

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

高齢者の寝たきり予防に役立つ  
ナノ表面構築型人工股関節の開発に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 高取吉雄

平成23（2011）年 4月

## 目次

I.	総括研究報告	
	高齢者の寝たきり予防に役立つ	1
	ナノ表面構築型人工股関節の開発に関する研究	
	高取吉雄	
II.	分担研究報告	
1.	MPC 処理の至適条件の検索	31
	石原一彦・伊藤英也・山脇昇	
2.	ポリエチレン (PE) 厚が MPC 処理効果に与える影響の検討	47
	高取吉雄・金野智浩	
3.	MPC ポリマー処理した関節摺動面の耐摩耗性の評価	69
	中村耕三・橋本雅美	
4.	股関節シミュレーター試験における関節摺動面の評価	83
	塙隆夫・京本政之	
5.	股関節シミュレーター試験における摩耗粉の解析	101
	川口浩・岩崎泰彦	
6.	関節摺動面の安定性の検討	127
	茂呂徹・苅田達郎	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	137
IV.	研究成果の刊行物・別刷	141

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）

## 総括研究報告書

高齢者の寝たきり予防に役立つナノ表面構築型人工股関節の開発に関する研究

主任研究者 高取吉雄（東京大学大学院医学系研究科 特任教授）

研究要旨：本研究の目的は、生体適合性材料・MPC ポリマーのナノ表面処理技術を応用し、安定性と耐摩耗性に優れ、高齢者の寝たきり予防に役立つ革新的なナノ表面構築型人工股関節を開発することである。今年度は、① MPC 処理の至適条件の検索、② ポリエチレン厚が MPC 処理効果に与える影響の検討、③ 摩耗抑制効果（耐久性）の検討、④ 関節摺動面の安定性の検討を行った。

MPC 処理の至適条件の検索では、MPC によるナノ表面処理時の紫外線強度について至適条件を検索した。この結果紫外線強度の制御により表面にグラフトされる PMPC 層が制御できた。紫外線強度  $3.5\sim 7.5\text{ mW/cm}^2$  において、高密度な PMPC 層で覆われた CLPE 表面の調製ができた。

ポリエチレン厚が MPC 処理効果に与える影響の検討では、股関節における摩擦摩耗動作を想定した摩耗特性（多方向摺動）試験を行った。この結果、MPC 処理により、CLPE の耐摩耗特性が向上することが確認された。また、厚い CLPE は薄いそれに比べ良好な耐摩耗特性を示した。更に、薄い CLPE においても重篤な欠陥は認められず、大径骨頭と組み合わせることが可能な薄い CLPE ライナーの適用の可能性が示唆された。

摩耗抑制効果（耐久性）の検討では、コバルトクロム合金骨頭表面の粗さが生体内埋入期間中に変化することを想定し、表面粗さを  $Ra < 0.01\sim 0.06$  まで変化させた骨頭を作製してシミュレーター試験を行った。この結果、CLPE ライナーに生体適合性ポリマーである MPC ポリマーでナノスケールの表面処理を施すことで、何れの表面粗さの場合も摩耗量を著しく低減させることが明らかとなった。

関節摺動面の安定性の検討では、下肢の自重によって骨頭が引き下げられライナー面から離れる「浮き上がり防止」について、ライナー摺動面—骨頭間の吸着力を指標として、MPC 処理が与える影響を検討した。この結果、大径骨頭を用いた場合でも、PMPC 処理により関節摺動面の吸着力が増大することが示され、その効果はより大径の骨頭を用いることで高くなる可能性が示唆された。

以上の研究成果は、高齢者の寝たきり予防に役立つナノ表面構築型人工股関節の開発を推進しうるものであり、革新的な人工股関節の臨床応用が期待できる内容であった。

## 分担研究者

中村耕三	(東京大学医学部附属病院 教授)
川口浩	(東京大学医学部附属病院 准教授)
石原一彦	(東京大学大学院工学系研究科 教授)
茂呂徹	(東京大学大学院医学系研究科 特任准教授)
苅田達郎	(東京大学医学部附属病院 講師)
伊藤英也	(東京大学医学部附属病院 助教)
金野智浩	(東京大学大学院工学系研究科 助教)
塙隆夫	(東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 教授)
岩崎泰彦	(関西大学化学生命工学部 准教授)
橋本雅美	(財団法人ファインセラミックスセンター 副主任研究員)
山脇昇	(日本メディカルマテリアル株式会社 股関節事業部長)
京本政之	(日本メディカルマテリアル株式会社 研究部係責任者)

## A. 研究目的

超高齢社会を迎えた我が国において運動器の機能障害が原因で支援や介護を要する高齢者が急増している。日本整形外科学会は、健康寿命の延伸を目指し、ロコモティブシンドローム(運動器症候群)を提唱した(2008年)。これは、骨、関節など運動器の障害によって介護が必要な状態や介護が必要となるリスクが高い状態を示す新しい概念である。運動器の障害はそれ自身が要介護の原因となるだけでなく、認知症や内臓疾患など他の要介護原因にも関係している。運動器の機能障害の中で、特に歩行障害は重要であり、進行期～末期関節症の治療には人工関節が用いられている。このため先進諸国では人工関節置換術の件数は急増しているが、今後10年以内に2倍になる見通しである。

人工股関節手術後に高齢者の歩行能力を回復させ、将来寝たきりにならないようにするには、訓練(リハビ

リテーション)を早期に開始しなければならぬ。しかし、高齢者は筋力低下していて関節を支持する力が弱く、脱臼の危険性が高い。また、このことは関節の可動域の獲得も困難にしている。言い換えれば、人工股関節を入れた高齢者を将来寝たきりにしないためには、人工股関節の特性として、脱臼をしない安定性と、弱い筋力でも可動域を獲得できる性能が必要である。この問題の解決に、関節面を構成する骨頭部分の大径化が有効であることは諸家が報告し、欧米では骨頭の大径化が進められている。しかし体格の小さな日本人では、骨頭を大径化するには、対向して関節面を構成するポリエチレンライナーを相当に薄くせざるを得ない。この結果、強度の低下、ポリエチレンの体積減少による耐久性の低下が懸念される。また、接触面積の増加により関節摺動面の摩耗の増加が予測され、摩耗粉による骨吸収の誘導や、人工関節のゆるみによる耐用年

数 (寿命)の低下をきたす危険性が高い。本研究の目的は、高齢者が寝たきりになることを防止するために、新技術を用いて安定性と耐久性に優れた革新的な人工股関節を開発することである。

我々は、生体関節軟骨表面のリン脂質層が関節面の保護と潤滑に寄与していることに着目し、生体適合性リン脂質材料、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン

(MPC) ポリマーでライナー表面にナノメートルレベルの処理を加える、独自の新技术を創出した。この技術を搭載した人工股関節の治験を2007年4月から2009年10月まで実施し、2011年4月認可を取得した。本研究は、このわが国独自の技術を応用して1) ポリエチレンを薄くすること、2) 関節摺動面間の吸着性の向上、3) 耐摩耗能の向上、4) コンポーネント形状の改良を行い、高齢者が歩行機能を維持するのに役立つ人工股関節を開発する点に独創性がある。

## B. 研究方法

### ① MPC 処理の至適条件の検索

(分担研究者：石原一彦・伊藤英也・山脇昇)

#### 1. PMPC 処理表面の構築

CLPE 表面での PMPC 処理における紫外線照射強度を変化させ、様々な表面解析手法を用いて、至適な処理条件について検討した。

圧縮成型ポリエチレン材に、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、0.50 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、1.5~15.0 mW/cm<sup>2</sup> の紫外線を 90 分間照射することで、光開始ラジカルグラフト重合法による PMPC 処理を行った。グラフト重合中、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。これらの PMPC 処理 CLPE の製造工程は、既存の CLPE 製造工程の「機械加工」の後、「滅菌」の前に PMPC 処理工程が存在する以外は、従来の CLPE と同様である。

## 2. MPC の分析方法の検討

得られた PMPC 処理 CLPE 試験体について、XPS 分析、FT-IR 分析、水による静的接触角の測定、TEM 観察、Ball-on-plate 摩擦試験、引張り試験およびアイゾット衝撃試験を行った。

### 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。

## 2) FT-IR 分析

PMPC 処理前後の CLPE 試験体の官能基振動について、FT-IR 分析を行った。FT-IR 分析には、日本分光製 FT-IR 分析装置 FT/IR615 型を用い、全反射 (ATR) 法により行った。波数 800~2000  $\text{cm}^{-1}$ 、分解能 4  $\text{cm}^{-1}$ 、積算回数 100 回とした。

得られたスペクトルから PMPC 層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 =

$$1080\text{cm}^{-1}\text{ピーク強度}/1460\text{cm}^{-1}\text{ピーク強度}$$

## 3) 水の静的接触角測定

試験体表面の静的なぬれ性 (静的表面接触角) について、液滴法により評価した。静的表面接触角は ISO 15989 規格に準拠し、液滴量 1  $\mu\text{L}$  の純水を液滴後、60 秒間経過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。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。

## 6) Ball-on-plate 摩擦試験

PMPC 処理前後の CLPE 試験体表面の PMPC 層について、上記③に準じて TEM を用いて断面観察した。

## 7) 引張り試験

未処理 CLPE および PMPC 処理 CLPE を用いて、ASTM D638 規格および F648-07 規格に従って引張り試験を行った。機械加工により、ASTM D638 IV 号試験片を作製した。PMPC 処理 CLPE については、ダンベル型試験の片面に対し、PMPC 処理を施した。準備した試験片の引張り特性について、島津製作所製オートグラフ (ASG-5kNG) を用い、試験速度 50 mm/min にて評価した。

## ② ポリエチレン (PE) 厚が MPC 処理効果に与える影響の検討

(分担研究者：高取吉雄・金野智浩)

### 1. PMPC 処理 PE (CLPE) の作製

#### 1) 試薬

ベンゾフェノンおよびアセトンは、和光純薬製を用いた。MPC モノマーは、日油製を用いた。PE 基材には、人工股関節に使用されている架橋 PE (CLPE) を用いた。

#### 2) PMPC 処理

CLPE 試験体を 10 g/L に調製したベンゾフェノン含有アセトン溶液に 30 秒間浸漬した後、速やかに引き上げた。室温にて試験体表面のアセトン溶媒を除去した。完全に脱気した純水を用いて、MPC 水溶液 (0.5 mol/L) を調製した。ベンゾフェノンを表面にコーティングした CLPE 試験体を、MPC 水溶液に浸漬し、5 mW/cm<sup>2</sup> 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 を得た。

## 2. Pin-on-disk 型摩耗試験装置を用いた、PMPC 処理 CLPE の疲労特性試験

今年度は、pin-on-disk 型摩耗試験装置を用い、PMPC 処理 CLPE の摩耗特性試験を行った。

具体的には、ASTM F732-00 規格を参考に、pin-on-disk 型摩耗試験装置 (AMTI 製 Ortho-POD) を用い、多方向摺動試験 (股関節における通常歩行時に生じる摩擦動作を想定した試験) を行った。さらに昨年度、衝撃-摺動試験による疲労特性評価を行った Disk 型試験片について、その変形量を詳細に評価した。

Disk 型試験片には、厚さ 3 mm または 6 mm の未処理 CLPE および PMPC 処理 CLPE を用い、pin 型試験片には、コバルトクロム合金

(Co-Cr) を用いた。多方向摺動試験は、37°C のウシ血清中にて行った。最大荷重は 213 N とし、摺動距離 30 mm、摺動速度 1 Hz の条件で 100 万回まで試験を行った。

多方向摺動試験は、25 万サイクル毎に潤滑液の交換を行うと同時に、disk 型試験片の回収、洗浄、乾燥、重量測定を行い、disk 型試験片の摩耗量として算出した。あわせて、外観観察を行うとともに、デジタルマイクロスコープを用いて摺動部の観察を行った。Disk 型試験片の変形量は、非接触式表面性状測定機を用い評価した。

### ③ MPC ポリマー処理した関節摺動面の耐摩耗性の評価

(分担研究者：中村耕三・橋本雅美)

摩耗試験は、MTS 社製の股関節シミュレーター (Multi-Station Hip Simulator) を用いて行った。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 (NaN<sub>3</sub>) 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、液量 750 ml で、毎秒 1 回の歩行周期 (1 Hz) に 1.8 と 2.7 kN の 2 つのピークをもつ Double Peak Paul の歩行条件で、最大 1000 万サイクルの摩耗試験を行った。摩耗試験に関しては、50 万サイクル毎に潤滑液の交換を行うと同時に、ライナーの回収、洗浄、乾燥、重量測定を行い、

ライナーの乾燥重量の変化を計測した。

試験部材のライナーには、日本メディカルマテリアル製の CL-PE ライナーに MPC ポリマー処理を行ったライナー (MPC-CL-PE) を使用した。対照には CL-PE ライナーを用い、摩耗特性の違いを評価した。同様に、試験部材の骨頭にも、日本メディカルマテリアル製の直径 26 mm のコバルトクロムモリブデン合金製 (CoCr) 骨頭を使用した。骨頭表面の粗さは、 $Ra < 0.01$ ,  $Ra = 0.02$ ,  $0.04$  および  $0.06$  のものを使用した。表面粗さ  $Ra < 0.01$  は、通常の製品の仕上げである表面粗さと同等である。それより粗い  $Ra = 0.02$ ,  $0.04$  および  $0.06$  は、通常の製品が体内に埋入中に、表面粗さが大きくなった状態を仮定した。

#### ④ 股関節シミュレーター試験における関節摺動面の評価

(分担研究者：埜隆夫・京本政之)

##### 1. 人工股関節シミュレーター試験

上記③で行った試験の検体を用い以下の検討を行った。

##### 2. 人工股関節シミュレーター試験後の試験体分析

###### 1) 表面 LSM 観察

人工股関節シミュレーター試験 (300 万回) 後における PMPC 処理 CLPE ライナーの摺動表面観察を、走査型共焦点レーザー顕微鏡 (LSM) にて、観察倍率 5 倍で観察した。観察部位はライナー天頂部とした。

###### 2) 三次元形状測定

300 万回の人工股関節シミュレーター試験前後による PMPC 処理 CLPE ライナーの摩耗を調査するため、ライナー摺動部の三次元形状測定を行った。

また、ライナー摺動面について、図 5 に示す 4 方向 ( $0-180^\circ$ 線、 $45-225^\circ$ 線、 $90-270^\circ$ 線、および  $135-315^\circ$ 線) に対し、 $0.2 \text{ mm}$  間隔にて中心位置から半径を測定した。得られた値と未使用ライナーの半径との差分を算出し、コンター図化した。代表例として、 $0-180^\circ$ 線に沿って測定した摺動面の半径をグラフ化した。

###### 3) 金属骨頭解析

300 万回の人工股関節シミュレーター試験前後の金属骨頭について、表面粗さ測定、表面観察を行った。表面粗さ測定は、粗さ測定計を用い、骨頭天頂部、赤道部の算術平均粗さ ( $Ra$ ) および最大高さ ( $R_{max}$ ) を測定した。観察部位は、天頂部 A 点と  $45^\circ$ 部 B 点の 2 箇所とした。骨頭の表面観察は、走査型電子顕微鏡 (SEM) にて行った。測定倍率は 2000 倍、 $10 \text{ kV}$  の加速電圧とした。

###### ⑤ 股関節シミュレーター試験における摩耗粉の解析

(分担研究者：川口浩・橋本雅美)

上記③で行った試験の検体を用いて検討を行った

試験液からの摩耗粉の抽出方法は、以下に示すように行った。試験後の潤滑液全量から所定量を採取し、そ

の中に 10 ml の 5N-NaOH を加えて、65°C で 3 時間振動処理を行った。室温で 1 日冷却後、密度 1.2 g/cm<sup>3</sup> のシヨ糖/蒸留水混合液 10 ml と 0.919 g/cm<sup>3</sup> イソプロパノール (IPA) /蒸留水混合液 10 ml を加えて遠心分離 (25,500 rpm, 5°C, 3 時間) を行った。遠心分離後の溶液の境界層を 10 ml のピペットで取り出し、20 ml のメタノールを加えて超音波により 1 分攪拌した。遠心分離を行い (25,500 rpm, 5°C, 3 時間)、摩耗粉部を沈降させ、上澄みを捨てた。この操作を 2 回繰り返した。その後、5°C に冷却後、1.05 g/cm<sup>3</sup> シヨ糖/蒸留水混合液 10 ml を注ぎ、超音波で 1 分間攪拌させた。その上に、まず 0.973 g/cm<sup>3</sup> IPA/蒸留水混合液 10 ml を注ぎ、次に 0.919 g/cm<sup>3</sup> IPA/蒸留水混合液 10 ml を注ぎ、遠心分離を行った (25,500 rpm, 5°C, 3 時間)。遠心分離後、0.973 g/cm<sup>3</sup> と 0.919 g/cm<sup>3</sup> IPA/蒸留水混合液の境界層をピペットで採取し、最終的に 0.1 μm のフィルターを用いて、ライナーから発生する摩耗粉をろ過抽出した。走査型電子顕微鏡 (SEM) により抽出した摩耗粉を観察した。観察箇所は、フィルター上の任意 9 カ所とし、倍率は 5,000 および 30,000 倍とした。

また、摩耗粉の形状や粒径分布の評価には解析プログラム:ImageJ (National Institute of Health 製) を使用した。具体的には、摩耗粉の個数、面積、粒径、ECD(Equivalent Circle Diameter)、円環性およびアスペクト比の評価を行った。個数に関しては、

9 視野分の摩耗粉個数をカウントし、総数を採取量で除することにより、1 ml あたりの個数とした。面積は、ImageJ を用いて求めた。粒径は、摩耗粉の最大長さとし、ECD は、摩耗粉を円と仮定し、面積の値を使用して、次式により計算で求めた。

$$\text{粒径} (\mu\text{m}) = 2 (\text{面積}/\pi)^{1/2}$$

円環性は、摩耗粉がどの程度円に近いかを表す尺度であり、値が 1 の場合には完全な円であり、0 に近いほど形態が繊維状であることを示す。

## ⑥ 関節摺動面の安定性の検討

(分担研究者：茂呂徹・荻田達郎)

### 1. PMPC 処理 CLPE の作製

CLPE 試験体を 10 g/L に調製したベンゾフェノン含有アセトン溶液に 30 秒間浸漬した後、速やかに引き上げた。室温にて試験体表面のアセトン溶媒を除去した。完全に脱気した純水を用いて、MPC 水溶液 (0.5 mol/L) を調製した。ベンゾフェノンを表面にコーティングした CLPE 試験体を、MPC 水溶液に浸漬し、5 mW/cm<sup>2</sup> 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 を得た。

### 2. 引き抜き試験

引き抜き試験には、内径 32 mm およ

び 40 mm の日本メディカルマテリアル株式会社製 CLPE (CLQC) ライナー、MPC 処理 CLPE ライナー (CLQC を MPC 処理したもの)、および骨頭径 32 mm および 40 mm の日本メディカルマテリアル株式会社製コバルトクロム (Co-Cr) 合金骨頭 (K-MAX HH-02) を、各々 3 セット準備した。

インストロン万能試験機 (5600R1) を用い、Co-Cr 合金骨頭を軸方向に引き抜く際に生じる抗力 (吸着力) により評価した。

初期荷重 (50 kgf) を、関節摺動面に加えた後 (10 秒ほど静止させた後)、5~500 mm/min の離れ速度で骨頭を引き抜き、その吸着力を測定した。各条件につき、3 回の試験を行った。試験環境 (摺動面) には、蒸留水、27% ウシ血清およびヒアルロン製剤を用い、室温にて試験をおこなった。

## C. 研究結果

### ① MPC 処理の至適条件の検索

(分担研究者: 石原一彦・伊藤英也・山脇昇)

#### 1. 種々の紫外線強度により作製された PMPC 処理 CLPE 表面の解析

##### 1) XPS 分析

C<sub>1s</sub> 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<sub>1s</sub> 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。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<sub>1s</sub> スペクトルおよび P<sub>2p</sub> スペクトルにおいて、PMPC 処理 CLPE にのみ、各々、-N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 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。

紫外線強度の増加とともに、P 原子濃度は増加した。紫外線強度 5.0~7.5 mW/cm<sup>2</sup> において、表面原子組成は、理論的な MPC ポリマーのそれとほぼ同じであった。その後、紫外線強度 10.0~15.0 mW/cm<sup>2</sup> において、P 原子濃度は徐々に低下した。

##### 2) FT-IR 分析

未処理 CLPE、PMPC 処理 CLPE ともに 1460 cm<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup> にリン酸基に帰属されるピークが、1720 cm<sup>-1</sup> にケトン基に帰属されるピークが観察された。

紫外線強度の増加とともに、リン酸指数は増加し、紫外線強度 5.0 mW/cm<sup>2</sup> のとき、最も高い値を示した。その後、紫外線強度 10.0~15.0 mW/cm<sup>2</sup> において、リン酸指数は徐々に低下した。

##### 3) 水による静的接触角の測定

紫外線強度の増加とともに、PMPC 処理 CLPE 表面の水による静的接触角は低下し、紫外線強度 3.5 mW/cm<sup>2</sup> 以上にて、30~40° の高いぬれ性を示した。

##### 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

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、紫外線強度が増大するにともなって、その発光は大きくなった。

### 5) TEM 観察

紫外線強度の増加とともに、PMPC 層の厚さは徐々に増加した。

### 6) 摩擦試験

紫外線強度の増加とともに、動摩擦係数は低下し、紫外線強度 3.5~7.5 mW/cm<sup>2</sup> に、動摩擦係数約 0.01 と極めて高い潤滑性を示した。一方、紫外線強度 10.0~15.0 mW/cm<sup>2</sup> のとき、その動摩擦係数は増加し、その傾向は高荷重のとき顕著であった。

### 7) 機械的特性の評価

PMPC 処理 CLPE の機械的特性は、いずれの紫外線強度による処理においてもほぼ一定であった。それらの値は未処理の CLPE の機械的特性とほぼ同等であった。

## ② ポリエチレン (PE) 厚が MPC 処理効果に与える影響の検討

(分担研究者：高取吉雄・金野智浩)

### 1. Pin-on-disk 型摩擦試験装置を用いた、PMPC 処理 CLPE の多方向摺動試験

100 万回の多方向摺動試験後、すべての試験片は重量減少 (摩擦) を示した。その摩擦量はいずれの厚さにおい

ても、未処理 CLPE に比べ PMPC 処理 CLPE は有意に低く、高い耐摩擦特性を示した。また、各材料の厚さ 3 mm および 6 mm 間で摩擦量に有意な差は認められず、厚さによって耐摩擦特性の差は生じないことが示唆された。

マイクロスコープ観察および表面性状評価結果から未処理 CLPE および PMPC 処理 CLPE のいずれにおいても、背面摩擦 (back-side wear) が生じることが明らかとなった。背面摩擦の進行は未処理 CLPE 群および PMPC 処理 CLPE 群ともに、厚さ 3 mm の disk 試験片で顕著であった。

未処理 CLPE 群および PMPC 処理 CLPE 群のいずれの試験片においても、100 万回の多方向摺動試験終了時までデラミネーションや破損などの重篤な欠陥は認められず、大径骨頭と組み合わせられる薄い CLPE ライナーの適用の可能性が示唆された。

## ③ MPC ポリマー処理した関節摺動面の耐摩擦性の評価

(分担研究者：中村耕三・橋本雅美)

まず、直径 26 mm の表面粗さ (Ra<0.01) の CoCr 骨頭に対する、ライナー (MPC-CL-PE、CL-PE) の試験では、MPC-CL-PE ライナーの重量は、300 万サイクルまで単調増加をし続け、その増加量は、約 5.3 mg 程度であった。また 200~300 万回の摩擦率は、-1.1 mg/10<sup>6</sup> サイクルであった。一方、対照の CL-PE では、最初から摩擦量が含水量を上回り単調減少し続けた。また 200~300 万回の摩

耗率は、 $4.7 \text{ mg}/10^6$  サイクルであった。

次に、直径 26 mm の表面粗さ ( $Ra=0.02$ ) の CoCr 骨頭に対する、ライナー (MPC-CL-PE、CL-PE) の摩耗試験では、MPC-CL-PE ライナーの重量は、300 万サイクルまで単調増加をし続け、その増加量は、約 4.3 mg 程度であった。200~300 万回の摩耗率は、 $-0.9 \text{ mg}/10^6$  サイクルであり、 $Ra<0.01$  の場合と同等の値を示した。一方、対照の CL-PE では、 $Ra<0.01$  の場合と比較し、摩耗量は大きく、約 2 倍であることがわかった。200~300 万回の摩耗率は、 $8.1 \text{ mg}/10^6$  サイクルであった。よって、骨頭の表面粗さが  $Ra=0.02$  の場合も、MPC 処理効果が摩耗量抑制に有効であることがわかった。

一方、直径 26 mm の表面粗さ ( $Ra=0.04$ ) の CoCr 骨頭に対する、ライナー (MPC-CL-PE、CL-PE) の摩耗試験では、MPC-CL-PE ライナーの重量は、300 万サイクルまで単調減少をし続け、その減少量は、約 21.5 mg 程度であった。200~300 万回の摩耗率は、 $7.0 \text{ mg}/10^6$  サイクルであった。また、対照の CL-PE も摩耗量は大きく、 $Ra<0.01$  の場合の約 5.5 倍であることがわかった。200~300 万回の摩耗率は、 $16.3 \text{ mg}/10^6$  サイクルであった。よって、骨頭の表面粗さが  $Ra=0.04$  になると、MPC 処理による摩耗量抑制の効果は  $Ra=0.02$  までよりは小さいことがわかった。しかし、未処理の CL-PE ライナーの摩耗量の 1/2 であることから、 $Ra=0.04$  になっ

ても MPC 処理により摩耗量抑制効果が有効であることがわかった。

最後に、直径 26 mm の表面粗さ ( $Ra=0.06$ ) の CoCr 骨頭に対する、ライナー (MPC-CL-PE、CL-PE) の摩耗試験では、MPC-CL-PE ライナーの重量は、300 万サイクルまで単調減少をし続け、その減少量は、約 54.2 mg 程度であった。200~300 万回の摩耗率は、 $15.7 \text{ mg}/10^6$  サイクルであった。また、対照の CL-PE も摩耗量は大きく、 $Ra<0.01$  の場合の約 10 倍であることがわかった。200~300 万回の摩耗率は、 $25.9 \text{ mg}/10^6$  サイクルであった。よって、骨頭の表面粗さが  $Ra=0.06$  の場合も  $0.04$  の場合と同様に、MPC 処理による摩耗量低下の効果は  $Ra=0.02$  までよりは小さいことがわかった。しかし、未処理の CL-PE ライナーの摩耗量の 1/2 であることから、 $Ra=0.04$  になっても MPC 処理により摩耗量抑制効果が有効であることがわかった。

#### ④ 股関節シミュレーター試験における関節摺動面の評価

(分担研究者：埜隆夫・京本政之)

##### 1) 表面 LSM 観察

$0.02\sim 0.06 \mu\text{m}$  の Co-Cr 骨頭と対向した未処理 CLPE、MPC 処理 CLPE ライナー摺動面の LSM 像を示す。試験後、いずれの表面粗さの骨頭と組み合わせた未処理 CLPE ライナーの摺動部においても、試験前に観察されたマシマークは消失していた

これに対し、表面粗さ  $Ra = 0.02 \mu\text{m}$

および0.04  $\mu\text{m}$  の Co-Cr 骨頭と対向した MPC 処理 CLPE ライナーの摺動面では、多くのマシンマークの残存が確認された。しかしながら、表面粗さ  $R_a = 0.06 \mu\text{m}$  の Co-Cr 骨頭と対向した MPC 処理 CLPE ライナーの摺動面では、CLPE ライナーのそれと同様にマシンマークは消失していた。

## 2) 三次元形状測定

300 万回のシミュレーション試験後、いずれの表面粗さの骨頭と組み合わせた未処理 CLPE ライナーにおいても、摺動面の形状変化が認められ、その変化量は対向した骨頭の表面粗さともなって増加した。

これに対し、表面粗さ  $R_a = 0.02 \mu\text{m}$  および0.04  $\mu\text{m}$  の Co-Cr 骨頭と対向した MPC 処理 CLPE ライナー摺動面の形状変化は、極めて僅かであった。しかしながら、Co-Cr 骨頭の表面粗さが  $R_a = 0.06 \mu\text{m}$  へ増大するとその形状変化量も増加した。

## 3) 金属骨頭解析

試験後の  $R_a = 0.02 \mu\text{m}$  および0.04  $\mu\text{m}$  の Co-Cr 骨頭の表面粗さは、対向するライナーにかかわらず、試験前に予め加工した表面粗さに比べ、低下した。これに対し、 $R_a = 0.06 \mu\text{m}$  の Co-Cr 骨頭の表面粗さは、試験後も変化なかった。

## ⑤ 股関節シミュレーター試験における摩耗粉の解析

(分担研究者：川口浩・橋本雅美)

何れの表面粗さの場合も、CL-PE ライナーから発生した摩耗粉の形状は、顆粒状および繊維状のものがほとんどであり、1 視野に非常に多数の摩耗粉が観察され、 $R_a = 0.06$  の時が最も摩耗粉の数が多かった。しかし、MPC-CL-PE ライナーから発生した摩耗粉の形状は、ほとんど粒状であり、摩耗粉の数もほとんど確認できなかった。 $R_a = 0.06$  になると、粒状またはフィブリル状の摩耗粉が確認でき、摩耗粉の数が著しく多くなることがわかった。

次に、摩耗粉数、面積について検討すると、まず、 $R_a = 0.02$  の場合には、試験回数の増加にともない摩耗粉の産生量が減少しているのがわかった。その産生量は、MPC 処理により著しく減少し、100 および 300 万回とも 1/30 まで減少した。次に  $R_a = 0.06$  の骨頭を用いた場合には、試験回数が 100 万回の際には約 1/2 の摩耗粉産生量であり、300 万回まではその効果が持続しないことがわかった。

以上の結果から、何れの表面粗さの場合も、CL-PE ライナーの MPC 処理により摩耗粉の産生量は減少し、その効果は  $R_a = 0.02$  の時には 300 万回まで持続することがわかった。しかし、 $R_a = 0.06$  の場合には、100 万回まで有効であった。

摩耗粉の粒径、ECD、円環性およびアスペクト比分布を検討すると、CL-PE および MPC-CL-PE ライナーの場合も、1  $\mu\text{m}$  までの割合が最も大きく、表面粗さが大きくなると、粒径が

増加する傾向を示した。また、ECD に関しては、CLPE ライナーの場合には、 $0.4\sim 0.6\ \mu\text{m}$  の存在割合が最も高く、MPC-CL-PE ライナーの場合には  $0.2\ \mu\text{m}$  が最も高かった。円環性に関しては、CL-PE の場合、試験回数が 100 万回の時、表面粗さの増加に伴い  $0.15$  付近の繊維状の形状のものが増える傾向を示した。試験回数が 300 万回になると、表面粗さの増加に伴い真円に近いものが多くなる傾向を示した。次に MPC-CL-PE ライナーの場合には、試験回数が 100 および 300 万回の時、何れの場合も Ra が  $0.02$  から  $0.06$  まで大きくなるに従い、円環性の値が小さくなる傾向を示した。これは、表面粗さが粗くなると真円より繊維状の形状のものが多くなることを意味している。最後にアスペクト比に関しても、CL-PE および MPC-CL-PE ライナーの場合、何れの表面粗さの場合も  $2\sim 15$  の範囲の摩耗粉がほぼ  $100\%$  を占めていることがわかった。

#### ⑥ 関節摺動面の安定性の検討

(分担研究者：茂呂徹・荻田達郎)

$32\ \text{mm}$  骨頭および  $40\ \text{mm}$  骨頭ともに PMPC 処理 CLPE ライナーと骨頭の吸着力は、未処理 CLPE ライナーと骨頭のそれに比べ高い値となった。骨頭径で比較すると、未処理 CLPE ライナーおよび PMPC 処理 CLPE ライナーともに  $40\ \text{mm}$  骨頭を用いた際の吸着力は  $32\ \text{mm}$  骨頭に比べ大きく上昇した。

蒸留水環境下において、 $32\ \text{mm}$  骨頭を用いた場合、離れ速度の増加とともに

に吸着力が上昇し、PMPC 処理 CLPE ライナーでは  $0.0036\sim 0.0196\ \text{kN}$  となり、未処理 CLPE ライナーのそれ ( $0.0040\sim 0.0093\ \text{kN}$ ) より高い値を示した。 $40\ \text{mm}$  骨頭を用いた場合も離れ速度に依存して吸着力は増大した。未処理 CLPE ライナーでは  $0.0023\sim 0.0210\ \text{kN}$ 、PMPC 処理 CLPE ライナーでは  $0.0027\sim 0.3010\ \text{kN}$  となり、PMPC 処理 CLPE ライナーが高い値を示した。また、 $40\ \text{mm}$  骨頭における吸着力は、 $32\ \text{mm}$  骨頭におけるそれに比べ、未処理 CLPE ライナーでは最大  $3.1$  倍、PMPC 処理ライナーでは最大  $2.9$  倍におよぶ高い値を示した。

ウシ血清環境下では、 $32\ \text{mm}$  骨頭において、未処理 CLPE ライナーでは  $0.0068\sim 0.0211\ \text{kN}$ 、PMPC 処理 CLPE ライナーでは  $0.0035\sim 0.0197\ \text{kN}$  となり、PMPC 処理の有無で吸着力に差は見られなかった。 $40\ \text{mm}$  骨頭においても、未処理 CLPE ライナーでは  $0.0037\sim 0.0260\ \text{kN}$ 、PMPC 処理 CLPE ライナーでは  $0.0034\sim 0.0279\ \text{kN}$  となり、PMPC 処理の有無での差は認められなかった。

ヒアルロン酸製剤環境下では、離れ速度が  $5\ \text{mm/min}$  から  $50\ \text{mm/min}$  へ増加するにともなって吸着力が大きく上昇した後、 $50\ \text{mm/min}$  以上の速度域では緩やかに上昇した。 $32\ \text{mm}$  骨頭において吸着力は、未処理 CLPE ライナーでは  $0.0546\sim 0.0763\ \text{kN}$ 、PMPC 処理 CLPE ライナーでは  $0.0523\sim 0.0738\ \text{kN}$  であった。 $40\ \text{mm}$  骨頭において、未処理 CLPE ライナーでは  $0.0681\sim 0.1194$

kN、PMPC 処理 CLPE ライナーでは 0.0636~0.1116 kN であった。ヒアルロン酸製剤環境においても PMPC 処理の有無による差は認められなかった。

#### D. 考察

本研究の目的は、生体適合性材料・MPC ポリマーのナノ表面処理技術を応用し、安定性と耐摩耗性に優れ、高齢者の寝たきり予防に役立つ革新的なナノ表面構築型人工股関節を開発することである。このため、今年度は、① MPC 処理の至適条件の検索、② ポリエチレン厚が MPC 処理効果に与える影響の検討、③ 摩耗抑制効果 (耐久性) の検討、④ 関節摺動面の安定性の検討を行った。

MPC 処理の至適条件の検索では、重合条件 (紫外線強度) を変化させ、得られた試料表面を解析して至適条件を検索した。MPC 処理した CLPE 表面について、表面の元素分析、官能基の分析、水の静的接触角測定、電子顕微鏡観察、Ball-on-plate 摩擦試験から MPC グラフト層の解析を行った。また、引張り試験により MPC 処理した CLPE の基材に由来する特性について評価した。至適処理条件検討の結果、紫外線強度によって表面に生成する MPC 層が制御でき、紫外線強度  $3.5 \sim 7.5 \text{ mW/cm}^2$  において、高密度で均質な MPC 層で覆われた CLPE 表面の調製ができた。

ポリエチレン厚が MPC 処理効果に与える影響の検討では、多方向摺動環

境においても、MPC 処理による耐摩耗特性の向上は有効であることが明らかになった。多方向摺動環境では PE の厚さが耐摩耗特性に大きな影響を及ぼさないことが示され、大径骨頭と組み合わせられる薄い CLPE ライナーの適用の可能性が示唆された。

摩耗抑制効果 (耐久性) については、コバルトクロム合金骨頭表面の粗さが生体内埋入期間中に変化することを想定し、表面粗さを  $Ra < 0.01 \sim 0.06$  まで変化させた骨頭を作製してシミュレーター試験を行った。この結果、CL-PE ライナーに生体適合性ポリマーである MPC ポリマーでナノスケールの表面処理を施すことで、何れの表面粗さの場合も摩耗量を著しく低減させることが明らかとなった。

関節摺動面の安定性の検討では、下肢の自重によって骨頭が引き下げられライナー面から離れる「浮き上がり防止」について、ライナー摺動面—骨頭間の吸着力を指標として、ライナー摺動面の MPC 処理が与える影響を検討した。この結果、大径骨頭を用いた場合でも、MPC 処理により関節摺動面の吸着力が増大することが示され、その効果はより大径の骨頭を用いることで高くなる可能性が示唆された。大径骨頭に MPC 処理を施すことで、関節摺動面の安定性および吸着性がともに向上し、浮き上がり防止に寄与することが期待される。

#### E. 結論

以上の研究成果は、高齢者の寝たき

り予防に役立つナノ表面構築型人工股関節の開発を推進しうるものであり、革新的な人工股関節の臨床応用が期待できる内容であった。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

1. Kyomoto M, Moro T, Takatori Y, Kawaguchi H, Ishihara K: Cartilage-mimicking, high-density brush structure improves wear resistance of crosslinked polyethylene: a pilot study. *Clin Orthop Relat Res* (in press).
2. Muraki S, Akune T, Oka H, En-yo Y, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Tokimura F, Yamamoto S, Nakamura K, Kawaguchi H, Yoshimura N: Health-related quality of life with vertebral fracture, lumbar spondylosis and knee osteoarthritis in Japanese men: the ROAD study. *Arch Osteoporos* (in press).
3. Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Kawaguchi H, Nakamura K, and Akune T: Capacity of endogenous sex steroids to predict bone loss in Japanese men: 10-year follow-up of the Taiji Cohort Study. *J Bone Miner Metab* (in press).
4. Hashimoto M, Kashiwagi K, Kitaoka S: Surface oxynitriding dependence on apatite formation on biomedical titanium metal in a simulated body fluid. *Materials Science and Engineering* (in press).
5. Dong CX, Zhu SJ, Mizuno M, Hashimoto M: Modeling and prediction of compressive creep of silane treated TiO<sub>2</sub>/high-density polyethylene. *J Mater Sci* (in press).
6. Park JW, Jang JH, Lee CH, Hanawa T: Osteoconductivity of hydrophilic microstructured titanium implants with phosphate ion chemistry. *Acta Biomater* (in press).
7. Kamata H, Suzuki S, Tanaka Y, Tsutsumi Y, Doi H, Nomura N, Hanawa T, Moriyama K: Effects of pH, potential, and deposition time on the durability of collagen electrofdeposited to titanium. *Mater Trans* (in press).
8. Nomura N, Fabrication and mechanical properties of porous Ti/HA composites for bone fixation devices. *Mater Trans* (in press).
9. Pecheva E, Pramatarova L, Hikov T, Fingarava, Tanaka Y, Sakamoto H, Doi H, Tsutsumi Y, Hanawa T: *Surf Interface Anal* (in press).
10. Kim H, Ishihara K, Lee S, Kim HY, Suh D, Kim MU, Seo JS: Tissue response to poly(L-lactic acid)-based blend with phospholipid polymer for biodegradable cardiovascular stents. *Biomaterials* 32: 2241-7, 2011.
11. Ishiyama N, Moro T, Ohe T, Miura T, Ishihara K, Konno T,

- Ohyama T, Yoshikawa M, Kyomoto M, Saito T, Nakamura K, Kawaguchi H: Reduction of peritendinous adhesions by hydrogel containing biocompatible phospholipid polymer MPC for tendon repair. *J Bone Joint Surg Am* 93: 142-9, 2011.
12. Jingushi S, Ohfuji S, Sofue M, Hirota Y, Itoman M, Matsumoto T, Hamada Y, Shindo H, Takatori Y, Yamada H, Yasunaga Y, Ito H, Mori S, Owan I, Fujii G, Ohashi H, Iwamoto Y, Miyanishi K, Iga T, Takahira N, Sugimori T, Sugiyama H, Okano K, Karita T, Ando K, Hamaki T, Hirayama T, Iwata K, Nakasone S, Matsuura M, Mawatari T: Osteoarthritis hip joints in Japan: involvement of acetabular dysplasia. *J Orthop Sci* 16: 156-64, 2011.
  13. Takatori Y, Ito K, Sofue M, Hirota Y, Itoman M, Matsumoto T, Hamada Y, Shindo H, Yamada H, Yasunaga Y, Ito H, Mori S, Owan I, Fujii G, Ohashi H, Mawatari T, Iga T, Takahira N, Sugimori T, Sugiyama H, Okano K, Karita T, Ando K, Hamaki T, Hirayama T, Iwata K, Matsuura M, Jingushi S: Analysis of interobserver reliability for radiographic staging of coxarthrosis and indexes of acetabular dysplasia: a preliminary study. *J Orthop Sci* 15: 14-9, 2010.
  14. Jingushi S, Ohfuji S, Sofue M, Hirota Y, Itoman M, Matsumoto T, Hamada Y, Shindo H, Takatori Y, Yamada H, Yasunaga Y, Ito H, Mori S, Owan I, Fujii G, Ohashi H, Iwamoto Y, Miyanishi K, Iga T, Takahira N, Sugimori T, Sugiyama H, Okano K, Karita T, Ando K, Hamaki T, Hirayama T, Iwata K, Nakasone S, Matsuura M, Mawatari T: Multiinstitutional epidemiological study regarding osteoarthritis of the hip in Japan. *J Orthop Sci* 15: 626-31, 2010.
  15. Kyomoto K, Moro T, Iwasaki Y, Miyaji F, Kawaguchi H, Takatori Y, Nakamura K, Ishihara K: Lubricity and stability of poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) polymer layer on Co-Cr-Mo surface for hemi-arthroplasty to prevent degeneration of articular cartilage. *Biomaterials* 31: 658-68, 2010.
  16. Kyomoto M, Moro T, Takatori Y, Kawaguchi H, Nakamura K, Ishihara K: Self-initiated surface grafting with poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) on poly(ether-ether-ketone). *Biomaterials* 31: 1017-24, 2010.
  17. Liu G, Iwata K, Ogasawara T, Watanabe J, Fukazawa K, Ishihara K, Asawa Y, Fujihara Y, Chung UI, Moro T, Takatori Y, Takato T, Nakamura K, Kawaguchi H, Hoshi K: Selection of highly osteogenic and chondrogenic cells from bone marrow stromal cells in biocompatible polymer-coated

- plates. *J Biomed Mater Res A* 92: 1273–82, 2010.
18. Ishiyama N, Moro T, Ishihara K, Ohe T, Miura T, Konno T, Ohyama T, Kimura M, Kyomoto M, Nakamura K, Kawaguchi H: The prevention of peritendinous adhesions by a phospholipid polymer hydrogel formed in situ by spontaneous intermolecular interactions. *Biomaterials* 31: 4009–16, 2010.
  19. Moro T, Takatori Y, Kyomoto M, Ishihara K, Saiga KI, Nakamura K, Kawaguchi H: Surface grafting of biocompatible phospholipid polymer MPC provides wear resistance of tibial polyethylene insert in artificial knee joints. *Osteoarthritis Cartilage* 18: 1174–82, 2010.
  20. Goda T, Goto Y, Ishihara K: Cell-penetrating macromolecules: direct penetration of amphipatic phospholipid polymers across plasma membrane of living cells. *Biomaterials* 31: 2380–7, 2010.
  21. Shimizu T, Goda T, Takai M, Ishihara K: Super-hydrophilic silicone hydrogels with interpenetrating poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) networks. *Biomaterials* 31: 3274–80, 2010.
  22. Xu Y, Jang K, Konno T, Ishihara K, Mawatari K, Kitamori T: The biological performance of cell-containing phospholipid polymer hydrogels in bulk and microscale form. *Biomaterials* 31: 8839–46, 2010.
  23. Ukawa M, Akita H, Masuda T, Hayashi Y, Konno T, Ishihara K, Harashima H: 2-Methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymer (MPC)-coating improves the transfection activity of GALA-modified lipid nanoparticles by assisting the cellular uptake and intracellular dissociation of plasmid DNA in primary hepatocytes. *Biomaterials* 31: 6355–62, 2010.
  24. Ye SH, Johnson CA, Woolley JR, Murata H, Gamblee LJ, Ishihara K, Wagner WR: Simple surface modification of a titanium alloy with silanated zwitterionic phosphorylcholine or sulfobetaine modifiers to reduce thrombogenicity. *Colloids and Surfaces B Biointerfaces* 79: 357–64, 2010.
  25. Ishihara K, Kyomoto M: Photo-induced Functionalization on Biomaterials Surfaces. *J Photopolym Sci Technol* 23: 161–6, 2010.
  26. Oya K, Tanaka Y, Moriyama M, Yoshioka Y, Kimura T, Tsutsumi Y, Doi H, Nomura N, Noda K, Kishida A, Hanawa T: Differences in the bone differentiation properties of

- MC3T3-E1 cells on polished bulk and sputter-deposited titanium specimens. *J Biomed Mater Res* 94A: 611-8, 2010.
27. Tanaka Y, Matin K, Gyo M, Okada A, Tsutsumi Y, Doi H, Nomura N, Tagami J, Hanawa T: Effects of electrodeposited poly(ethylene glycol) on biofilm adherence to titanium. *J Biomed Mater Res A* 95A: 1105-13, 2010.
  28. Tanaka Y, Matsuo Y, Komiya T, Tsutsumi Y, Doi H, Yoneyama T, Hanawa T: Characterization of the spatial immobilization manner of poly(ethylene glycol) to a titanium surface with immersion and electrodeposition and its effects on platelet adhesion. *J Biomed Mater Res* 92A: 350-358, 2010.
  29. Suyalatu, Nomura N, Oya K, Tanaka Y, Kondo R, Doi H, Tsutsumi Y, Hanawa T: Microstructure and magnetic susceptibility of as-cast Mo alloys. *Acta Biomater* 6: 1033-1038, 2010.
  30. Murakami M, Nomura N, Doi H, Tsutsumi Y, Nakamura H, Chiba A, Hanawa T: Microstructures of Zr-added Co-Cr-mo alloy compacts fabricated with a metal injection molding process and their metal release in 1 mass% lactic acid. *Mater Trans* 51: 1281-1287, 2010.
  31. Tsutsumi Y, Nishimura D, Doi H, Nomura N, Hanawa T: Cathodic alkaline treatment of zirconium to give the ability to form calcium phosphate. *Acta Biomater* 6: 4161-4166, 2010.
  32. Ohida M, Yoda K, Nomura N, Hanawa T, Igarashi Y: Evaluation of the static frictional coefficients of Co-Cr and gold alloys for cone crown telescope denture retainer applications. *Dent Mater J* 29: 706-712, 2010.
  33. Fukai A, Kawamura N, Saito T, Oshima Y, Ikeda T, Kugimiya F, Higashikawa H, Yano F, Ogata N, Nakamura K, Chung UI, and Kawaguchi H: Akt1 in murine chondrocytes controls cartilage calcification during endochondral ossification under physiologic and pathologic conditions. *Arthritis Rheum* 62: 826-836, 2010.
  34. Shinoda Y, Kawaguchi H, Higashikawa A, Hirata M, Miura T, Saito T, Nakamura K, Chung UI, and Ogata N: Mechanisms underlying catabolic and anabolic functions of parathyroid hormone on bone by combination of culture systems of mouse cells. *J Cell Biochem* 109: 755-763, 2010.
  35. Saito T, Fukai A, Mabuchi A, Ikeda T, Yano F, Ohba S, Nishida N, Akune T, Yoshimura N, Nakagawa T, Nakamura K, Tokunaga K, Chung UI, and Kawaguchi H: Transcriptional regulation of endochondral ossification by HIF-2 $\alpha$  during skeletal growth and osteoarthritis development.

- Nat Med* 16: 678–686, 2010.
36. Muraki S, Akune T, Oka H, En-Yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Tokimura F, Yamamoto S, Nakamura K, Kawaguchi H, and Yoshimura N: Association of radiographic and symptomatic knee osteoarthritis with health-related quality of life in a population-based cohort study in Japan: The ROAD study. *Osteoarthritis Cartilage* 18: 1227–1234, 2010.
  37. Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Kawaguchi H, Nakamura K, and Akune T: Cohort profile: Research on Osteoarthritis /Osteoporosis Against Disability study. *Int J Epidemiol* 39: 988–995, 2010.
  38. Muraki S, Akune T, Oka H, En-Yo Y, Yoshida M, Saika A, Suzuki T, Yoshida H, Ishibashi H, Tokimura F, Yamamoto S, Nakamura K, Kawaguchi H, and Yoshimura N: Impact of knee and low back pain on health-related quality of life in Japanese women: the Research on Osteoarthritis Against Disability (ROAD). *Mod Rheumatol* 20: 444–451, 2010.
  39. Hojo H, Yano F, Ohba S, Igawa K, Nakajima K, Komiyama Y, Kan A, Ikeda T, Yonezawa T, Woo JT, Takato T, Nakamura K, Kawaguchi H, and Chung UI: Title: Identification of oxytetracycline as a chondrogenic compound using a cell-based screening system. *J Bone Miner Metab* 28: 627–633, 2010.
  40. Kawaguchi H, Oka H, Jingushi S, Izumi T, Fukunaga M, Sato K, Matsushita T, and Nakamura K: A local application of recombinant human fibroblast growth factor-2 for tibial shaft fractures: a randomized, placebo-controlled trial. *J Bone Miner Res* 25: 2459–2467, 2010.
  41. Oka H, Muraki S, Akune T, Nakamura K, Kawaguchi H, and Yoshimura N: Normal and threshold values of radiographic parameters for knee osteoarthritis using a computer-assisted measuring system (KOACAD): the ROAD study. *J Orthop Sci* 15: 781–789, 2010.
  42. Dong CX, Zhu SJ, Mizuno M, Hashimoto M: Compressive creep behavior of silane treated TiO<sub>2</sub>/high-density polyethylene. *J Mater Sci* 45, 1796–1802, 2010.
  43. Ishihara K, Goto G, Matsuno R, Inoue Y, Konno T: Novel polymer biomaterials and interfaces inspired from cell membrane functions. *Biochim Biophys Acta-General* 1810: 268–75, 2010.
  44. Kimura A, Inose H, Yano F, Fujita K, Ikeda T, Sato S, Iwasaki M, Jinno T, Ae K, Fukumoto S, Takeuchi Y, Itoh H, Imamura T, Kawaguchi H, Chung UI, Martin JF, Iseki S, Shinomiya K, and Takeda S: Runx1 and Runx2 cooperate during sternum morphogenesis. *Development*