

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：平成 23 年度 ～ 平成 23 年度

課題番号：23659711

研究課題名（和文）細菌接着・バイオフィーム形成を阻害する抗菌性チタン合金表面の創出

研究課題名（英文）Inhibition of bacterial adhesion on the surface of titanium implant

研究代表者

田中 健之（TANAKA TAKEYUKI）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00583121

研究成果の概要（和文）：人工関節の感染は、その予後、耐久性を制限する深刻な合併症である。この合併症の阻止を目指し、細胞・タンパク質の吸着を制御する生体適合性ポリマーでチタン合金表面を処理する技術を確認した。また、この表面では、細菌の付着が顕著に抑制されることを明らかにした。以上の結果により、「細菌の接着・バイオフィーム形成を阻害する抗菌性金属表面」を創出することができた、今後は本研究成果の実用化へ向けた検討を推進する予定である。

研究成果の概要（英文）：To inhibit the infection around the implant of artificial joint, we have developed a new technology, surface grafting of a biocompatible polymer for titanium alloy. In addition, we have revealed that biocompatible polymer grafted surface prevented the bacterial adhesion in the experimental infection model. From these results of the study, we believe that this new technology will prevent the infection around the implant of artificial joint.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	1,500,000	450,000	1,950,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 整形外科学

キーワード：① 医療・福祉、②細菌、③ ナノ材料

1. 研究開始当初の背景

人工関節手術は実用化から約 50 年が経過し、重度の関節症に悩む患者の疼痛を緩和し、よりよい日常生活動作（ADL）・生活の質（QOL）の獲得に大きな役割を果たしている。特にわが国のような超高齢社会では有病者が増加し、年間 16 万件以上の手術が行われており、優れた治療法として確立されている。しかし、手術後に生じる人工関節周囲の感染は、長期予後を決定する深刻な合併症である。人工関節表面に細菌が接着すると、コロニー形成を経てバイオフィームが形成される。人工関節表面には血流がないため、抗菌薬の効果が発揮しにくい。また、バイオフィーム内の細菌は抗菌薬や宿主の免疫反応から保護される。

したがって、一度感染を生じると保存的治療で治療することは難しく、人工関節の抜去・再置換が必要となることが多い。

2. 研究の目的

本研究の目的は、人工関節の深刻な合併症である感染の阻止を目指し、細胞・タンパク質の吸着を制御する生体適合性ポリマーで金属表面を処理する技術を確認し、「細菌の接着・バイオフィーム形成を阻害する抗菌性金属表面」を創出することである。

3. 研究の方法

1) 金属表面の至適 MPC ポリマー処理方法・条件の検索

本研究では、チタン合金表面の処理方法・

条件を確立した。具体的には、処理方法および処理条件を変化させ、至適なプロセスを検索した。

2) MPC ポリマー処理金属表面の抗菌作用の検討

a) タンパク質吸着抑制の検討

人工関節表面が細菌とタンパク質を含む体液に接触すると、まず表面にタンパク質が吸着し、この吸着タンパク質層に細菌が接着する。そこで MPC ポリマー処理を施したチタン合金表面のタンパク質吸着抑制を評価した。

b) 細菌の接着・バイオフィーム形成の検討

日本整形外科学会診療ガイドライン委員会の「骨・関節術後感染予防ガイドライン」(2006年)に基づき、人工関節感染の代表的な起因菌である、黄色ブドウ球菌を用いて検討した。

4. 研究成果

1) 金属表面の至適 MPC ポリマー処理方法・条件の検索

処理方法 (dip 法, graft to 法, graft from 法等) および処理条件 (重合開始剤濃度、溶液濃度、処理時間等) を変化させ、チタン合金表面の至適プロセスを検索した。得られた試料表面について、X線光電子分光分析、フーリエ変換赤外分光分析、水による接触角測定、MPC ユニットの同定および処理率の計測、ローダミン 6G を用いた蛍光顕微鏡観察等の検討を行い、至適処理条件を確立した。

2) MPC ポリマー処理金属表面の抗菌作用の検討

a) タンパク質吸着抑制の検討

MPC ポリマー処理を施したチタン合金表面のタンパク質吸着抑制を評価するため、アルブミン、フィブリノーゲン等の血清タンパク質をチタン合金表面に吸着させた。そして、タンパク質のペプチド結合に反応させた銅イオンをピシニコニン酸に反応させ、その吸収ピークを分光光度計により測定し、チタン合金表面へのタンパク質吸着量を計測した。また、表面の親水性、表面電荷を、接触角測定、ゼータ電位測定により計測した。

b) 細菌の接着・バイオフィーム形成の検討

チタン合金製の試験片表面に上記 1. で確立した方法で MPC ポリマー処理を行った。試験片表面に、細菌を播種し、静置培養を行った後、試験片を回収し、その表面について、附着生菌数測定、蛍光顕微鏡観察、SEM 観察等を行い、MPC ポリマー処理によりチタン合金表面への細菌の付着が顕著に抑制されることを明らかにした。

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 3 件)

- 1) Ishihara K, Goto Y, Matsuno R, Inoue Y, Konno T: Novel polymer biomaterials and interfaces inspired from cell membrane functions. *Biochim Biophys Acta-General* 1810(3): 268-75, 2011 (査読有).
- 2) Inoue Y, Nakanishi T, Ishihara K: Adsorption force of proteins against hydrophilic polymer brush surfaces. *React Funct Polym* 71(3): 350-5, 2011(査読有).
- 3) Kyomoto M, Moro T, Saiga K, Hashimoto M, Ito H, Kawaguchi H, Takatori Y, Ishihara K: Biomimetic hydration lubrication with various polyelectrolyte layers on cross-linked polyethylene orthopedic bearing materials. *Biomaterials* 33: 4451-9, 2012(査読有).

[学会発表] (計 23 件)

- 1) 井上祐貴, 中西智亮, 石原一彦: タンパク質吸着過程のナノ解析による生体親和型ポリマー表面の設計. 第 60 回高分子学会年次大会. 大阪, 5. 25-27, 2011.
- 2) 井上和臣, 井上祐貴, 石原一彦: タンパク質吸着に与えるポリマーブラシ表面の水和状態の効果. 第 60 回高分子学会年次大会. 大阪, 5. 25-27, 2011.
- 3) 石原一彦: ナノバイオマテリアル・インテグレーションと未来医学. ナノ学会第 9 回大会. 札幌, 6. 2-4, 2011.
- 4) 柴山崇, Seo Ji-Hun, 石原一彦, 高井まどか: ブロックコポリマーの自己組織化相分離構造による細胞接着性の制御. 第 23 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会. 千葉, 6. 10-11, 2011.
- 5) 茂呂徹, 高取吉雄, 中村耕三, 石原一彦, 京本政之, 安藤嘉基, 宮本比呂志, 伊藤英也, 角田俊治, 田中健之, 大嶋浩文, 雑賀健一, 川口浩: MPC ポリマーの表面処理による人工関節金属表面の細菌付着抑制効果. 第 34 回日本骨・感染症学会. 淡路島, 7. 8-9, 2011.
- 6) 石原一彦, 山岡哲二: 未来を拓くナノ医療とは?—新しい医療原則の確立と価値の創出. 第 60 回高分子討論会. 岡山, 9. 28-30, 2011.
- 7) 井上祐貴, 井上和臣, 石原一彦: タンパク質吸着を支配するポリマーブラシ表面近傍の水和状態. 第 60 回高分子討論会. 岡山, 9. 28-30, 2011.

- 8) 坂田翔, 井上祐貴, 石原一彦: 生体親和性ポリマーブラシ表面でのタンパク質との相互作用力のナノ解析. 第60回高分子討論会. 岡山, 9.28-30, 2011.
- 9) 石原一彦: 日本発の高性能ポリマーバイオマテリアル MPC ポリマーの創発と応用. 医療機器フォーラム. 東京, 10.3, 2011.
- 10) 茂呂徹, 高取吉雄, 石原一彦, 京本政之, 安藤嘉基, 宮本比呂志, 伊藤英也, 角田俊治, 田中健之, 大嶋浩文, 中村耕三, 川口浩: 人工関節金属インプラント表面の MPC 処理による細菌付着抑制効果の検討. 第36回日本整形外科学会基礎学術集会. 前橋, 10.20-21, 2011.
- 11) 石原一彦: 低侵襲医療に役立つ生体親和型ポリマーバイオマテリアル. 東海ライブ研究会. 豊橋, 10.20-22, 2011.
- 12) 石原一彦: MPC ポリマーの基礎と応用. 第33回日本バイオマテリアル学会大会. 京都, 11.21-22, 2011.
- 13) 井上和臣, 井上祐貴, 石原一彦: タンパク質吸着に与えるポリマーブラシ表面の水和状態の影響. 第33回日本バイオマテリアル学会大会. 京都, 11.21-22, 2011.
- 14) Kyomoto M, Moro T, Saiga K, Takatori Y, Ishihara K: High oxidation- and wear-resistance of PMPC-grafted polyethylene arisen by extra plasma irradiation. 2011 Annual Meeting & Exposition of the Society for Biomaterials (SFB). Orlando, USA, 4.13-16, 2011.
- 15) Ishihara K, Goto Y, Matsuno R, Inoue Y, Konno T, Takai M: Inhibition of inflammatory responses on phospholipid polymer-coated nanoparticles. 2011 Annual Meeting & Exposition of the Society for Biomaterials (SFB). Orlando, USA, 4.13-16, 2011.
- 16) Byambaa B, Konno T, Ishihara K: Cytocompatible polymer surface with photocleavable groups for regulating the single cell attachment/detachment. 2011 Annual Meeting & Exposition of the Society for Biomaterials (SFB). Orlando, USA, 4.13-16, 2011.
- 17) Inoue Y, Nakanishi T, Ishihara K: Elucidation of protein adsorption behavior based on molecular dynamics around polymer brush surface. 2011 Annual Meeting & Exposition of the Society for Biomaterials (SFB). Orlando, USA, 4.13-16, 2011.
- 18) Ishihara K, Kyomoto M, Moro T, Inoue Y: Surface modification with phospholipid polymers for long-term implantable medical devices. THERMEC' 2011. Quebec, Canada, 8.1-5, 2011.
- 19) Inoue K, Inoue Y, Ishihara K: Importance of dynamics of water molecules on protein adsorption at polymer brush surfaces. The 3rd Asian Biomaterials Congress. Busan, Korea, 9.15-17, 2011.
- 20) Ishihara K: Highly biocompatible surface for implantable artificial organ. The 3rd Asian Biomaterials Congress. Busan, Korea, 9.15-17, 2011.
- 21) Ishihara K, Kyomoto M, Moro T, Takatori Y: Biomimetic surface modification on artificial hip joint for elongation of implantation life. European Society for Artificial Organs (ESAO). Porto, Portugal, 10.9-12, 2011.
- 22) Inoue Y, Inoue K, Ishihara K: Direct evaluation of interaction force between proteins and polymer brush surfaces with well-characterized hydration state. 5th International Symposium of Nanomedicine. Nagoya, 3.15-17, 2012.
- 23) Inoue Y, Ishihara K: Evaluation of protein adsorption at polymer brush surfaces based on the water structure surrounding the surface. American Chemical Society, Spring 2013 National Meeting & Exposition. San Diego, USA, 3.25-29, 2012.

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 健之 (TANAKA TAKEYUKI)
 東京大学・医学部附属病院・助教
 研究者番号: 00583121

(2) 研究分担者

中村 耕三 (NAKAMURA KOZO)
 東京大学・医学部附属病院・教授
 研究者番号: 60126133

石原 一彦 (ISHIHARA KAZUHIKO)

東京大学・大学院工学系研究科・教授
研究者番号：90193341

三浦 俊樹 (MIURA TOSHIKI)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：20376479

伊藤 英也 (ITO HIDEYA)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：30436464

金野 智浩 (KONNO TOMOHIRO)
東京大学・大学院工学系研究科
・特任准教授
研究者番号：80371706