

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：82601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2022

課題番号：16K10879

研究課題名（和文）医用材料の生体内劣化に対する臨床的対策の構築

研究課題名（英文）Development of clinical countermeasures against in-vivo degradation of biomaterials

研究代表者

迫田 秀行（Sakoda, Hideyuki）

国立医薬品食品衛生研究所・医療機器部・主任研究官

研究者番号：50443099

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）：超高分子量ポリエチレン製コンポーネントに吸着した生体脂質量を、フーリエ変換赤外分光光度計を用いて推定する方法を開発した。吸着した生体脂質や、関節液の定量分析を行った結果、従来、生体脂質のモデルとして使用されてきたスクアレンは殆ど含まれおらず、コレステロールエステルやトリグリセリドなどが検出された。これらの脂質を用いて、モデル試料を作製した。インデンテーション試験とマイクロスラリーエロージョン法で、抜去インプラントやモデル試料の力学特性を評価したところ、ガンマ線照射に起因する酸化劣化による力学特性への影響は観察できたが、生体脂質に起因すると思われる力学特性の変化は明確にならなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体内物質による医用材料への影響は、未知の部分が多い。整形外科分野では、人工関節用材料である超高分子量ポリエチレンに対する生体脂質の影響を評価する目的で、生体脂質の一つであるスクアレンを用いた試験法が2022年に規格化された。しかし、本研究の結果、関節液や抜去した材料にスクアレンはほとんど含まれず、抜去した試料を調査してもスクアレンで生じるような劣化は観察されなかった。これらの結果を反映し、より臨床に即した試験法を構築することで、より安全性の高い材料の実用化に貢献できると考えられる。さらに、整形外科分野に限らず、様々なインプラント材料への本研究で得られた知見の展開も期待される。

研究成果の概要（英文）：A method was developed to quantify the amount of lipids absorbed on ultra-high molecular weight polyethylene components using a Fourier transform infrared spectroscopy. Quantitative analysis of absorbed lipids and synovial fluids revealed that they contained almost no squalene, which has been used as a model lipid, and cholesterol esters and triglycerides were detected instead. In vitro model specimens were prepared using these lipids. Mechanical properties of retrieved components and model specimens were evaluated using indentation tests and micro slurry erosion tests. Although the effect of oxidative degradation caused by gamma irradiation on their mechanical properties was detected by these test methods, changes in the mechanical properties thought to be caused by absorbed lipids were not clarified.

研究分野：生体工学

キーワード：人工関節 超高分子量ポリエチレン 生体脂質 耐久性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人工関節、人工血管、ステントなどのインプラント製品は、長期間生体内で使用され、力学的環境、生物学的環境、生化学的環境を含む、複雑な生体内環境において、設計された性能を発揮し続けることが求められる。生体内環境のうち、例えば力学的環境による影響は、バイオメカニクス研究の発展により生体内で発生する力の推定が可能になってきたことから、多くの医療機器において、生体内で受けると推定される外力を加える疲労試験を実施することにより評価が可能になっている。しかし、残る生物学的環境や生化学的環境による影響は未知のことも多く、現状の試験系において十分に考慮されているとは言い難い。長期間使用されるインプラント製品では、長期の耐久性は臨床上最も重要な特性の一つであるが、時間的な制約から *in vitro* における加速試験以外に評価方法がなく、臨床における実際の耐久性をより適切に評価できる試験系の構築が求められている。

整形外科分野では、抜去された人工関節の超高分子量ポリエチレン (UHMWPE) 製コンポーネントの内部に、スクアレン (SQ) を含む生体由来の脂質が含まれることが報告された。また、SQ を収着させた UHMWPE では、酸化劣化が進行する可能性があることも報告された。しかし、これらの報告では、定量性の検討が不十分であること、SQ の酸化を UHMWPE の酸化と誤認している可能性があること、力学特性や摩耗特性に関する報告がないこと、劣化機構の解明に至っていないことなどの課題があった。

そこで我々は、平成 25 年度より「生体内物質による医用材料の劣化機構の解明」の研究を開始し、UHMWPE の力学特性が SQ により劣化することを初めて明らかにした。さらに、摩耗量の大幅な増加も示した。UHMWPE から発生する摩耗粉は、免疫系細胞の過剰な生体反応を引き起こし、人工関節の緩みの原因となる骨溶解を引き起こすことが知られている。これは、人工関節の最大の不具合要因であることから、生体脂質による劣化の臨床成績へ影響が懸念された。

2. 研究の目的

本研究の目的は、UHMWPE への生体脂質の収着が、臨床成績に与える影響について明らかにすることであった。そのため、関節液及び抜去インプラントの分析を行うと共に、これに基づいた *in vitro* 劣化モデルの構築とその分析を目指した。

3. 研究の方法

(1) 抜去インプラント及び関節液に含まれる生体内物質の分析

本研究では、大阪大学 (承認番号 16089-4)、山口大学 (管理番号 2020-160) 及び国立医薬品食品衛生研究所 (受付番号 147-12) の研究倫理審査委員会の承認を得た上で、人工関節等の再置換術の際に抜去された人工関節等のインプラントを回収した。また、可能な場合には、再置換時に関節液を採取した。入手したインプラントについては、破損、摩耗、傷等を評価した。

UHMWPE 製コンポーネントから、マイクロトームを用いて厚さ 200 μm の薄片を作製し、フーリエ変換赤外分光光度計 (FTIR) を使用して、酸化度、結晶化度等を測定した。また、生体脂質に起因する吸収ピークを用いて、脂質指数を定義した。

抜去した UHMWPE 製コンポーネントから切り出したブロック状の試験片にヘキサン還流処理を 16 時間行い、収着した生体脂質を回収した。溶媒として使用したヘキサンを十分に除去した上で秤量し、UHMWPE 製コンポーネントに収着した脂質を定量した。

脂質用定量キットやガスクロマトグラフィー質量分析により、インプラントから回収した脂質及び関節液に含まれる成分を分析した。これらの分析により多く検出された生体脂質の溶液を調製し、未使用の UHMWPE 製のブロック片試験片を浸漬させることで、生体脂質が収着した劣化モデル試料を作製した。試料の一部には、加速酸化処理を施した。

(2) 力学的手法による評価

インデンテーション試験機を用いて、抜去した UHMWPE 製コンポーネントや、劣化モデル試料の力学特性を評価した。試料には、マイクロトームを用いて作製した厚さ 200 μm の薄片や、マイクロトームを用いて表面を平滑に仕上げたブロック状の試験片を用いた。試験条件は、ISO 14577-1:2000 に従った。得られた試験力-押し込み深さ曲線から、弾性率とマルテンス硬度を求めた。マイクロスラリーエロージョン (MSE 法) を用いて、抜去した UHMWPE 製コンポーネントの強度評価を行った。

(3) 生体反応性

上下倒置法を用いて、生体脂質が UHMWPE 粉体の生体反応性に与える影響について検討した。試料には、市販の直径 10 μm の UHMWPE 製粒子、これに SQ を収着させた試料、SQ を収着させた後、さらに加速酸化処理を施した試料の 3 種を用いた。マウスマクロファージ様細胞株 RAW264 を播種した培養容器にこれらの粒子を添加し、ELISA 法を用いて TNF- α の産生

量を測定した。

4. 研究成果

(1) 抜去インプラント及び関節液に含まれる生体内物質の分析

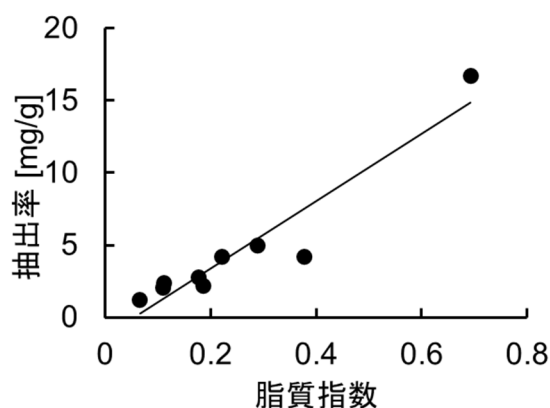
FTIR を用いた測定や臨床情報に基づき、UHMWPE の製法を分類した。その結果、製法により、損傷の発生状況や、耐摩耗性、酸化劣化抑制効果に差異があることがわかった。

ブロック片試験片から回収された生体脂質の量が、UHMWPE の製法に関わらず、脂質指数と高い相関を示すことが確認された(図1)。

UHMWPE から回収された生体脂質や、関節液の成分を分析したところ、SQ は殆ど含まれていないことがわかった(図2)。同定されない物質も少なくなかったが、コレステロール(Cho)及びコレステロールエステル(ChoE)、続いてトリグリセリド(TG)が多く検出され、リン脂質(PL)は殆ど検出されなかった。

以上の結果を踏まえて、劣化モデルの構築には、ChoE と TG を用いることとした。当初は、可能な限り生体内の環境に近づけるため、水溶液の調整を試みた。しかし、界面活性剤を用いても、ほとんど溶解しないことがわかった。そこで、生体内環境との差異が大きくなってしまうものの、溶解性を優先し、ヘキサン溶液とすることとした。

それぞれの脂質の溶解性に応じて、5%又は10%のヘキサン溶液を調製した。各溶液を60 に熱し、UHMWPE 製のブロック状試験片を浸漬したところ、概ね7日までに、ほぼ平衡に達す



ることがわかった。

図1 抜去コンポーネントからの抽出物の量と脂質指数の関係

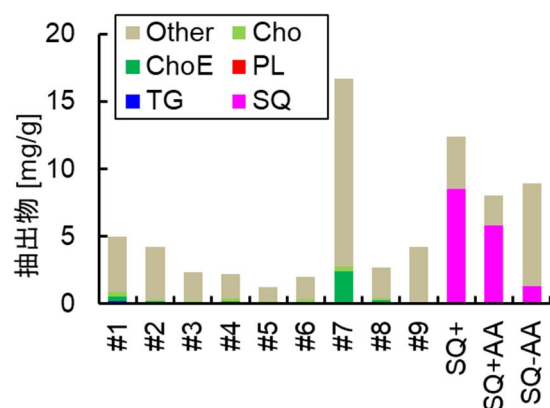


図2 抜去コンポーネント(#1~#9)やSQを収着させた in vitro 試料(SQ、SQ+AA、SQ-AA)からの抽出物から検出された脂質量

(2) 力学的手法による評価

薄片状の試験片の表面粗さを小さくすることは困難で、ISO 14577-1:2000 の条件に従うと、十分な精度でインデンテーション試験を行うことが難しいことがわかった。そこで、ブロック状の試験片を用いることとした。測定面は、マイクロームを用いて仕上げた。スライス厚さを小さくし、未使用の刃で最終仕上げを行うことで、表面粗さを改善できることがわかった。

抜去インプラントに適用したところ、ガンマ線照射に起因する酸化劣化が顕著な試料では、硬度の上昇が確認された(図3)。しかし、脂質によると思われる力学特性の変化は、観察されなかった。また、ChoE や TG を収着させた試料や、これらに加速酸化処理をさらに施した試料でも、インデンテーション試験で、顕著な違いは観察されなかった。

抜去インプラントで酸化度の上昇が認められた領域では、MSE 法で強度の低下も確認された。それ以外の領域で、顕著な強度低下は観察されなかった。抜去インプラントの摺動面の表面近傍では、多くの試料でわずかな強度低下が観察され、収着した生体脂質の影響である可能性も考え

られたものの、断定するには至らなかった。

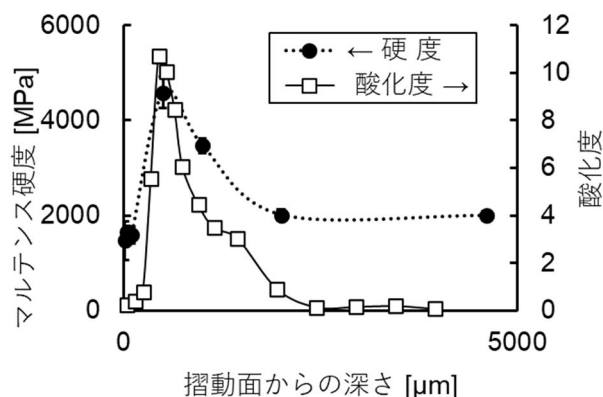


図 3 酸化劣化を生じた抜去コンポーネントのマルテンス硬度と酸化度の摺動面からの深さ方向のプロファイル

(3) 生体反応性

無処理の UHMWPE 製粒子と SQ を収着させた粒子の間では、産生する TNF- α の量に差は見られなかった。SQ を収着させた後、加速酸化処理を施した粒子を添加した場合は、これらの試料に比べ、産生される TNF- α の量が増加する傾向が見られた。

(4) まとめ

脂質指数を用いることで、UHMWPE 製コンポーネントに収着した脂質の量を、FTIR 測定で推定できることを示した。抜去された UHMWPE 製コンポーネントや、関節液に含まれる脂質を分析した。その結果、これまで、生体脂質による UHMWPE 製コンポーネントへの影響を評価する目的で生体脂質のモデル物質として使用されてきた SQ が、実際にはほとんど含まれていないこと、また、ChoE や TG が含まれていることがわかった。これらの脂質を用いて、in vitro 劣化モデルを調整し、力学特性の変化を調べたところ、顕著な変化は観察されなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 安田将大, 植月啓太, 迫田秀行, 富田直秀	4. 巻 42
2. 論文標題 折れ線モデルを用いた球状ポリエチレン粒子の生体反応性評価	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 臨床バイオメカニクス	6. 最初と最後の頁 239-243
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 迫田秀行, 岡本吉弘, 菅野伸彦	4. 巻 42
2. 論文標題 力学特性評価に基づく超高分子量ポリエチレン製コンポーネントの劣化評価	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 臨床バイオメカニクス	6. 最初と最後の頁 245-250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sakoda H, Okamoto Y and Haishima Y	4. 巻 108B
2. 論文標題 In vitro estimation of reduction in strength and wear resistance of UHMWPE for joint prostheses due to lipid-induced degradation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials.	6. 最初と最後の頁 3155-3161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.b.34641	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sakoda H, Sugano N, Okamoto Y and Haishima Y	4. 巻 31
2. 論文標題 A novel method to eliminate the influence of absorbed lipids on the characterization of ultra-high molecular weight polyethylene using Fourier-transform infrared spectroscopy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bio-medical materials and engineering	6. 最初と最後の頁 119-129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/BME-201084	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 迫田秀行, 岡本吉弘, 菅野伸彦	4. 巻 40
2. 論文標題 ダイナミック超微小硬度計により測定した超高分子量ポリエチレン製コンポーネント内部の力学特性分布	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床バイオメカニクス	6. 最初と最後の頁 167-170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 迫田秀行, 岡本吉弘, 菅野伸彦	4. 巻 39
2. 論文標題 抜去された親水性表面処理ライナーの表面解析	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 臨床バイオメカニクス	6. 最初と最後の頁 49-53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 迫田秀行, 岡本吉弘, 菅野伸彦	4. 巻 38
2. 論文標題 マイクロラリーエロージョン法を用いた人工関節超高分子量ポリエチレンコンポーネントの劣化評価	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 臨床バイオメカニクス	6. 最初と最後の頁 223-228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 迫田秀行, 新見伸吾, 菅野伸彦	4. 巻 37
2. 論文標題 抜去した人工関節超高分子量ポリエチレンコンポーネントに含まれる生体脂質の定量	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 臨床バイオメカニクス	6. 最初と最後の頁 9-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 迫田秀行, 岡本吉弘, 齋島由二, 菅野伸彦
2. 発表標題 抜去人工股関節ライナーの損傷分析
3. 学会等名 第51回 日本人工関節学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 迫田秀行, 岡本吉弘, 齋島由二
2. 発表標題 デラミネーション試験法の検出感度比較
3. 学会等名 第48回 日本臨床バイオメカニクス学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sakoda H, Okamoto Y, Haishima Y
2. 発表標題 Effect of U-shaped motion on in vitro delamination test of UHMWPE for joint prostheses
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society, 68th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 迫田秀行, 戸井田瞳, 岡本吉弘, 齋島由二, 菅野伸彦
2. 発表標題 ダイナミック超微小硬度計で測定した抜去人工股関節超高分子量ポリエチレン製ライナーの材料特性
3. 学会等名 第50回 日本人工関節学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sakoda H, Okamoto Y and Haishima Y
2. 発表標題 Acceleration effect of the use of higher test load on in vitro delamination test of UHMWPE for joint prostheses.
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society, 67th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 迫田秀行, 岡本吉弘, 配島由二, 菅野伸彦
2. 発表標題 ダイナミック超微小硬度計により測定した超高分子量ポリエチレン製コンポーネント内部の力学特性分布
3. 学会等名 第45回 日本臨床バイオメカニクス学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sakoda, H., Sugano, N., Okamoto, Y. and Haishima, Y.
2. 発表標題 Surface softening of retrieved ultra-high molecular weight polyethylene components detected by micro indentation tests
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society, 65th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 迫田秀行, 菅野伸彦, 岡本吉弘, 配島由二
2. 発表標題 生体脂質による超高分子量ポリエチレンの力学特性への影響の可能性
3. 学会等名 第39回 バイオトライボロジシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sakoda, H. and Haishima, Y.
2. 発表標題 How can regulatory science support medical applications of the outcome of biotribology
3. 学会等名 2nd Czech-Japan Tribology Workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 迫田秀行, 岡本吉弘, 齋島由二, 菅野伸彦
2. 発表標題 抜去された親水性表面処理ライナーの表面解析
3. 学会等名 第44回 日本臨床バイオメカニクス学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sakoda, H., Okamoto, Y., Haishima, Y. and Sugano, N
2. 発表標題 Methods to evaluate the presence of hydrophilic modification layer on the surface of retrieved acetabular liner
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society, 64th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 迫田秀行, 岡本吉弘, 齋島由二, 菅野伸彦
2. 発表標題 抜去した人工関節超高分子量ポリエチレンコンポーネントの力学強度分布
3. 学会等名 第43回 日本臨床バイオメカニクス学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 迫田秀行, 河上強志, 岡本吉弘, 齋島由二, 菅野伸彦
2. 発表標題 抜去した超高分子量ポリエチレンコンポーネントに含まれるスクアレンの定量
3. 学会等名 第47回 日本人工関節学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sakoda H, Okamoto Y, Haishima Y, Sugano N
2. 発表標題 Localized degradation at the surface of ultra-high molecular weight polyethylene used for hip prostheses detected by the evaluation of mechanical strength
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society, 63rd Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 迫田秀行, 岡本吉弘, 齋島由二, 菅野伸彦
2. 発表標題 力学特性評価に基づく超高分子量ポリエチレン製コンポーネントの劣化評価
3. 学会等名 第47回 日本臨床バイオメカニクス学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 青柳隆夫監修、青柳隆夫、中岡竜介、迫田秀行他	4. 発行年 2017年
2. 出版社 株式会社シーエムシー出版	5. 総ページ数 258
3. 書名 医療用バイオマテリアルの研究開発	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	菅野 伸彦 (Sugano Nobuhiko) (70273620)	大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座教授 (14401)	
研究分担者	富田 直秀 (Tomita Naohide) (50263140)	京都市立芸術大学・デザイン科・客員教授 (24301)	
研究分担者	河上 強志 (Kawakami Tsuyoshi) (00434043)	国立医薬品食品衛生研究所・生活衛生化学部・室長 (82601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関