CNFs 埋入 1 6 週後の光学顕微鏡像

図 5 - 4
600H-CNFs 埋入 1 6 週後の TEM 像

図 5 - 5
600H-CNFs 埋入 1 年後の光学顕微鏡像

図 5 - 6

600H-CNFs 埋入 1 年後の TEM 像

図 5 - 7

600H-CNFs 埋入 2 年後の光学顕微鏡像

図 5 - 8

600H-CNFs 埋入 2 年後の光学顕微鏡像 (強拡大)

図 5 - 9

600H-CNFs 埋入 1 年後の高分解能 TEM 像

図 5 - 1 0

600H-CNFs 埋入 1 年後の高分解能 TEM 像

図 5 - 1 1

1200H-CNFs 埋入 1 週後の光学顕微鏡像

図 5 - 1 2

1200H-CNFs 埋入 1 週後の TEM 像

図 5 - 1 3

1200H-CNFs 埋入 1 6 週後の光学顕微鏡像

図 5 - 1 4

1200H-CNFs 埋入 1 6 週後の TEM 像

図 5 - 1 5

1200H-CNFs 埋入 1 年後の光学顕微鏡像

図 5 - 1 6

1200H-CNFs 埋入 1 年後の TEM 像

図 6 - 1

コラーゲンスポンジ埋入 1 週後の光顕像 (HE 染色)

図 6 - 2

コラーゲンスポンジ埋入 1 週後の光顕像 (HE 染色) 強拡大

図 6 - 3

多層カーボンナノチューブコートコラーゲンスポンジ埋入 1 週後の光顕像 (HE 染色)

図 6 - 4

多層カーボンナノチューブコートコラーゲンスポンジ埋入 1 週後の光顕像 (HE 染色)
強拡大

図 6 - 5

多層カーボンナノチューブコートコラーゲンスポンジ埋入 4 週後の光顕像 (HE 染色)

図 6 - 6

多層カーボンナノチューブコートコラーゲンスポンジ埋入 4 週後の光顕像 (HE 染色)

図7-1

各種スキャホールドに対するタンパク吸着試験

図7-2

各スキャホールド上で培養した細胞の形態

3 d : 3日後 7 d : 7日後

a : PC b : GP c : MWCNTs d : SWCNTs

図7-3

各スキャホールド上での細胞数

図7-4

総 ALP 活性の各スキャホールドの比較

図7-5

単位タンパク量あたりの ALP 活性の各スキャホールドの比較

図8-1

MALDI-TOF-MS 像

上 : フラーレン注入ラット肝臓の凍結切片光顕像

下 : フラーレンの TOF-MS 像

図8-2

グルコース鎖結合フラレンの TOF-MS 像とハイライト部位の積算スペクトル

図8-3

フラレン静注1時間後の脳のマッピング像

上段 : コントロール (生食)

下段 : フラーレン

図8-4

フラレン静注1時間後の肝臓のマッピング像

上段 : コントロール (生食)

下段 : フラーレン

図8-5

肝臓の HE 染色像. 左 : 生食, 右 : フラーレン

図8-6

フラレン静注1時間後の腎臓のマッピング像

上段 : コントロール (生食)

下段 : フラーレン

図8-7

フラレン静注24時間後の肝臓のマッピング像

図8-8

フラレン静注24時間後の脳のマッピング像

図8-9

フラールレン静注1時間後の肺、脳、腎のマッピング像

上段：フラールレン

下段：コントロール

図8-10

フラールレン静注1時間後の肝のマッピング像

上段：フラールレン

下段：コントロール

図8-11

フラールレン静注24時間後の肺、脳、腎のマッピング像

上段：フラールレン

下段：コントロール

図8-12

フラールレン静注24時間後の肝のマッピング像とスペクトル

上段：フラールレン

下段：コントロール

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

バイオ微粒子により惹起される異物性炎症反応による
骨吸収の可視化評価モデルの開発に関する研究

分担研究者 遠山 晴一 北海道大学病院准教授
研究協力者 小野寺 伸 北海道大学医学研究科助教

研究要旨 人工関節置換術後に磨耗微粒子によって誘発されるインプラント周囲の骨溶解の原因として、磨耗粉が滑膜マクロファージを刺激して TNF- α や IL-1 などの骨吸収性サイトカインが放出され、破骨細胞の分化が促進されるというカスケードが提唱されている。本研究では磨耗粉刺激により生じる異物性炎症反応の評価モデルとしてマウスの頭頂骨上に磨耗粉を負荷する骨吸収発生モデルを作成し、NF κ B 活性化によって生じる化学発光をバイオイメーキングアナライザーにより検出・定量化した。本システムは磨耗粉により生じる炎症性反応をマウスを生かしたまま検出することが可能であり、磨耗粉の材質や粒径による起炎性の違いや、磨耗粉誘発性骨溶解の薬剤による治療・予防効果のスクリーニング等に有用であると思われる。さらに TNF- α や IL-1 などの骨吸収性サイトカインをこれらの最も上流で制御する因子と目されるマクロファージ遊走阻止因子 (MIF) に対する自己抗体を産生させる目的で MIF-DNA ワクチンの開発を行った。MIF-DNA ワクチンは磨耗微粒子によって生じる骨吸収発生モデルへの応用が期待できるものと考えられた。

A. 研究目的

人工関節置換術後に磨耗微粒子によって誘発されるインプラント周囲の骨溶解（オステオライシス）は最も重要な合併症の一つであり、インプラントの耐用年数や臨床成績に大きな影響を及ぼす。このオステオライシスの原因として、従来インプラントのアラインメントなどバイオメカニカルな因子が重視されてきたが、近年、バイオリジカルな機序が注目されている。すなわち、人工関節の主として摺動面より生じた磨耗微粒子が滑膜の細胞（主にマクロファージ）を刺激して、TNF- α や IL-1 などの骨吸収性サイトカインや、COX-2 の誘導を介してのプロスタグランジン E2 の産生をうながし、これらは骨芽細胞・ストローマ細胞の RANKL 発現を介した破骨細胞分化を促して、インプラント周囲の、関節液・磨耗

粉がアクセスしうる部位でのオステオライシスを生じさせるというものである。

Nuclear factor kappa B (NF κ B) は炎症をつかさどる転写調節因子としてその地位は確立している。LPS や炎症性サイトカインやフリーラジカル等に代表される炎症刺激シグナルが細胞に入ると、細胞内シグナル伝達経路をへて核外にある NF κ B complex より I κ B が遊離し、遊離した NF κ B は核内に移行して、たとえば炎症性サイトカインのゲノム DNA のプロモーター領域にある NF κ B 結合領域に結合し、下流の配列の mRNA への転写を促す。現在ほとんどの炎症性サイトカインは NF κ B により何らかの転写制御を受けることが判明しており、またマクロファージが磨耗粉刺激に応じて炎症性サイトカインを産生・分泌するメカニズムにも NF κ B は必須であると報告