

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 24 日現在

機関番号：17201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861199

研究課題名(和文) 銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングに関する研究

研究課題名(英文) Properties of silver oxide-containing hydroxyapatite coating implant

研究代表者

染矢 晋佑 (Shinsuke, Someya)

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号：70720928

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：銀含有ハイドロキシアパタイト(銀HA)の特性を調査するため、in vitroおよびin vivoにおいて抗菌性能、生体活性、安全性について評価を行った。Ag-HAは従来のHAの効果을阻害することなく抗菌性を発揮し、有害な副作用も認めなかった。銀HAのバイオフィルムに対する効果についてin vitro, in vivoにて形成阻害効果を確認することができた。銀HAコーティングを用いた人工股関節全置換術用インプラントを使用した臨床試験では、銀HAは人体に副作用を引き起こすことなく良好な結果を得ることができた。銀HAは人工関節治療において感染を予防し、良好な成績を得る事が期待できる有用な技術である。

研究成果の概要(英文)：Our preparation of silver oxide-containing hydroxyapatite (Ag-HA) showed the property of both osteoconductivity of HA and antibacterial activity of silver, without any adverse reaction to silver. Furthermore, it was able to prevent biofilm formation, which plays important role in infection, in vitro and in vivo experiments. In the crinical trial of Ag-HA coated implants for total hip arthroplasty, patients had improved their pain, function and activity of daily living without any side effects.

Ag-HA is promising as a means of reducing postoperative infection, preventing decreased quality of life, and obtaining favorable outcomes in patients undergoing prosthetic arthroplasty.

研究分野：人工関節

キーワード：銀 ハイドロキシアパタイト 感染 人工関節

1. 研究開始当初の背景

生体内インプラントに関連した感染は、最も重大な術後合併症の一つであり、しばしばその治療に難渋する。また治療にはたくさんの時間と費用を要し、患者のQOLを著しく障害し、その家族や医療者にも大きな負担を生じる。日本整形外科学会診療ガイドライン委員会編集の骨・関節術後感染予防ガイドラインによれば、術後深部感染の発生率は初回人工関節置換術において0.2~2.9%、人工関節再置換術で1.1~17.3%程度と報告されている。

人工関節の術後に感染が起こると、患者やその家族、医療者だけでなく、院内感染や医療費用などさまざまな問題を生じる可能性があり、感染の予防が重要になっている

2. 研究の目的

感染は生体内にインプラントを挿入する手術において、最も重要な合併症の一つである。近年、整形外科領域における人工関節感染予防を目的に様々な抗菌生体材料の開発が行われている。我々は、人工関節に抗菌性を付与するため、無機系抗菌材料である銀に注目し、銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングを開発した。

銀は強い抗菌性と広い抗菌スペクトル、低い毒性を有することが報告されている。

そこで、銀含有ハイドロキシアパタイトの抗菌性や安全性(毒性)について、*in vitro*, *in vivo*において評価し、新たな生体材料として臨床応用し、人工関節感染を減少させることが目的である。

3. 研究の方法 (概要)

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングの抗菌性、安全性を評価するため *in vitro*, *in vivo*での実験を計画している。

具体的には *in vitro* 研究では、骨芽細胞を用いて、銀含有ハイドロキシアパタイトの細胞毒性を評価したり、MRSAなどの細菌を使用

して、抗菌性の評価を行う。銀含有ハイドロキシアパタイトの抗菌機序についても調査する予定である。

また、*in vivo* 研究では、SDラットを用いて、銀含有ハイドロキシアパタイトの抗菌性や毒性について評価する。銀含有ハイドロキシアパタイトの含有銀濃度を変化させ、ラットへの影響について調査する予定である。

(詳細)

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングの抗菌機序の解明

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングの銀含有濃度と抗菌性の関係

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングの銀含有濃度と骨伝導能の関係

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングのラット臓器内での銀蓄積性

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングの毒性

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングの抗菌機序の解明

銀の抗菌機序は、細菌の様々な酵素を阻害し、抗菌性を示すことが知られている。

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングの抗菌機序について、細菌を用いて調査する。

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングの銀含有濃度と抗菌性の関係

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングは、銀含有濃度を任意に調整することが可能である。

In vitro, *in vivo* において、細菌を用いて抗菌性を示す銀濃度について詳細に検討する。細菌と銀含有ハイドロキシアパタイトを混合し、寒天培地の上で増殖させ、生菌数の違いを評価する。

また、ラット脛骨モデルを用いて、銀含有ハ

イドロキシアパタイトコーティングの抗菌性を評価し、ラット用の X 線透過装置を用いて、骨の状態を評価する。

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングの銀含有濃度と骨伝導能の関係

銀は骨芽細胞の働きを阻害することが知られている。

銀含有ハイドロキシアパタイトの、銀含有濃度と骨伝導能の関係について、

in vitro, *in vivo* において評価する。

骨芽細胞と銀含有ハイドロキシアパタイトを培養液に混合させ、細胞培養を行い、骨芽細胞への毒性を評価する。また、ラットの脛骨内に銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングしたインプラントを挿入し、骨形成の程度を調査する。

ラット用の X 線透過装置を用いて、骨の状態を評価する。

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングのラット臓器内での銀蓄積性

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングのラット臓器内での銀蓄積性を評価するため、インプラントをラット脛骨内に挿入し、肝臓や腎臓、脳などの臓器への蓄積量について評価する。

インプラントは脛骨に挿入後、一定期間経過後、各臓器を摘出し、銀の含有量を測定する。

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングの毒性について

臓器蓄積性だけでなく、ラットの採血を行い、肝機能マーカーや腎機能マーカーについて計測し評価する。神経症状の評価のため、ラットの行動異常がないかも観察する。

本研究を効果的に進めるためにあたり、佐賀大学細菌学教室と共同で実験、研究を進めていく予定である。

また研究協力者として大学院生 1 名に、研究を協力してもらう予定である。

4 . 研究成果

1 . 銀含有ハイドロキシアパタイト(以下銀 HA)の銀含有濃度と抗菌性の関係

3wt%銀 HA は *in vitro* において、大腸菌、表皮ブドウ球菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対し優れた抗菌性を示していた。さらに *in vivo* での有効性を示すため、ラット脛骨を用いた骨髄炎モデルを作成し、3wt%銀 HA は HA と比較し有意に菌の増殖を抑える事ができた。また採取した脛骨の X 線検査、病理検査でも優れた抗菌性を示した。

2 . 銀 HA の銀含有濃度と骨伝導能の関係
HA、3wt%銀 HA、50wt%銀 HA がコーティングされた disc 上で骨芽細胞を培養したところ、50wt%銀 HA では高度の細胞障害が認められた。一方 3wt%銀 HA における細胞障害は HA と有意差は見られなかった。*In vivo* では、ラット大腿骨へ挿入したインプラントの引き抜き試験を行い、50wt%銀 HA では初期固定力が低下していたが、3wt%銀 HA の固定力は HA と有意差はなかった。採取した大腿骨を用いた病理検査でも 3wt%銀 HA は HA と同等の骨形成を認めた。

3 . 銀 HA のラット臓器内での銀蓄積性、臓器毒性
HA、2%銀 HA、50%銀 HA をコーティングした試験片をラット両脛骨骨髄内へ挿入し、急性期・亜急性期で血液検査及び各臓器の銀濃度を測定した。各臓器の平均銀濃度は、4-8 週ではいずれも 50%銀 HA が他の 2 群に比べて有意に高かったが、12 週では全臓器で 3 群間に有意差を認めなかった。全期間、全臓器で HA と 2%銀 HA 間に有意差を認めなかった。また全群で銀による明らかな生化学データの異常は認めず、組織学的異常所見も認めなかった。

4 . 銀含有ハイドロキシアパタイト(銀 HA)コーティングを用いた人工股関節全置換術用インプラントを使用した臨床試験では、銀 HA

は人体に副作用を引き起こすことなく良好な結果を得ることができた。

銀 HA は人工関節治療において感染を予防し、良好な成績を得る事が期待できる有用な技術である。

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)

First Clinical Experience With Thermal-Sprayed Silver Oxide-Containing Hydroxyapatite Coating Implant. Journal of Arthroplasty. 10.1016/j.arth.2015.12.034. 査読：有
Eto S, Kawano S, Someya S, Miyamoto H, Sonohata M, Mawatari M

〔学会発表〕(計 1 件)

銀含有ハイドロキシアパタイトコーティングインプラントの特性
第 30 回日本整形外科学会基礎学術集会
2014 年 10 月 10 日
染矢晋佑、江頭秀一、宮本比呂志、塚本正紹、秋山隆行、嶋崎貴文、河野駿介、園畑素樹、馬渡正明

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 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

染矢晋佑 (SOMEYA, Shinsuke)
佐賀大学・医学部・助教

研究者番号：70720928

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：