

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25289024

研究課題名(和文) 炎症性サイトカイン産生を抑制する人工関節表面の実験的証明

研究課題名(英文) Experimental verification for regulation of production of inflammatory cytokine by surface texturing on load bearing in artificial joint

研究代表者

中西 義孝 (Nakanishi, Yoshitaka)

熊本大学・先端科学研究部(工)・教授

研究者番号：90304740

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,500,000円

研究成果の概要(和文)：人工関節周辺組織の炎症や骨融解を抑制するためには、摩耗粉を貪食したマクロファージが産生する炎症性サイトカインを抑制する仕組みが必要である。その制御法として硬質側軸受面(ポリエチレン相手面)にマイクロスラリージェットエロージョン法による表面テクスチャリングを実施した。ポリエチレンと接触する可能性があるCo-Cr-Mo合金表面上のマイクロメートルレベル山部での算術平均粗さ、および山部と谷部の高低差をナノメートルオーダーで調節することが可能となった。炎症性サイトカイン(IL-6)の産生ピークを回避できる表面パターンを見出すことができ、人工関節適用へのロードマップを構築する体制が整った。

研究成果の概要(英文)：In a polymer-on-hard artificial joint, the bearing parts are typically composed of an ultra-high molecular weight polyethylene and an alloy with good corrosion resistance, or polyethylene and a ceramic. Wear debris generated from the polyethylene part is considered a major factor in long-term osteolysis and loosening of artificial joints, because the presence of this debris stimulates macrophage activity, thereby promoting the production of cytokines. To control the specific wear rate and morphological features of wear debris of the polyethylene, micro slurry-jet erosion was used as a precision machining method for the bearing surface of a Co-Cr-Mo alloy. Pin-on-disc wear tests resulted in a decrease in the polyethylene wear and changes in the morphological features. Primary human peripheral blood mononuclear phagocytes were incubated with the debris, and the wear debris generated on the textured surface reduced the secretion of the IL-6 proinflammatory cytokines.

研究分野：バイオエンジニアリング

キーワード：人工関節 イボロジエーション 炎症性サイトカイン 表面テクスチャリング 摩耗粉毒性 摩耗粉分析 超精密加工 トラ

1. 研究開始当初の背景

人工関節の軸受部は超高分子量ポリエチレン (UHMWPE) と硬質材料 (Co-Cr-Mo 合金やセラミックス) で構成されるものが多い。研究開始当初に Co-Cr-Mo 合金の研磨方法について検討を重ね、従来の研磨 (ラッピング) とトライボロジー理論をハイブリッド化することにより、さまざまな表面性状が創製できることを発見していた。Pin-on-disc 試験にて超高分子量ポリエチレンの摩耗試験を行った結果、従来製品に適用されている表面性状よりはるかに低摩耗となる表面性状が次々と発見されていた。

人工関節の耐用年数を向上させるためには、超高分子量ポリエチレン摩耗粉の量を抑制することも大切だが、摩耗粉のサイズを大きくすることがより大切であることが指摘されていた。なぜならば、摩耗粉が大きければ体内でマクロファージから貪食されることがなくなり、炎症性サイトカインの放出を抑制でき、炎症反応や骨融解が抑制できるからである。先行研究^{1,2)}によれば、摩耗粉のサイズが $1\ \mu\text{m}$ 以上あれば、生体反応が劇的に減少することが報告されていた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、UHMWPE 摩耗粉の量を抑制しつつ、かつ摩耗粉のサイズを大きくできる表面形状を硬質材料 (Co-Cr-Mo 合金) に創成すること、創成にあたり人工関節適用へのロードマップを構築するに最適な超精密加工法を獲得すること、ならびに有効性・安全性の検証を細胞試験により行うこと、とした。

3. 研究の方法

ヒト由来単球マクロファージ (HMDM) が異物を貪食した際の諸反応を検証するため、 $0.16\sim 19.3\ \mu\text{m}$ のポリメタクリル酸メチル樹脂 (PMMA) 粒子を調整し、HMDM と共培養した。

上市化に最適な超精密加工法としてマイクロウェットプラスティングの応用を適用し、Co-Cr-Mo 合金表面上にさまざまなテクスチャリングパターンを施した (図 1)。

Pin-on-disc 試験装置にて UHMWPE ピンと Co-Cr-Mo 合金ディスクの摩耗試験を実施し、UHMWPE の非摩耗量を調査した。潤滑液として利用した牛血清に混在する UHMWPE 摩耗粉を分離し、摩耗粉サイズ分布を調査するとともに、HMDM と共培養し、炎症性サイトカイン (IL-6) の産生量を調査した。培養実験にあたっては UHMWPE の比重が 1 より小さく、培地に浮遊する可能性が指摘されている反面、粒子形態や蛋白質等の吸着により水和し、沈降する可能性があることから、正立培養 (Upright incubation) と倒立培養 (inverted incubation) を併用した (図 2)。

4. 研究成果

PMMA 粒子を貪食させた HMDM の生存率を図 3 に、IL-6 の産生量を図 4 に示す。HMDM の

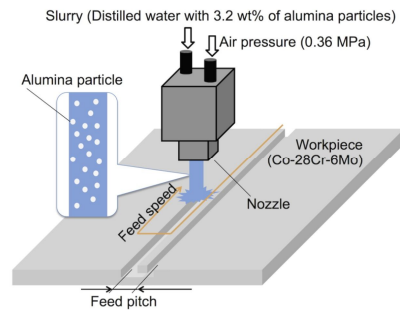


図 1: Co-Cr-Mo 合金の表面形状を調整するための超精密加工法

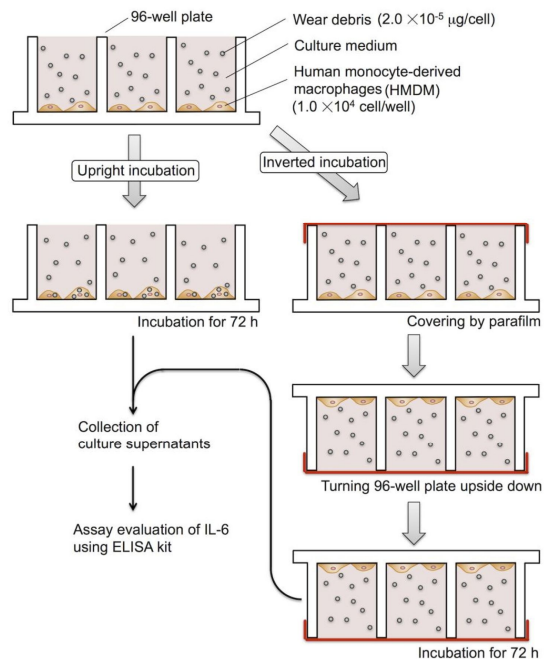


図 2: 正立培養と倒立培養

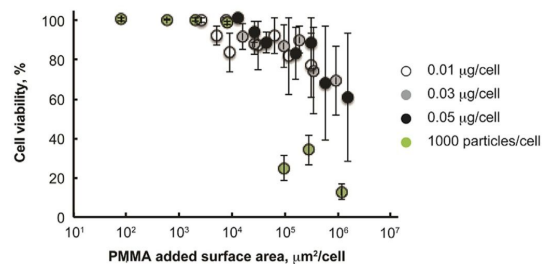


図 3: さまざまな粒径の PMMA 粒子を HMDM に貪食させた場合の細胞生存率

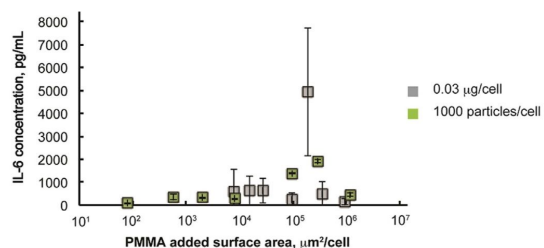


図 4: さまざまな粒径の PMMA 粒子を HMDM に貪食させた場合の IL-6 産生量

生存率は貪食された粒子の総表面積 (= 個数 × 個々の表面積) に比例して下がるが、IL-6の産生は特定の総表面積にピークがある可能性が明らかとなった。つまり、UHMWPE 摩耗粉の発生量とサイズを同時にコントロールする方法を見出せば、人工関節による炎症反応や骨融解が抑制できる可能性が示された。

Co-Cr-Mo 合金表面上に付与したパターンを図5に示す。図1のマイクロエッチングの応用を適用することで、UHMWPE と接触する可能性がある Co-Cr-Mo 合金表面の山部での算術平均粗さ (Pa) および山部と谷部の高低差 (Dpv) をナノメートルオーダーで調整できるようなったほか、摺動面全体における山部と谷部の歪度 (Sku) や摺動面全体の尖度 (Ssk) をもコントロールすることが可能になり、摺動面テクチャリングパターン設計範囲を格段に拡大することが可能となった。

図6は Pin-on-disc 試験により得られた UHMWPE 比摩耗量である。一般的な人工関節表面を模倣した Conventional surface と比較し、特に Surface 2 の表面パターンで摩耗の減少を実現することができた。図7に示す UHMWPE 摩耗粉サイズは Conventional surface で $1.0\ \mu\text{m}$ 以下が占める割合が 65% であるのに対し、Surface 2 では 37% まで低下していた。これらの結果は最適な表面パターンを Co-Cr-Mo 合金に付与することで、同じ人工関節のデザインでも摩耗粉量およびサイズが調整できることを示している。

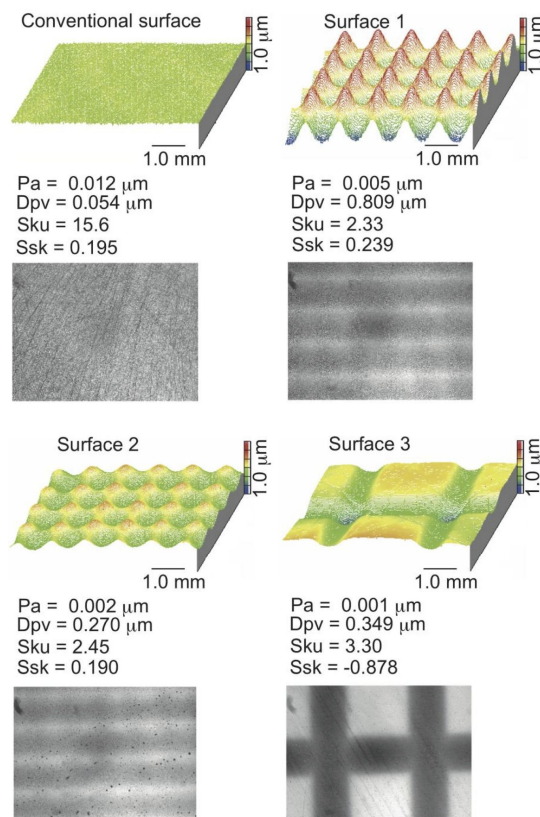


図5 : Co-Cr-Mo 合金表面上のパターン

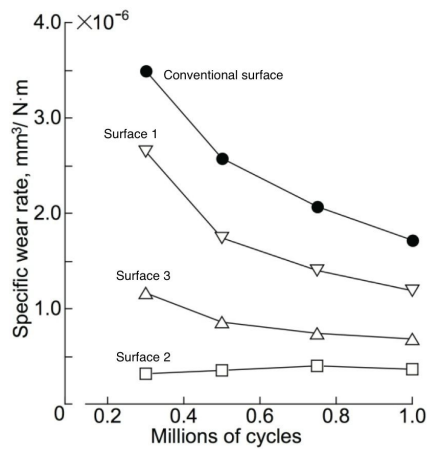


図6 : UHMWPE の比摩耗量

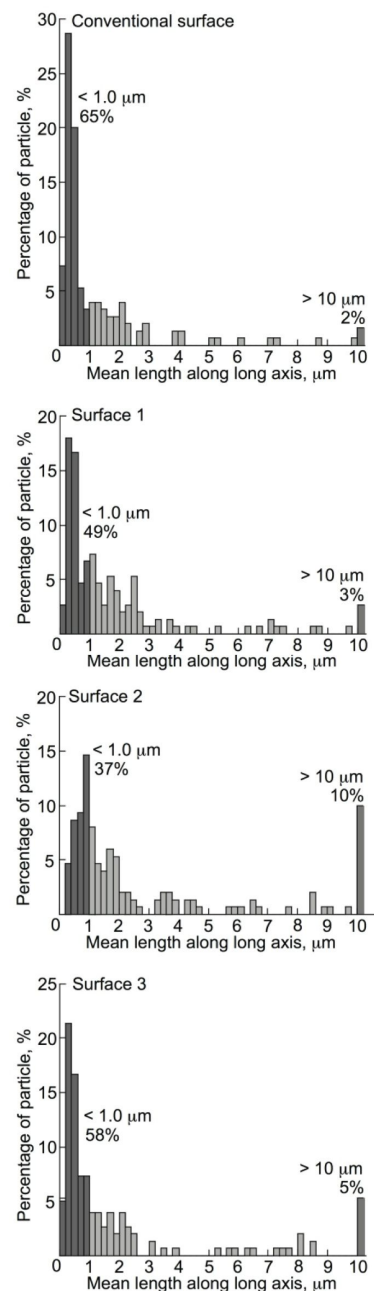


図6 : UHMWPE 摩耗粉のサイズ度数分布

図7にHMDMとUHMWPEを共培養した結果を示す。正立培養では、Conventional surfaceと比較し、Surface 2でIL-6の産生量が抑制されることが確認された。Surface 3は正立培養でIL-6産生量はConventional surfaceとほぼ同じで抑制効果は確認できず、かつ倒立培養ではIL-6の産生量増加が確認できた。これらの結果よりUHMWPE粒子は培地に浮遊するものと沈降するものがあり、培養方法に注意が必要なこと、ならびにこれまでの結果を鑑みれば、Surface 2のような表面パターンを付与することで、耐用年数を向上させることが可能であることが結論づけられた。

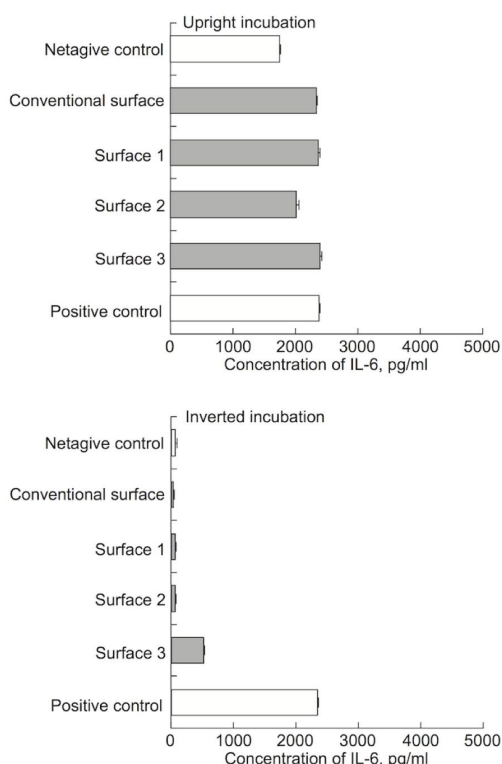


図7：正立培養と倒立培養によるIL-6産生量の違い

< 引用文献 >

- 1) Campbell P, Ma S, Yeom B, McKellop H, Schmaizied T P, Amstutz H C. Isolation of predominantly submicron sized UHMWPE wear particles from periprosthetic tissues. J Biomed Mater Res 1995; 29(1): 127-31. Doi: 10.1002/jbm.820290118.
- 2) Matthews J B, Besong A A, Gree T R, Stone M H, Wroblewski B M, Fisher J, Ingham E. Evaluation of the response of primary human peripheral blood mononuclear phagocytes to challenge with in vitro generated clinically relevant UHMWPE particles of known size and dose. J Biomed Mater Res 2000; 52: 296-307.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計15件)

R.Yoshioka, Y.Nakashima, Y.Fujiwara, Y.Komohara, M.Takeya, Y.Nakanishi: The biological response of macrophages to PMMA particles with different morphology and size. Biosurface and Biotriology, 査読有, Vol.2, pp.114-120, 2016. DOI: 10.1016/j.bsbt.2016.09.003

H.CHIKAURA, Y.NAKASHIMA, Y.FUJIWARA, Y.KOMOHARA, M.TAKEYA, Y.NAKANISHI: Effect of particle size on biological response by human monocyte-derived macrophages. Biosurface and Biotriology, 査読有, Vol.2(1), pp.18-25, 2016. DOI: 10.1016/j.bsbt.2016.02.003.

西真生, 中島雄太, 三浦裕正, 日垣秀彦, 水田博志, 岩本幸英, 中西義孝: Co-Cr-Mo合金への表面テクスチャリングが超高分子量ポリエチレンの摩耗粉に与える影響. 臨床バイオメカニクス, 査読有, Vol.36, 189-195, 2015.

<http://jglobal.jst.go.jp/public/201502202726814955>

Nakanishi.Y, Nishi.N, Chikaura.H, Nakashima.Y, Miura.H, Higaki.H, Mizuta.H, Iwamoto.Y, Fujiwara.Y, Komohara.Y, Takeya.M: Textured bearing surface in artificial joints to reduce macrophage activation. Surface Topography: Metrology and Properties, 査読有, Vol.3(4), 1-10, 2015. DOI: 10.1088/2051-672X/3/044005

中西義孝, 日垣秀彦, 三浦裕正, 水田博志, 岩本幸英: 人工関節の表面研磨法が摩耗粉とサイトカイン産生に与える影響. 臨床バイオメカニクス, 査読有, Vol.34, pp.11-18, 2013.

<http://jglobal.jst.go.jp/public/201302272760557662>

[学会発表](計48件)

中西義孝, 森山俊樹, 馬場貴司, 中島雄太: 超精密微細加工による材料表面特性の調整. 日本機械学会九州支部講演論文集, No.178-1, pp.277-278, 2017年3月14日, 佐賀大学理工学部(佐賀県・佐賀市).

中西義孝, 森山俊樹, 馬場貴司, 中島雄太: Bio-inspired surface 作成法に関する研究. 日本生体医工学会九州支部学術講演会, 1B3, 2017年3月4日, 九州大学(福岡県・福岡市).

馬場貴司, 本田拓朗, 中島雄太, 日垣秀彦, 中西義孝: Micro Wet Blastingによる材料表面特性の改善. 日本機械学会第29回バイオエンジニアリング講演会, 2F46, 2017年1月20日, ウィンク愛知(愛知

県・名古屋市)。
Y.Nakanishi, Y.Nakashima, S.Sakuraba, R.Yoshioka, Y.Fujiwara, Y.Komohara, M.Takeya, H.Miura, H.Higaki: Effect of precision machining for bearing surface in artificial joint on regulation of macrophage activation. The 16th International Conference on Biomedical Engineering, 8 December 2016, Singapore (Singapore).
R. Yoshioka, Y. Nakashima, Y. Fujiwara, Y. Komohara, M. Takeya, Y. Nakanishi: The Influence of Particle Morphology on Biological Response of Macrophages. The 16th International Conference on Biomedical Engineering, 7 December 2016, Singapore (Singapore).
森山俊樹, 桜庭新, 吉岡陸, 中島雄太, 中西義孝: 人工関節表面に最適な表面形状の検討. 日本機械学会第 27 回バイオフロンティア講演会講演論文集, pp. 55-56, 2016 年 10 月 23 日, 北海道大学 (北海道・札幌市)。
中西義孝, 中島雄太, 日垣秀彦, Chee Kent Yong, Xiangqiong Zeng, Enile van der Heide: 表面テクスチャリングが材料表面の親・疎水性に与える影響. 日本機械学会 2016 年度年次大会, J0270103, 2016 年 10 月 13 日, 九州大学 (福岡県・福岡市)。
中西義孝, 中島雄太, 桜庭新, 吉岡陸, 日垣秀彦: 人工関節における表面テクスチャリングの効果. 日本機械学会 2016 年度年次大会, J0260103, 2016 年 10 月 12 日, 九州大学 (福岡県・福岡市)。
Y. Nakanishi, Y. Nakashima, Y. Fujiwara, Y. Komohara, M. Takeya, H. Miura, H. Higaki: Effect of micro slurry-jet erosion on the tribological behaviour of polymer material of artificial joint. The 17th Nordic Symposium on Tribology, 15 June 2016, Haameenlinna (Finland).
西真生, 近浦裕斗, 吉岡陸, 桜庭新, 中島雄太, 中西義孝: 人工関節軸受面への表面テクスチャリングが超高分子量ポリエチレンの摩耗に与える影響. 日本機械学会九州支部第 69 期総会・講演会, No.168-1, pp.317-318, 2016 年 3 月 15 日, 熊本大学 (熊本県・熊本市)。
近浦裕斗, 西真生, 吉岡陸, 桜庭新, 中島雄太, 中西義孝: 微小粒子がヒト単球由来マクロファージの活性に与える影響. 日本機械学会九州支部第 69 期総会・講演会, No.168-1, pp.319-320, 2016 年 3 月 15 日, 熊本大学 (熊本県・熊本市)。
中西義孝, 中島雄太, 藤原章雄, 菰原義弘, 竹屋元裕, 水田博志, 日垣秀彦: 人工関節摺動面のテクスチャリング方法とポリエチレンの摩耗特性への影響. 日本

生体医工学会九州支部, 2016 年 3 月 5 日, 佐賀大学理工学部 (佐賀県・佐賀市)。
中西義孝, 政岡晴行, 中島雄太, 日垣秀彦: ソフトマテリアル相手材に対する表面テクスチャの影響. 日本機械学会第 28 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集, No.15-69, 2G35, 2016 年 1 月 9 日~10 日, 東京工業大学 (東京都・目黒区)。
吉岡陸, 政岡晴行, 近浦裕斗, 西真生, 中島雄太, 藤原章雄, 菰原義弘, 竹屋元裕, 水田博志, 日垣秀彦, 中西義孝: 人工関節摺動面から生じる超高分子量ポリエチレン摩耗粉の形態および生体反応に関する研究. 日本機械学会第 28 回バイオエンジニアリング講演会講演論文集, No.15-69, 2G36, 2016 年 1 月 9 日~10 日, 東京工業大学 (東京都・目黒区)。
Y.Nakanishi, N.Nishi, H.Chikaura, Y.Nakashima, Y.Fujiwara, Y.Komohara, M.Takeya, H.Mizuta, H.Miura, H.Higaki: Precision machining to bearing surface for artificial joint inhibits macrophage activation. 6th International Conference on Mechanics of Biomaterials and Tissues, P4.20, 8 Dec 2015, Hawaii (USA).
近浦裕斗, 吉岡陸, 西真生, 中島雄太, 藤原章雄, 菰原義弘, 三浦裕正, 岩本幸英, 竹屋元裕, 水田博志, 日垣秀彦, 中西義孝: 人工関節の摩耗粉サイズとマクロファージのサイトカイン産生量の関係に関する実験的考察. 第 42 回日本臨床バイオメカニクス学会・プログラム・抄録集, p.96, 2015 年 11 月 13 日, 御茶ノ水ソラシティカンファレンスセンター (東京都・千代田区)。
政岡晴行, 吉岡陸, 西真生, 近浦裕斗, 中島雄太, 中西義孝: MSE(Micro Slurry-jet Erosion)によるテクスチャリングが人工関節摺動面の摩耗に与える影響. 第 26 回バイオフロンティア講演会講演論文集, No.14-40, pp.73-74, 2015 年 10 月 2 日, 九州大学 (福岡県・福岡市)。
近浦裕斗, 西真生, 吉岡陸, 政岡晴行, 中島雄太, 藤原章雄, 菰原義弘, 竹屋元裕, 水田博志, 日垣秀彦, 中西義孝: 人工関節からの摩耗粉がマクロファージの活動と炎症性サイトカイン産生量に与える影響. 第 26 回バイオフロンティア講演会講演論文集, No.14-40, pp.75-76, 2015 年 10 月 2 日, 九州大学 (福岡県・福岡市)。
Y.Nakanishi, H.Chikaura, Y.Nakashima, Y.Fujiwara, Y.Komohara, M.Takeya: Effect of Particle Size on Biological Response by Human Monocyte-Derived Macrophages. Proceedings of The 8th International Biotribology Forum and The 36th Biotribology Symposium, pp.23-24, 22 Sep. 2015, Yokohama Symposia (Kanagawa・Yokohama)。

Y.Nakanishi, Y.Nakashima, N.Nishi, H.Chikaura, Y.Fujiwara, M. Takeya, H.Mizuta, H.Miura, Y.Iwamoto, H.Higaki: Textured Surface Processed by Micro Slurry-jet Erosion Reduces Wear of Polyethylene and Regulates Macrophage Activation. International Tribology Conference, Tokyo 2015, pp.98-99, Sep. 17 2015, Tokyo University of Science (Kokyo · Katsushika).

〔図書〕(計1件)

Y.Nakanishi, Pan Stanford Publishing, Hydrated Materials: Applications in Biomedicine and the Environment, 2015, 160.

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称：摩擦部構造及び摩擦面の形成方法
発明者：中西義孝, 有福達治, 清柳典子
権利者：熊本大学, 日本化薬株式会社
種類：特許
番号：特許願 2015-129185 号
出願年月日：2015年6月26日
国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.mech.kumamoto-u.ac.jp/Info/lab/biomech/Welcome.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

中西 義孝 (NAKANISHI, Yoshitaka)
熊本大学・大学院先端科学研究部・教授
研究者番号：90304740

(2)研究分担者

三浦 裕正 (MIURA, Hiromasa)
愛媛大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：10239189

村瀬 晃平 (MURASE, Kouhei)
名古屋大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号：80298934