

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500533

研究課題名(和文)人工関節軟骨の実現に向けたスーパーエンジニアリングプラスチック人工海綿骨

研究課題名(英文) Super engineering plastics-made artificial cancellous bone for an artificial articular cartilage

研究代表者

速水 尚 (HAYAMI, Takashi)

近畿大学・生物理工学部・教授

研究者番号：20173057

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：人工関節軟骨デバイスを構成する人工骨と人工軟骨の材料と構造について研究した。人工骨としてのスーパーエンジニアリングプラスチック(EP)に生体親和性と海綿構造を与える技術および人工軟骨としてのポリビニールアルコール・ハイドロゲル(PVA-H)の対生体軟骨潤滑特性を研究した。EPにチタン系超薄膜を被覆すると、骨伝導能と骨分化能が無垢EPと比べて2倍に増加することを明らかにした。純水溶媒で含水率60%のPVA-Hを製作し、潤滑特性を従来の有機溶媒型PVA-Hと比較した。その結果、両者は同等の潤滑性能を示し、従来のPVA-Hよりも生体安全性により優れた人工軟骨材料としてのPVA-Hを作製できた。

研究成果の概要(英文)：We have investigated the use of polyvinyl alcohol hydrogels (PVA-H) for hemiarthroplasty. In this project, we studied materials and structures of the artificial bone and cartilage constituting artificial articular cartilages. For this aim, the technique which supplies biocompatibility and suitable cancellous structure to the engineering plastic (EP) as the artificial cancellous bone was studied. And also, tribological properties of PVA-H as the artificial cartilage versus natural articular cartilage was studied. Deposition of titanium thin film to the EP surface imparted good osteoconduction and the proliferation and differentiation ability of osteoblasts to the EP bone. The wear resistance of the PVA-H mixed in only water (PVA-H/Water) which is developed in this project was compared with that of the PVA-H mixed in a conventional mixture of water and dimethyl sulfoxide (PVA/DMSO). The results indicated no significant difference in the wear resistance between PVA-H/DMSO and PVA-H/Water.

研究分野：人間医工学

キーワード：人工関節軟骨 人工骨

## 1. 研究開始当初の背景

特定疾患である特発性大腿骨頭壊死症をはじめとする多くの関節疾患では、病変が局在していることが多い。にもかかわらず外科的治療法の代表である人工関節置換術では、周囲の健康な骨・軟骨組織までも大量に削除しなければならない上、それによる強い副作用も生じる。人工股・膝関節を装着した患者は疼痛や車椅子生活から解放される一方、その後の生活ではステムの脱転による骨折や脱臼防止のために転倒禁止を言い渡されたり、年々再置換の可能性が増大することを覚悟したりと常に不安を抱くことになる。

そこで、病巣部のみを人工材料に置換する人工関節軟骨の開発が世界的に試みられ、1969～1975年頃開発報告が散見されたが、耐摩耗性を改善できずほとんどの研究グループが断念している。

一方、我々は、これまでの研究で、バイオイナート材料である Poly(vinyl)alcohol Hydrogel (以下 PVA-H) を骨床へ固定することに成功し、低摩擦の PVA-H も開発して人工関節軟骨を臨床応用に近づけた。図 1 は我々が開発した PVA-H 型人工関節軟骨デバイスをイヌ大腿骨頭に 12 ヶ月間インプラントした後の断面である。

このような基礎研究の次のステップは、本人工関節軟骨をヒト生体内に埋入するとき、患者と医療者の両方が安心できる高い信頼性の保証であった。この信頼性を担保する技術開発の必要性が本研究開始の動機である。



図 1 イヌ大腿骨頭に埋入した人工関節軟骨デバイス

## 2. 研究の目的

本研究では、人工関節軟骨デバイスの信頼性の保証と実用化に関する研究を行った。すなわち、(1)生体不活性材料である PVA-H を生体骨に確実かつ生涯にわたり安定的に固定する方法の開発。(2)たとえ再置換に至っても患者・医療者の両方にとって安心・安全に再置換できる方法の開発である。

これらの目的のために、PVA-H と生体骨との固定を担う人工海綿骨をエンジニアリングプラスチック (Polyetheretherketone, 以下 PEEK) で製作する技術を確立する。

## 3. 研究の方法

医療用 PEEK 製海綿骨を含む人工関節軟骨デバイスの製作、それらの生体力学的特性の向上、骨伝導性薄膜の開発および生物学的特

性の検証をおこなった。

(1) 生体力学的特性とは、生体海綿骨の構造剛性の再現を目標にした PEEK 海綿骨の構造剛性制御方法の開発および PEEK 海綿骨の切削性の検索である。具体的には、射出成形 PEEK の一般機械的特性 (引張および圧縮強さ) や融点など熱力学的特性を評価した。また、機能的構造を構築する手法として、3D プリンティングを試み、CAD による 3D 海綿構造の形状設計およびその幾何データを 3D プリンタに転送して造形する一連のプロセスを構築した。

(2) 骨伝導性薄膜の開発とは、チタン薄膜を PEEK 海綿構造の深部にまで到達させる被覆性制御および薄膜と PEEK 界面の密着強さ評価である。具体的には、生体不活性材料である PEEK の表面に、骨伝導性を有するチタン等薄膜を被覆して高い生体親和性を付与する方法として、スパッタリング被覆法を適用した。たとえ被覆できたとしても、被覆が容易に剥離すると意味がないので、その密着性を密着強さ試験によって評価した。

(3) 生物学的検討とは、骨伝導性付与のために薄膜被覆した PEEK における骨芽細胞の増殖・分化能の評価および疑似体液に浸漬して評価するアパタイト形成能である。具体的には、PEEK 単体の対照群に対して、チタン等薄膜を被覆した基板等の実験群のマウス骨芽細胞の倍加時間等増殖特性およびアルカリ性フォスファターゼ (ALP) とオステオカルシン (OCN) 産生を経時的に測定・比較した。また、疑似体液にこれら試験片を浸漬して、アパタイトの析出状況を観察した。

(4) 人工関節軟骨デバイスの本質をなす人工関節軟骨としての PVA-H の潤滑特性、特に摩擦係数の減少と耐摩耗性の向上および生体安全性の保障を目指して、新しい PVA-H の合成をおこなった。具体的には、生体毒性が懸念されるジメチルスルホキシドを溶媒に用いて PVA 粉末を溶解していた従来法を改良して、純水で PVA 粉末を溶解する方法を探索した。そして、純水溶媒の PVA-H を合成して、その潤滑特性を従来法で合成した PVA-H の潤滑特性と比較検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 生体力学的特性

海綿構造の製作 図 2 は、ブタ膝海綿骨の CT 撮影データから実体を製作した例を示す。この段階では、素材として高価な PEEK を避けてナイロン樹脂を用いた。そして、複雑な多孔質構造の 3D プリンティングに必要な、加工条件の検索に主眼をおいた。加工のためのノウハウを得ることに成功し、各種形状の人工海綿骨を製作できるようになった。

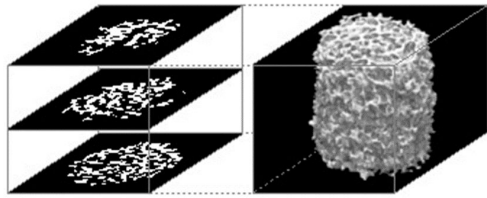


図2 生体海綿骨の  $\mu$ CT データ(左)を基に 3D プリンタで造形したプラスチック海綿骨(右)

**人工海綿骨の構造剛性** このようにして製作した人工海綿骨の単軸圧縮実験をおこない、骨体積分率を決める空孔率や骨梁幅等と圧縮剛性の関係を調べた。その結果を図3に例示する。造形モデルはボクセルデータで構成されているため、そのまま有限要素解析モデルとなる。数値解析モデルの剛性と実体の剛性も同時に比較することができた。剛性は骨体積分率が增加すると 30 から 50 MPa へと増加した。後に示すように、多孔質構造の形態は CAD 上で任意に作成できるので、骨体積分率を指標にして構造を設計して、構造剛性を制御することができる。インプラントの母床である生体海綿骨の剛性に適合する人工海綿骨を容易に製作できるようになったといえる。

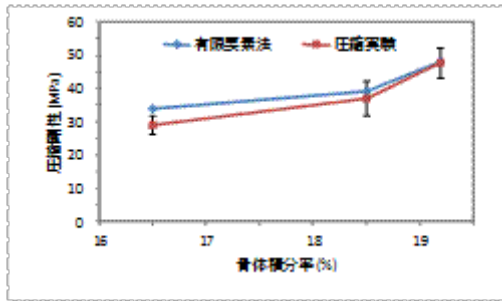


図3 造形した海綿骨の圧縮剛性

(2) 骨伝導性薄膜の開発

**チタン薄膜の密着強さ** 図4は PEEK 基板表面に厚さ 80-90 nm のチタン薄膜をスパッタリング成膜し、その垂直引きはがし実験の方法を示す。同条件で成膜した 7 個の試験片の密着強さは、 $2.55 \pm 0.45$  MPa であった。ヒト海綿骨のせん断強さは 5-20 MPa であるから、この密着強さは十分な大きさとは判定できなかった。スパッタリング条件と基材の表面粗さを大きくすることで、この密着強さを向上できることがわかった。

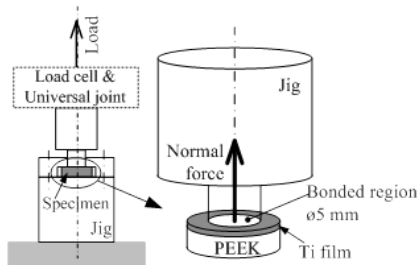


図4 薄膜の密着強さ評価方法

一方、PEEK の引張実験によって基材の伸びび変形に対する薄膜の追従性を評価した。膜厚 1400 nm では、基材の伸びが 50% になると部分的な剥離が発生したが、800 nm 以下では基材が破断に至っても剥離は生じなかった(雑誌論文)。このことから、膜厚が薄いほど追従性に優れることがわかった。この実験では、PEEK の引張強さや縦弾性係数も評価した。これらの値は、市販の射出成形 PEEK のカタログ値と差がないことを確認した。

**チタン薄膜の連通孔深部への到達度**

生体海綿骨の多孔質構造および上記項目(1)で設計した海綿構造の表面に、チタンの超薄膜を被覆して、それらに骨伝導性を付与する。骨伝導性を付与された人工骨は、生体内へインプラントされた後、その連通孔へ周囲海綿骨から新生骨が発達・侵入して両者が機械的に連結し、デバイスが固定される。そのため、チタン薄膜を連通孔の深さ方向にどの程度まで被覆できるかは、固定性を保障する重要な要因のひとつとなる。

図5はチタン薄膜(黒色部)を膜厚 10  $\mu$ m で被覆した人工海綿骨を例示する。チタン薄膜の視認性向上と EDX 分析装置による元素検出を容易にするため厚膜とした。最表面の被覆率は 100% であった。断面写真が示すように、表面からの深度約 5 mm まで、チタンが被覆された。元素分析による Ti のマッピング図では、より深部まで Ti が到達することが示された。到達深度は、海綿構造の形態、すなわち連通孔の連通度合と屈曲状態に依存することも実験的に証明された。このことから、人工海綿骨の海綿構造は骨体積分率を考慮しつつ、新生骨が発達・侵入し易い幾何学的構造を設計する方法を取り入れるべきであることが示唆された。

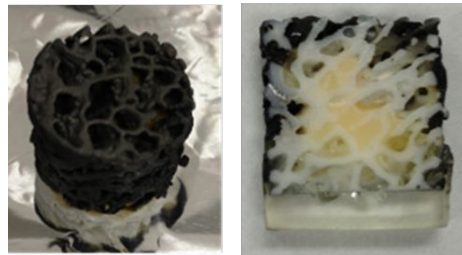


図5 チタン被覆された人工海綿骨の外形(左)と縦切断面(右)

(3) 生物学的検討

図6は、チタン被覆した PEEK 基板上で骨芽細胞を 1 週間培養した結果を示す。対照基板は鏡面加工したチタン圧延板である。また、PEEK 基板にチタンを被覆後、合成アパタイト(S-HA)または疑似体液由来アパタイト(SBF-HA)を 2 層に成膜した基板も評価した。

無被覆に比してチタン薄膜を被覆すると、細胞数は 2 倍以上に増加した。さらに、チタンとアパタイトの 2 層薄膜被覆では、細胞数は 4 倍となることがわかった。

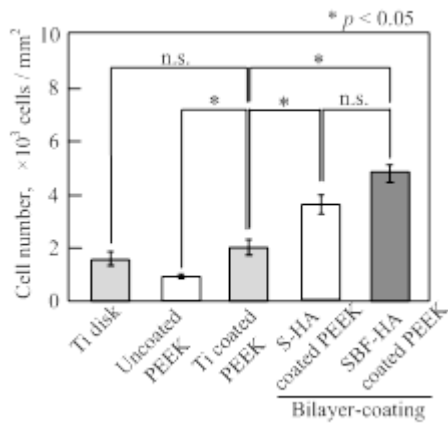


図6 基板の違いが細胞増殖に及ぼす影響

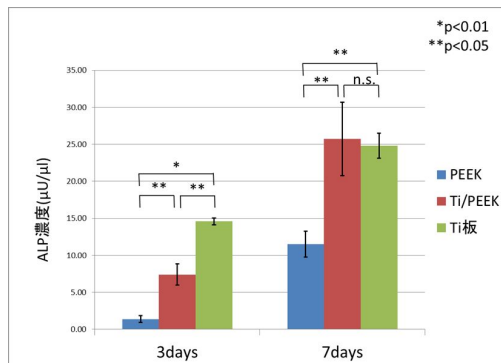


図7 基板の違いがALP濃度に及ぼす影響

図7は骨芽細胞の分化能を評価するため、骨形成マーカーのひとつであるALP活性を測定した一例を示す。無垢PEEK基板におけるALP濃度に比較して、チタン被覆PEEKおよびチタン圧延板におけるALP濃度は有意に大きかった。培養7日目のチタン被覆PEEKのALP濃度は、無垢PEEKに比べて2倍と急増し、チタン圧延板とほぼ同値を示した。

Glu-OCNについても、播種2週および3週後に同様に評価した。その結果、チタン被覆PEEKのOCN産生は、無垢PEEK基板に比べて2週後では5倍、3週後では4倍もの増加率を示した。

スパッタリング法によるチタン単層およびチタン・アパタイト2層薄膜被覆方法は、生体不活材料であるPEEKに優れた生体親和性を与えることを検証でき、PEEKを人工海綿骨材料として利用できるようにする方法を確立した。

#### (4) 純水溶媒型PVA-Hの潤滑特性

人工海綿骨部と並んで人工軟骨デバイスを構成するもうひとつの主要な構造は、人工関節軟骨部である。本デバイスは、正常生体関節軟骨に対向して配置して、関節再建を目指す半関節形成デバイスである。したがって、その潤滑特性は、PVA-H対ブタ関節軟骨の摩擦材組み合わせの下、回転型および往復動型摩擦実験(雑誌論文)によって評価した。

図8は、回転および往復動摩擦実験後におけるPVA-Hの表面状態を例示する。Srは、各

	Unwron	Wron	
		L = 1200 m	L = 3000 m
PVA-H/Water End-face			
Sr [μm Ra]	1.0	1.9	1.3
PVA-H/Water Reciprocating			
Sr [μm Ra]	1.1	1.1	0.71

図8 PVA-Hの摩擦前後の表面性状

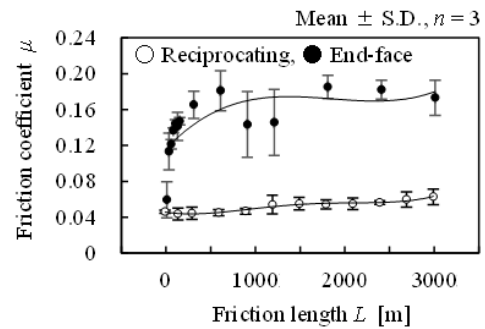


図9 摩擦距離に伴う摩擦係数の変改

表面状態における表面粗さを示す。摩擦距離Lが1200mにおけるPVA-H表面には、破線で囲った部位にアプレシブ磨耗による筋状の磨耗痕が観察された。その後、摩擦距離が増加しても、破線で囲った部位に顕著な磨耗の進展は観察されなかった。一方、摩擦距離1200mおよび3000mにおける往復動摩擦実験後のPVA-H表面には、回転摩擦のような明瞭な磨耗痕は観察されなかった。

図9は、摩擦形式の違いが摩擦係数(μ)の距離依存性に及ぼす影響を示す。回転摩擦実験の摩擦係数は、摩擦距離0mから300mの区間において初期磨耗により、μは0.059から0.16まで急増した。その後、0.14から0.18の帯域内で増減しながらも顕著な変化なく推移し、摩擦距離3000m地点でμは0.17に至った。一方、往復動摩擦実験のμは、初期磨耗による急増はみられず、摩擦距離の増加にともなって、0.046から0.063まで微増した。

摩擦距離3000mの摩擦実験では、PVA-Hは摩擦形式の違いにより磨耗損傷の程度に違いが生じることが明らかになった。またPVA-Hは、半関節状態の摩擦下でかつ摩擦距離3000mの摩擦環境においては、実用的な耐摩擦・磨耗性を有することが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計3件)

Morimoto, K., Kimura, Y., Hirokawa, N., Shibue, T., Hayami, T., Frictional Properties of Polyvinyl Alcohol Hydrogel Mixed with Water as an Artificial Articular Cartilage, IFMBE Proceedings, 43, 査読有, 714-717,

2014,  
DOI 10.1007/978-3-319-02913-9\_182.

Kusunoki.M, Matsuda.M, Fujita.N,  
Sakoishi.Y, Iguchi.R, Hontsu.S,  
Nishikawa.H, Hayami.T, Control of  
Crystallinity of Hydroxyapatite Sheet,  
Key Engineering Materials, 583, 査読  
有, 47-50, 2014,  
DOI 10.4028/www.scientific.net/KEM.  
583.47

Hayami.T, Kusunoki.M, In vitro  
response and adhesive strength of  
titanium and hydroxyapatite  
bilayer-films on polyetheretherketone  
substrate, Key Engineering Materials,  
583, 査読有, 47-50, 2014,  
DOI 10.4028/www.scientific.net/KEM.  
583.51

〔学会発表〕(計9件)

森本浩嗣, 人工軟骨に用いる PVA ハイ  
ドロゲルの潤滑特性, 第24回日本MRS学会  
年次大会, 2014.12.12. 横浜市開港記念  
会館(神奈川県横浜市).

森本浩嗣, 人工軟骨として用いる PVA ハイ  
ドロゲルの力学的特性と潤滑特性, 日本  
ゴム協会第26回エラストマー討論  
会, 2014.12.4., 愛知工業大学(愛知県豊  
田市).

Hirano.Y, Surface modification of  
poly(vinyl alcohol)hydrogel by graft  
polymerization of betaine polymer, The  
10th SPSJ International Polymer  
Conference, 2014.12.3., つくば国際会  
議場(茨城県つくば市).

平野由起, 人工関節軟骨用ポリビニルア  
ルコールハイドロゲルへのベタインポリ  
マーのグラフト重合, 第36回日本バイ  
オマテリアル学会大会, 2014.11.17.,  
タワーホール船堀(東京都江戸川区).

Hayami.T, Reciprocating Sliding  
Friction of Polyvinyl Alcohol  
Hydrogels as Articular Cartilage  
Substitutes, The 26th European  
Conference on Biomaterials, 2014.9.2.,  
Liverpool (United kingdom).

Morimoto.K, Frictional properties of  
polyvinyl alcohol hydrogel mixed with  
water as an artificial articular  
cartilage, The 15th International  
Conference on Biomedical Engineering,  
2013.12.4., Singapore (Singapore).

森本浩嗣, 水溶媒だけで作製した PVA ハイ  
ドロゲルの硬さと潤滑特性, 第40回  
日本臨床バイオメカニクス学会,  
2013.11.23., 神戸国際会議場(兵庫県神  
戸市).

岡田和真, 人工骨への応用を目的とした  
スーパーエンジニアリングプラスチック  
に対する生体親和性の付与, 日本生体医  
工学会生体医工学シンポジウム 2013,  
2013.9.20., 九州大学(福岡県福岡市).

森本浩嗣, 人工関節軟骨・PVA ハイドロ  
ゲルの摩擦特性 水溶媒とジメチルス  
ルホキシド溶媒の違いについて, 2013  
年度日本設計工学会春季研究発表講演会,  
2013.5.25., 国土館大学(東京都世田谷  
区).

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

速水 尚(HAYAMI, Takashi)

近畿大学・生物理工学部・教授

研究者番号: 20173057

(2)研究分担者

楠 正暢(KUSUNOKI, Masanobu)

近畿大学・生物理工学部・教授

研究者番号: 20282238