

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24760122

研究課題名(和文)電気化学的手法を応用した人工関節材料表面の吸着膜の機能評価

研究課題名(英文)Evaluation of adsorbed protein film on joint prosthesis material by using electrochemical method

研究代表者

中嶋 和弘(Nakashima, Kazuhiro)

九州大学・工学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：70315109

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：人工関節の摩擦摩耗挙動に大きな影響を与える蛋白質吸着膜について電気化学的手法を用いて挙動について調査を行った。蛋白質にはアルブミンとグロブリンを用いた。超高分子量ポリエチレン(GUR1050)とCoCrMo合金(ASTM F75)の組み合わせにおいて、CoCrMo合金の表面電位を摩擦試験中に測定することで合金表面での蛋白質吸着膜の挙動について調査を行った。アルブミンは摩擦による剥離が観察された。グロブリンは摩擦を受けても剥離しないことが観察された。これら2つの蛋白質には吸着力に差があることが明らかとなった。この吸着力の差が摩擦摩耗を増減する蛋白質吸着膜の構造形成に影響していると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Protein adsorbed film on joint prosthesis material affecting tribological property was evaluated by using electrochemical method. Albumin and gamma-globulin contained in natural synovial fluid was selected for measurement. The combination of ultra-high molecular weight polyethylene (GUR1050) and CoCrMo alloy (ASTM F75) was employed. The potential between CoCrMo alloy and protein solution was measured to understand the behaviour of protein adsorption. Albumin was easily peeled off by shear force, it means the adsorption is weak. Gamma-globulin did not show desorption by shear force. Therefore, the difference of adsorption strength and stability is essence to form protein adsorption film.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・設計工学・機械機能要素・トライボロジー

キーワード：人工関節 蛋白質 境界潤滑膜 電気化学測定 吸着 摩擦 摩耗

1. 研究開始当初の背景

人工関節置換術は日本国内で年間十万件以上も実施され、変形性関節症等の患者に疼痛の除去と日常動作の回復をもたらしている。しかし、その寿命は長いもので 20 年程度である。最近ではスポーツ障害や事故などにより若年層にも置換術を施す例が増えており、20 年毎に置換術を行うことは患者に大きな負担となっている。人工関節の寿命を決定する因子の中でもっとも大きな問題は、摩擦面の摩耗により発生する摩耗粉による周囲生体組織の変性というトライボロジー的な問題に起因する。臨床応用されている人工関節の潤滑モードは混合潤滑主体であるため摩擦面の直接接点接触が避けられず摩耗が進行することに根本的な問題がある。そのため、UHMWPE の摩耗を低減することは急務である。

研究代表者は摩擦面に現在使用されている超高分子量ポリエチレン(UHMWPE)よりも軟質で生体軟骨組織と同様に含水性のポリビニルアルコール(PVA)ハイドロゲルを用いることでソフト EHL 効果により潤滑モードを流体潤滑主体とすることで直接接点の頻度を減少させ、摩耗の低減を目指してきた。PVA ハイドロゲルは膝関節シミュレータ試験のような定常状態では低摩擦・低摩耗となり良好な摩擦状態を示すが、実際の臨床条件で予想される直接接点が発生するシビアな条件では摩耗が加速的に進行する。そのため研究代表者はシビアな試験条件において臨床応用可能な条件を調査した。そして図 1 に示すように潤滑液に蛋白質を添加することで低摩耗化が可能であることを示した(中嶋ら, 日本機械学会論文集 C 編, 2004)。生体の関節潤滑液に含まれる代表的な 2 種の蛋白質(albumin, γ -globulin)はそれぞれ吸着力に違いがあり、混合割合や総添加濃度によって摩耗程度も変化することを示し、その結果からそれぞれの蛋白質は摩擦・摩耗に対する役割が違ふと思われ、図 2 に示すように潤滑液に含まれる蛋白質の濃度・添加比で異なる吸着膜を構成することを示した(K. Nakashima et al., JSME Inter. J., Ser. C, 2005)。低摩耗を示す条件では γ -globulin が一様に吸着し、 γ -globulin の吸着層の上に albumin が吸着し、層状構造を形成していることが観察された(図 2(a))。一方、潤滑液に蛋白質を添加することで摩耗が増加する条件では albumin と γ -globulin が相分離した状態で吸着膜を形成していることが明らかとなり(図 2(b))、協調的な蛋白質吸着膜が有効であることが示された。この結果は人工軟骨候補材料だけでなく、現在臨床応用されている UHMWPE へも応用が可能であると考えられる。

研究代表者は前述の成果を現在臨床応用されている材料組合せへ応用するため、アルミナセラミクスと UHMWPE の摩擦試験を行った。その結果、摩擦が低減する蛋

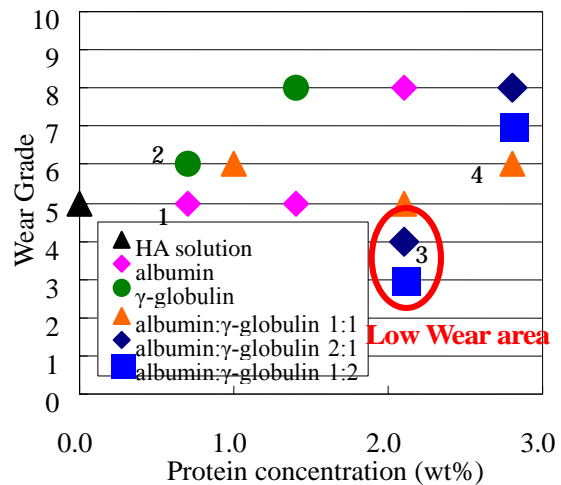


図 1 蛋白質潤滑液による摩耗程度の変化

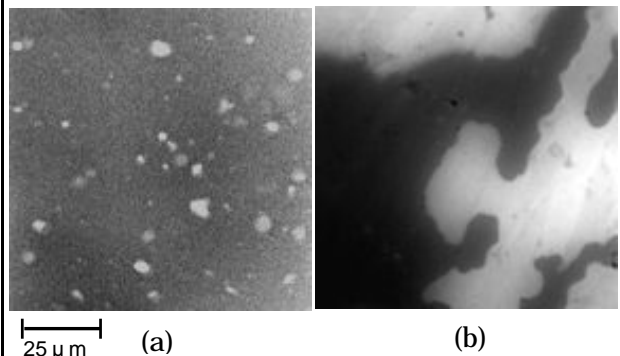


図 2 ガラス基板へ吸着した蛋白質の蛍光像 (albumin と γ -globulin にそれぞれ異なる蛍光染色を施した。(a),(b)の潤滑液条件はそれぞれ図 1 の 3,4 である。)

白質混合条件があることを示した(中嶋ら, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, Vol.31)。この場合でも低摩擦となった条件では蛋白質が層状構造を形成していると考えられる。蛋白質吸着膜が低摩耗を示すメカニズムは次のように考えている。単体の蛋白質を含む潤滑液の実験結果より albumin と γ -globulin は吸着力とせん断抵抗が異なると考えられ、 γ -globulin が材料表面に強固に吸着し、albumin がその上に低せん断層を形成する層状構造が形成された場合に、摩擦摩耗の低減効果が発揮される。研究代表者らはこれまでに蛍光蛋白質を用いた実験から吸着力の差異を示しているが、摩擦試験中における蛋白質の脱吸着について定量的な報告はない。従って、摩擦試験中における蛋白質の脱吸着を評価することが必要である。

摩擦中の蛋白質の脱吸着を測定する方法として、研究代表者は電気化学的測定法を応用し、摩擦試験中における**ポテンシャルの変化**で評価を行った。この測定法は腐食や腐食摩耗について用いられる方法であるが、まだこの手法を用いて表面の**蛋白質の脱吸着を測定した他の例は報告されていない**。また、人工関節材料が摩擦された場合に発生するポテンシャルにより腐食が発生することも考えられる。研究代表

者は Stefano Mischler 教授(スイス連邦工科大学ローザンヌ校)と共同研究を行った。UHMWPE と CoCrMo 合金での摩擦試験を行い、albumin と γ -globulin では摩擦中における脱吸着挙動が異なることを明らかにし、それぞれの役割について明らかにした(38th Leeds-Lyon Symposium にて発表, Tribology International へ投稿予定)。この手法を用いた測定により、人工関節材料上での吸着膜の構造変化や構造と摩擦摩耗の関連が明らかになれば、現在臨床応用されている人工関節材料においても摩擦摩耗の低減を実現出来ると考えられる。さらに、生体関節液成分から構成される**吸着膜の自己修復性**やトライボロジー特性評価が可能になると考えられる。これらの結果により、さらなる人工関節の長寿命化が可能になると推測する。

2. 研究の目的

現在一般的に用いられる人工関節材料の組合せである超高分子量ポリエチレン(UHMWPE)と耐食性金属において材料表面に吸着した蛋白質膜の摩擦と腐食摩耗に対する機能と効果について評価を行い、人工関節材料に対する最適な蛋白質吸着膜を検討する。これまでに他の研究では行われていない電気化学的手法を応用することで表面吸着膜の in situ 測定を可能にし、摩擦と腐食に対する的確な評価を可能にする。さらに、吸着膜の自己修復性についても検討し、人工関節の長期の使用を見据えた評価を行うことで、現在の人工関節材料の組合せにおいても長寿命化を実現することを目的とする。

3. 研究の方法

電気化学測定システムを組み込んだ摩擦試験機を開発し、摩擦試験中の金属試験片と潤滑液のポテンシャルの変化を測定した。これにより、各蛋白質の基礎的な脱吸着挙動特性を把握する。また、スイス連邦工科大学ローザンヌ校の S. Mischler 教授と連携し、議論を行った。

4. 研究成果

図3にアルブミン2.1%溶液中におけるOCPでの摩擦係数の変化を示す。摩擦開始直後に摩擦が上昇した後に2000sから摩擦係数は安定した。蛋白質吸着膜の脱吸着挙動が安定したためと考えられる。図4にポテンシャルの変化を示す。摩擦試験開始後にポテンシャルが低下した。このことから摩擦1サイクル目にCoCrMo合金に静的吸着したアルブミンが剥離したことが観察された。摩擦開始と共に減少したポテンシャルは摩擦距離の増加と共に回復した。このことから、蛋白質吸着膜がCoCrMo合金表面に再吸着していることが明らかとなった。これらの結果から、摩擦環境下で吸着した蛋白質は静的吸着した蛋白質とはコンフォメーションが異なることが

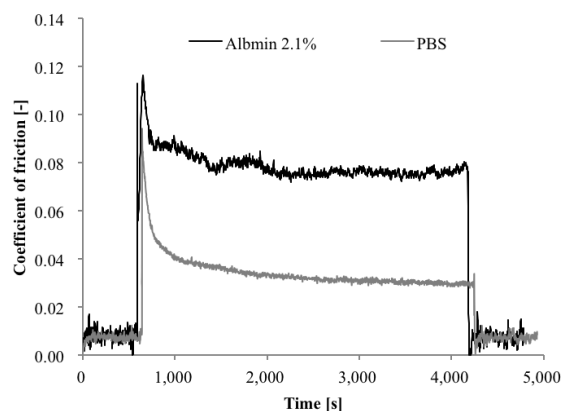


図3 アルブミン2.1%溶液中における摩擦係数

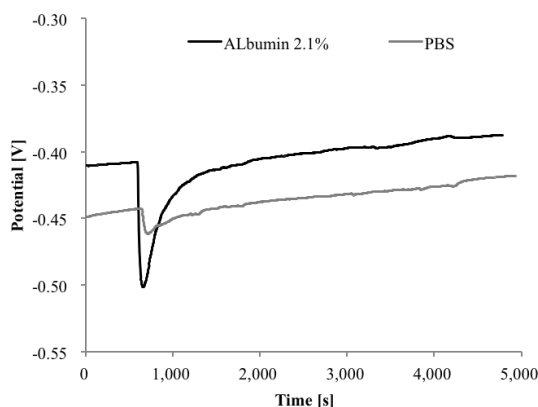


図4 アルブミン2.1%溶液中におけるポテンシャル

推測される。ポテンシャルの変化は2000s以降ではPBS溶液中とほぼ同じ変化率を示しているため、アルブミンの吸着挙動は安定したと考えられる。摩擦係数も2000s以降では安定しているため、CoCrMo合金表面での蛋白質吸着挙動が安定し、摩擦に対して剥離しにくい膜が形成されたと考えられる。

図5に-0.2V負荷した場合での摩擦係数の変化を示す。4000s以降では摩擦係数が安定し、アルブミンの脱吸着挙動が安定したことが推測される。図6にカレントの測定結果を示す。摩擦開始直後にカレントは増加し、その後減少し、4000s以降はPBS中と同様の測定値を示した。従って、アルブミン吸着膜は4000s以降で安定し、脱吸着挙動が安定したことが明らかとなった。

以上の結果より、アルブミンは材料表面に静的に吸着した後、摩擦負荷によるせん断により材料表面から剥離するが、摩擦によるせん断を受けながら材料表面に再吸着する。最吸着したアルブミンは静的吸着の場合よりもせん断に強く、剥離しにくい膜を形成する。吸着強さが変化するため、アルブミンのコンフォメーションはせん断負荷により変化する。疎水基で材料表面に接触していることが推測される。この効果により、摩擦係数、摩耗の特性は蛋白質の種類や濃度に依存し、摩擦摩耗に対する最適な蛋白質吸着膜構造が形成されることが考えられる。

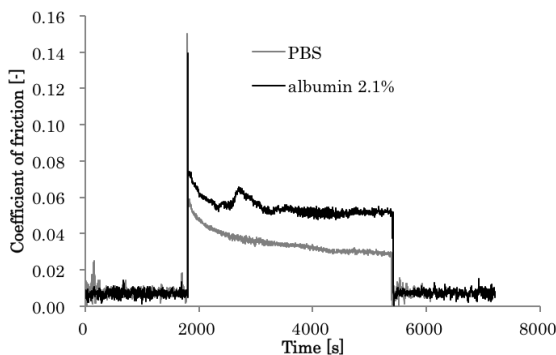


図5 -0.2V 負荷での摩擦係数

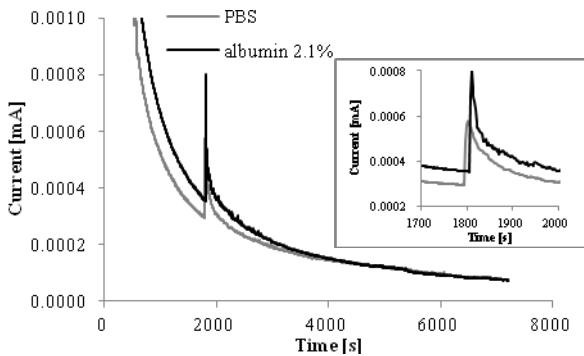


図6 カレント推移

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)

Kazuhiro Nakashima, Yoshinori Sawae, Teruo Murakami and Stefano Mischler, Behavior of Adsorbed Albumin film on CoCrMo Alloy under In-situ observation, Tribology Online, 査読有, 投稿中

〔学会発表〕(計 6 件)

Kazuhiro Nakashima, Yoshinori Sawae, Teruo Murakami, Stefano Mischler, 5th world tribology congress 2013, 2013/9/10

中嶋 和弘, 澤江義則, 村上輝夫, 摩擦挙動に寄与する蛋白質吸着膜の構造, トライボロジー会議 春 東京 2013, 2013/5/22

中嶋 和弘, 澤江義則, 村上輝夫, POLY (VIVYL ALCOHOL)ハイドロゲルの変形特性と摩擦特性, 第36回 バイオレオロジー学会 年会, 2013/6/7

Kazuhiro Nakashima, Protein Adsorption Film Observation by Using Electrochemical Method, バイオメカニクス研究センター&エレクトロニクス実装学会九州支部合同研究会, 2014/3/4

中嶋 和弘, 蛋白質吸着膜の摩擦負荷による変化のその場観察, 生体医工学シンポジウム 2013, 2013/9/21

Kazuhiro Nakashima, Effect of protein film on tribological property of joint prosthesis materials, Kyushu

University and Brno University of Technology, 2013/11/21
〔図書〕(計 1 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 (Kazuhiro Nakashima)
九州大学大学院工学研究院・助教

研究者番号: 70315109

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号: