

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K05765

研究課題名(和文) 蛋白質吸着挙動の解明による低摩擦維持機構を有する人工関節摩擦面の評価

研究課題名(英文) Evaluation of joint prosthesis rubbing surface with low friction property by clarifying adsorption mechanisms of protein molecules

研究代表者

中嶋 和弘 (Nakashima, Kazuhiro)

帝京大学・福岡医療技術学部・准教授

研究者番号：70315109

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：生体関節液に含まれる蛋白質であるアルブミン及びγ-グロブリンの協調的な吸着膜が人工関節材料の低摩擦を発現する事から、それぞれの摩擦特性と吸着特性について調査を行い、得られた結果から低摩擦維持機構について考察した。
アルブミンが低せん断性を、γ-グロブリンが強固な吸着膜を形成する特性を有することが明らかとなった。この特性の差異からアルブミンが低せん断性(低摩擦性)の効果を発揮し、γ-グロブリンが低摩擦を發揮することが明らかとなった。これらの特性が人工関節表面に吸着した蛋白質膜で發揮されることで低摩擦を維持できることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：It was pointed out that albumin and g-globulin included in natural synovial fluid can form cooperative film on joint prosthesis material and as a result the adsorbed film make friction low. In this study, friction and adsorption properties of albumin and g-globulin were investigated to clarify the mechanisms of maintaining low friction. Albumin showed low friction property and g-globulin showed high adsorption amount. The different property of two kind of protein indicates albumin molecule exhibits low friction of joint prosthesis and g-globulin protects joint prosthesis material from wear. These results suggest that adsorbed protein film shows low friction due to different properties of albumin and g-globulin forming cooperative adsorbed film.

研究分野：バイオトライボロジー

キーワード：人工関節 境界潤滑 蛋白質 低摩擦

1. 研究開始当初の背景

人工関節の摩耗は耐用年数を左右する非常に重要な要因の一つである。これまでに材料の耐摩耗性を向上させた Cross-linked (CL) ポリエチレンを摩擦面に用いた人工関節や、樹脂よりも耐摩耗性が高い金属同士の組み合わせの Metal-on-Metal 人工関節、さらにセラミクスを使用した人工関節が開発されている。Metal-on-Metal 人工関節は金属イオンの溶出が人体へ悪影響を与えることが知られており、近年では臨床応用が減少してきている。セラミクスを使用した人工関節では、セラミクスが脆性材料であることからインピンジメントの発生によりセラミクスの破壊に繋がる症例が報告されている。また、セラミクスを使用した人工関節では Squeaking と呼ばれる人工関節しゅう動面の異音が報告されている。これらのことから CL ポリエチレンを使用した人工関節が一般的に臨床応用されている。

現在の人工関節の潤滑モードは境界潤滑から混合潤滑が主体であり、完全な流体潤滑を実現した人工関節は開発されていないため、境界潤滑性能の向上が求められている。トライボロジーでは境界潤滑性能を向上させる場合には潤滑油に添加剤を加えることが一般的であるが、生体内で使用する人工関節へ有害な添加剤を加えることはできない。そこで生体内に存在する蛋白質による潤滑性能の向上について調査したところ、アルブミンと γ -グロブリンという生体関節液に含まれる蛋白質を材料表面に吸着させることで摩擦摩耗の低減が可能であることが明らかとなった。さらに調査したところ、蛋白質吸着膜は摩擦摩耗の低減を示す場合と、摩擦摩耗を増加させる場合が明らかとなった。蛋白質吸着膜で摩擦摩耗が低減される場合には 2 種の蛋白質がラメラ構造を呈しており、摩擦摩耗が増加する場合にはヘテロ構造を呈していることが明らかとなった。これらの構造の違いから、ラメラ構造の場合には蛋白質吸着膜内部の滑りが発生することで摩擦を低減し、材料の摩耗を防ぐ効果を発揮していると考えられた。一方、摩擦摩耗が増加する場合にはヘテロ構造であるために蛋白質吸着膜内部での滑りが発生しにくいいため摩擦抵抗の増加やそれによる蛋白質吸着膜の剥離に伴う材料の破壊が発生していると考えられた。

2. 研究の目的

これらの蛋白質吸着膜による摩擦摩耗への影響について、それらの発現メカニズムを明らかにすることを目的とする。そのために、蛋白質吸着特性、それぞれの蛋白質の摩擦特性、摩擦特性の加重依存性、摩擦環境下での蛋白質吸着膜の脱吸着特性について調査し、蛋白質吸着膜の形成メカニズム、ラメラ構造の低摩擦発現メカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

摩擦材料には超高分子量ポリエチレン (ultra-high molecular weight polyethylene, UHMWPE) (GUR 1050) および CoCrMo 合金 (ASTMF 75) の共に医用グレードの材料を用いた。これらの材料を電気化学セルを有する往復動摩擦試験機で評価した。潤滑液には牛血清アルブミン (bovine serum albumin, BSA) およびヒト血清 γ -グロブリン (human gamma-globulin, HGG) を用いた。UHMWPE ピンは平均接触面圧を変えるために端面の曲率半径を変えたものを用いた。

蛋白質の脱吸着挙動を測定するために電気化学的手法を用いた。CoCrMo 合金と潤滑液間の電位差 (ポテンシャル) を測定することで蛋白質の脱吸着挙動の測定が可能となる。電気化学アナライザを用い、カロメルプローブによりポテンシャルの測定を行った。

潤滑液には BSA または HGG をそれぞれ 2.1 mass% 含む pH7.4 の PBS 溶液、BSA を 0.7 mass%、HGG を 1.4 mass% 含む PBS 溶液、BSA を 1.4 mass%、HGG を 1.4 mass% 含む PBS 溶液の 3 種類を用いた。

摩擦試験は速度 10mm/s、滑り距離 18m で行った。摩擦試験開始前に CoCrMo 合金上への蛋白質の静的吸着を評価するために 10 分間のポテンシャル測定を行った。その後摩擦試験を開始し、摩擦試験終了後にポテンシャル測定を行い、静的吸着の影響について測定した。

4. 研究成果

図 1、2 に BSA および HGG を単体で含む PBS 溶液中での摩擦試験およびポテンシャル測定結果の例を示す。摩擦開始と共に HGG を含む潤滑液ではポテンシャルの減少が観察された。このことから摩擦開始前に静的吸着した HGG 分子が摩擦により CoCrMo 合金表面から脱着していることが明らかとなった。この蛋白質分子の脱吸着挙動を評価するために、摩擦試験開始時と終了時のポテンシャルの差をポテンシャルとし、ポテンシャルが正の場合には蛋白質の表面への吸着を、負の場合には蛋白質の脱着を示す指標とした。

図 3 にポテンシャルの荷重に対する挙動を示す。BSA (赤) または HGG (緑) を単体で含む場合には接触面圧 1MPa 未満では吸着挙動を示すが、1.0MPa 付近では脱着することが明らかとなった。さらに接触面圧が増加すると BSA はポテンシャルが 0 に近くなり、脱吸着挙動が安定していることが明らかとなったが、HGG では脱着する傾向があることが明らかとなった。BSA と HGG を共に含む場合には BSA の脱吸着挙動と同様な特性を示すことが明らかとなった。従って、BSA と HGG を混合した場合には BSA の脱吸着挙動が支配的であることが示された。

図 4 に接触面圧と摩擦係数の関係を示す。BSA (赤) を単体で含む場合には面圧の増加と共に摩擦係数が減少する傾向が確認された。

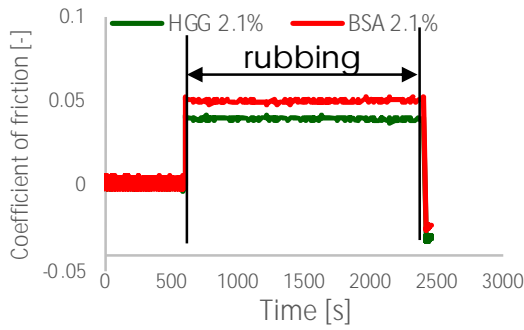


図1 摩擦係数

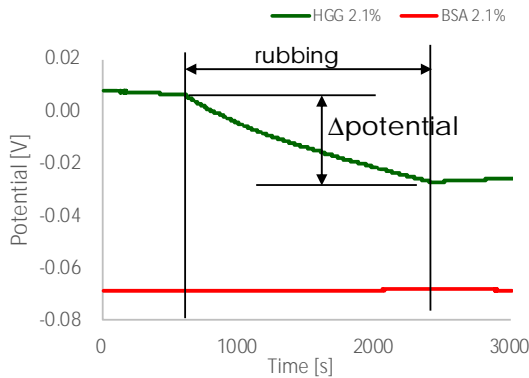


図2 ポテンシャル推移

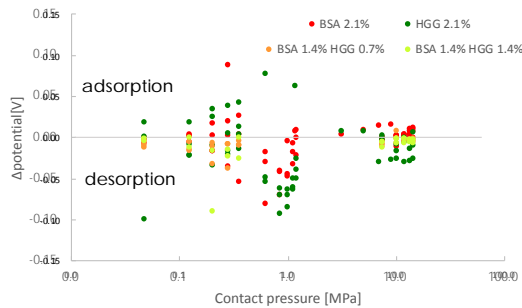


図3 ポテンシャル

一方、HGG(緑)を単体で含む場合には 0.2MPaまで摩擦係数が増加し、それ以上の接触面圧で減少することが観察された。また、どちらの蛋白質においても接触面圧が 5MPa 以上になると摩擦係数が急激に増加することが観察された。BSA と HGG を混合した場合には摩擦係数の接触面圧に対する推移は BSA の傾向と近いことが観察された。従って、二種の蛋白質を混合した場合の摩擦係数の特性は BSA が支配的であることが示された。

図5に BSA または HGG を単体で含む潤滑液中で摩擦したときのそれぞれの蛋白質の吸着量について示す。静的吸着量は HGG が BSA より多く、どちらの蛋白質も摩擦距離の増加と共に吸着量が増加した。摩擦距離 60m において最大の吸着量を示し、摩擦距離 120m では吸着量が低下した。このことから摩擦刺激により蛋白質吸着が促進されること、および摩擦により形成された蛋白質は静的吸着と異なる挙動を示すことが明らかとなった。従って、摩擦環境下で形成された蛋白質は静的

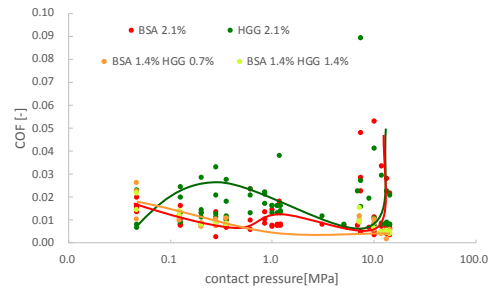


図4 接触面圧と摩擦係数

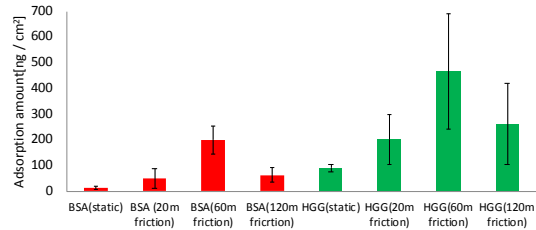


図5 蛋白質吸着量と摩擦距離

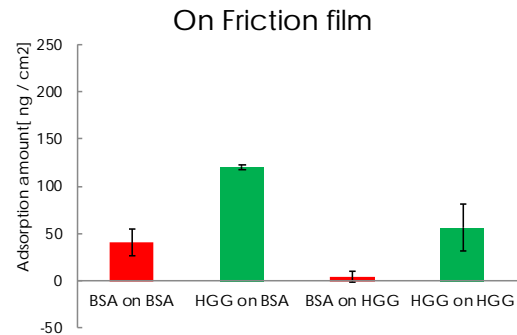


図6 蛋白質膜への蛋白質吸着量

吸着と異なる二次構造を呈することが考えられる。

静的吸着した蛋白質吸着膜に対する BSA および HGG の吸着特性について調査したところ、静的吸着した BSA 膜に BSA の吸着は少なく、HGG の吸着は発生することが観察された。また、摩擦環境下で形成された蛋白質吸着膜に対する蛋白質の吸着量について図6に示す。図6に示すように摩擦環境下で形成された BSA 吸着膜に対しては BSA と HGG は静的吸着と同様な吸着特性を示したが、摩擦環境下で形成された HGG 吸着膜に対して BSA の吸着はゼロに近く、HGG の吸着だけが発生することが示された。従って、摩擦環境下における蛋白質吸着膜の形成は摩擦環境下で形成された HGG 膜に溶液中の HGG 分子が吸着し、その結果 HGG 吸着膜が形成されることが明らかとなった。その HGG 吸着膜へは BSA 分子の吸着は発生しないため、HGG 吸着膜上に存在する BSA 分子は摩擦せん断をうけると摩擦抵抗が小さく、BSA が HGG 吸着膜状で滑りを発生するために低摩擦が発現されることが明らかとなった。図3および4で示した BSA と HGG を混合した場合に蛋白質脱吸着特性と摩擦特性が BSA と同様の挙動を示したことは、図6で示した HGG 膜への BSA 分子の相互作用の

小ささが要因であることが示された。

これまで蛋白質を添加することで境界潤滑効果を発揮することは知られていたが、蛋白質の種類によって脱吸着挙動が異なることは報告されておらず、蛋白質吸着膜による摩擦低減メカニズムについて明らかにしたことは世界初のことである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1件)

中嶋和弘 澤江義則 村上輝夫, 人工関節材料に吸着した蛋白質膜のせん断強さ評価, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 37巻, 2016

〔学会発表〕(計 件)

K. Nakashima, S. Kudo, Y. Sawae, T. Murakami, Behavior of Protein Film Adsorbed on Joint Prosthesis Material under Rubbing, The 8th International Biotribology Forum and The 36th Biotribology Symposium, 2015

K. Nakashima, A. Yoshida, S. Kudo, Y. Sawae and T. Murakami, Investigation of Adsorption and Desorption Behavior of Protein Film on Joint Prosthesis Material under Rubbing Condition, ITC Tokyo 2015, 2015

中嶋和弘, 澤江 義則, 工藤 奨, 村上 輝夫, 人工関節材料の摩擦摩耗特性へ影響する蛋白質吸着膜の観察, トライボロジー会議 2015 春 姫路, 2015

中嶋和弘, 澤江義則, 工藤奨, 村上輝夫, 人工関節材料に吸着した蛋白質膜のせん断強さ評価, 第42回臨床バイオメカニクス学会, 2015

Kazuhiro Nakashima, Susumu Kudo, Yoshinori Sawae, Teruo Murakami, FORMATION PROCESS OF PROTEIN FILM ADSORBED ON JOINT PROSTHESIS MATERIAL, 4th Malaysia-Japan Tribology Symposium, 2016

Kazuhiro Nakashima, Teruo Murakami, Seido Yarimitsu, Nobuo Sakai, Seji Omata, Saori Sasaki, Tetsuo Yamaguchi, Yoshinori Sawae, Atsushi Suzuki, Superior biotribological properties of poly(vinyl alcohol) hybrid hydrogel for artificial cartilage, 3rd International Conference on Bio Tribology, 2016

Kazuhiro Nakashima, David Necas, Yoshinori Sawae, T. Fujisawa, Takehiro Morita, Tetsuo Yamaguchi, M. Vrbka, I. Krupka, M. Hartl, Influence of protein adsorption on friction of metal/UHMWPE sliding pair, 3rd International Conference on Bio Tribology, 2016

Kazuhiro Nakashima, Susumu Kudo,

Yoshinori Sawae, Teruo Murakami, The effect of contact pressure on tribological characteristics of protein film adsorbed on CoCrMo alloy, 3rd International Conference on Bio Tribology, 2016

中井 勝也, 中嶋 和弘, 工藤 奨, 澤江 義則, 村上 輝夫, CoCrMo合金上の蛋白質吸着膜の摩擦特性の荷重依存性, トライボロジー会議 2016 秋 新潟, 2016

中嶋 和弘, 澤江 義則, Susumu Kudo, 村上 輝夫, 2種の蛋白質を含む潤滑液中における CoCrMo-UHMWPE の摩擦特性, 第37回バイオトライボロジーシンポジウム, 2017

K. Nakashima, S. Kudo, Y. Sawae, T. Murakami, EFFECT OF COMBINATION OF PROTEINS ON FRICTIONAL PROPERTY FOR JOINT PROSTHESIS MATERIALS, Leeds-Lyon Symposium on Tribology 2017, 2017

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中嶋 和弘 (NAKASHIMA, Kazuhiro)
帝京大学・福岡医療技術学部・准教授
研究者番号: 70315109