

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23300175

研究課題名(和文) 表面開始スマート重合による新規運動器疾患治療法の創出

研究課題名(英文) Smart modification of PEEK by self-initiated surface graft polymerization for orthopedic bearings

研究代表者

高取 吉雄 (Takatori, Yoshio)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：40179461

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円、(間接経費) 3,990,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、我々の独自技術であるMPCポリマーの表面処理と、機械的・化学特性に優れたポリエーテルエーテルケトン(PEEK)とを組み合わせ、要介護や寝たきりの原因となる運動器疾患を治療するためのイノベーションとして「次世代型運動器インプラント」を創出するための基礎研究を行うことである。本研究により、PEEK表面の至適MPCポリマー処理条件を確立するとともに、MPCポリマー処理によりPEEK表面の荷重支持性、耐摩耗性の検討、耐感染性が劇的に向上することを明らかにした。以上の研究成果は、MPC処理PEEKを搭載した次世代運動器インプラントの実用化を推進する確信を得るに十分な結果であった。

研究成果の概要(英文)：To create novel bearing surfaces of the orthopaedic implant, we have proposed a new and safer method for constructing a nanometer-scale modified surface on the Poly(ether-ether-ketone) (PEEK) and carbon-fiber-reinforced PEEK (CFR-PEEK) substrates by the photoinduced graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC). In this study, we have successfully demonstrated fluid-film lubrication (or hydration lubrication), wear-resistance and anti-infectiousness of the PMPC-grafted surface. From the results of this study, we concluded that the MPC-grafted PEEK and CFR-PEEK will bring a novel bearing material in the field of orthopedic surgery.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学 医用生体工学・生体材料学

キーワード：生体適合材料

1. 研究開始当初の背景

芳香環がケトン基およびエーテル基により結ばれたポリエーテルエーテルケトン(PEEK)は、電気・電子分野や航空宇宙分野において注目されているスーパーエンジニアリングプラスチックの一つである。そのポリ芳香族ケトンにより、ポリエチレンと比較して優れた機械的特性、化学特性を示すため、近年運動器インプラントへの応用が試みられている。しかし、表面での生体親和性や耐摩耗性、荷重支持性、耐感染性といった運動器インプラントとして要求される条件を満たすことができておらず、これらを解決する技術が模索されている。

我々は、PEEK 構造中のポリ芳香族ケトン基に注目し、「PEEK 表面の表面修飾自己開始重合法 (スマート重合法)」を創出した。これは水を単一溶媒とし、低分子有機系開始剤を利用せずに、光開始重合で機能性ポリマーを表面に生成する、簡便かつ効率性の高い重合法で、基材の高い機械的特性を変化させることなく、表面に目的の機能を付与するナノマテリアル技術である。

これまでに我々は、生体細胞膜類似構造を有する合成リン脂質、2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)ポリマーを創出し、1) 生体適合性に優れ異物反応を惹起しないこと、2) 細胞接着と活性化・タンパク質吸着を抑制すること、3) 表面に水和潤滑ゲル層を形成し潤滑特性に優れること、を明らかにした。そしてこれらの特質を生かし、様々な先端医療デバイスへの応用研究を行ってきた。この中で、MPC ポリマーをポリエチレン表面に結合させる技術 (MPC ポリマー処理) を搭載した人工股関節は、治験を経て、既に実用化している。

本研究ではこのスマート重合法を基盤技術の一つとし、生体親和性 MPC ポリマーを用いて「次世代運動器インプラントに適した PEEK 表面」を創出することを着想した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、要介護や寝たきりの原因となる運動器疾患を治療するためのイノベーションとして「次世代型運動器インプラント」を創出するための基礎研究を行うことである。機械的特性、化学特性に優れた PEEK 表面に、簡便かつ医学的に安全性の高い重合法で潤滑性と生体親和性を付与することで、耐摩耗性、荷重支持性、耐感染性を飛躍的に向上させた革新的なインプラントを創出することを目指す。

このため、下記の 4 つのサブテーマについて、目標を設定した。

(1) 至適 MPC ポリマー処理条件の検索

下記の 3 つの効果を効率的に発揮するため

の至適 MPC ポリマー処理条件を検索・確立する。

(2) 荷重支持性の検討

機械的強度に優れた PEEK 表面に水和潤滑ゲル層の衝撃吸収性を有する MPC をグラフトすることで、体重の 5 倍とされる荷重負荷に耐えうる支持性の創出をする。

(3) 耐摩耗特性の検討

MPC ポリマーの潤滑特性により、耐摩耗性に優れた関節摺動面を創出する。

(4) 耐感染性の検討

MPC ポリマーの細胞接着抑制効果により、細菌付着およびバイオフィーム形成を阻害し、耐感染性インプラント表面の創出を目指す。

3. 研究の方法

(1) 至適 MPC ポリマー処理条件の検索

我々は、先行研究を通じて、たとえば水溶液濃度は MPC の分子鎖の長さを、紫外線照射時間ではグラフト鎖密度を規定することを明らかにしている。本研究ではこれらの開発経験を基に、我々が新規に創出した「スマート重合法による MPC ポリマー処理」を PEEK 表面に応用した。この方法は、光増感剤や重合開始剤といった低分子物質を添加することなく、水系で表面グラフト重合を進行させる点に特徴を有しており、生体にやさしい反応系であるといえる。また、アルコール易溶性の重合開始剤を用いなくてよいことから、溶媒としてアルコールを使用することが可能となり、より高密度の MPC ポリマー層を PEEK 表面に形成することが期待できる。本研究ではこれらの基盤技術を用い、荷重支持性、耐摩耗性、耐感染性を効率的に発揮するための MPC ポリマー処理条件について、下記 2~4 の評価結果をフィードバックしながら検討を進めた。溶液濃度、処理時間、紫外線強度等を変化させて MPC ポリマー処理を行い、試料表面を X 線光電子分光分析、赤外分光光度分析 (FT-IR)、原子間力顕微鏡 (AFM) で非破壊的に観察し、MPC ユニットの同定および処理率を計測した。さらに透過型電子顕微鏡 (TEM) にて処理層の厚みを測定した

(2) 荷重支持性の検討

運動器インプラントの研究開発において、その安定性の向上のため関節面を構成する高分子材料の薄層化が求められている。また、体重の 5 倍とされる荷重の繰り返し衝撃に耐えうる機械的強度・支持性も求められており、この一見相反する 2 つのニーズに応えるためには、強度と衝撃吸収性に優れた新技術の応用が必要である。本研究では、機械的強度に

優れた PEEK 表面に、水和潤滑ゲル層形成による衝撃吸収性を有する MPC をグラフトすることで、体重の 5 倍とされる荷重負荷に耐える支持性の創出を目指した。具体的には、MPC ポリマー処理 PEEK の機械的強度を評価するとともに、衝撃耐久性を検討した。

(3) 耐摩耗性の検討

PEEK 表面は疎水性であるが、親水性の MPC ポリマーの表面処理により関節摺動面に水和ゲル層が形成され、水和潤滑が生じる。この結果、摩擦係数が低減し、「弛み(loosening)」の主因となる摩耗粉の産生が期待できる。このため、MPC ポリマー処理した PEEK 表面の耐摩耗特性を摩擦・摩耗試験にて評価した。

(4) 耐感染性の検討

インプラントの感染は、表面への細菌の付着と、これに続発するバイオフィーム形成によって惹起される。バイオフィーム内において、細菌は抗菌薬や宿主の免疫反応から保護されるため、定着した菌を外科的に除去するまでは感染を繰り返すことが多い。そこで我々はインプラント表面への細菌付着を防ぐことができれば感染を制御できると考え、細胞付着の抑制効果を有する MPC ポリマー処理の応用を想起した。インプラント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、最初に、MPC ポリマー処理表面のタンパク質吸着抑制を評価した。次に、細菌感染モデルを用い、MPC ポリマー処理表面への細菌付着の抑制効果を検討した。

4. 研究成果

(1) 至適 MPC ポリマー処理条件の検索

PEEK および炭素繊維強化 PEEK (CFR-PEEK) 表面をスマート重合法により MPC ポリマー処理し、FT-IR、XPS により評価したところ、MPC に含まれるリン酸基及びエステル基またはリン及び窒素原子に由来するピークが表面に観察でき、MPC ポリマーがグラフトされたことが確認された。続いて、水接触角および摩擦試験により評価したところ、未処理群の静的接触角は約 90°であったのに対し、MPC 処理群のそれらは約 10°にまで低減した。さらに、TEM、AFM 観察において、厚さ約 100 nm の均一な PMPC 層の形成が認められた。

(2) 荷重支持性の検討

厚さの異なる PEEK 板を作製し MPC ポリマー処理を行った後、一軸、多軸の引張り試験、曲げ試験など、機械的強度を測定した。この結果、何れのサンプル、試験においても、機械的強度は運動器材料に求められる数

値を満たしていた。また、摩耗試験装置を用いて ASTM F732 に準じた衝撃-摩耗試験では MPC ポリマー処理群で摩耗が抑制されていた。また、デラミネーションなどの異常摩耗や、内部クラックの発生は認められなかった。

(3) 耐摩耗性の検討

摩擦・摩耗試験において、静的・動的摩擦係数を計測すると、PEEK および CFR-PEEK のいずれの群でも、MPC ポリマー処理により、摩擦係数は 1/20 ~ 1/10 に改善していた。また、手術後の歩行を再現する股関節シミュレーター試験において耐摩耗性を評価すると、MPC ポリマー処理群の摩耗量は未処理群に比べ約 1/7 と、劇的に改善していた。PEEK 表面に関節軟骨表面のリン脂質層と同様の水和潤滑特性をもった MPC ポリマー層が形成されたためと考えられた。CFR-PEEK を用いたシミュレーター試験では、MPC ポリマー処理の有無にかかわらず、摩耗はほとんど観察されなかった。しかし、試験終了後、CFR-PEEK と対向した骨頭の表面を観察すると、未処理群には多数の傷が認められたのに対し、MPC ポリマー処理群では滑らかな状態を保っていた。MPC ポリマーの水和潤滑ゲル層による保護効果と考えられた。

(4) 耐感染性の検討

まず、表面電荷についてゼータ電位を計測して検討すると、未処理表面は負に帯電していたのに対し、MPC ポリマー処理表面では電気的に中性であった。次に、タンパク質吸着について、低濃度のタンパク質濃度測定に適した μ -BCA 法により評価した。アルブミン、 α -グロブリンおよびフィブリノーゲン吸着量を評価すると、MPC ポリマー処理により基材表面への各タンパク質の吸着量は、それぞれ約 1/5 ~ 2/5、約 1/3 ~ 1/2、約 1/16 ~ 1/8 まで抑制されていた。さらに、インプラント感染の主要起因菌である黄色ブドウ球菌を細菌付着モデルに用いて細菌付着抑制効果を検討すると、MPC ポリマー処理表面への付着細菌数は未処理表面の 1/100 ~ 1/1000 と劇的に抑制されていた。また、この実験系で浮遊細菌数について評価すると、MPC ポリマー処理の有無で浮遊菌数に差が認められなかったことから、MPC ポリマー処理による試験片表面の付着菌の減少は、菌の殺滅によるものではなく、表面への菌の付着そのものが阻害されたことによるものと考えられた。

以上の研究成果は、MPC ポリマー処理 PEEK を搭載した次世代運動器インプラントの実用化を推進する確信を得るに十分な結果であった。

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 36 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): 268-275, 2011.
- 2) Inoue Y, Nakanishi T, Ishihara K: Adhesion force of proteins against hydrophilic polymer brush surfaces. *React Funct Polym* 71(3): 350-355, 2011.
- 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: 4451-4459, 2012.
- 4) Byambaa B, Konno T, Ishihara K: Cell adhesion control on photoreactive phospholipid polymer surfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 99(1):1-6, 2012.
- 5) Iwasaki Y, Ishihara K: Cell membrane-inspired phospholipid polymers for developing medical devices with excellent biointerfaces. *Sci Technol Adv Mater* 13: 064101(14pp), 2012.
- 6) Kobayashi M, Terayama Y, Yamaguchi H, Terada M, Murakami D, Ishihara K, Takahara A: Wettability and antifouling behavior on the super hydrophilic polymer brush immobilized surfaces. *Langmuir* 28(18): 7212-22, 2012.
- 7) Ishihara K: Successful development of biocompatible polymers designed by nature's original inspiration. *Procedia Chemistry* 4: 34-38, 2012.
- 8) 石原一彦: 高齢者医療に貢献するリン脂質ポリマー. *オレオサイエンス* 13(1): 3-9, 2013.
- 9) Kyomoto M, Moro T, Yamane S, Hashimoto M, Takatori Y, Ishihara K: Poly(ether-ether-ketone) orthopedic bearing surface modified by self-initiated surface grafting of poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine). *Biomaterials* 34: 7829-7839, 2013.
- 10) Moro T, Takatori Y, Kyomoto M, Ishihara K, Hashimoto M, Ito H, Tanaka T, Oshima H, Tanaka S, Kawaguchi H: Long-term hip simulator testing of the artificial hip joint bearing surface grafted with biocompatible phospholipid polymer. *J Orthop Res* 32(3): 369-376, 2014.
- 11) Kyomoto M, Moro T, Yamane S, Hashimoto M, Takatori Y, Ishihara K: Effect of UV-irradiation intensity on graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on orthopedic bearing substrate. *J Biomed Mater Res A* (in press)

[学会発表](計 88 件)

- 1) 京本政之, 茂呂徹, 雑賀健一, 立石崇晴, 高取吉雄, 石原一彦: 対向する摺動面を保護する生体軟骨模倣 CFR-PEEK 表面の創製. **第33回日本バイオマテリアル学会大会**. 京都, 11.21-22, 2011.
- 2) 茂呂徹, 高取吉雄, 京本政之, 石原一彦, 伊藤英也, 田中健之, 大嶋浩文, 川口浩: 耐久性の向上を目指した新しい人工股関節摺動面の開発. **第31回整形外科バイオマテリアル研究会**. 東京, 12.3, 2011.
- 3) 茂呂徹: 生体親和性材料 MPC ポリマーの表面処理による新しい人工股関節 —長寿命化を目指して—. **第42回人工関節学会**. 沖縄, 2.24-25, 2012.
- 4) 石原一彦: 生体親和型ポリマーによる医療デバイスの表面修飾. **プラスチック成形加工学会**. 東京, 6.13, 2012.
- 5) 京本政之, 石原一彦: 水和潤滑ポリマー表面の創製と人工関節への応用. **第41回医用高分子シンポジウム**. 東京, 6. 25-26, 2012.
- 6) 石原一彦: 金属/ポリマー界面における高度潤滑機能と長寿命型人工股関節の創出. **日本バイオマテリアル学会東北地域講演会**. 仙台, 9. 3, 2012
- 7) 高取吉雄: 医工連携により人工股関節の開発 -MPC 処理したライナーとその実用化—. **第45回中国・四国整形外科学会イブニングセミナー**. 倉敷, 11.10, 2012.
- 8) 高取吉雄: 人工股関節の摺動面と MPC ポリマー処理. **第62回東海関節外科研究会**. 名古屋, 4.13, 2013.
- 9) 茂呂徹, 高取吉雄: シンポジウム「セメントレス THA の摺動面とインプラントデザイン」MPC ポリマー処理を施した人工股関節摺動面の特性. **第86回日本整形外科学会学術総会**. 広島, 5.23-26, 2013.
- 10) 石原一彦: 医工連携による長寿命型人工股関節の創出. **東京大学疾患生命工学研究センター開所10周年記念シンポジウム**. 東京, 9.24, 2013.
- 11) 石原一彦: バイオミメティックポリマーバイオマテリアル技術を搭載した長寿命人工関節の実現. **山形大学特別講演会**. 山形, 10.21-22, 2013.
- 12) 迫田秀行, 京本政之, 井上祐貴, 石原一彦, 新見伸吾: 人工関節摺動面材料の形状変化に基づく新規摩耗量評価法の開発. **第40回日本臨床バイオメカニクス学会**. 神戸, 11.22-23, 2013.
- 13) 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.

- 14) 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.
- 15) Kyomoto M, Moro T, Saiga K, Takatori Y, Ishihara K: Cartilage-inspired surface and antioxidative substrate give high durability to orthopaedic polyethylene bearings. *9th World Biomaterials Congress*. Chengdu, China, 6.1-5, 2012.
- 16) Tateishi T, Kyomoto K, Yamaoka T, Ishihara K: Smart surface modification on PEEK by self-initiating graft polymerization for cardiovascular application. *9th World Biomaterials Congress*. Chengdu, China, 6.1-5, 2012.
- 17) Ishihara K: Self-forming polymeric biomaterials for cell-based engineering. *Korean Society for Biomaterials Symposium 2012*. 11.16, 2012.
- 18) Ishihara K: Successful development of phospholipid polymer biomaterials designed with bioinspiration. *New Innovations in Polymers and Materials*. Hawaii, 12.16, 2012.
- 19) Ishihara K: Bioinspired polymers for developing the bio/medical devices. *Japan-Finland International Symposium of Biomedical Materials*. Oulu, Finland, 8.8, 2012.
- 20) Kyomoto M, Moro T, Saiga K, Yamane S, Takatori Y, Ishihara K: Biomimetic hydration lubrication with various polyelectrolyte layers on orthopedic polymeric bearing materials. *Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society*. San Antonio, USA, 1.26-29, 2013.
- 21) Fukazawa K, Ishihara K: Versatile Surface Modification of Biomaterials Using Biocompatible and Photoreactive Phospholipid polymer. *Society for Biomaterials (SFB)*. Boston, USA, 4.10-13, 2013.
- 22) Kyomoto M, Moro T, Saiga K, Yamane S, Takatori Y, Ishihara K: Smart modification of PEEK by self-initiated surface graft polymerization for orthopedic bearings. *1st PEEK Meeting*. Philadelphia, USA, 4.25-26, 2013.
- 23) Ishihara K, Kyomoto M: Photoinduced and self-initiated fabrication of biocompatible phospholipid polymer layer on poly(ether-ether-ketone) (PEEK). *4th Asian Biomaterials Congress*. Hong Kong, China, 6.26-29, 2013.
- 24) Ishihara K: Photoinduced and self-initiated biocompatible surface modification on poly(ether-ether-ketone) medical device. *韓国バイオマテリアル学会*. Seoul, Korea, 9.25-28, 2013.
- 25) Ishihara K: Bioinspired phospholipid polymer biomaterials for innovative medical

device. *International Conference on Bioinspired and Zwitterionic Materials*. Hangzhou, China, 12.1-5, 2013.

〔図書〕(計5件)

- 1) 石原一彦: 人工臓器は、いま **人工臓器の終わりなき挑戦**: 245-248, はる書房, 2012.
- 2) 茂呂徹: 先端バイオマテリアルハンドブック 第5編医療における最先端バイオマテリアル 第1章人工臓器用バイオマテリアル 2節整形外科: 216-20, エヌ・ティー・エヌ, 2012.
- 3) 京本政之, 茂呂徹, 石原一彦: アンチ・エイジングシリーズ3 骨研究最前線 第4編骨のアンチエイジングとデバイス開発 第2章 骨疾患に伴うQOL 向上のためのデバイス開発 第2節 MPC ポリマー処理を用いた長寿命型人工股関節の開発: 355-66, エヌ・ティー・エヌ, 2013.
- 4) Kyomoto M, Moro T, Ishihara K: Polymeric Biomaterials. Structure and Function. Third Edition. Chapter 25 Polymers for artificial joints. P. 851-883, 2013. CRS press.
- 5) 茂呂徹: 生体適合性制御と要求特性掌握から実践する高分子バイオマテリアルの設計・開発戦略 第5編医療における最先端バイオマテリアル 第11部医療機器開発現場にみる高分子材料への要求特性とニーズ 5~医療機器開発現場より~生涯入れ換える必要のない人工関節を目指して: 399-400, サイエンス&テクノロジー, 2014.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高取 吉雄 (TAKATORI Yoshio)
 東京大学・医学部附属病院
 ・特任教授
 研究者番号: 40179461

(2) 研究分担者

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

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
 (平成23年度まで、退職による交代)

茂呂 徹 (MORO, Toru)
 東京大学・医学部附属病院・特任准教授
 研究者番号: 20302698

小笠原 徹 (OGASAWARA Toru)
 東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20359623

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

橋本 雅美 (HASHIMOTO Masami)
一般財団法人ファインセラミックスセンタ
ー・材料技術研究所・上級研究員
研究者番号：20450351

大嶋 浩文 (OSHIMA Hirofumi)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：00622359
(平成 24 年度より、退職による交代)

(3)連携研究者
該当なし