

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月11日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591913

研究課題名（和文） 生体活性を有する新規 PEEK 複合体の開発

研究課題名（英文） Development of new bioactive PEEK composite

研究代表者

鈴木 昌彦（SUZUKI MASAHIKO）

千葉大学・フロンティアメディカル工学研究開発センター・教授

研究者番号：10312951

研究成果の概要（和文）：ヒト骨芽様細胞を、生体活性 PEEK 上および未活性 PEEK 上で培養したが、培養3週で osteopontin の発現が生体活性 PEEK 上の骨芽様細胞で亢進していた。白色家兔の脛骨に PEEK 材を差し込み、引っ張り試験を施行した。12 週後の両群間の引き抜き強度は生体活性 PEEK が未活性 PEEK よりおおきかったが、有意差は見られなかった。生体活性 PEEK は骨芽様細胞の石灰化を促進していた。

研究成果の概要（英文）：In the culture tests using human osteoblast-like cells, the expression of osteopontin on bioactive PEEK in 3 weeks was significantly higher than on non-active PEEK. The pull-out tests of PEEK samples from the tibia in rabbits showed no significant differences in 12 weeks. Bioactive PEEK accelerated calcification in osteoblast-like cells

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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：PEEK、生体活性、Revision

## 1. 研究開始当初の背景

人工関節手術は年間約 14 万件以上行われているが、それにともない人工関節再置換術の頻度も増加している。再手術では骨欠損があり、それを充填することが必用である。海外では骨欠損部が大きい場合には allograft を使用することができるが、日本では allograft の供給源も少なく倫理的にも使用が煩雑である。生体材料の進歩により非荷重部の海綿骨の骨欠損に対してはある程度の対応が可能となったが、荷重部などの力学的

強度を必要とする部分では使用が制限される。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、CaO-SiO<sub>2</sub> particle と polyetheretherketone (PEEK) を用いて作製した生体活性 PEEK 複合体の骨芽様細胞との反応性を評価し、白色家兔の骨に PEEK 複合体を埋入した場合の力学的特性を検討することで、荷重部の骨欠損部に対して使用可能な新規生体材料を開発・評価することである。

### 3. 研究の方法

変形性関節症患者から摘出したヒト骨芽細胞と MC3T3 細胞を使用した。30CaO-70SiO<sub>2</sub> と PEEK 材を体積重量比 2:8 で混合して作製したサンプルを生体活性 PEEK とし、30CaO/70SiO<sub>2</sub> を含まないものを未活性 PEEK (コントロール) とした。それぞれの PEEK 材で直径 2cm のディスクを作製して、そのディスク上で細胞試験を行った。各試験は n=3 で行った。ディスク上で細胞培養後、3 日、7 日、21 日で細胞を回収して DNA 量を測定することで細胞増殖試験を行った。培養後 2 時間、4 時間でディスクを洗浄して細胞を回収し、DNA 量を測定して細胞接着を評価した。生体活性 PEEK 上および未活性 PEEK 上で 3、7、21 日間培養し、骨芽細胞分化マーカー (collagen type I, osteonectin, osteopontin, osteocalcin) の mRNA 発現をリアルタイム PCR 法、ウエスタンブロット法にて検討した。アリザリンレッドを用いて、21 日目の石灰化の状態を検討した。Alkaline phosphatase (ALP) 活性は p-NPP 法で 3 日、7 日、21 日に測定した。生体活性 PEEK および未活性 PEEK で作製した板状片を 7 週令雄の白色家兔の脛骨の内側から外側に差し込み、12 週で回収して引き抜き試験を施行した。

### 4. 研究成果

ヒト骨芽細胞と MC3T3 細胞は、生体活性 PEEK 上でも未活性 PEEK 上でも 3 日、7 日、21 日と DNA 量は増大しており、両群間に有意差は見られなかった。MC3T3 細胞の接着試験では、2 時間で生体活性 PEEK の接着能が有意に強かった (p<0.05、図 1)。

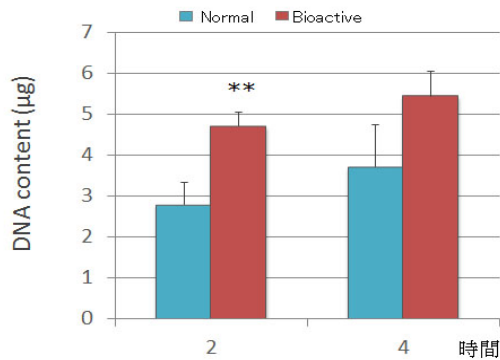


図1 MC3T3の接着試験

ヒト骨芽細胞の接着試験では、2 時間、4 時間で生体活性 PEEK の接着能が有意に強かった (p<0.01、図 2)。

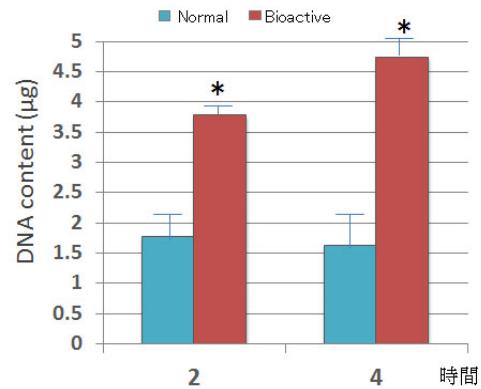


図2 ヒト骨芽細胞の接着試験

培養後 3 日、7 日、21 日のヒト骨芽細胞と MC3T3 細胞の ALP 活性は、生体活性 PEEK と未活性 PEEK で差はなかった。ヒト骨芽細胞と MC3T3 細胞の Collagen type I と osteonectin の mRNA の発現は、生体活性 PEEK と未活性 PEEK で差はなかった。3 週のヒト骨芽細胞では、osteopontin と osteocalcin の発現が生体活性 PEEK 上で有意に増加していた (図 3. p<0.01、図 4, p<0.01)。

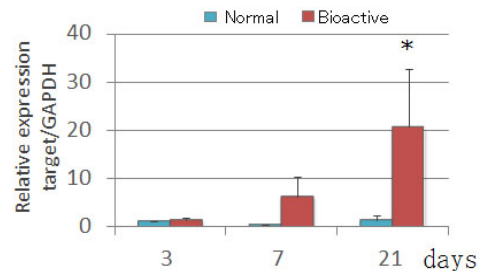


図3 ヒト骨芽細胞の

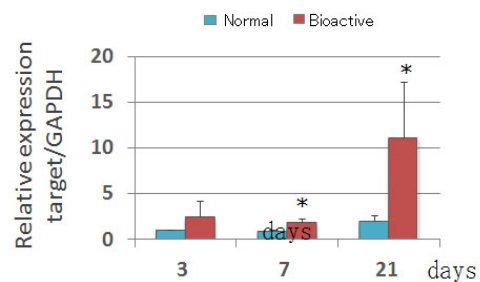


図4 ヒト骨芽細胞の osteocalcin の発現

MC3T3 細胞では、培養後 3 日で osteopontin の発現が増加していた (図 5,  $p < 0.01$ )。

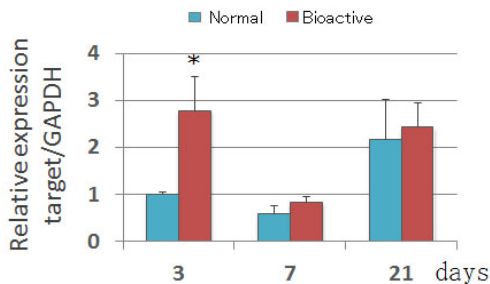


図5 MC3T3細胞の osteopontinの発現

アリザリンレッドによる石灰化の評価では、21日培養後のヒト骨様芽細胞とMC3T3細胞において、生体活性 PEEK 上での石灰化が有意に亢進していた。

30CaO/70SiO<sub>2</sub> と PEEK 材を体積重量比 2:8 で混合して作製した生体活性 PEEK は骨芽細胞内での結晶の成長と成熟に働き石灰化を促進していると考えられた。

生体活性 PEEK と未活性 PEEK を白色家兔の脛骨に埋め込み、12 週後に引っ張り強度を測定した。生体活性 PEEK の強度は未活性 PEEK より大きかったが、有意差は見られなかった。脛骨の内側-外側に差し込んだ場合、骨と板材との接触面積が少なく、PEEK 材では金属材料を用いたときのような十分な固定性を獲得できないことが両群間で有意差がみられなかった原因と思われる。大腿骨顆部などのように海綿骨の豊富な部分に埋入して実験を行うことが必要と考えられる。

#### 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)

- ① Results of revision total hip arthroplasty with Anatomic BR stem: 10-year minimum follow-up: Tsukeoka T, Lee TH, Tsuruoka H, Murata T, Suzuki M. Mod Rheumatol. 21,5,482-7,2011 査読有り

[学会発表] (計 9 件)

- ① 大槻主税、金日龍、趙晟佰、鈴木昌彦 PEEK-ケイ酸カルシウム系生体活性コンポジットの開発 (第 31 回整形外科バイ

オマテリアル研究会 24, 2011 年 12 月 3 日) 東京

- ② 濱田雄平、Liu Yuang、田島三沙子、塩悠生、高橋広幸、佐藤洋美、関根祐子、上野光一、鈴木昌彦 MC3T3-E1 細胞を用いたグレープ処理チタン合金の評価 (第 33 回日本バイオマテリアル学会大会予稿集 466, 2011 年 11 月 22 日) 京都
- ③ 鈴木昌彦、小林達也、佐粧孝久、山口智志、池川直志、齋藤雅彦、赤木龍一郎、高橋和久 生体活性PEEKにおける骨芽細胞の遺伝子発現 (第 26 回日本整形外科学会基礎学術集会 日本整形外科学会雑誌 85, 8, S1303, 2011 年 10 月 21 日) 前橋
- ④ 田島三沙子、鈴木昌彦、佐藤洋美、山浦克典、上野光一 骨芽細胞培養系における生体活性PEEKの適合性評価-第 2 報(日本薬学会第 130 年会, 2010 年 11 月 30 日) 広島
- ⑤ 田島三沙子、鈴木昌彦、佐藤洋美、山浦克典、上野光一 骨芽細胞培養系における生体活性Polyetheretherketoneの適合性評価 (第 4 回次世代をになう若手医療薬科学シンポジウム, 2010 年 11 月 27 日) 東京
- ⑥ 中川晃一、北原聡太、佐粧孝久、鈴木昌彦、高橋和久、守屋秀繁、舛田浩一、和田佑一、青木保親、中島新、古府照男 関節病に対する基礎研究 組織工学的なヒト軟骨組織形成過程における多血小板血漿の効果 (第 38 回日本関節病学会 日本関節病学会誌 29, 3, 419, 2010 年 11 月 8 日) 横浜
- ⑦ 小林達也、鈴木昌彦、佐粧孝久、中川晃一、鶴岡弘章、高橋和久 関節軟骨欠損の修復に対する人工コラーゲンの効果 (第 25 回日本整形外科学会基礎学術集会 日本整形外科学会雑誌 84, 8, S1195, 2010 年 10 月 14 日) 京都
- ⑧ 田島三沙子、鈴木昌彦、佐藤洋美、山浦克典、上野光一 骨芽細胞培養系における生体活性PEEK (Polyetheretherketone) の適合性評価 (日本薬学会第 130 年会, 2010 年 3 月 28 日) 岡山
- ⑨ 鈴木昌彦、小林達也、佐粧孝久、中川晃一、高橋和久 生体活性骨セメントに対する骨髄細胞と骨芽細胞の遺伝子発現 (第 24 回日本整形外科学会基礎学術集

会 日本整形外科学会雑誌, 83, 8,  
S1052, 2009年11月5日) 横浜

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 昌彦 (SUZUKI MASAHIKO)  
千葉大学・フロンティアメディカル工学研  
究開発センター・教授  
研究者番号: 10312951

(2) 研究分担者

大鳥 精司 (OHTORI SEIJI)  
千葉大学・大学院医学研究院・助教  
研究者番号: 40361430