

関節液成分が生体材料のトライボロジー特性に及ぼす影響の実験的研究

新盛, 弘法

<https://hdl.handle.net/2324/6787606>

出版情報 : Kyushu University, 2022, 博士 (工学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

関節液成分が生体材料の
トライボロジー特性に及ぼす影響の実験的研究

新盛 弘法
2023. 2

目次

第1章 緒言.....	6
1-1 序論.....	7
1-2 生体関節の機能.....	9
1-2-1 タンパク質.....	10
1-2-2 ヒアルロン酸.....	12
1-2-3 リン脂質.....	13
1-2-4 生体関節の潤滑メカニズム.....	14
1-3 人工関節置換術.....	17
1-4 次世代人工関節.....	21
1-5 研究目的.....	25
参考文献.....	26
第2章 関節液成分と UHMWPE の摩擦特性の関係性.....	34
2-1. 緒言.....	35
2-2. 実験方法・材料.....	36
2-2-1. 一軸往復動摩擦試験機.....	36
2-2-2. 擬似関節液と作成手順.....	36
2-2-3. 試験片・実験条件.....	38

2-2-4. 観察・分析.....	39
2-3. 実験結果.....	43
2-3-1. 粘度測定.....	43
2-3-2. 摩擦試験.....	44
2-3-3. 観察・分析.....	47
2-4. 考察.....	51
2-5. 結言.....	55
参考文献.....	56
第3章 関節液成分と UHMWPE の摩耗特性の関係性.....	58
3-1. 緒言.....	59
3-2. 実験方法・材料.....	59
3-2-1. 多方向すべり摩耗試験.....	59
3-2-2. 分析・観察.....	63
3-3. 実験結果.....	64
3-3-1. 摩耗試験.....	64
3-3-2. 表面写真.....	67
3-3-3. FT-IR 分析.....	69
3-4. 考察.....	72

3-5. 結言	75
参考文献	76
第4章 樹脂材料ベースの新しい人工関節候補材料	78
4-1. 緒言	79
4-2. UHMWPE 複合材	79
4-2-1. 実験方法・材料	79
4-2-2. 実験結果	82
4-2-3. 考察	84
4-2-4. 小結言	85
4-3. 関節液成分を添加した SU-8 複合材	86
4-3-1. 実験方法・材料	86
4-3-2. 実験結果	89
4-3-3. 考察	104
4-3-4. 小結言	106
4-4. 結言	107
参考文献	108
第5章 関節液成分による PVA の摩擦特性への影響①:マイグレートコンタクト	111

5-1. 緒言	112
5-2. 実験方法・材料.....	112
5-2-1. 摩擦試験	112
5-2-2. 分析・観察.....	118
5-3. 実験結果	119
5-3-1. 摩擦試験	119
5-3-2. FT-IR 分析結果.....	128
5-4. 考察	131
5-5. 結言	136
参考文献	137
第 6 章 関節液成分による PVA の摩擦特性への影響②:コンスタントコンタクト	141
6-1. 緒言	142
6-2. 実験方法・材料.....	142
6-2-1. 回転式レオメータの応用	142
6-2-2. 試験片	143
6-2-3. 試験条件	144
6-2-4. 分析装置	145

6-3. 実験結果	145
6-3-1. 摩擦試験	145
6-3-2. 表面観察・分析	148
6-4. 考察	154
6-5. 結言	159
参考文献	160
第7章 総括・展望	161
7-1. 総括	161
7-2. 展望	164
謝辞	165

第1章 緒言

目次

1-1 序論	7
1-2 生体関節の機能	9
1-2-1 タンパク質	10
1-2-2 ヒアルロン酸	12
1-2-3 リン脂質	13
1-2-4 生体関節の潤滑メカニズム	14
1-3 人工関節置換術	17
1-4 次世代人工関節	21
1-5 研究目的	25
参考文献	26

1-1 序論

医療技術の進歩に伴って、世界規模で平均寿命が延伸している。日本でも、平均寿命が 80 年を超え、高齢化が深刻な問題となっている。平均寿命の延伸とともに、生活の質 (quality of life) の重要性が増しており、健康上の問題で日常生活が制限されることなく生活できる期間である健康寿命に注目が集まっている。“制限されることなく”日常生活を送るうえで、歩行能力は重要なファクターである。歩行能力は、各下肢関節の特異な機械的・生理的特性に由来しており、メンテナンスフリーで 80 年以上も機能を維持される。しかしながら、病気や事故、加齢などに伴う関節疾患や歩行障害は、歩行機能の阻害要因となっている。現在、これらの問題に対しては、運動療法や患部へのヒアルロン酸注射、重度の症例には患部の切除および人工物への置換など、様々な治療が行われている。特に人工物である人工関節への置換は、痛みの緩和という観点では極めて優れており、世界的にも広く普及している外科手術である。一方で、運動制限や再手術のリスクがあるため、一般的には 60 歳以上の患者への施術がメインとなっている。

現行の人工関節には、超高分子量ポリエチレン (Ultra high molecular weight polyethylene, UHMWPE) と耐食性合金またはセラミックスの組み合わせが材料として用いられている。このうち、摺動面に用いられている UHMWPE の摩耗によって誘起される損傷および周辺組織の炎症は、人工関節の寿命に大きく影響し、現状 15~20 年程度といわれている[1,2]。UHMWPE の摩耗には、数 MPa にもなる荷重や変則的な滑り速度などの力学環境に加え、周囲を満たす関節液と呼ばれる組織液の成分も影響を及ぼす。また、人工材料で関節機能を代替しているため、物性値・機械的強度等の制約により、可動域も制限されてしまう。本来の生体関節は、骨端を柔らかい軟骨組織で覆われており、軟骨組織の潤滑特性や柔軟性などが可動域の確保に貢献している。現在生体関節の軟骨組織を模倣する研究が進められているが、材料の強度や固定方法、生体環境下での潤滑特性など未解明な部分も多々残っており、下肢関節への臨床応用には至っていない。

本研究では、トライボロジー (摩擦・摩耗・潤滑) の観点から、種々の人工材料の摺動特性と生体環境の関連性について調査した。実際の関節液を使用することは、再現性・入手性の観点から困難であるため、ここでは関節液成分であるタンパク質、ヒアルロン酸、リン脂質に着目した。

次節から、まず原点である生体関節とその潤滑機能について紹介する。その後、

現在人工関節材料の主流である UHMWPE のトライボロジー特性と関節液成分の関係性について紹介する。最後に、現行の人工関節の課題克服を材料の観点から目指した、次世代人工関節材料に関する研究を紹介する。特に、現在の人工関節のデザインを改善した高強度材料と本来の関節を模倣した人工軟骨材料の 2 つに焦点を当てた。

1-2 生体関節の機能

膝関節の模式図を Fig.1-1 に示す[3]. 生体の関節は, 関節包 (Synovial membrane) と呼ばれる組織で全体を包まれている. 関節包内部は, 軟骨組織 (Cartilage) で覆われた骨端同士が周囲を満たす関節液 (Synovial fluid) を介して接触している.

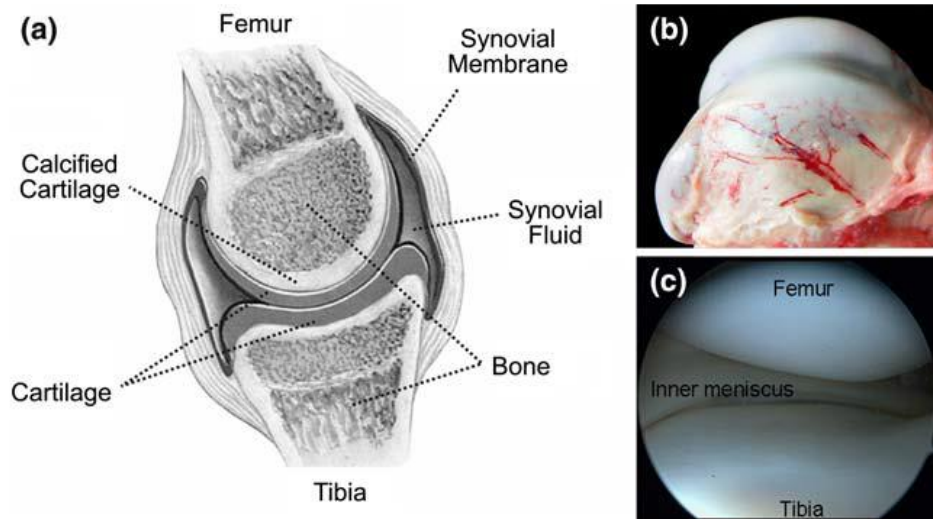


Fig. 1-1 Schematic of cartilage [3]. (a) Sketch of a knee joint, (b) side view on femoral condyle of an open joint, and (c) arthroscopic view of a healthy human knee joint.

関節軟骨は Fig. 1-2 のような構造となっている[4]. 軟骨組織は約 80%が水である. 残りの約 20%を, 網目構造を構成するコラーゲン繊維 (Collagen fiber), プロテオグリカン凝集体, そして軟骨細胞 (Chondrocyte) で構成されている. コラーゲン繊維に着目すると, 最表層付近では表面と平行に配向しているのに対し, 骨との結合部に近くなるほど表面に対して垂直に配向している. これにより, 軟骨深部では荷重を支持するとともに, 表層ではせん断抵抗を低減していると考えられている.

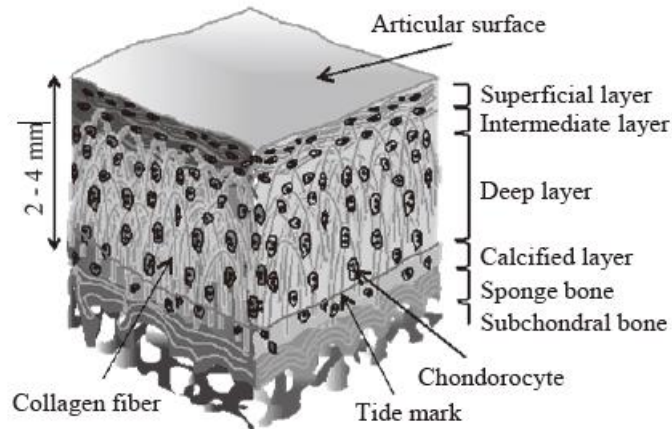


Fig. 1-2 schematic of cartilage tissue [4]

また、軟骨最表層(Superficial layer)についてはいくつかのモデルが提唱されているが、多くがヒアルロン酸を主骨格に有する構造が報告されている[3,5,6].

関節軟骨周辺を満たす関節液は血液性の体組織液ではあるものの、関節包を構成する滑膜を介していることにより、特有の成分組成を示す。主な成分として、タンパク質やヒアルロン酸、リン脂質、糖タンパク複合体、尿素など様々な生体高分子が存在する。特にヒアルロン酸や糖タンパク質を豊富に含むことにより、血管やリンパ管、神経が存在しない関節軟骨は関節液を介して栄養される。関節液成分のうち、特に含有量の多いタンパク質、ヒアルロン酸、リン脂質の組成を Table. 1-1 に示す。

Table. 1-1 Composition of synovial fluid constituents (unit: mg/ml)

	Protein	HA	Phospholipids
Normal	10 ~ 30 [7-9]	0.25 ~ 4 [7,8]	0.1 ~ 0.2 [8,10]
Damaged or Revision	29 ~ 41 [8,11]	0.7 ~ 1.9 [8,11]	0.2 ~ 0.3 [8,11]

表から分かる通り、変形性関節症や関節リュウマチなどの疾患や人工関節置換術を経ると、タンパク質の含有量は増加、ヒアルロン酸は低下、リン脂質はわずかに増加する傾向が報告されている。以下に表に挙げた成分の詳細を記載する。

1-2-1 タンパク質

タンパク質は、アミノ酸のアミノ基(-NH-)とカルボキシル基(-C=O-)がペプチド

結合によって多数連結した高分子化合物である。構成するアミノ酸の数や種類、結合の順によって、種々の機能を発現する。タンパク質分子は、階層的な立体構造を有し、一次構造はアミノ酸配列を、二次構造は水素結合等で結合した螺旋構造の α ヘリックス、平面構造の β シート、中間のランダム構造をそれぞれ意味する。さらにポリペプチド主鎖の中で二次構造が結合し三次元立体構造のことを三次構造という。

タンパク質を構成するアミノ酸は、側鎖の種類によって疎水性アミノ酸と親水性アミノ酸に分類できる。水溶液中では内部は疎水部分、外部は親水部分となり、球形の形をとることで、エネルギー的に安定した状態で液中に分散している。さらにアミノ酸は、溶液中の pH によって電荷が変化し、特に全体の電荷が 0 となる pH を等電点という。前述の通り、ペプチドを構成するアミノ酸の種類・順番によってタンパク質の構造は変化するため、タンパク質ごとに特定の等電点が存在する。

ヒトの体内には無数のタンパク質がそれぞれの機能を担っており、Table.1-1 に記す通り、関節液中にも豊富に含まれている。関節液中の総タンパク質量に対して、半分以上をアルブミンが占めており、グロブリンに関しては、 $\alpha 1$ が 6~8%、 $\alpha 2$ が 5~7%、 β が 8~10%、 γ が 10~14%となっている[7]。言い換えれば、関節液に含まれるタンパク質の大半はアルブミンと特に量が多い γ -グロブリンである。

アルブミンは関節液のみならず、血清中でも半分以上を占めている。アルブミンの立体構造は、二次構造である α ヘリックスを多く有し約 70%である。分子量は約 69000 程度であり、分子サイズは長軸 15 nm・短軸 4 nm ほど、等電点は pH4.9 付近となる[12]。アルブミンは生体内で、血中の浸透圧の維持や物質輸送などの機能を示す。

γ -グロブリンはアルブミンに次いで多く、血漿中に 12~22%を、関節液中では 10~14%を占める[7]。立体構造には、アルブミンと異なり、二次構造である β シート構造を多く有す。分子量は約 150000 程度、分子サイズは長軸 24 nm・短軸 5 nm、等電点は約 7 である。いくつかあるグロブリンの中でも、 γ -グロブリンは免疫グロブリンとも呼ばれ、免疫機能を有す。

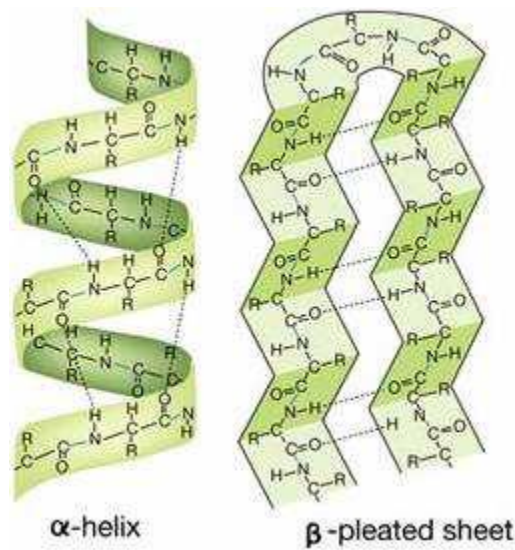


Fig. 1-3 Structure of α helix and β sheet[13]

1-2-2 ヒアルロン酸

ヒアルロン酸は、N-アセチル-D-グルコサミン (GlcNAc) と D-グルクロン酸 (GlcA) が順に結合した2つの糖のユニットが繰り返されたムコ多糖である (Fig. 1-4) [14]. ユニットの個性する GlcNAc および GlcA はそれぞれアルデヒド基、カルボキシル基のほか複数の水酸基を有している. ヒアルロン酸の分子構造は、基本的に枝分かれがないため、超巨大分子となっており、分子量は数十から数百万といわれている[8,15]. このような高分子であるが、関節をはじめ生体内に広く分布している.

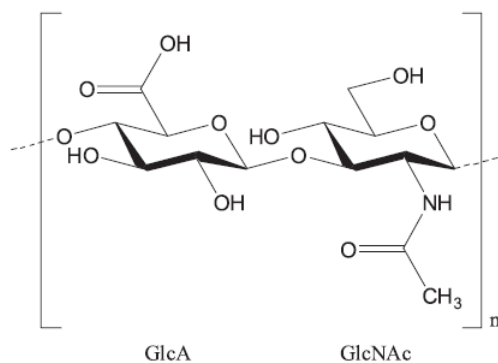


Fig. 1-4 Chemical structure of hyaluronic acid [14]

ヒアルロン酸中の水酸基は、水溶液中で電離し電荷をもつことで、水溶液中の水分子を引き付けることができる. さらに、実際のユニット内では、カルボキシル基とアルデヒド基が水分子を介して水素結合し、分子内で拘束力が発生する.

繰り返しのマクロスケールに拡大すると、Fig. 1-5 のように隣接するユニットがお互いに逆向きに配列する[14]. これらにより、分子内のみならず分子間にも水素結合が発生し、さらに自由度が低下する. この水素結合等によって、水溶液中ではヒアルロン酸分子は折れ曲がったり、ねじれたりしながら広がり、一分子が占める空間領域が他の生体高分子の分子サイズに比べ、格段に広がる. さらに、分子同士が絡み合うことによって、粘性を示す.

関節内に存在するヒアルロン酸は、軟骨細胞および滑膜細胞において産生される. 特に軟骨細胞から産生されたヒアルロン酸は、同じく産生されたコアタンパク質と硫酸基が側鎖部に結合され、ブラシ状構造のプロテオグリカン凝集体を形成する. この凝集体が軟骨表層に存在することで潤滑性能を生み出すと言われている[5,7].

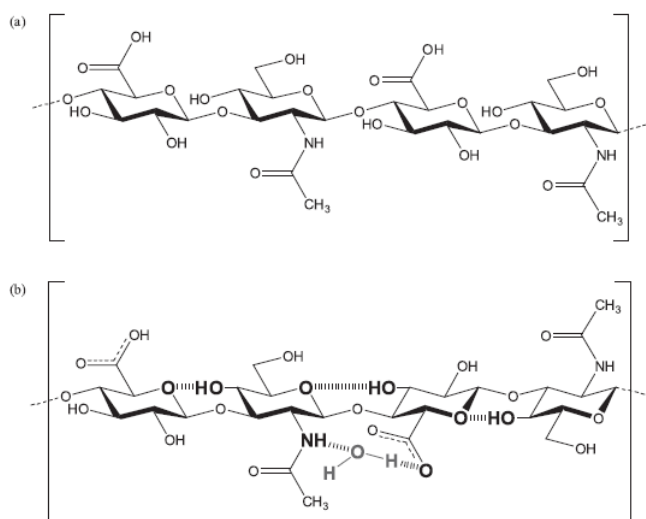


Fig. 1-5 Chemical structure of HAs [14]

1-2-3 リン脂質

生体内に存在する脂質には、中性脂肪や遊離脂肪酸、リン脂質など様々である[9]. 特に細胞膜はリン脂質の二重膜で構成されており、極めて重要な働きを体内で担っている. 関節内に着目すると、リン脂質にも、ホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルイノシトールなど複数存在する. リン脂質の一種であるジパルミトイルホスファチジルコリンの構造を Fig. 1-6 に示す. リン脂質は、リン酸基を介し2つの脂肪酸とコリンが結合したものを基本構造に持つ. このうち、脂肪酸は疎水性を、コリンは親水性を示すことから、リン脂質は両親媒性の分子となっている. そのため、血中や関節液中では、

疎水基を内側に向け親水基を外側に向けた二重膜構造で存在している。関節液内においては、ホスファチジルコリンが最も多く存在し、なかでもパルミチン酸を2つエステル結合したジパルミトイルホスファチジルコリン (Dipalmitoylphosphatidylcholine, DPPC) が大半を占めることが報告されている [9]。分子量は 734 となっている。

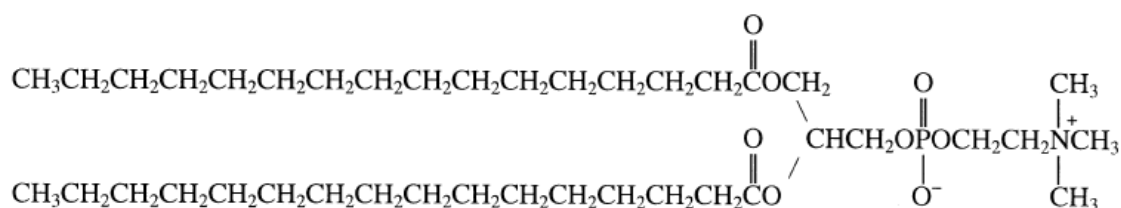


Fig. 1-6 Chemical structure of DPPC [16]

上記のように、関節液にはさまざまな生体高分子が成分として存在する。

1-2-4 生体関節の潤滑メカニズム

トライボロジーの観点から関節に焦点を当てると、体重の数倍の荷重支持能力と 1/1000 オーダーの摩擦係数、さらにこれらをメンテナンスフリーで長期間維持するという点で、驚くべき摩擦材料である。このトライボロジー特性は、関節の軟骨組織と関節液成分が寄与していると言われており、いくつかの潤滑メカニズムが提唱されている。興味深い点は、関節の運動条件を考慮すると、1つの潤滑メカニズムに支配されているのではなく、複数の潤滑メカニズムが相互・同時に作用していると考えられている。これは“多モード適応潤滑”と呼ばれる [17,18]。歩行時を想定すると、まず弾性流体潤滑(Elasto-hydrodynamic lubrication, EHL)がメインで機能すると考えられる。EHLとは、潤滑面の弾性変形の影響が現れるような流体潤滑領域のことを指す。通常の機械材料では、接触圧力が極めて高い場合に発生するが、エラストマーやポリマーなど変形性に富んだ材料では比較的小さな圧力で発生する。これは関節軟骨にも当てはまり、ソフト EHL と呼ばれる。Dowson らは、生体関節の歩行状態についてソフト EHL を考えて解析し、最小膜厚が 0.5~1 μm程度と報告している [19]。この値は、軟骨表面の面粗さと同程度もしくはやや小さい値となっている。そこで、実際の関節の低摩擦を考慮し、荷重負荷により軟骨の凹凸が平滑化された結果、摩擦界面での表面粗さの干渉を抑制しているという潤滑モデルが提案された。これをマイクロ EHL 効果と呼ぶ [19]。

ソフト・マイクロ EHL 効果により、摺動時の関節は流体潤滑膜が形成されていると考えられる。しかしながら、静止時や始動直後、急激な荷重変動時なども想定され、このような場合は流体膜の維持が困難であると予測される。そこで、流体膜が途切れている間を補完するような潤滑機構が必要となる。そこで McCutchen は、荷重負荷時に軟骨組織から低分子量の液体成分が界面に滲み出し潤滑に寄与するという滲出潤滑を提案した[20]。Ikeuchi らは、静止した股関節に荷重が付加された場合のスクイズ膜形成を EHL 解析し、軟骨の変形とともに内部の液体が滲出し、潤滑に寄与していることを示した[21]。さらに、実験的検証も行っており、軟骨内部の水分の流出だけでなく、透過率による流出量の重要性を提案している[22]。軟骨からの液体成分の流出とは逆に、Walker らは低分子量の成分が軟骨側へ浸透し残った関節液成分の粘度が増大した結果、スクイズ膜による潤滑性能が向上する押し上げ潤滑を提案している[23]。

上記のように、流体潤滑系統での関節の潤滑メカニズムは、力学条件に応じた複数のモデルが提案されている。それに加え、境界潤滑の立場から関節の潤滑メカニズムを説明しようとする試みも多い。Sasada らは、軟骨細胞により産生・形成されたプロテオグリカン凝集体が軟骨表層にて潤滑を行う表面ゲル水和潤滑を提唱している[5]。これはプロテオグリカン凝集体の側鎖にある硫酸基がその電荷により、主鎖をまっすぐな状態に保ちつつ水分子を保持することで、局所的な粘度が増加し、荷重支持および低せん断に寄与している。また、軟骨は 80%程度の水分を有する点から固液二相物質と見なし、固相の網目構造が液相を拘束することにより発生する間隙流体圧によって、荷重支持および摩擦低減がなされるという二相性潤滑が提案されている[24-27]。Sakai らは、二相性潤滑を固液二相物体の接触問題と見なし、有限要素法を用いて解析を行った[28]。その結果、固相を形成するコラーゲン繊維の分布によってもたらされる不均一性が、低摩擦維持に貢献していることを示した。Fujie らも同様のモデルにて解析を行い、透水率とコラーゲン繊維の異方性により摩擦挙動が大きく変化することを明らかにした[29]。軟骨に由来する境界潤滑機能に加え、関節液中の成分による境界膜形成も提案されている[30,31]。Radin らは、牛の指関節を用いた摩擦試験を、関節液から遠心分離法を用いて分液したタンパク質溶液で行った[32]。結果として、タンパク質を含む液中では本来の関節液と同程度の低摩擦が確認され、タンパク質は低摩擦を担う境界潤滑成分であると結論付けている。また、Higaki らは血清タンパク質を用いた検討を行い、タンパク質が軟骨表面へ吸着し境界潤滑

膜を形成することを報告している[33,34]. リン脂質による境界潤滑性能を調査するために, Murakami らはヒアルロン酸にリン脂質を添加した潤滑液を用いた振り子試験を行い, 生理的濃度に近いリン脂質を滴下することで摩擦係数が優位に減少することを報告している[18]. さらに Klein らのグループは表面間力装置を用いて, 雲母表面でに吸着させたリン脂質リポソームが, 歩行時と同程度の面圧下でも非常に低い摩擦係数を示すことを報告している[6]. この実験系では, リポソームとして存在していることからリン脂質の親水部同士が向かい合い, 最表層に存在する水和した水分子同士の接触・滑りが生じる. 水分子を介しての接触であるため, 流体潤滑レベルの低せん断が実現する. さらに彼らは, これまでの知見から, 軟骨・関節液成分両方から構成される軟骨表面の境界潤滑モデルを提唱している(Fig. 1-7). このモデルは, 軟骨由来のコラーゲン繊維, ルブリシンと関節液由来であるヒアルロン酸, リン脂質がそれぞれ相互作用を及ぼすことで構成されており, 先述のリン脂質の水和層が最表面になることで, 生体の関節軟骨が有する超低摩擦を実現できる妥当なモデルと言っている.

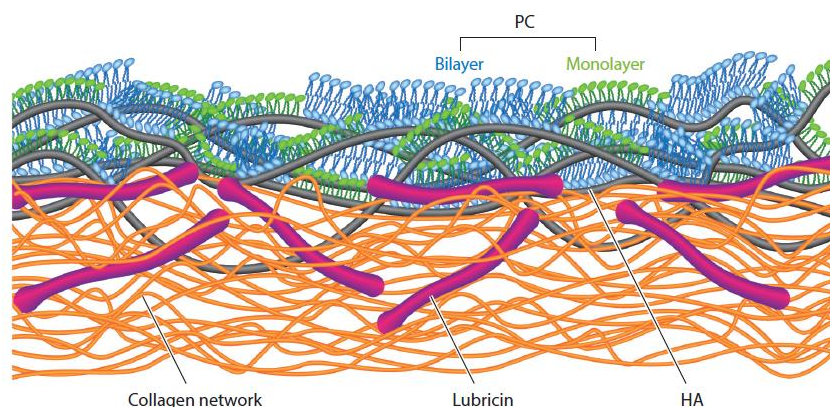


Fig. 1-7 Structure of the cartilage boundary lubricant layer [6]

1-3 人工関節置換術

生体関節は、その構造および周辺環境の協調作用によって優れた潤滑機能を長期にわたって維持している。しかしながら、変形性関節症や関節リュウマチなど重度の関節疾患によって、この機能が損なわれてしまう。そこで、痛みの緩和と歩行機能の回復を目的とした人工関節置換術が外科手術として広く行われている。施術件数は年間 100 万件以上行われており、先進国を中心にその需要は年々増加している[1,2]。

現在主流となっている人工関節の設計コンセプトは、1960 年初頭にイギリスの整形外科医である Charnley によって提案されたものである[35]。彼は関節の潤滑状態は境界潤滑であると考え、自己潤滑性に優れた樹脂材料を摺動材として採用することを提案した。初めに着目された材料は自己潤滑性に極めて優れたポリテトラフルオロエチレン (PTFE) であった。期待通りの低摩擦を示す一方で、耐摩耗性に乏しいため、体内での摩耗進行により、わずか 2,3 年ほどで故障してしまった[36,37]。そのため、自己潤滑性に加え耐摩耗性を有することが材料に求められ、PTFE の代わりに UHMWPE が採用された。UHMWPE の採用により、体内での過大摩耗の問題は改善され、現在も大きな変化なく利用されている。過大摩耗による人工関節自体の破損は解決されたが、それでも金属合金またはセラミックなど UHMWPE よりも硬い材料と摩擦されているため、わずかながらも摩耗粉が発生してしまう。臨床で発生する摩耗粉の大きさは、おおよそ 1 μm 程度と言われている[38]。この微細な摩耗粉が、人工関節を固定している周囲の骨組織に吸収、炎症を起こし、結果として人工関節の固定にゆるみが生じる[38–40]。これを骨融解と呼び、再置換手術の主な原因となっている[1,2,38]。骨融解の発生メカニズムが明らかになって以降、UHMWPE の摩耗メカニズムの解明が進められた[41,42]。これに伴い、*in vitro* 実験での評価方法も確立され、ここ 10 年で UHMWPE の摩耗に関する多くの知見が蓄積された。その結果、UHMWPE の摩耗抑制のための技術が提案され、ガンマ線照射による架橋処理ポリエチレン (Cross link polyethylene, CLPE) やビタミン E 添加 CLPE などが登場し、現行の人工関節材料として臨床利用されている[43–46]。CLPE は、架橋による高強度化により、摩耗の減少と骨融解のリスク低減が可能な材料として利用されている。しかしながら、 γ 線照射により UHMWPE 内の切断されたポリエチレン分子が化学的に活性化し、体内で酸化が進行し、機械強度の劣化が懸念される。Zhang らは、

架橋後数年経過した UHMWPE の酸化劣化の進行および各種物性を評価し、最表層ではなく表面下部で最も酸化が進行していることを明らかにした[47,48]. またこの酸化が進行した箇所では、強度と摩耗特性の低下も確認されている. そこで、ビタミン E を酸化防止剤として添加した CLPE が市場で利用されている. これらにより、人工関節材料の摩耗特性は Charnley が提唱した初期と比べ、格段に向上している.

材料特性の改善は進んでいるが、実際の体内での UHMWPE の摩耗現象には科学的・工学的な観点からみて、不明確な部分が残っている. 特に体内という生体環境に存在する生体高分子が UHMWPE のトライボロジー特性に及ぼす影響については、多くの議論がなされている. 前述の通り、関節内はタンパク質やヒアルロン酸、リン脂質などの様々な生体高分子を含む関節液で満たされているが、人工関節に置換された後も二次関節液と呼ばれる組織液で満たされ、潤滑される[49]. 生体の関節では、これらの生体高分子が境界潤滑膜を形成し、摩擦の低減および軟骨の保護を担っている[18,32,50,51]. 人工関節材料も体内で関節液の影響を受けることが示唆されている. James らは、摘出された人工関節の UHMWPE に対して FT-IR での分析を行い、摺動部からタンパク質や脂質の痕跡が検出されたと報告している[52].

これまで、UHMWPE の摩擦・摩耗に対するタンパク質からの影響は、多くの研究者が報告している. Wang らは、股関節シミュレータを用いた試験を行い、潤滑液として使用したウシ血清中のタンパク質濃度の増加に伴い UHMWPE カップの摩耗率が増加すること、また潤滑液中のタンパク質濃度が生理的範囲で最大の摩耗率となることを明らかにした[53]. 同様の傾向は関節シミュレータではなく、CTPOD (circularly translating pin-on-disk) 装置というよりシンプルな摩耗試験機を用いて評価を行った Saikko らおよび Sawae らも報告している[54–56]. さらに、Saikko らは、希釈ウシ血清中での摩耗試験を様々な接触面圧で行い、2~3 MPa あたりで摩耗のピークが観測されることを報告している[57]. また、Wang らはタンパク質濃度だけでなく、潤滑液中のアルブミンとグロブリンの比率が UHMWPE の摩耗に明確に影響することを実験的に示している[58]. Necas らも、UHMWPE と CoCrMo 合金の間の摩擦対し、タンパク質分子が大きな影響を与えることを確認した[59]. 彼らは、潤滑液として使用したリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) に 0.4 wt% のタンパク質を添加するだけで、摩擦係数が 0.05 から 0.18 に増加したことを往復動摩擦試験で明らかにした. また、分光エリプソメトリーを

用いて試験後の UHMWPE 上のタンパク質膜の厚さを計測し、摩擦係数とタンパク質吸着膜厚の間に線形関係があることを示した。さらに、フーリエ変換赤外分光法 (FT-IR) 分析により、UHMWPE 上に吸着したタンパク質は、試験中にせん断を受けることにより、立体構造が変性していることも報告している。Heuberger らは、強い疎水性を示すポリエチレン表面にタンパク質が吸着、内部の疎水部分の露出に伴う変性によって、摩擦が増加することを示唆した[60]。

関節液中に多く存在するタンパク質による UHMWPE の摩耗への影響に関する研究とともに、脂質およびヒアルロン酸の効果に関する研究も行われている。Sawae らは、ピン-オン-ディスク試験において、生理食塩水に 0.3 wt% のヒアルロン酸を添加することにより、UHMWPE の摩擦および摩耗が減少すると報告している[61]。一方 Wang らは、潤滑液中のヒアルロン酸の有無の影響を関節シミュレータ試験にて評価し、ヒアルロン酸の含有による UHMWPE カップの摩耗への有意差は観察されないことを示した[58]。DesJardins らは、人工膝関節の UHMWPE 部の摩耗および疲労に対するヒアルロン酸の効果进行调查した。その結果、50%希釈ウシ血清溶液にヒアルロン酸を 1.5 gL^{-1} 添加することにより、CoCr 合金の表面に損傷が生じ、UHMWPE の摩耗が増加することを示した[49]。Sakoda らも同様に、脂質による UHMWPE の物性への影響を報告している[62]。Saikko と Ahlroos は、ピン-オン-ディスク試験を用いて、リン脂質を分散させた潤滑液による UHMWPE と CoCrMo 合金間の摩耗に対する影響を調査した[16]。実験の結果、リン脂質による境界潤滑効果の可能性を示唆した。Bell らも同様の結果を報告しているが、彼らの実験で用いた潤滑液中のリン脂質濃度は、関節液中でのリン脂質の生理的濃度より高かった[63]。Greenbaum らは、UHMWPE 内部に拡散した脂質分子による著しい可塑化効果を示し、UHMWPE の弾性率および強度の低下を示した[64]。しかし、脂質の吸着による UHMWPE の摩耗への効果は限定的であった。

Sawae らは、リン脂質の影響は溶液中に共存するタンパク質の濃度に依存することを示した[56]。CTPOD 摩耗試験において、潤滑液中のタンパク質濃度が 0.5 wt% 以下の場合、リン脂質は境界潤滑効果を示し、UHMWPE の摩耗を低減させた。一方で、潤滑液中のタンパク質が生理的濃度の場合、リン脂質を含むことで UHMWPE の摩耗が有意に増加する傾向が確認された。関節液成分の分子間相互作用の重要性は、Necas らによって示唆されている[65–67]。彼らは振り子型関節シミュレータと蛍光観察法を組み合わせた独自の試験機を用いて、2 種類のタン

パク質（アルブミン，グロブリン）とヒアルロン酸を異なる蛍光色素で標識し，それぞれの生体高分子が潤滑膜形成へどのように寄与しているかを評価した．その結果，ヒアルロン酸自体は潤滑膜形成にあまり影響を及ぼさないが，ヒアルロン酸にタンパク質やリン脂質を混合することにより，潤滑膜形成が著しく促進されることを明らかにした．さらに，蛍光観察法と膝関節シミュレータを組み合わせた試験機で同様の評価を行い，成分間の相互作用を考慮した潤滑膜の構成モデルを提案している [68]．

1-4 次世代人工関節

上記のように、体内における UHMWPE のトライボロジー特性について様々な角度から調査が進められている。そして、蓄積された知見と人工関節の課題である寿命・可動域の制限を照らし合わせて、次世代人工関節の開発が検討されている。人工関節の寿命に関しては、摩耗特性の向上により再置換手術のリスクを軽減することが重要となる。一方、可動域に関しては、現在の UHMWPE カップの内径を拡大、すなわち UHMWPE 部分の厚みを薄くすることが求められる[69]。

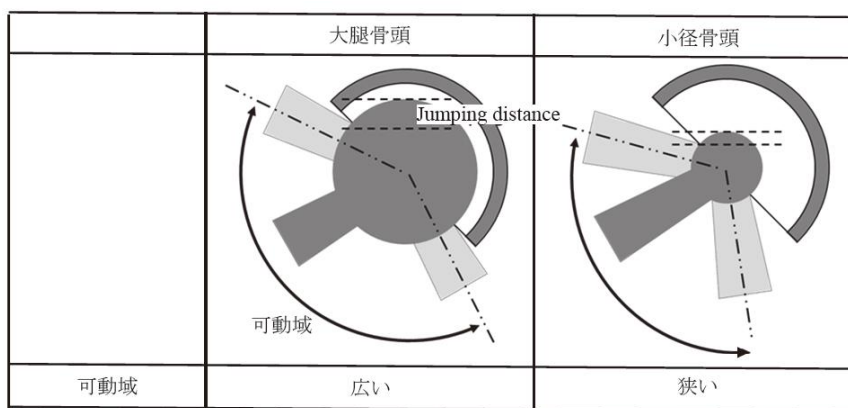


Fig. 1-8 Relation between heads size and motion range [69]

摩耗特性や可動域を改善し人工関節の更なる高機能化を目指すための手段として、人工関節材料や表面形状、そして設計デザインの変更などが挙げられる。Sonntag らは、特に人工関節材料に着目し、次世代材料の方向性を4つに分類している(Fig. 1-9)[70]。

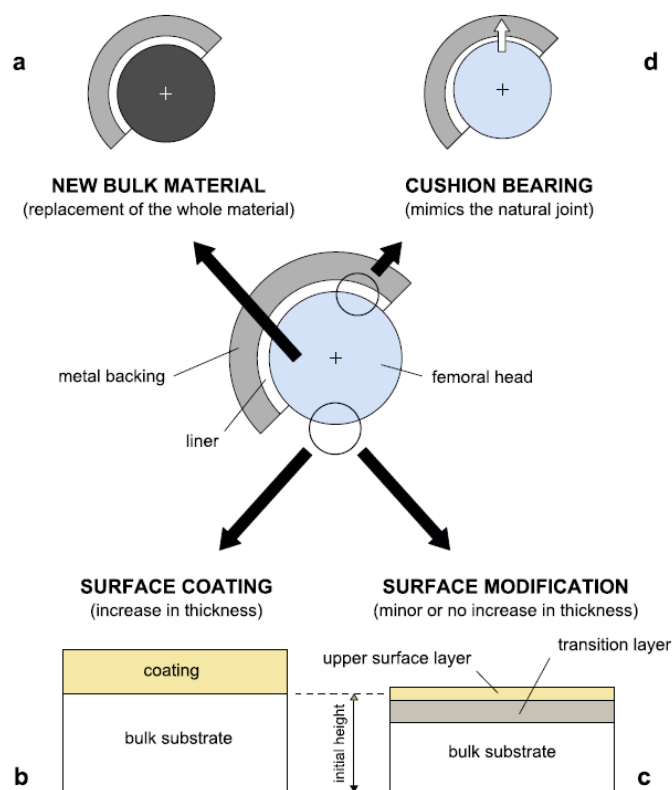


Fig. 1-9 Classification of new approaches of bearing materials in TJR [70]

新しいバルクマテリアルとして、非酸化物セラミックスと炭素繊維強化ポリエーテルエーテルケトン (PEEK) が挙げられている[70–73]. これに加え、エポキシ系のSU-8およびその複合材も UHMWPE の代替材料としてトライボロジー特性の評価がされている[74]. そのほかにも、コーティングおよび表面改質を応用して、ダイヤモンドライクカーボン (DLC) コーティングやジルコニウムの酸化処理などが挙げられている[70]. その中でも、高分子ハイドロゲルを用いたクッションベアリングコンセプトは、バイオミメティクスの観点からも注目されている.

前述にも記載した通り、生体の関節は軟骨組織で覆われており、軟骨組織は関節液とともに潤滑機能を発揮することに加え、弾性に富む特性により可動域の拡大にも貢献している. そこで人工関節の高機能化のために、軟組織を人工物で再現した人工軟骨の導入が検討されている. 人工軟骨の候補材料として、ゴムなどのエラストマーやポリウレタン、高分子ハイドロゲルが挙げられる. ポリウレタンは関節シミュレータでの試験等でポリエチレンよりも優れたトライボ特性を示したことが報告されている[75–77]. さらに、実際に臨床利用もされ、2～4年という短期間では十分利用ができるとも報告されている[78].

高分子ハイドロゲルは含水性や柔軟性等の特性を有し、軟骨組織もハイドロゲルに該当する。人工軟骨材料として調査されている高分子ハイドロゲルには、ポリビニルアルコール (Poly vinyl alcohol, PVA) ハイドロゲルやポリビニルピロリドン、ポリ-2-ヒドロキシエチルメタクリレートなどが挙げられる[79-81]。特に PVA ハイドロゲルは、架橋剤を用いない物理架橋によって三次元構造を形成しているため、人工軟骨材料や軟骨組織のモデル材として評価が進められている。

Murakami らは、膝関節シミュレータを用いてソフトマテリアルであるポリウレタンと PVA ハイドロゲルの潤滑性能の比較を行い、PVA ハイドロゲルが低い摩擦を示すことを明らかにした[18]。特にタンパク質溶液中では、ポリウレタンの摩擦が増大したことに對して、PVA ハイドロゲルは著しく低下した。また Nakashima らは、タンパク質であるアルブミンとグロブリンの比率を変えた潤滑液を用いて PVA ハイドロゲルとガラス間の摩擦を測定し、特定の比率において PVA ハイドロゲル表面の摩耗が低減することを示した[82]。さらにこれらのタンパク質は蛍光標識されており、観察の結果、アルブミンとグロブリンが PVA 上に層状構造を形成することで摩擦・摩耗が抑えられると提言している。Yarimitsu らはタンパク質に加えリン脂質の一種である DPPC を添加することにより、PVA ハイドロゲルとガラス間の摩擦・摩耗が DPPC および DPPC とタンパク質の協調作用によって低減されることを報告している[83]。Rebenda らは、PVA ハイドロゲルを関節軟骨として、関節疾患の治療に用いられるヒアルロン酸注射の潤滑特性を評価している[84]。この結果、タンパク質等を含む場合でも、ヒアルロン酸により潤滑性能が向上したことを明らかにした。このように、関節軟骨や UHMWPE と同様に、ハイドロゲルのトライボロジー特性も関節液成分による影響を大いに受ける。

ハイドロゲルは優れた潤滑性能を示す一方で、実際の関節にかかる運動条件下では、強度や固定性などの懸念点が残っている[85,86]。ハイドロゲルの材料強度を向上させる手法として、架橋処理や複合化、共重合などの分子設計などが挙げられる。その中でも、Gong らは大きさの異なる二種の高分子を用いて、ネットワーク構造中にさらに別のネットワーク構造を有するダブルネットワーク (DN) ゲルを提案している[87-89]。例えば、2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸とポリアクリルアミドで構成される DN ゲルは、数十 MPa の圧縮強度に加えて、摩擦係数は 0.01 程度を示すため、人工軟骨材料として期待され

る。また、PVA ハイドロゲルに関しても、作成手順・環境を調整することで材料強度や潤滑特性、さらに透水係数などを変更することができる[90,91]。Murakamiらは作成手順を調整した PVA ハイドロゲルの摩擦特性を評価したところ、出来上がったサンプルの表面形状や透明度の違いが確認されたことに加え、サンプル間の摩擦係数の差が顕著に確認された[91,92]。

上記のように、ハイドロゲルは、作成方法や材料により強度や潤滑性能が変化するだけでなく、関節液成分とも親和性がある。さらに、通常の機械材料や人工関節材料である UHMWPE と異なり、特有の摩擦挙動を示すことが報告されている[93-97]。Gong らは、ハイドロゲル表面の高分子鎖の凝着挙動をバネとしてモデル化し、摩擦が高分子鎖の弾性ひずみであると考えた凝着モデルを提案している[93,94]。このモデルでは、特に低速度域で速度と摩擦の間に正の相関があること、そして物性値で定義される変曲点を境に摩擦挙動が変化する (Fig. 1-10)。これらについては、実験的にも検証されている[94]。この摩擦挙動は、Burriss らも報告しており、ハイドロゲルの摩擦を考える上で、速度域は重要なファクターであると言える[98,99]。

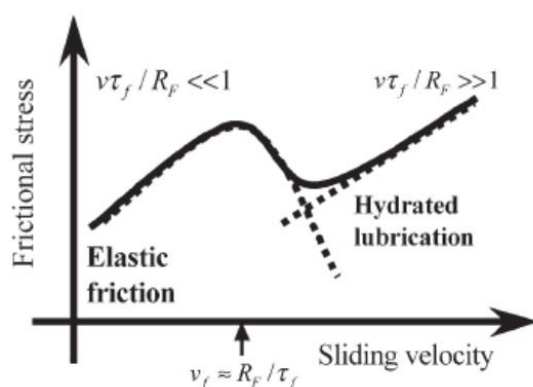


Fig. 1-10 Schematic curve for the friction of a gel that is adhesive to the substrate in liquid. [94]

1-5 研究目的

これまで述べたように、関節において、生体組織・人工材料の潤滑には様々な影響を考慮せねばならない。その中でも、通常の機械材料と比較した場合、生体環境という複雑な系であるため、人工関節を設計する上でそれらの影響の解明は重要となる。そこで本研究では、関節液成分に着目し、人工生体材料のトライボロジー特性に対する影響の解明を目的に、各種実験および分析を通して調査した。特に、単一成分だけでなく、複数成分間の相互作用にフォーカスした。

第2章では、人工関節材料である UHMWPE の摩擦挙動に対し、どの関節液成分が支配的な因子なのか、さらに成分間の相互作用はどのような影響を及ぼすのかを調査した。運動形態による影響を抑えるために、単純な一軸往復動試験にて評価を行った。

第3章では、人工関節材料である UHMWPE の摩耗に対するタンパク質を含む複数成分の影響を調査した。特に、臨床レベルの摩耗を再現するために、多方向すべり摩耗試験機を用いた評価を行った。

第4章では、前章までに得られた UHMWPE のトライボロジー特性と関節液成分に関する知見から、樹脂材料の機能向上を目指した複合材の摩耗特性について調査を行った。ここでは、現行の UHMWPE の改善を目的とした炭素系ナノ材料充てん UHMWPE 複合材と、UHMWPE の代替材料として強度の高いエポキシ系樹脂に関節液成分を複合化させた2種の材料を評価した。

第5章では、更なる人工関節の高機能化を目指し、人工軟骨組織の応用を見据えた、高含水ソフトマターのトライボロジー特性に対する関節液成分の影響を調査した。特に、ハイドロゲルの摩擦—速度依存性に着目し、PVA ハイドロゲルを複数の速度条件にて評価した。

第6章では、第5章に引き続き、PVA ハイドロゲルを軟骨のモデル材として、関節液成分との相互作用を凝着摩擦モデルに則って調査した。ここでは、ハイドロゲルの再水和による潤滑機能と粘弾性特性を切り離し、より詳細なハイドロゲル表面とガラス間の摩擦に対する関節液成分の影響を評価した。

参考文献

1. Ferguson RJ, Palmer A Jr, Taylor A, Porter ML, Malchau H, Glyn-Jones S. Hip replacement. *Lancet*. 2018;392: 1662–1671.
2. Price AJ, Alvand A, Troelsen A, Katz JN, Hooper G, Gray A, et al. Knee replacement. *Lancet*. 2018;392: 1672–1682.
3. Schulz RM, Bader A. Cartilage tissue engineering and bioreactor systems for the cultivation and stimulation of chondrocytes. *Eur Biophys J*. 2007;36: 539–568.
4. 藤江裕道. 関節軟骨に学ぶトライボロジー. *トライボロジスト*. 2016;61: 228–234.
5. 笹田直. 動物関節における表面ゲル水和潤滑. *トライボロジスト = JOURNAL OF JAPANESE SOCIETY OF TRIBOLOGISTS*. 2007;52: 573–578.
6. Jahn S, Seror J, Klein J. Lubrication of Articular Cartilage. *Annu Rev Biomed Eng*. 2016;18: 235–258.
7. 笹田直, 塚本行男, 馬淵清資. *バイオトライボロジー, 初版潤滑と摩擦・摩擦*. 産業図書, 東京; 1988.
8. Mazzucco D, Scott R, Spector M. Composition of joint fluid in patients undergoing total knee replacement and revision arthroplasty: correlation with flow properties. *Biomaterials*. 2004;25: 4433–4445.
9. Rabinowitz JL, Gregg JR, Nixon JE. Lipid composition of the tissues of human knee joints. II. Synovial fluid in trauma. *Clin Orthop Relat Res*. 1984; 292–298.
10. Duong C-T, Lee J-H, Cho Y, Nam J-S, Kim H-N, Lee S-S, et al. Effect of protein concentrations of bovine serum albumin and γ -globulin on the frictional response of a cobalt-chromium femoral head. *J Mater Sci Mater Med*. 2012;23: 1323–1330.
11. Galandáková A, Ulrichová J, Langová K, Hanáková A, Vrbka M, Hartl M, et al. Characteristics of synovial fluid required for optimization of lubrication fluid for biotribological experiments. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2017;105: 1422–1431.
12. 恵良聖一. *マルチ機能タンパク質: 血清アルブミン*. 共立出版; 1996.
13. Rashid MA, Khatib F, Sattar A. Protein preliminaries and structure prediction fundamentals for computer scientists. *arXiv [cs.CE]*. 2015. Available: <http://arxiv.org/abs/1510.02775>

14. 和田勝寛. マテリアルとしてのヒアルロン酸. 繊維学会誌. 2009;65: P_407-P_411.
15. 荻野一善. ヒアルロン酸水溶液の粘弾性. 高分子論文集. 1998;55: 736-748.
16. Saikko V, Ahlroos T. Phospholipids as boundary lubricants in wear tests of prosthetic joint materials. *Wear*. 1997;207: 86-91.
17. Murakami T. The Lubrication in Natural Synovial Joints and Joint Prostheses. *JSME international journal Ser 3, Vibration, control engineering, engineering for industry*. 1990;33: 465-474.
18. Murakami T, Higaki H, Sawae Y, Ohtsuki N, Moriyama S, Nakanishi Y. Adaptive multimode lubrication in natural synovial joints and artificial joints. *Proc Inst Mech Eng H*. 1998;212: 23-35.
19. Dowson D, Jin ZM. Micro-elastohydrodynamic lubrication of synovial joints. *Eng Med*. 1986;15: 63-65.
20. McCutchen CW. The frictional properties of animal joints. *Wear*. 1962;5: 1-17.
21. 岡正典, 森美郎, 池内健. 股関節におけるスクイーズ膜効果のシミュレーション. 日本機械学会論文集 C 編. 1989;55: 508-515.
22. 池内健, 岡正典, 魏国雄. 生体関節における変形とスクイーズ膜効果に関する実験的研究. 日本機械学会論文集 C 編. 1989;55: 2123-2130.
23. Walker PS, Dowson D, Longfield MD, Wright V. "Boosted lubrication" in synovial joints by fluid entrapment and enrichment. *Ann Rheum Dis*. 1968;27: 512-520.
24. Ateshian GA. A theoretical formulation for boundary friction in articular cartilage. *J Biomech Eng*. 1997;119: 81-86.
25. Graindorge S, Ferrandez W, Jin Z, Ingham E, Grant C, Twigg P, et al. Biphasic surface amorphous layer lubrication of articular cartilage. *Med Eng Phys*. 2005;27: 836-844.
26. Ateshian GA. The role of interstitial fluid pressurization in articular cartilage lubrication. *J Biomech*. 2009;42: 1163-1176.
27. Mow VC, Kuei SC, Lai WM, Armstrong CG. Biphasic Creep and Stress Relaxation of Articular Cartilage in Compression: Theory and Experiments. *J Biomech Eng*. 1980;102: 73-84.

28. Sakai N, Hagihara Y, Furusawa T, Hosoda N, Sawae Y, Murakami T. Analysis of biphasic lubrication of articular cartilage loaded by cylindrical indenter. *Tribol Int.* 2012;46: 225–236.
29. Fujie H, Imade K. Effects of low tangential permeability in the superficial layer on the frictional property of articular cartilage. *Biosurface and Biotribology.* 2015;1: 124–129.
30. Hills BA, Crawford RW. Normal and prosthetic synovial joints are lubricated by surface-active phospholipid: a hypothesis. *J Arthroplasty.* 2003;18: 499–505.
31. Davis WH, Lee SL, Sokoloff L. A Proposed Model of Boundary Lubrication by Synovial Fluid: Structuring of Boundary Water. *J Biomech Eng.* 1979;101: 185–192.
32. Radin EL, Swann DA, Weisser PA. Separation of a hyaluronate-free lubricating fraction from synovial fluid. *Nature.* 1970;228: 377–378.
33. 日垣秀彦, 村上輝夫. 関節潤滑における関節液と軟骨表層の構成成分の役割 (第 2 報)-蛋白成分の境界潤滑性. *トライボロジスト.* 1995;40: 598–604.
34. 日垣秀彦, 村上輝夫. 関節潤滑における関節液と軟骨表層の構成成分の役割-1-酵素消化による実験的評価. *トライボロジスト.* 1994;39: 625–632.
35. Charnley J. The long-term results of low-friction arthroplasty of the hip performed as a primary intervention. *J Bone Joint Surg Br.* 1972;54: 61–76.
36. Charnley J. Total hip replacement by low-friction arthroplasty. *Curr Orthop Pract.* 2014;25: 105.
37. Charnley J, Kamangar A, Longfield MD. The optimum size of prosthetic heads in relation to the wear of plastic sockets in total replacement of the hip. *Med Biol Eng.* 1969;7: 31–39.
38. Fisher J, Bell J, Barbour PS, Tipper JL, Matthews JB, Besong AA, et al. A novel method for the prediction of functional biological activity of polyethylene wear debris. *Proc Inst Mech Eng H.* 2001;215: 127–132.
39. Willert HG, Semlitsch M. Reactions of the articular capsule to wear products of artificial joint prostheses. *J Biomed Mater Res.* 1977;11: 157–164.
40. Ingham E, Fisher J. Biological reactions to wear debris in total joint replacement. *Proc Inst Mech Eng H.* 2000;214: 21–37.
41. Ingham E, Fisher J. The role of macrophages in osteolysis of total joint replacement. *Biomaterials.* 2005;26: 1271–1286.

42. Revell PA. The combined role of wear particles, macrophages and lymphocytes in the loosening of total joint prostheses. *J R Soc Interface*. 2008;5: 1263–1278.
43. Grobbelaar CJ, du Plessis TA, Marais F. The radiation improvement of polyethylene prostheses. A preliminary study. *J Bone Joint Surg Br*. 1978;60-B: 370–374.
44. Oonishi H, Takayama Y, Tsuji E. Improvement of polyethylene by irradiation in artificial joints. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation Part C Radiation Physics and Chemistry*. 1992;39: 495–504.
45. Kurtz SM, Gawel HA, Patel JD. History and systematic review of wear and osteolysis outcomes for first-generation highly crosslinked polyethylene. *Clin Orthop Relat Res*. 2011;469: 2262–2277.
46. Oral E, Muratoglu OK. Vitamin E diffused, highly crosslinked UHMWPE: a review. *Int Orthop*. 2011;35: 215–223.
47. Zhang L, Sawae Y, Yamaguchi T, Murakami T, Yang H. Investigation on Oxidation of Shelf-Aged Crosslinked Ultra-High Molecular Weight Polyethylene (UHMWPE) and Its Effects on Wear Characteristics. *Tribology Online*. 2015;10: 1–10.
48. Zhang L, Sawae Y, Yamaguchi T, Murakami T, Yang H. Effect of radiation dose on depth-dependent oxidation and wear of shelf-aged gamma-irradiated ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE). *Tribol Int*. 2015;89: 78–85.
49. DesJardins J, Aurora A, Tanner SL, Pace TB, Acampora KB, Laberge M. Increased total knee arthroplasty ultra-high molecular weight polyethylene wear using a clinically relevant hyaluronic acid simulator lubricant. *Proc Inst Mech Eng H*. 2006;220: 609–623.
50. Swann DA, Slayter HS, Silver FH. The molecular structure of lubricating glycoprotein-I, the boundary lubricant for articular cartilage. *J Biol Chem*. 1981;256: 5921–5925.
51. Hills BA, Butler BD. Surfactants identified in synovial fluid and their ability to act as boundary lubricants. *Ann Rheum Dis*. 1984;43: 641–648.
52. James SP, Blazka S, Merrill EW, Jasty M, Lee KR, Bragdon CR, et al. Challenge to the concept that UHMWPE acetabular components oxidize in vivo. *Biomaterials*. 1993;14: 643–647.
53. Wang A, Essner A, Polineni VK, Stark C, Dumbleton JH. Lubrication and wear of ultra-high molecular weight polyethylene in total joint replacements. *Tribol Int*. 1998;31: 17–33.
54. Saikko V, Ahlroos T. Wear simulation of UHMWPE for total hip replacement with a multidirectional motion pin-on-disk device: effects of counterface material, contact area, and lubricant. *J Biomed Mater Res*. 2000;49: 147–154.

55. Saikko V. Effect of Lubricant Protein Concentration on the Wear of Ultra-High Molecular Weight Polyethylene Sliding Against a CoCr Counterface. *J Tribol.* 2003;125: 638–642.
56. Sawae Y, Yamamoto A, Murakami T. Influence of protein and lipid concentration of the test lubricant on the wear of ultra high molecular weight polyethylene. *Tribol Int.* 2008;41: 648–656.
57. Saikko V. Effect of contact pressure on wear and friction of ultra-high molecular weight polyethylene in multidirectional sliding. *Proc Inst Mech Eng H.* 2006;220: 723–731.
58. Wang A, Essner A, Schmidig G. The effects of lubricant composition on in vitro wear testing of polymeric acetabular components. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2004;68: 45–52.
59. Nečas D, Sawae Y, Fujisawa T, Nakashima K, Morita T, Yamaguchi T, et al. The Influence of Proteins and Speed on Friction and Adsorption of Metal/UHMWPE Contact Pair. *Biotribology.* 2017;11: 51–59.
60. Heuberger MP, Widmer MR, Zobeley E, Glockshuber R, Spencer ND. Protein-mediated boundary lubrication in arthroplasty. *Biomaterials.* 2005;26: 1165–1173.
61. Sawae Y, Murakami T, Chen J. Effect of synovia constituents on friction and wear of ultra-high molecular weight polyethylene sliding against prosthetic joint materials. *Wear.* 1998;216: 213–219.
62. Sakoda H, Niimi S. Impact of lipid-induced degradation on the mechanical properties of ultra-high molecular weight polyethylene for joint replacements. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2016;53: 218–225.
63. Bell J, Tipper JL, Ingham E, Stone MH, Fisher J. The influence of phospholipid concentration in protein-containing lubricants on the wear of ultra-high molecular weight polyethylene in artificial hip joints. *Proc Inst Mech Eng H.* 2001;215: 259–263.
64. Greenbaum ES, Burroughs BB, Harris WH, Muratoglu OK. Effect of lipid absorption on wear and compressive properties of unirradiated and highly crosslinked UHMWPE: an in vitro experimental model. *Biomaterials.* 2004;25: 4479–4484.
65. Nečas D, Vrbka M, Urban F, Křupka I, Hartl M. The effect of lubricant constituents on lubrication mechanisms in hip joint replacements. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2015;55: 295–307.
66. Nečas D, Vrbka M, Rebenda D, Gallo J, Galandáková A, Wolfová L, et al. In situ observation of lubricant film formation in THR considering real conformity: The effect of model synovial fluid composition. *Tribol Int.* 2018;117: 206–216.

67. Nečas D, Vrbka M, Gallo J, Krupka I, Hartl M. On the observation of lubrication mechanisms within hip joint replacements. Part II: Hard-on-hard bearing pairs. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2019;89: 249–259.
68. Nečas D, Vrbka M, Marian M, Rothhammer B, Tremmel S, Wartzack S, et al. Towards the understanding of lubrication mechanisms in total knee replacements – Part I: Experimental investigations. *Tribol Int.* 2021;156: 106874.
69. 植月啓太. 人工関節用ポリエチレンしゅう動部材の改質技術. *トライボロジスト.* 2015;60: 695–700.
70. Sonntag R, Reinders J, Kretzer JP. What’s next? Alternative materials for articulation in total joint replacement. *Acta Biomater.* 2012;8: 2434–2441.
71. Mazzocchi M, Gardini D, Traverso PL, Faga MG, Bellosi A. On the possibility of silicon nitride as a ceramic for structural orthopaedic implants. Part II: chemical stability and wear resistance in body environment. *J Mater Sci Mater Med.* 2008;19: 2889–2901.
72. Li X, Wang X, Bondokov R, Morris J, An YH, Sudarshan TS. Micro/nanoscale mechanical and tribological characterization of SiC for orthopedic applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2005;72: 353–361.
73. Pace N, Marinelli M, Spurio S. Technical and Histologic Analysis of a Retrieved Carbon Fiber–Reinforced Poly-Ether-Ether-Ketone Composite Alumina-Bearing Liner 28 Months After Implantation. *J Arthroplasty.* 2008;23: 151–155.
74. Hirwani JK, Sinha SK. Mechanical and Tribological Studies of SU-8 Composites Filled With UHMWPE and Gum Acacia Under Dry and Bovine Serum Albumin Lubricated Conditions. *J Tribol.* 2020;143: 011701.
75. Elsner JJ, Mezape Y, Hakshur K, Shemesh M, Linder-Ganz E, Shterling A, et al. Wear rate evaluation of a novel polycarbonate-urethane cushion form bearing for artificial hip joints. *Acta Biomater.* 2010;6: 4698–4707.
76. Smith SL, Ash HE, Unsworth A. A tribological study of UHMWPE acetabular cups and polyurethane compliant layer acetabular cups. *J Biomed Mater Res.* 2000;53: 710–716.
77. Scholes SC, Unsworth A, Blamey JM, Burgess IC, Jones E, Smith N. Design aspects of compliant, soft layer bearings for an experimental hip prosthesis. *Proc Inst Mech Eng H.* 2005;219: 79–87.
78. Siebert WE, Mai S, Moroni A, Chiarello E, Giannini S. A two-year prospective and retrospective multi-center study of the TriboFit® Hip System. *J Long Term Eff Med Implants.* 2009;19: 149–155.

79. Bodugoz-Senturk H, Macias CE, Kung JH, Muratoglu OK. Poly(vinyl alcohol)–acrylamide hydrogels as load-bearing cartilage substitute. *Biomaterials*. 2009;30: 589–596.
80. Katta JK, Marcolongo M, Lowman A, Mansmann KA. Friction and wear behavior of poly(vinyl alcohol)/poly(vinyl pyrrolidone) hydrogels for articular cartilage replacement. *J Biomed Mater Res A*. 2007;83: 471–479.
81. Bavaresco VP, Zavaglia CAC, Reis MC, Gomes JR. Study on the tribological properties of pHEMA hydrogels for use in artificial articular cartilage. *Wear*. 2008;265: 269–277.
82. Nakashima K, Sawae Y, Murakami T. Study on Wear Reduction Mechanisms of Artificial Cartilage by Synergistic Protein Boundary Film Formation. *JSME Int J Ser C Mech Syst Machine Elements Manufact*. 2005;48: 555–561.
83. Yarimitsu S, Nakashima K, Sawae Y, Murakami T. Influence of Phospholipid and Protein Constituents on Tribological Properties of Artificial Hydrogel Cartilage Material. *Journal of Biomechanical Science and Engineering*. 2013;8: 257–267.
84. Rebenda D, Vrbka M, Nečas D, Toropitsyn E, Yarimitsu S, Čípek P, et al. Rheological and frictional analysis of viscosupplements towards improved lubrication of human joints. *Tribol Int*. 2021;160: 107030.
85. 馬淵清資. 人工軟骨を有する人工関節の潤滑性能と耐久性. *整形外科バイオメカニクス*. 1987;8: 101–105.
86. Ushio K, Oka M, Hyon S-H, Hayami T, Yura S, Matsumura K, et al. Attachment of artificial cartilage to underlying bone. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2004;68: 59–68.
87. Gong JP, Katsuyama Y, Kurokawa T, Osada Y. Double-network hydrogels with extremely high mechanical strength. *Adv Mater*. 2003;15: 1155–1158.
88. Gong JP. Why are double network hydrogels so tough? *Soft Matter*. 2010;6: 2583–2590.
89. Huang M, Furukawa H, Tanaka Y, Nakajima T, Osada Y, Gong JP. Importance of Entanglement between First and Second Components in High-Strength Double Network Gels. *Macromolecules*. 2007;40: 6658–6664.
90. Otsuka E, Suzuki A. A simple method to obtain a swollen PVA gel crosslinked by hydrogen bonds. *J Appl Polym Sci*. 2009;114: 10–16.
91. Murakami T, Sakai N, Yamaguchi T, Yarimitsu S, Nakashima K, Sawae Y, et al. Evaluation of a superior lubrication mechanism with biphasic hydrogels for artificial cartilage. *Tribol Int*. 2015;89: 19–26.

92. Yarimitsu S, Yoshida A, Sasaki S, Murakami T, Suzuki A. Evaluation of Lubrication Property of Poly(vinyl alcohol) Hybrid Gel for Artificial Articular Cartilage. *Tribology Online*. 2016;11: 360–365.
93. Gong J, Osada Y. Gel friction: A model based on surface repulsion and adsorption. *J Chem Phys*. 1998;109: 8062–8068.
94. Gong JP. Friction and lubrication of hydrogels—its richness and complexity. *Soft Matter*. 2006;2: 544–552.
95. Du M, Maki Y, Tominaga T, Furukawa H, Gong JP, Osada Y, et al. Friction of Soft Gel in Dilute Polymer Solution. *Macromolecules*. 2007;40: 4313–4321.
96. Tominaga T, Kurokawa T, Furukawa H, Osada Y, Gong JP. Friction of a soft hydrogel on rough solid substrates. *Soft Matter*. 2008;4: 1645–1652.
97. Nakano Y, Kurokawa T, Du M, Liu J, Tominaga T, Osada Y, et al. Effect of Hyaluronan Solution on Dynamic Friction of PVA Gel Sliding on Weakly Adhesive Glass Substrate. *Macromolecules*. 2011;44: 8908–8915.
98. Burris DL, Moore AC. Cartilage and Joint Lubrication: New Insights Into the Role of Hydrodynamics. *Biotribology*. 2017;12: 8–14.
99. Kupratis ME, Gure AE, Orved KF, Burris DL, Price C. Comparative Tribology: Articulation-induced Rehydration of Cartilage Across Species. *Biotribology*. 2021;25: 100159.

第2章 関節液成分と UHMWPE の摩擦特性の関係性

目次

2-1. 緒言	35
2-2. 実験方法・材料.....	36
2-2-1. 一軸往復動摩擦試験機.....	36
2-2-2. 擬似関節液と作成手順.....	36
2-2-3. 試験片・実験条件.....	38
2-2-4. 観察・分析.....	39
2-3. 実験結果	43
2-4. 考察	51
2-5. 結言	55
参考文献	56

2-1. 緒言

現在の人工関節置換術の課題として、可動域の制限と緩みによる再置換のリスクなどが挙げられる。特に人工関節の緩みは、摺動部の超高分子量ポリエチレン (Ultra-high molecular weight polyethylene, UHMWPE) の摩耗に大きく起因する。通常の機械材料・機械要素と異なり、人工関節材料を設計する上で、常に変動する力学条件に加え、生体環境からの影響を考慮しなければならない。これまでに、関節シミュレータを用いた試験やより簡略化した多方向すべり試験機による摩耗評価が行われてきた[1-3]。これらの試験結果は、運動形態や潤滑液にタンパク質や脂質に代表される関節液成分のどれを添加しているのか、など複雑な因子の重ね合わせであり、支配因子を見つけ出すことは困難である。そこで、Nečasらはシンプルな直線往復動摩擦試験にて、生体環境の中でも特に量の多いタンパク質に着目し、摩擦特性の評価を行った[4]。その結果、UHMWPE表面へのタンパク質の凝着および変性による構造変化が摩擦を急激に増加させると結論付けている。しかしながら、実際の生体関節環境にはタンパク質以外にも様々な生体高分子が存在する。Saikkoらは精製水にリン脂質を添加した潤滑液を用いて、UHMWPEのトライボロジー特性を評価し、リン脂質による境界潤滑膜が形成されることにより摩耗が低下することを示した[5]。Sawaeらは、潤滑液にヒアルロン酸を添加することでUHMWPEの摩擦・摩耗が低下することを実験的に示した一方で、DesJardinsはウシ血清にヒアルロン酸を添加することで逆に摩耗が増加したと報告している[6,7]。このように、同じ関節液成分であっても異なる傾向が報告されており、関節液成分がUHMWPEのトライボロジー特性に与える影響に関しては、更なる理解が求められる。

そこで本章では、関節液成分が現行の人工関節材料であるUHMWPEとCoCrMo合金間の摩擦に対してどのような影響を及ぼすのかを調査した。本章では、運動形態による影響を抑えるために、単純な一軸往復動試験での摩擦測定を行った。実際の関節液には、血清タンパク質をはじめ、ヒアルロン酸、脂質、尿素など様々な成分が含まれている。本研究では、その中でも関節液中の含有量が多いタンパク質とヒアルロン酸、リン脂質に着目し、複数の組み合わせで溶解させた溶液を潤滑液として用意した。潤滑液中の成分組成を変えることにより、単一成分の影響のみならず、重ね合わせとして複数成分の影響を評価することが可能となる。

2-2. 実験方法・材料

2-2-1. 一軸往復動摩擦試験機

本実験で用いた往復動 pin-on-plate 摩擦試験機（新東科学株式会社のトライボギア表面測定器 TYPE:38）を Fig. 2-1 に示す。本試験機はバランスアーム機構を採用しており、予めピン試験片を取付けた状態でバランスを取ることで、ピン試験片および取り付け治具の重量を相殺し、入力荷重のみが加わる構造をしている。測定原理として、まずプレート試験片を取付けた移動テーブルが移動することにより、ピン試験片・プレート試験片間で摩擦力が発生する。発生した摩擦力をピン試験片上にある荷重変換器が検出し電圧に変換し、荷重変換器から出力された微弱電流を動歪アンプが増幅して出力する。以上の方法で発生した摩擦力を電圧として出力することで、測定が可能となる。

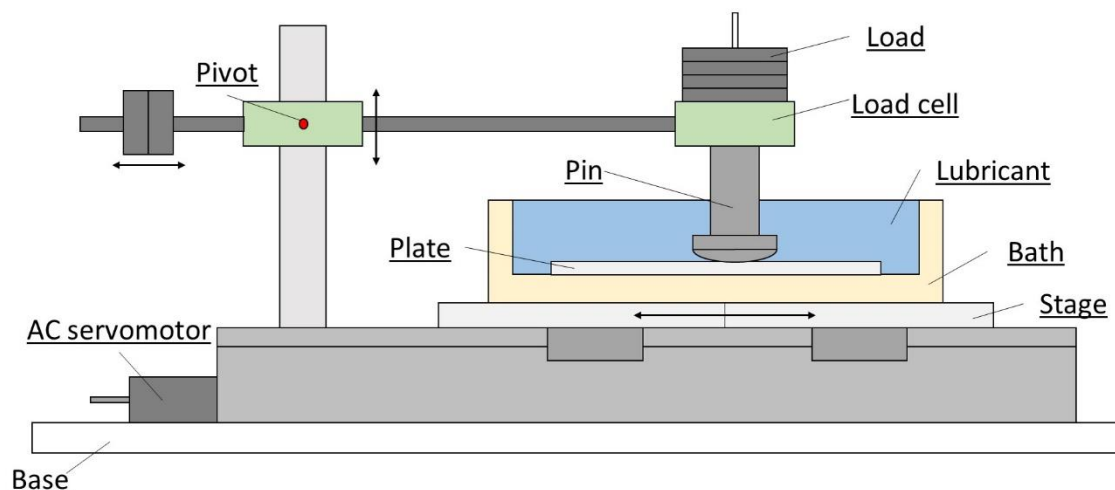


Fig.2-1 Schematic of pin-on-plate reciprocation tester

2-2-2. 擬似関節液と作成手順

試験溶液は PBS をベースとした擬似関節液を作成することで、従来の希釈ウシ血清のようなロット間のばらつきを押さえつつ、各関節液成分の影響を調査できるようにした。関節液成分として、タンパク質であるアルブミン（Bovine serum albumin, BSA, Sigma Aldrich A7030）と γ -グロブリン（bovine serum γ -globulin, BSG, Sigma Aldrich G5009）、ムコ多糖の一種であるヒアルロン酸（HA, FCH-150, Kikkoman）、リン脂質の一種であるジパルミトイルホスファチジルコリン（Dipalmitoylphosphatidylcholine, DPPC, Sigma Aldrich, P0763）のそれぞれを採用した。試験溶液に含まれるタンパク質、HA, DPPC のそれぞれの比率は以下の通りである。

Table. 2-1 Percentage of each constituent

Albumin	1.4 wt%
γ -globulin	0.7 wt%
HA	0.5 wt%
DPPC	0.01 wt%

擬似関節液は、所定の重量比になるように、関節液成分を計量・添加させ作成した。ただし、DPPCなどの脂質は直接水溶媒に分散させることが難しい。そこで、有機溶剤中に一度分散させ、ミセル化したのち、リポソームとしてPBS中に分散させた。以下にDPPCをPBS中に分散させる手順を示す。

- (a) 所定の重量のPBSを計量し、PBSが入った遠沈管を温浴槽（50℃）に浸け、加熱した。
- (b) 所定量のDPPC粉末を計量後、ナスフラスコに移し、メタノールを加え、30秒程度超音波照射し、DPPCをメタノール中に拡散させた。
- (c) エバポレーターにナスフラスコを取り付け、温浴槽（50℃）に浸る高さにセットした。その後、冷却装置（5℃）のポンプを起動させ、冷却水を循環させた。
- (d) エバポレーターの冷却管の先端にあるT字型レバーを回し、密閉状態にした。その後エバポレーターのスイッチを入れ、ナスフラスコを回転させた。そして、真空ポンプのスイッチを入れ、メタノールを減圧除去し、ナスフラスコ内に脂質薄膜を形成させた。除去されたメタノールは受フラスコに除去された。この状態で60分間処理を継続した。
- (e) ナスフラスコ内のメタノールが完全に気化し、ナスフラスコ側面に薄膜が形成されたことができたなら、真空ポンプ、エバポレーターの回転、冷却装置のポンプをそれぞれ停止した。その後、冷却管先端のT字型レバーを回して、フラスコ内を大気開放した。なお、温浴槽のスイッチはここではまだ切らない。
- (f) エバポレーターの温浴槽の水を超音波洗浄機の水浴に移し（600ml程度）、超音波処理時間を30分、超音波照射強度をHighに設定した。予め温浴槽で加熱したPBSをナスフラスコ内に移し、パラフィルムで蓋をした。その後、溶液に超音波照射を施すことで、脂質膜をリポソームとしてPBS中に分散させた。照射開始後の30秒程度はナスフラスコを立てた状態でゆすりながら照射し、その後ナスフラスコを寝せた状態でナスフラスコを回しながら3

分程度超音波照射をした。その後は、ナスフラスコを寝かせた状態で静置した。なお、超音波照射時は超音波水槽内の温度を 50°C程度の温度に保ち、また 55°C以上にならないよう、必要に応じて差し水をした。

(g) 超音波処理終了後は、DPPC を分散させた溶液を再度遠沈管に移し、50°Cに保った温浴槽内で 20 分静置した。これにより、リポソームの安定性を促進させた。その後、室温で 20 分程度静置させた。

(h) DPPC 溶液を室温に戻した後、必要に応じて他の成分と混合した。

なお、タンパク質及び HA は熱による構造変化が予想されるため、DPPC と組み合わせる場合、上記の工程の後に添加・調製した。

2-2-3. 試験片・実験条件

プレート試験片には、UHMWPE (20 * 90 * t2 mm) を用いた。表面粗さ (Ra) は、 $0.1 \pm 0.02 \mu\text{m}$ となるようにした。ピン試験片には、直径 15 mm、曲率半径 110 mm の CoCrMo 合金製のピンを使用した。表面粗さ (Ra) は $0.01 \pm 0.005 \mu\text{m}$ となるように、ラップ盤 (ドクターラップ ML-180) で表面の研磨を行った。研磨布として MM420 を使用し、平均粒径 $1 \mu\text{m}$ のダイヤモンド砥粒を含有する研磨液およびアクア潤滑液を用いて、ラップ加工を行った。材料の詳細を下記に示す。

超高分子量ポリエチレン (UHMWPE)

$[-\text{CH}_2-\text{CH}_2-]_n$ の分子式で表される直鎖状の高分子である。J.Charnley が初期に採用した高密度ポリエチレン (HDPE) の分子量が 3 万~30 万程度にあるのに対し、人工関節に用いられる UHMWPE の分子量は 200 万~600 万ほどである。優れた引張特性と耐衝撃特性があり、摩擦係数が小さく潤滑特性に優れている。臨床で用いられている UHMWPE の多くは ASTM-F648 に定められた基準を満たしている医療用グレードのものである。本研究では、医療グレードである GUR1050 を用いた。

CoCrMo 合金

機械的性質のみならず、本質的に酸化しにくいコバルト (Co) の性質とクロム (Cr) による不動態被膜形成の効果、さらにモリブデン (Mo) の不動態被膜の安定化の効果により耐食性と耐摩耗性に優れており、ステンレス鋼や Ti 合金と並び人工関節用金属材料として広く使用されている。

すべての試験前に、試験片の洗浄を以下の手順で行った。まず界面活性剤 (TritonX-100) 水溶液 (約 1 vol%) を試験片が入った容器に入れ、30 分間超音波洗浄した。その後、精製水で濯いだのち、精製水中にて再度 30 分間超音波洗浄した。精製水中での超音波処理が終わったのち、精製水をエタノールに入れ替え、さらに 15 分間の超音波洗浄した。終了後、真空乾燥機で 60°C30 分間、乾燥させた。固定具も同様に、界面活性剤水溶液、精製水中で同様に行い、エタノールの代わりにヘキサンで 15 分超音波処理した後に、自然乾燥させた。

試験条件として、滑り速度は 10, 50 mm/s に設定した。荷重は 500 g (4.9 N, 最大接触圧力: 6.3 MPa) とした。往復距離を 25 mm, 総すべり距離を 90 m (1800 サイクル) とした。すべての試験は室温 (25°C) 中で行った。1 回の試験で、試験溶液は 15 ml 使用した。試験容器の組成は下記の 6 種を用いた。なお、再現性を確認するために、各溶液で 4 回試験を行った。

Table. 2-2 Composition of test lubricants

Lubricant	Constituents	Concentration [wt%]
PBS	-	-
DPPC	DPPC	0.01
HA	HA	0.5
Protein	Albumin+ γ -globulin	1.4+0.7
H+D	HA+DPPC	0.5+0.01
P+H	Albumin+ γ -globulin+HA	1.4+0.7+0.5
P+H+D	Albumin+ γ -globulin+HA+DPPC	1.4+0.7+0.5+0.01

2-2-4. 観察・分析

試験溶液の粘度特性を観察するために、コーン・プレート型レオメーター (AntonPaar, PhysicaMCR 301) を用いた粘度測定を行った。試料をステージと回転子 (コーン・プレート) の間に注入し、回転子を回転させることで発生するトルクを計測することで粘度を測定できる。今回直径 50 mm, 角度 0.5° のコーン・プレートを使用した。実際の関節の速度を考慮し、せん断速度は 100~10000 [1/s] の範囲で変化させ、各せん断速度に対するトルクの応答から粘度を測定した。



Fig.2-2 Rheometer

また，実験条件，試験片物性および得られた粘度から弾性流体潤滑（Elastohydrodynamic lubrication, EHL）理論に基づく膜厚 h_c の計算を，下記の式を用いて行った[8].

$$h_c = 7.32 * U^{0.64} * W^{-0.22} * \{1 - 0.72 \exp(-0.28k)\} \quad (1-1)$$

ここで， U ， W はそれぞれ速度，荷重に関する無次元パラメータであり，

$$U = \frac{\eta * u}{E * Rx}$$

$$W = \frac{W}{E * Rx^2}$$

である． k は接触楕円の半径比（ $\div 1$ ）， η は粘度[Pa*s]， u は相対速度[m/s]， E は等価弾性係数[Pa]， R_x は x 軸を含む面内での等価半径[m]， w は荷重[N]を表す．なお， E ， R_x はそれぞれ，以下の式を用いて算出した．

$$\frac{2}{E} = \frac{1 - \nu_1^2}{E_1} + \frac{1 - \nu_2^2}{E_2}$$

$$\frac{1}{R_x} = \frac{1}{R_{x1}} + \frac{1}{R_{x2}}$$

ここで，添え字 1, 2 は接触する 2 物体それぞれを意味する． ν はポアソン比である．計算で用いた材料物性は，下記の Table.2-3 の通りである．なお，平面の

曲率半径は無限大であるが，計算の都合上有限の値とした．

Table. 2-3 Material properties

	弾性率 [GPa]	ポアソン比 [-]	曲率半径 [m]
UHMWPE	0.7	0.46	0.11
CoCrMo	225	0.3	1E+11

摩擦試験後の UHMWPE 試験片に対して，共焦点レーザー顕微鏡を用いての表面観察を行った．共焦点レーザー顕微鏡の原理を下記に示す．通常の光学顕微鏡と異なり，共焦点顕微鏡は対物レンズの焦点位置と共役な位置に円形の開口を持つピンホールが配置されている．そのため，焦点のあった位置の光のみを検出することが出来る．また，点光源に短い波長で直進性の高いレーザー光を用いることで，光を均一に照射する光学顕微鏡と違い，散乱光の少ない反射光が得られる．これらによりコントラストが向上するのみならず，ピンホールにより焦点以外の光が遮断されることで光軸方向の分解能を持ち，三次元計測が可能となる．二次元方向に関しては，レーザー走査方式を採用することで，微細な形状の観察が可能となっている．

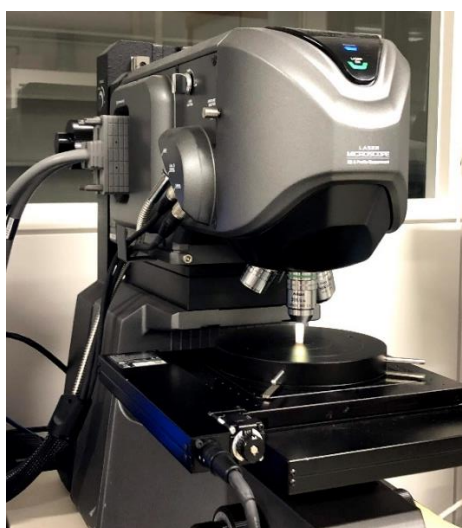


Fig.2-3 Lesar microscope

また，摩擦試験後の UHMWPE 表面の化学的な変化を分析するために，赤外顕微鏡（Thermo Fisher scientific, Nicolet iN10）を用いた IR 分析を行った．この分

析には、赤外分光法（Infrared Spectroscopy: IR）の全反射法（Attenuated Total Reflection: ATR）を用いている。赤外分光法は赤外線を対象物質に照射し、物質により吸収される赤外線の波長から物質の化学構造を解析する方法である。その中でも、全反射法は全反射現象が生じた時に浸み出す表面電磁波（エバネッセント波）を利用して表層部の赤外スペクトルを測定する手法である。表面電磁波とは界面からの距離とともに強度が指数関数的に減衰する電磁波である。今回の分析には、液体窒素を用いた冷却式を利用し、プリズムには Ge を用いた。スキャン回数は 128、分解能は 4 cm^{-1} とした。また、波数域はタンパク質の高次構造の変化を確認するため、 $1400\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ を中心に測定を行った[3]。また、DPPC の検出には、S.P.James らの研究結果[2]を参考に、 $1000\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ を中心に測定した。



Fig.2-4 Picture of FT-IR machine

2-3. 実験結果

2-3-1. 粘度測定

まず、本試験で使用した潤滑液の粘度測定の結果を下記に示す。

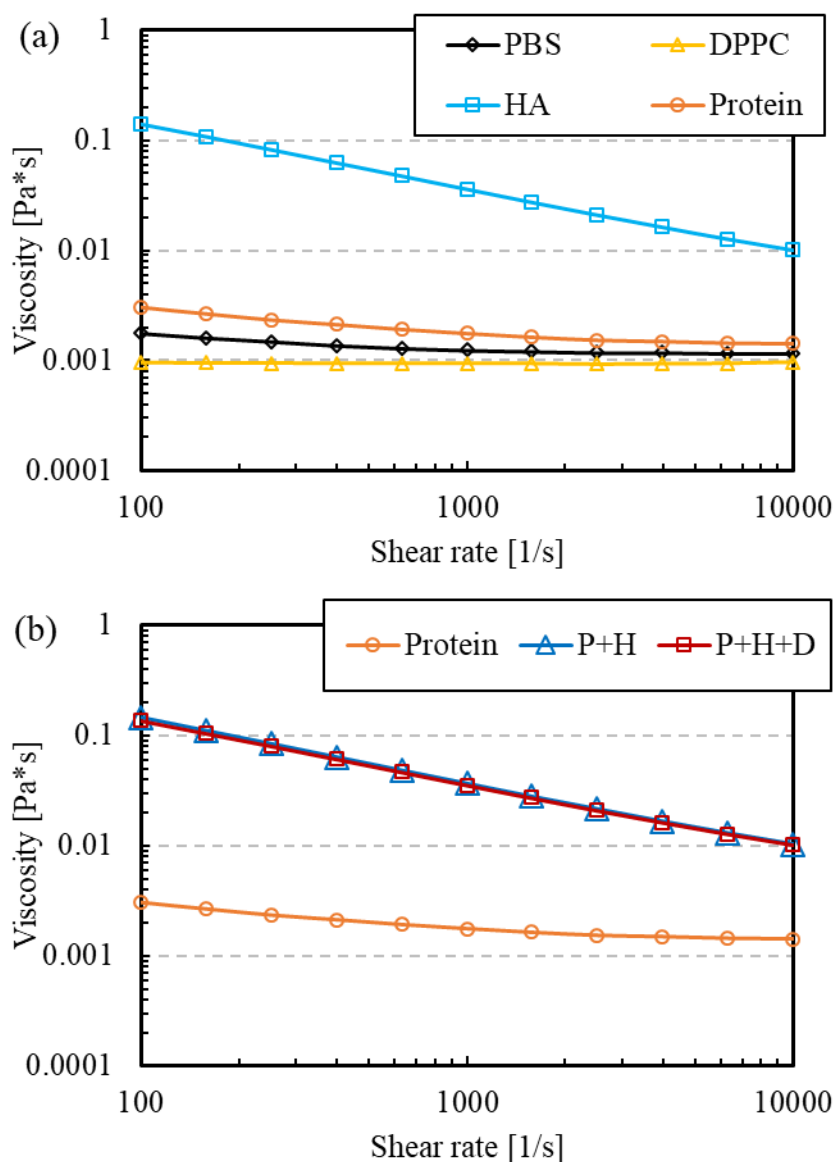
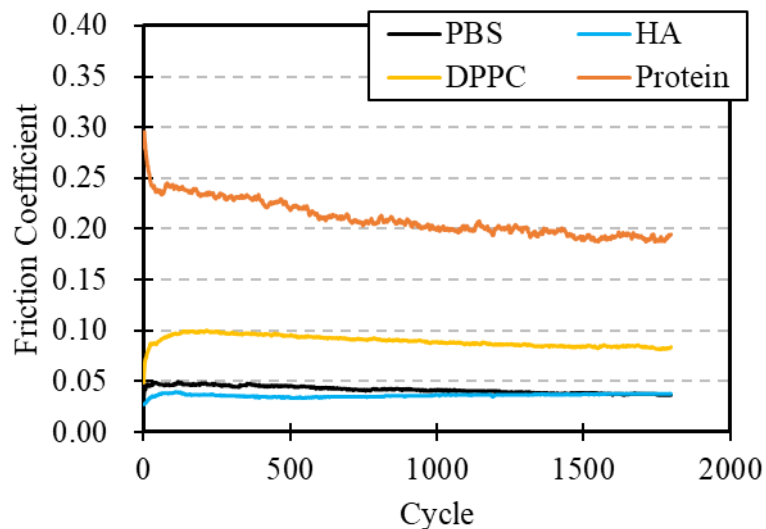


Fig. 2-5 Result of viscosity of each test lubricant. (a) Single constituent and (b) mixtures.

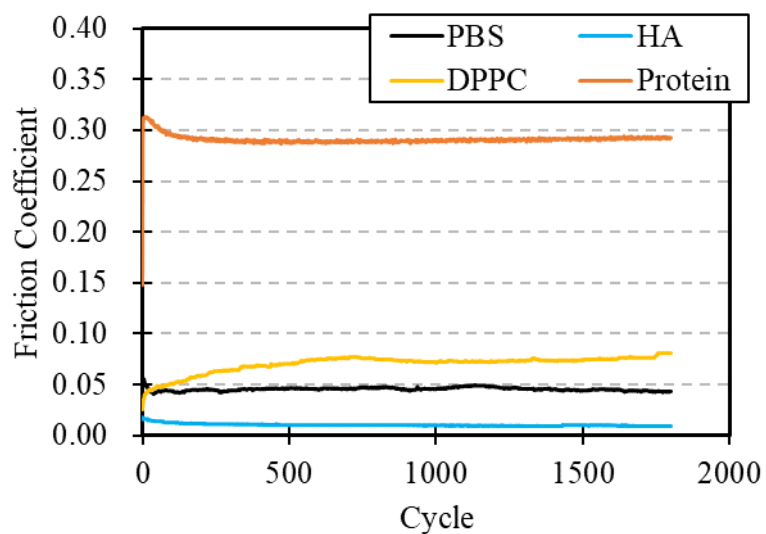
Fig. 2-5 に示す通り、HA が溶液中に含まれている場合、全てのせん断速度域で粘度の増加が確認された。HA を含まない溶液については、精製水の粘度である $10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$ に近い値に漸近していった。

2-3-2. 摩擦試験

摩擦試験の結果を Fig. 2-6 に示す.



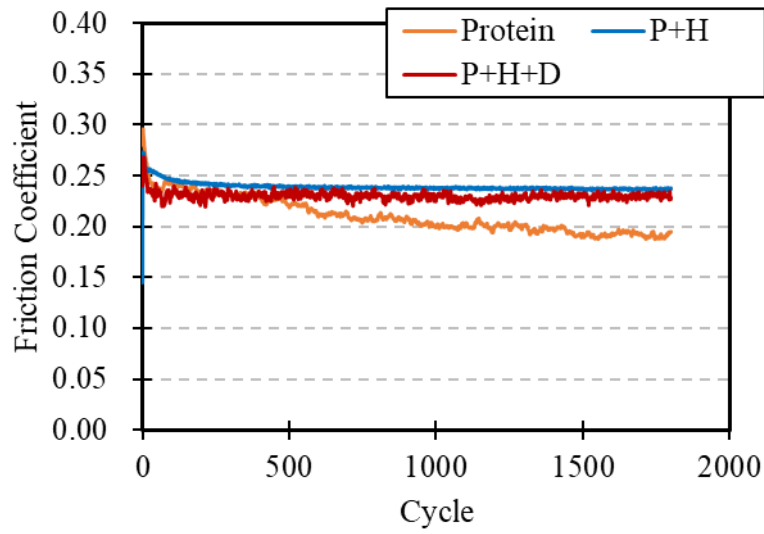
(a) 10 mm/s



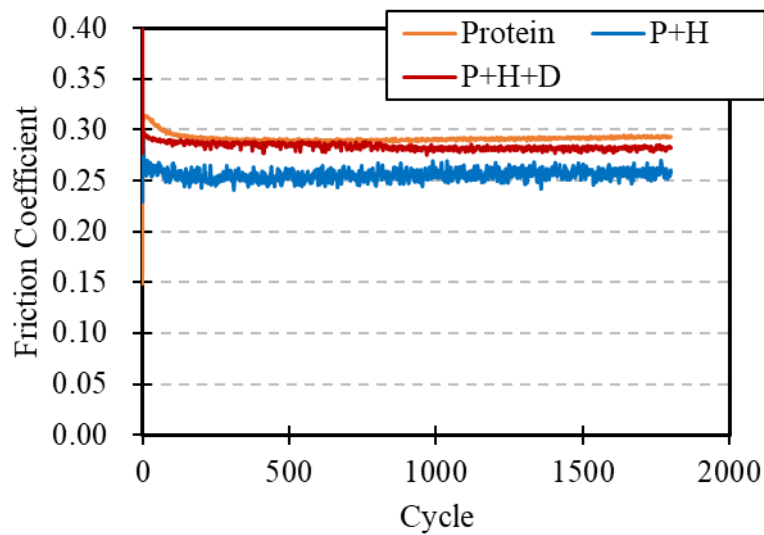
(a) 50 mm/s

Fig.2-6 Transition of friction coefficient of a single constituent. Each line indicated a representative value of lubricant.

Fig. 2-6 は単一成分の摩擦試験の結果を示す。PBS を基準に比較すると、タンパク質が加わることにより、開始直後から摩擦係数が急激に上昇した。DPPC も摩擦係数の上昇が確認されたが、試験開始から徐々に増加し、摩擦係数 0.1 ほどに漸近した。一方で、HA は摩擦を低減し、特にすべり速度 50 mm/s で顕著に効果を示した。



(a) 10 mm/s



(b) 50 mm/s

Fig. 2-7 Transition of friction coefficient of proteins containing lubricants.
Each line indicated representative value of lubricant.

Fig. 2-7 はタンパク質を含む溶液での摩擦係数の推移を示す。すべり速度 10 mm/s では、HA が含まれているにも関わらず、タンパク質の添加により高い摩擦係数を示した。同様の傾向は DPPC を追加で加えた場合にも確認された。一方で、すべり速度 50 mm/s では、わずかではあるが、HA 添加による摩擦の低下が確認された。

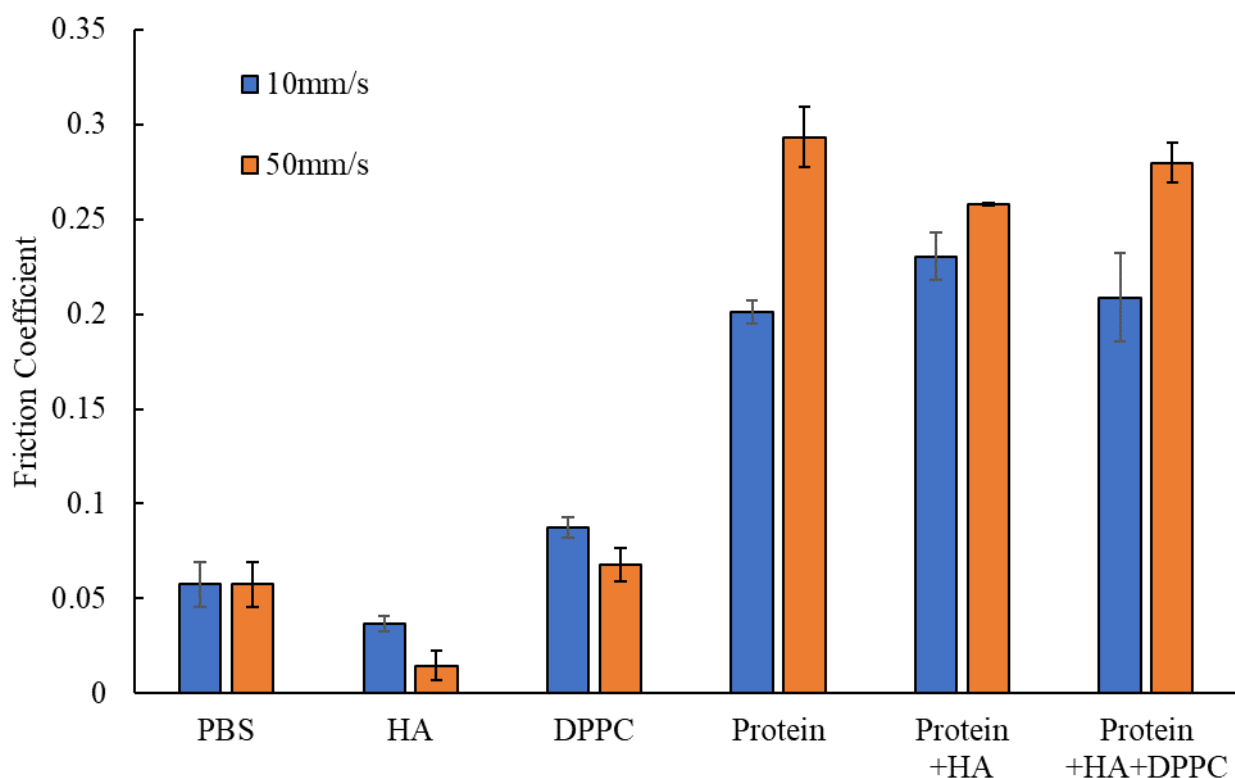


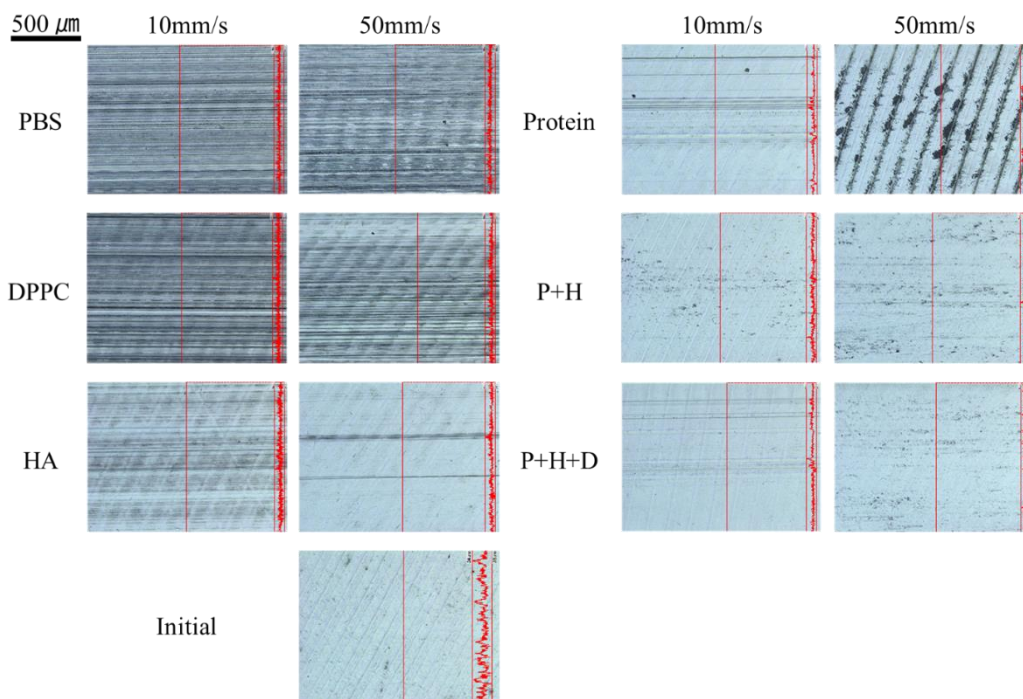
Fig. 2-8 Average values of friction coefficient (stroke range from 1601 to 1700).
Error bar indicated standard deviation of 4 tests.

Fig. 2-8 は、定常状態となったと考えられる後半 1601 ~ 1700 サイクルの平均値を実験値とし、4 回の試験の平均をプロットしたものである。またエラーバーは 4 回の標準偏差を示す。各条件での摩擦係数の平均値を比較すると、明らかにタンパク質の添加により、摩擦の上昇する傾向が確認された。また、タンパク質を含む条件では、速度の増加とともに摩擦係数が上昇する傾向が見られた。逆に、タンパク質を含まない条件では、速度とともに摩擦係数が低下する傾向が見られた。

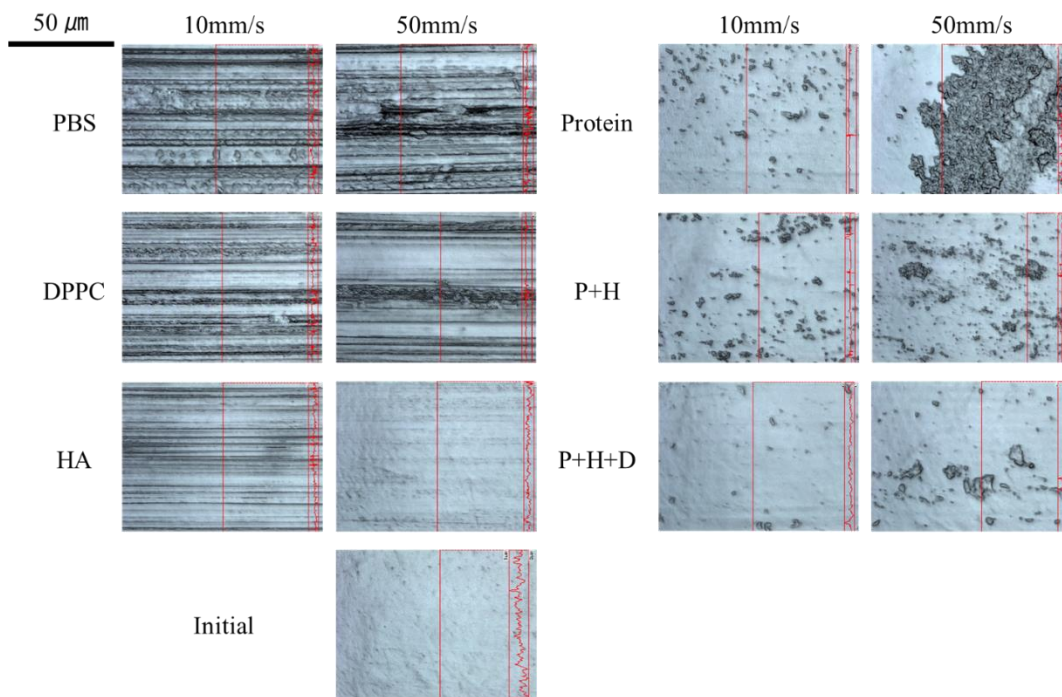
2-3-3. 観察・分析

表面観察

摩擦試験後のプレート表面写真を以下に示す。



(a) Low magnification



(b) High magnification

Fig. 2-9 Surface pictures of tested plate on each condition.

タンパク質を含まない条件では、全面に渡って摩擦痕が摺動方向に見られた。ただし、HAのみ、速度に応じて摩擦痕の変化が確認された。一方で、タンパク質を含む条件では、摩擦痕がほとんど見られなかった。より高倍率で観察すると、タンパク質を含む溶液中で試験した UHMWPE 表面には付着物が確認された。

FT-IR 分析

摩擦・摩耗試験後の UHMWPE サンプルに対しての FT-IR の結果をそれぞれ以下に示す。比較として、試験前の UHMWPE の IR スペクトルを Fig. 2-10 に示す。

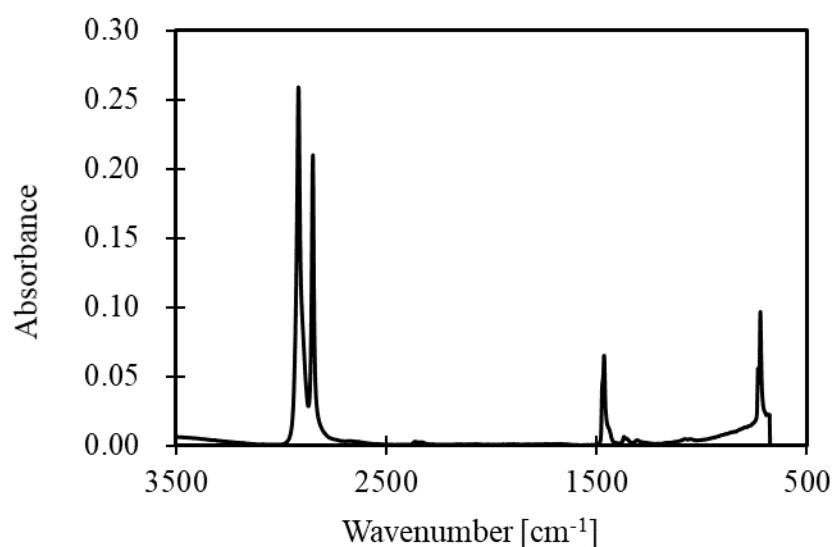
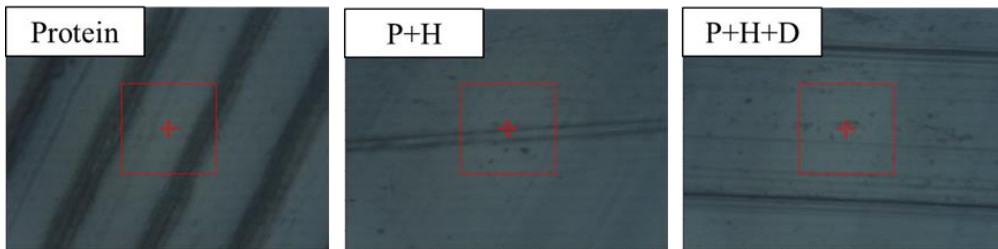
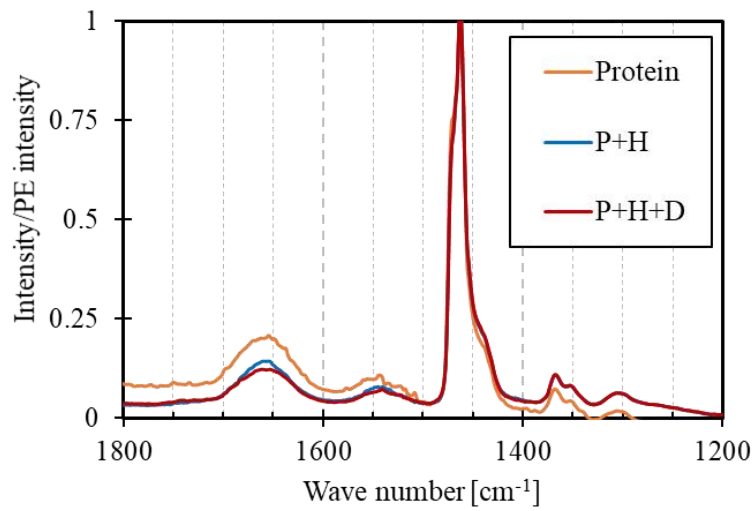
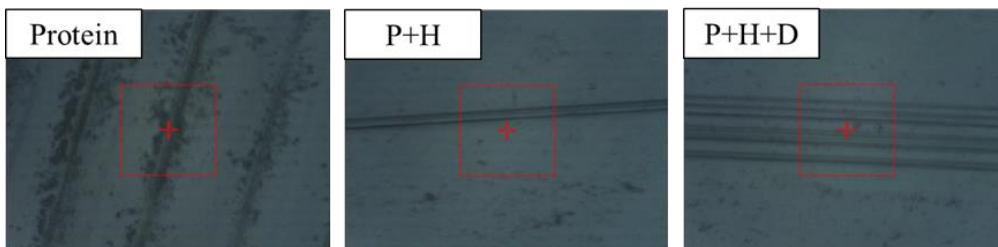
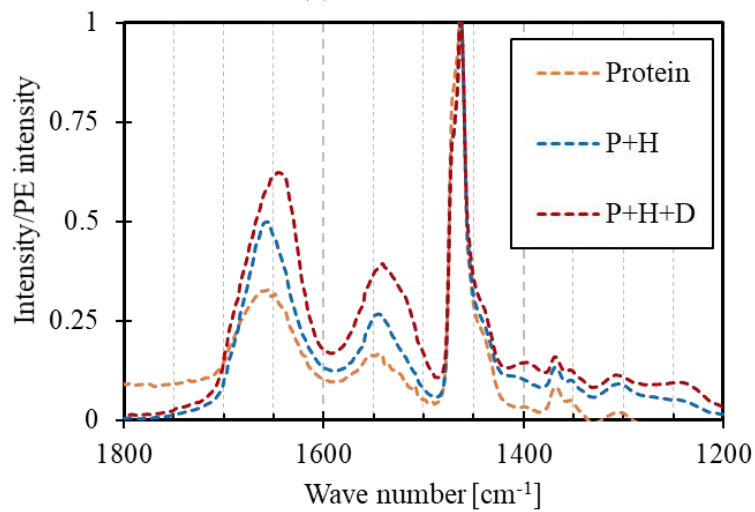


Fig. 2-10 Result of IR spectra of non-tested UHMWPE

ポリエチレンの特徴として、 2960cm^{-1} および 2870cm^{-1} 付近、 1460cm^{-1} 付近、 $720\sim 730\text{cm}^{-1}$ 付近にピークが検出された。



(a) 10 mm/s



(b) 50 mm/s

Fig.2-11 Results of FT-IR.

摩擦試験の結果、タンパク質を含む試験液で急激な摩擦の上昇が確認された。

そこでタンパク質を含む条件の FT-IR の結果を Fig. 2-11 に示す。1650 および 1550 cm^{-1} 付近にアミド 1, 2 と呼ばれるタンパク質に由来するピークが検出された。また高速ほど、すなわちすべり速度 50 mm/s の方がより強いピークを示した。さらにすべり速度 50 mm/s において、潤滑液中の成分が増えるほどピーク強度が大きくなる傾向が確認された。

2-4. 考察

本章では、人工関節材料である UHMWPE と CoCrMo 合金間の摩擦に対する生体高分子の影響を調査した。その中でも、各種成分がそれぞれの効果を発揮することが確認された。

まず、試験溶液自体の特性に関して考える。潤滑に起因する潤滑液特性として、粘性は重要な物性値である。本実験で使用した擬似関節液には、2種のタンパク質、ヒアルロン酸、リン脂質の1種である DPPC が添加されている。Galadkova らは、実際に患者から抽出された関節液の粘度は $0.05 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 程度であると報告している[9]。また擬似関節液については、Bortel らが $0.1 \sim 0.01 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 程度であると報告している[10]。Fig.2-5 で示す通り、本研究で用いたヒアルロン酸を含む擬似関節液の粘度は、上記の粘度範囲と一致している。このことから、ヒアルロン酸を含む溶液に関しては、生理的な粘度であり、関節液のモデルとして十分妥当である。

摩擦試験の結果から、UHMWPE と CoCrMo 合金間の摩擦に対して、タンパク質が支配的な影響を与えていることが確認された。先行研究で、タンパク質分子は疎水性表面に容易に吸着し、変性を起こし、UHMWPE とタンパク質内部に存在する疎水基間で強固な疎水性相互作用を引き起こすことが報告されている[4,11]。この変性したタンパク質は CoCrMo 合金と UHMWPE 間の凝着力を強化し、摩擦と摩耗の増大を引き起こすと考えられる[4,11]。本実験でもタンパク質を含む溶液中では初期から急激な摩擦の上昇が確認された。これはタンパク質の吸着挙動が即座に進行したためだと言える。加えて、試験後の UHMWPE 表面に対して FT-IR 分析を行った結果、多くのタンパク質の由来のピークが検出された。さらにこのピークはわずかにシフトしたことから、凝着したタンパク質は変性していることがわかる。これらより、UHMWPE プレート表面に変性したタンパク質が凝着膜を形成した結果、摩擦が増大したことが示唆される。また、タンパク質溶液中で試験を行った UHMWPE プレート表面には、摩擦方向とは異なる方向のパターンと高倍率では極めて平滑な面が観察されたのに対し、タンパク質を含まない溶液中で試験したプレートには、どのスケールでも摩擦方向に水平な摩擦痕が確認された。試験前の試験片を観察した結果、タンパク質で試験したプレート上のパターンは加工によるマシンマークであると言える。また水平方向の摩擦痕は当然ながら、初期表面には観察されなかったことから、UHMWPE の摩擦・摩耗メカニズムの主要因はアブレイブであり、初期のマシン

マークはアブレシブ摩耗による摩擦痕により隠されたと考えられる。一方で、タンパク質溶液中では初期マシンマークが残っていることから、アブレシブ摩耗は限定的であったと考えられる。さらにミクロスケールで平滑な面が確認されたこと、表面に凝着物の残存が確認されたことから、摩耗形態がアブレシブから凝着にシフトしたと推察される。つまり、関節液成分、特にタンパク質分子は、UHMWPE の摩擦・摩耗形態を変化させる効果を有することが示唆される。

さらに、UHMWPE プレート表面へのタンパク質の吸着量が滑り速度とともに増加していることが、FT-IR 分析の結果からわかった。この傾向は、摩擦試験の結果とも一致している。滑り速度の増加に伴い、流体力学効果による接触域へ潤滑液成分がより流入した結果、流体潤滑膜の形成が促進された。結果として、タンパク質分子も接触面に多数流入したと考えられる。これにより、タンパク質の凝着量と摩擦係数が増加したと考えられる。

先行研究において、DPPC は CoCrMo 合金と UHMWPE 間の摩擦に対して、境界潤滑膜を形成する効果があると報告されている[5,12]。しかしながら、本実験では PBS と比較し、摩擦係数が上昇する傾向が確認された。すべり方向に沿った摩擦痕は、PBS・DPPC 双方で観察されている。これは、タンパク質溶液中と比較して、摩擦係数を上昇させる影響を及ぼしながらも、劇的な摩擦・摩耗形態の変化を起こさなかったことを意味する。James らは FT-IR を用いて、摘出された UHMWPE カップの分析を行っており、脂質に由来するカルボキシル基やエステル基のピークが検出されたと報告している[13]。UHMWPE への脂質の侵入はほかにも報告されている[14]。Greenbaum らや Sakoda らはそれぞれ、脂質の内部拡散に伴う可塑化作用が UHMWPE の剛性と硬度を変化させたと報告している[15,16]。そのため、本実験での DPPC 溶液中での摩擦の増大は、リン脂質が UHMWPE へ内部拡散し、最表面の硬さを低下させたからではないかと推察される。実際、DPPC 溶液中での摩擦係数の推移は徐々に増加する傾向で、すべり速度 10 mm/s では 100 サイクルあたり、すべり速度 50 mm/s では 500 サイクルあたりで収束していた。これは、すべり速度に寄らず、500 秒程度で定常な摩擦に推移することを意味する。言い換えると、DPPC の UHMWPE への内部拡散とそれに伴う可塑化作用は時間依存の形として、摩擦係数に影響していると考えられる。

続いてヒアルロン酸の効果について考える。本摩擦試験は、ポリエチレン表面の摩耗痕の存在からも、境界・混合潤滑状態だと言える。PBS と比較して、ヒア

ルロン酸を添加することによる摩擦の低減が確認でき、さらに速度を増加することでより摩擦の低下が確認できた。これはヒアルロン酸添加に伴う粘度増加と速度増加それぞれが摩擦界面に形成される流体膜の成長を促し、固体表面間の突起の直接接触を抑制したためだ。突起間の接触の低減は、UHMWPE 表面の摩擦痕の数が、すべり速度 50 mm/s では減少していることから確認できた。

上記のように、ヒアルロン酸には摩擦を低減する効果が確認されたが、タンパク質をさらに添加することでこの効果は阻害された。Nečas らは、摩擦試験後の UHMWPE 表面に形成された吸着膜の厚みを分光エリプソメトリーを用いて測定した。結果として、すべり速度 50 mm/s でのアルブミン・ γ グロブリン混合溶液中で試験した UHMWPE 表面には、30 nm 程度の吸着膜が形成されたと報告している[4]。本研究で測定した溶液の粘度から、弾性流体潤滑理論に基づく膜厚計算を式 (1-1) を用いて行ったところ、すべり速度 50 mm/s, 粘度 0.003 Pa*s の場合、約 0.12 μ m の流体膜が形成されると見積もることができた。この値は先行研究で実測されたタンパク質の吸着膜の厚みよりも十分大きい。Myant らと Vrbka らは pin-on-disk 型の摩擦試験では、接触域への流入部で潤滑液中のタンパク質が凝集することを示している[17–19]。本実験での摩擦試験の接触形態も同様の形式であるため、流入部におけるタンパク質の凝集が発生したと考えられる。その結果、ヒアルロン酸の増粘効果よりも、流入部でのタンパク質の凝集が支配的にふるまい、潤滑状態が混合潤滑にシフトしたため、摩擦係数がタンパク質と同程度になったと考えられる。

Protein, P+H, P+H+D の 3 条件は、近い摩擦係数を示した。しかしながら、試験後の摺動面の形状と IR 分析の結果は、それぞれの潤滑液で明らかに異なっていた。この傾向は、特にすべり速度 50 mm/s で顕著であった。タンパク質の場合、UHMWPE 表面にはマシンマークが確認されたが、HA または DPPC を添加した場合には、完全に消失していた。これは、タンパク質溶液に HA・DPPC を添加することにより、UHMWPE の摩耗がより顕著になったことを意味する。

タンパク質に由来する IR のピーク強度も同様に、成分を混合させることで大きくなった。特にすべり速度 50 mm/s では、成分を追加するごとに強度が増大する傾向が確認された。これらの結果より、タンパク質と HA, DPPC の間には協調作用、すなわち HA と DPPC は接触域でのタンパク質の効果を補助していると考えられる。Nečas らは実際の人工股関節の形状での潤滑膜形成における、成分間の相互作用の重要性を示唆している[20]。彼らの振り子型シミュレータでの試験

で、タンパク質とヒアルロン酸の膜形成はリン脂質の添加により、大幅に強化されると報告している。また別の先行研究において、試験液中のタンパク質濃度の増加が UHMWPE の摩耗を増大させることが報告されている[1,21]。そのため、HA と DPPC をタンパク質溶液に添加することによる局所的なタンパク質濃度の増加が、摩擦上昇の主要因であると言える。

2-5. 結言

本研究では、関節液成分（アルブミン、 γ グロブリン、HA、DPPC）を含む潤滑液中での、UHMWPE と CoCrMo 合金間の摩擦特性を評価した。本研究で得られた知見は、以下の通りである；

- ✓ タンパク質による高摩擦化が確認された。これは、タンパク質分子が凝着・変性することに由来する。タンパク質溶液において、滑り速度の増加に伴う接触域へのタンパク質の凝集と流入が起こるため、更なる摩擦の増加が発生した。
- ✓ リン脂質は摩擦を増加させた。これはタンパク質のように即座に起こるのではなく、時間とともに、UHMWPE 内部への拡散とそれによる可塑化が進行することに起因すると推察される。
- ✓ ヒアルロン酸溶液中では、摩擦の低減が確認された。これは、ヒアルロン酸添加による粘度の増加と流体潤滑膜形成が引き起こされたためである。
- ✓ 試験後の摩擦面の比較により、関節液成分間の協調作用が確認された。ヒアルロン酸と DPPC は、接触域へのタンパク質の引き込みを補助し、UHMWPE の摩擦を増加させた。

参考文献

1. Sawae Y, Yamamoto A, Murakami T. Influence of protein and lipid concentration of the test lubricant on the wear of ultra high molecular weight polyethylene. *Tribol Int.* 2008;41: 648–656.
2. Nečas D, Vrbka M, Urban F, Křupka I, Hartl M. The effect of lubricant constituents on lubrication mechanisms in hip joint replacements. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2015;55: 295–307.
3. Saikko V, Ahlroos T. Wear simulation of UHMWPE for total hip replacement with a multidirectional motion pin-on-disk device: effects of counterface material, contact area, and lubricant. *J Biomed Mater Res.* 2000;49: 147–154.
4. Nečas D, Sawae Y, Fujisawa T, Nakashima K, Morita T, Yamaguchi T, et al. The Influence of Proteins and Speed on Friction and Adsorption of Metal/UHMWPE Contact Pair. *Biotribology.* 2017;11: 51–59.
5. Saikko V, Ahlroos T. Phospholipids as boundary lubricants in wear tests of prosthetic joint materials. *Wear.* 1997;207: 86–91.
6. Sawae Y, Murakami T, Chen J. Effect of synovia constituents on friction and wear of ultra-high molecular weight polyethylene sliding against prosthetic joint materials. *Wear.* 1998;216: 213–219.
7. DesJardins J, Aurora A, Tanner SL, Pace TB, Acampora KB, Laberge M. Increased total knee arthroplasty ultra-high molecular weight polyethylene wear using a clinically relevant hyaluronic acid simulator lubricant. *Proc Inst Mech Eng H.* 2006;220: 609–623.
8. 山本雄二, 兼田楨宏. トライボロジー. オーム社; 2010.
9. Galandáková A, Ulrichová J, Langová K, Hanáková A, Vrbka M, Hartl M, et al. Characteristics of synovial fluid required for optimization of lubrication fluid for biotribological experiments. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2017;105: 1422–1431.
10. Bortel EL, Charbonnier B, Heuberger R. Development of a Synthetic Synovial Fluid for Tribological Testing. *Lubricants.* 2015;3: 664–686.
11. Heuberger MP, Widmer MR, Zobeley E, Glockshuber R, Spencer ND. Protein-mediated boundary lubrication in arthroplasty. *Biomaterials.* 2005;26: 1165–1173.
12. Bell J, Tipper JL, Ingham E, Stone MH, Fisher J. The influence of phospholipid concentration in protein-containing lubricants on the wear of ultra-high molecular

- weight polyethylene in artificial hip joints. *Proc Inst Mech Eng H*. 2001;215: 259–263.
13. James SP, Blazka S, Merrill EW, Jasty M, Lee KR, Bragdon CR, et al. Challenge to the concept that UHMWPE acetabular components oxidize in vivo. *Biomaterials*. 1993;14: 643–647.
 14. Costa L, Bracco P, del Prever EB, Luda MP, Trossarelli L. Analysis of products diffused into UHMWPE prosthetic components in vivo. *Biomaterials*. 2001;22: 307–315.
 15. Sakoda H, Niimi S. Impact of lipid-induced degradation on the mechanical properties of ultra-high molecular weight polyethylene for joint replacements. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2016;53: 218–225.
 16. Greenbaum ES, Burroughs BB, Harris WH, Muratoglu OK. Effect of lipid absorption on wear and compressive properties of unirradiated and highly crosslinked UHMWPE: an in vitro experimental model. *Biomaterials*. 2004;25: 4479–4484.
 17. Myant CW, Cann P. The effect of transient conditions on synovial fluid protein aggregation lubrication. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2014;34: 349–357.
 18. Myant C, Cann P. In contact observation of model synovial fluid lubricating mechanisms. *Tribol Int*. 2013;63: 97–104.
 19. Vrbka M, Křupka I, Hartl M, Návrat T, Gallo J, Galandáková A. In situ measurements of thin films in bovine serum lubricated contacts using optical interferometry. *Proc Inst Mech Eng H*. 2014;228: 149–158.
 20. Nečas D, Vrbka M, Galandáková A, Křupka I, Hartl M. On the observation of lubrication mechanisms within hip joint replacements. Part I: Hard-on-soft bearing pairs. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2019;89: 237–248.
 21. Wang A, Essner A, Polineni VK, Stark C, Dumbleton JH. Lubrication and wear of ultra-high molecular weight polyethylene in total joint replacements. *Tribol Int*. 1998;31: 17–33.

第3章 関節液成分と UHMWPE の摩耗特性の関係性

目次

3-1. 緒言	59
3-2. 実験方法・材料.....	59
3-2-1. 多方向すべり摩耗試験.....	59
3-2-2. 分析・観察.....	63
3-3. 実験結果	64
3-3-1. 摩耗試験	64
3-3-2. 表面写真	67
3-3-3. FT-IR 分析.....	69
3-4. 考察	72
3-5. 結言	75
参考文献	76

3-1. 緒言

前章で、関節液に含まれる生体高分子のうち、タンパク質が摩擦挙動に支配的であった。加えて、ヒアルロン酸やリン脂質による補助効果により、成分間の相互作用も確認された。しかしながら、前章では 90 m という限られたすべり距離であること、一軸の往復動であること、そして摩擦係数での比較にとどまり、実際の人工関節の課題となっている摩耗に対する関節液成分の影響を定量的に調査できていない。ASTM (American Society for Testing and Materials) 規格では、人工関節材料の評価を行う際は 200 万サイクル、最低 20 km 以上のすべり距離や多方向滑り (Cross shearing motion) を推奨している[1]。また UHMWPE は、滑り方向によって摩耗量が変化することが知られている[2]。このように、実際の体内での UHMWPE の摩耗を再現するためには、滑り距離や滑り方向を適切に選択しなければならない。

そこで、本章では、摩擦試験で得られた関節液成分の影響に関する知見を踏まえ、関節液成分が UHMWPE の摩耗特性に及ぼす影響を評価した。臨床レベルの UHMWPE の摩耗量を再現するために、本章では多方向すべり摩耗試験機を使用した[3,4]。この試験機は、回転運動により、UHMWPE のすべり方向を絶えず変化させることが可能となり、臨床で報告されている摩耗量および摩耗粉サイズを再現可能となっている。この試験機を用いることで、体内での UHMWPE の摩耗に関節液成分がどのように影響しているかを評価した。前章の結果から、潤滑液にタンパク質を含むことが UHMWPE の摩擦特性に顕著な影響を及ぼすことが示唆されたため、本章ではタンパク質を主軸とし、ヒアルロン酸とリン脂質が共存することでどのような影響が摩耗特性に及ぼされるのかを調査した。

3-2. 実験方法・材料

3-2-1. 多方向すべり摩耗試験

本研究の摩耗試験で使用した pin-on-disk 型多方向滑り試験機の概略図を Fig.3-1 に示す。Fig.3-2 のように、二組の直動案内軸受 (リニアガイド) を直交させて配置することで、X-Y ステージの平面運動を可能としている。重りによって試験片間には負荷がかかっており、クランク機構を介して X-Y ステージに円運動を与えると、プレート試験片と固定されたピン試験片の間で摩擦が生じる。また、試験機は 3 チャンネル仕様となっている。

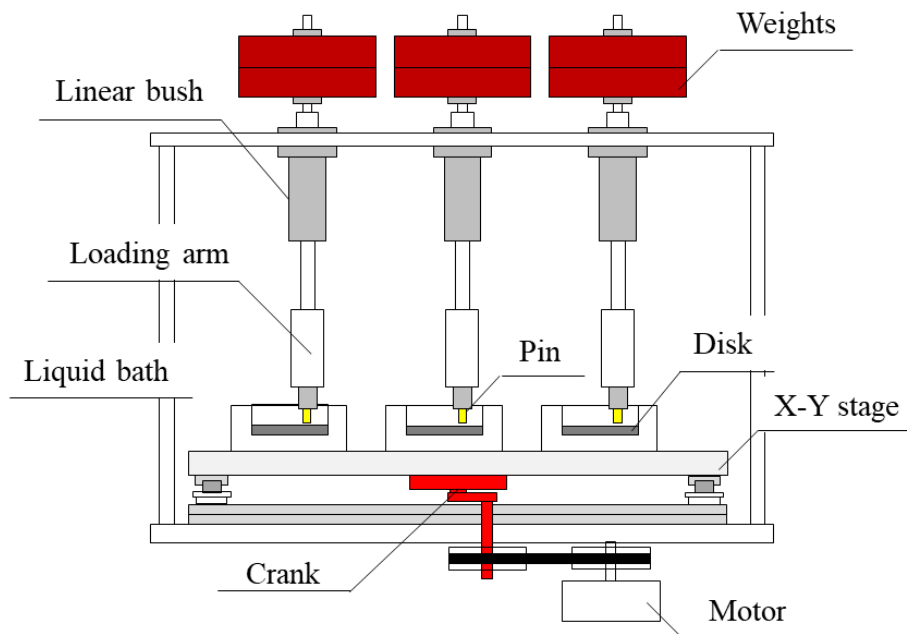


Fig.3-1 Pin-on-disk multidirectional sliding tester

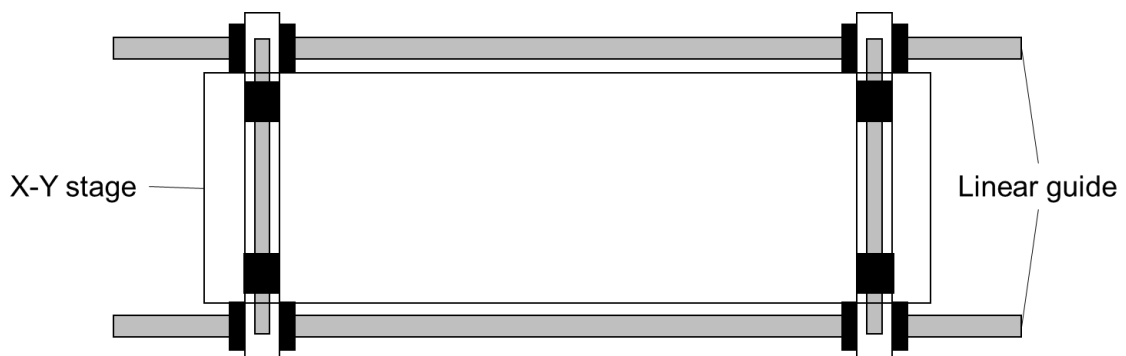


Fig.3-2 Two pairs of linear guides

摩耗試験における一方向滑りと多方向滑りの比較を Fig. 3-3 に示す. Fig. 3-3(a) は一般的なピン-オン-ディスク試験機の挙動であり, 滑り方向は一定となる. 一方, 本研究で使用したピン-オン-プレート試験機の挙動を Fig.3-3(b) に示す. 固定されたピン試験片を中心としてプレート試験片が円運動を行うことで試験片間の滑り方向は絶え間なく変化し, 多方向滑りが実現されている.

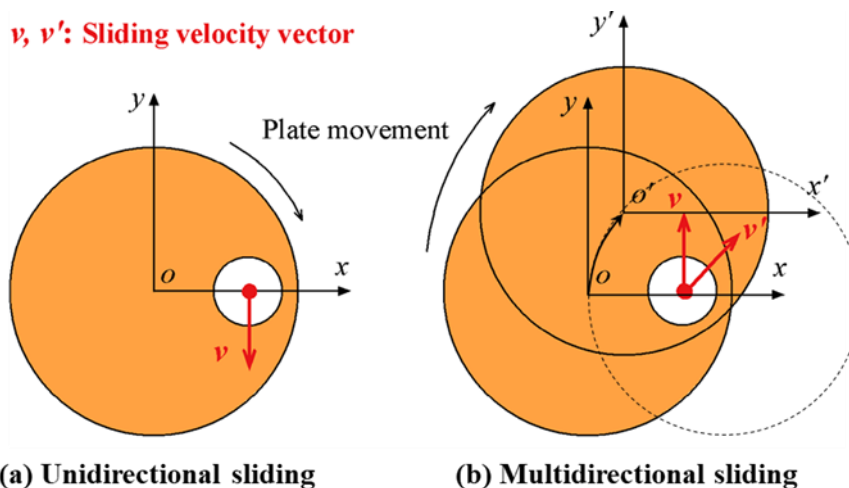


Fig.3-3 Comparison of the sliding direction between (a) Unidirectional sliding and (b) Multidirectional sliding

生体環境における作動条件を考慮した際、人工股関節では内外旋や内外転の運動も加えた複雑な運動形態をとるため、一方向滑りの摩耗試験による評価では生体内での実際の運動の再現には不十分である。Saikkoらは、歩行時の股関節の動きを関節シミュレータに入力した場合、骨頭表面上ではFig.3-4に示すような滑り軌道が確認されたと報告している[5]。また、一方向や往復動の摩耗試験では、UHMWPEの比摩耗量が $10^{-8} \text{ mm}^3/\text{N}\cdot\text{m}$ のオーダーとなり、一般に $10^{-6} \text{ mm}^3/\text{N}\cdot\text{m}$ のレベルといわれる臨床データと比べて小さくなることが指摘されている。これは摩擦表面においてポリエチレン分子鎖の配向を生じることにより、UHMWPEの耐摩耗性が増加したためと考えられる。澤野らは、摩擦経路が制御可能なピン・オン・プレート試験機を用いたUHMWPE摩耗試験を行い、円形および二円弧の多方向摩擦において単純な往復動摩擦と比べて1桁高い比摩耗量が得られたと報告している[2]。以上のような観点から、UHMWPE摩耗特性の適正な評価には多方向試験が適している。

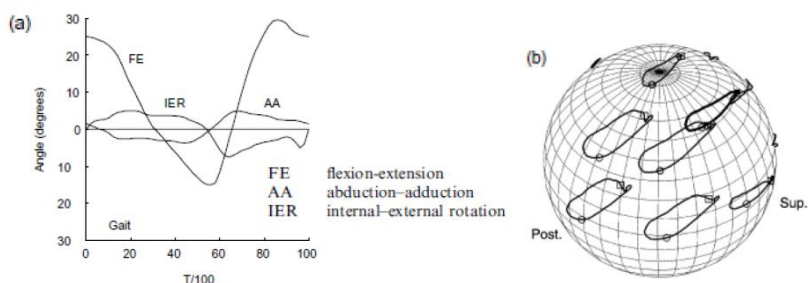


Fig.3-4 Analysis of (a) Motion waveform[6] and (b) Slide tracks on femoral head of hip joint motion in walking [5]

試験片の形状を Fig.3-5 に示す。ピン試験片には UHMWPE、プレート試験片には Co-Cr 合金を材料としてそれぞれ使用した。なお、プレート試験片の表面粗さは $Ra=0.010\pm 0.005\mu\text{m}$ とした。

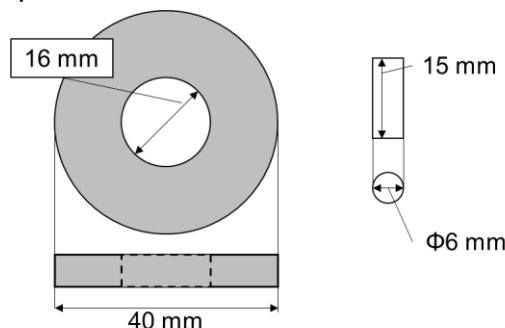


Fig.3-5 Geometry of pin and disk specimens

試験開始前に、界面活性剤・精製水・エタノールを用いた超音波洗浄のち真空乾燥を行った。詳細は前章に記す。また、ピン試験片については、電子天秤を用いて重量計測を行った。荷重は 28, 84, 141 N (平均接触圧力: 1, 3, 5 MPa), すべり速度は 50 mm/s に設定した。試験溶液は各バスに 15ml ずつ注いだ。また、静的状態での樹脂材料の吸水変化を比較するために、コントロール用のピン試験片および溶液を用意した。試験途中の 5 km 時点で、一度装置を停止した。その後、ピン試験片のみ上記手順で、洗浄・真空乾燥した後、再度重量を測定した。この時、ディスク試験片については、洗浄は行わず、乾燥防止のためにバスに固定したまま精製水中で保存した。計量後、再度試験機にセットし、さらに 5 km 滑らせた。この際、試験液も交換した。試験終了後、ピン試験片について同様の洗浄と計測を行った。摩耗量はすべり距離と荷重に比例して増加する傾向がある。そこで、単位すべり距離・単位荷重当たりの摩耗量、すなわち摩耗量の体積をすべり距離と荷重で除すことで、荷重の違いによる影響を考慮した比摩耗量の算出を行った。ここで、摩耗量の体積を算出するために、UHMWPE の密度 0.97 g/cm^3 を用いた。

また、本試験では以下の 5 種類の試験液を用いた。ただし Protein+DPPC は 3 MPa でのみ実施した。

Table. 3-1 Test lubricants

Lubricant	Constituents	Concentration wt%
PBS	-	-
Protein	Albumin + γ -globulin	1.4 + 0.7 (2.1)
P+H	Albumin + γ -globulin + HA	2.1 + 0.5
P+H+D	Albumin + γ -globulin + HA + DPPC	2.1 + 0.5 + 0.01
P+D**	Albumin + γ -globulin + DPPC	2.1 + 0.01

** Tested at 3 MPa only

3-2-2. 分析・観察

試験後の試験片について、前節と同様に、共焦点レーザー顕微鏡と赤外顕微鏡を用いた表面形状の観察と表面の化学分析について行った。なお赤外顕微鏡での化学分析に関しては、試験後の特異形状についてのみ行った。これは、重量計測に伴う洗浄プロセスにより、試験溶液成分の残存が見込めないと判断したためである。FT-IR 分析については、ATR 法で、プリズムには Ge を用いた。アパーチャーサイズは 150 * 150 および 20 * 20 μm 、スキャン回数は 128、分解能は 4 cm^{-1} とした。

3-3. 実験結果

3-3-1. 摩耗試験

以下に、摩耗試験による全区間での重量変化を示す。各結果は3回の平均値であり、エラーバーは標準偏差を表す。ただし、平均接触圧力3 MPaのProtein+DPPCおよびProtein+HA+DPPCのみ、6回の平均値および標準偏差となる。

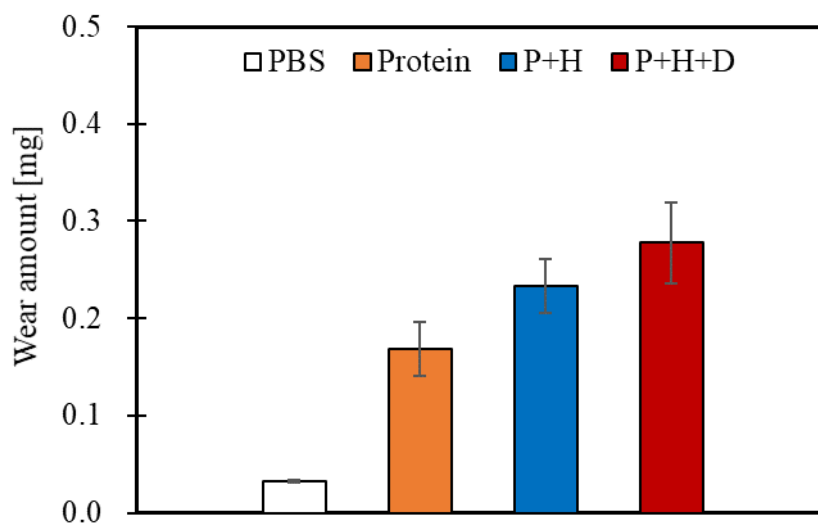


Fig. 3-6 Wear amount at mean contact pressure 1 MPa. Error bars mean standard deviation of 3 samples.

平均接触圧力1 MPaの場合、PBSと比較すると、タンパク質を添加することにより、大幅な摩耗量の増加が確認された。また、HAやDPPCなどを追加で添加することにより、さらなる増加が見られた。

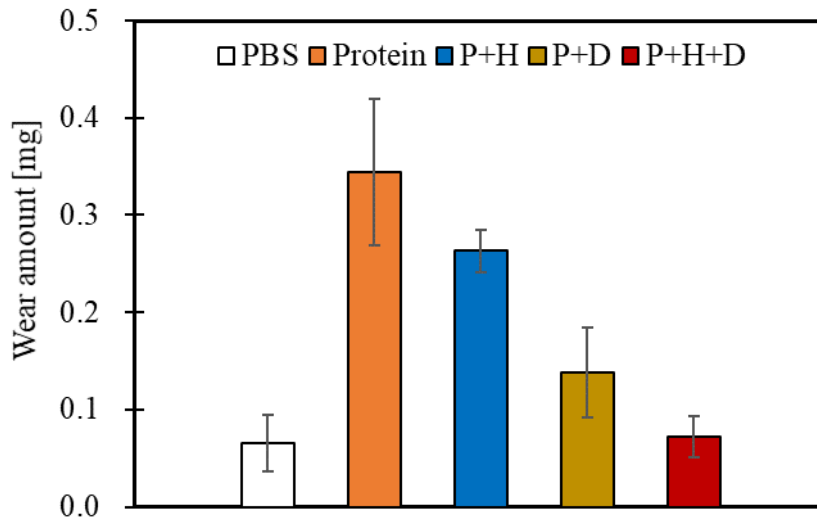


Fig. 3-7 Wear amount at mean contact pressure 3 MPa. Error bars of PBS, Protein and P+H mean standard deviation of 3 samples, and error bars of P+D and P+D+H mean standard deviation of 6 samples.

平均接触圧力 3 MPa の場合、タンパク質による摩耗の増加が平均接触圧力 1 MPa と同様に確認された。しかしながら、他の成分を添加することにより、摩耗が低減する傾向が確認された。特に、タンパク質、HA、DPPC すべてを添加した場合、PBS と同程度の重量変化になった。

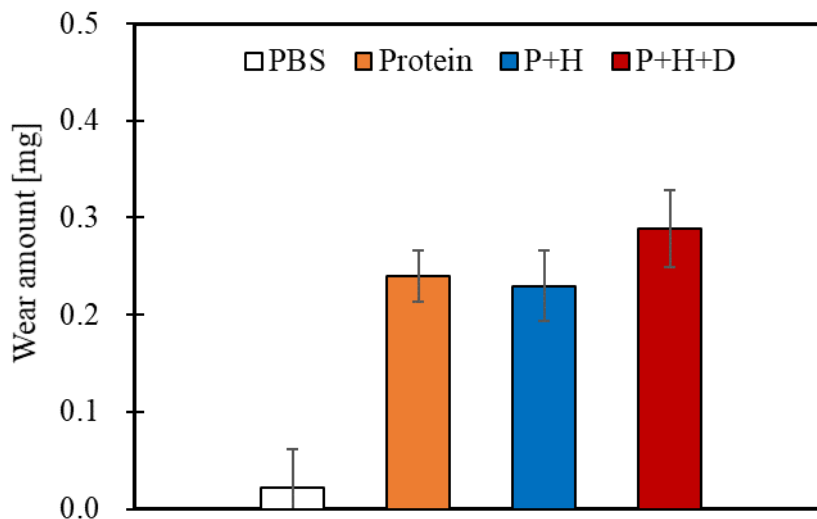
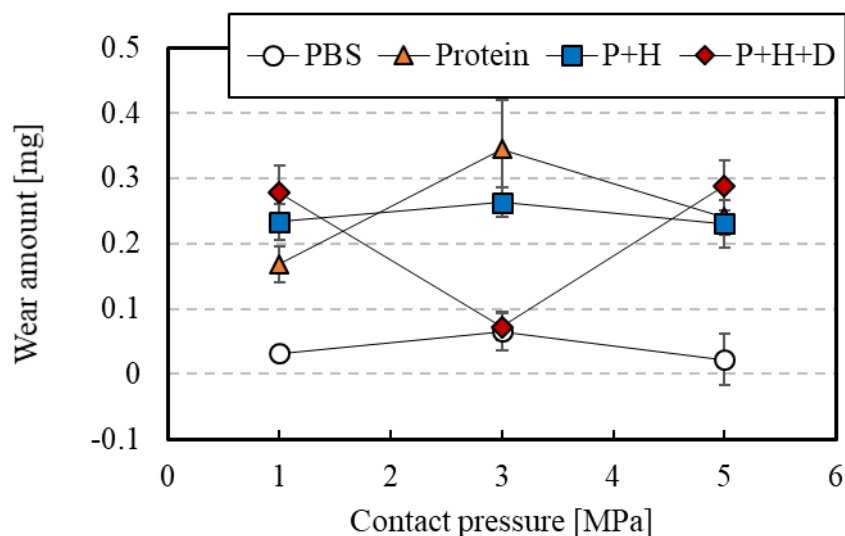
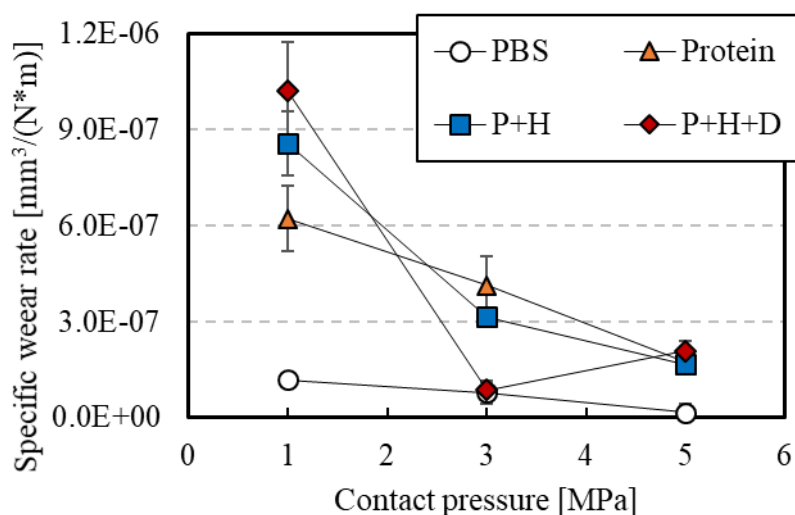


Fig. 3-8 Wear amount at mean contact pressure 5 MPa. Error bar means standard deviation of 3 samples.

平均接触圧力 5 MPa の場合、タンパク質の添加による増加傾向は確認されたが、他成分の添加による変化は限定的であった。



(a) Wear amount



(b) Specific wear rate

Fig. 3-9 Summary of wear test. (a) wear amount and (b) specific wear rate of each test lubricant via contact pressure. Error bars mean standard deviation of 3 samples except P+H+D at 3 MPa; error bar of P+H+D at 3 MPa means of 6 samples.

重量変化および重量変化から得られたデータをもとに算出した比摩耗量と平均接触圧力の関係を Fig. 3-9 に示す。PBS は接触圧力による比摩耗量の変化がわずかであった。タンパク質溶液は、全体として圧力の上昇とともに比摩耗量が低下する傾向を示した。しかしながら、protein+HA+DPPC のみ、平均接触圧力 3 MPa において急激に摩耗が低下した後、平均接触圧力 5 MPa で再び増加する傾向を示した。

3-3-2. 表面写真

摩耗試験後の UHMWPE ピン表面の共焦点レーザー顕微鏡写真を以下に示す。

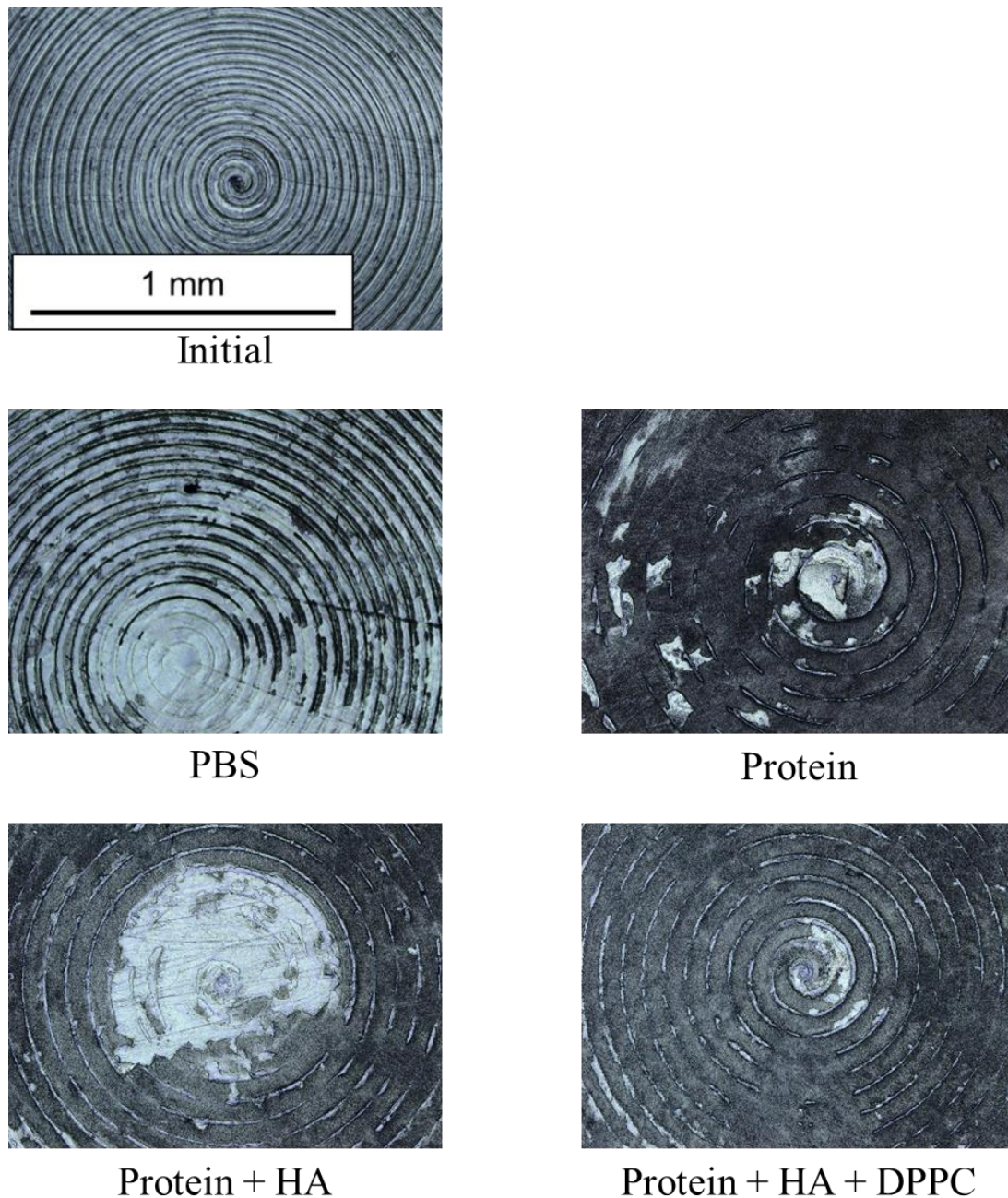
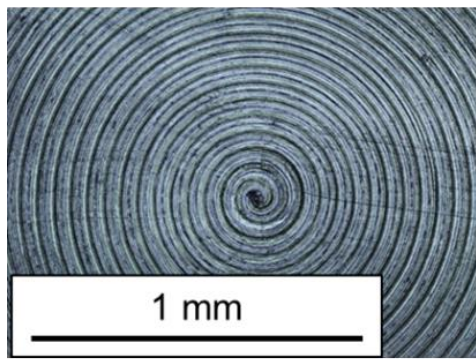
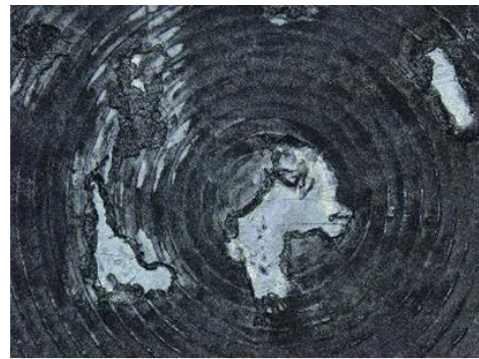


Fig. 3-10 Worn surface of UHMWPE pin at mean contact pressure 1 MPa

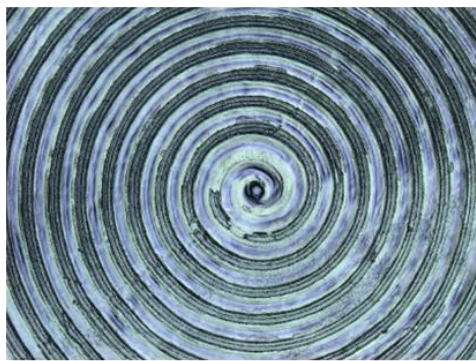
平均接触圧力 1 MPa の場合、PBS で試験をしたピン表面は、初期のマシンマークが鮮明に残った。タンパク質を加えると、大きく形状が変化し、初期のマシンマークの消失が確認された。他成分を加えた場合も同様の形状が観察された。



Initial



Protein + DPPC



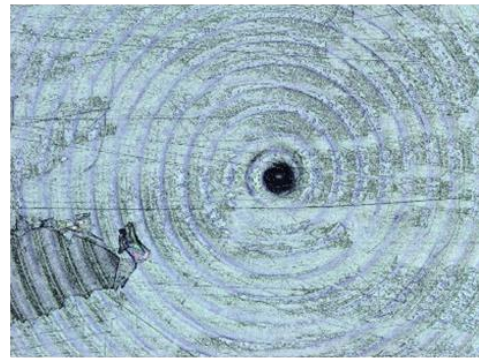
PBS



Protein



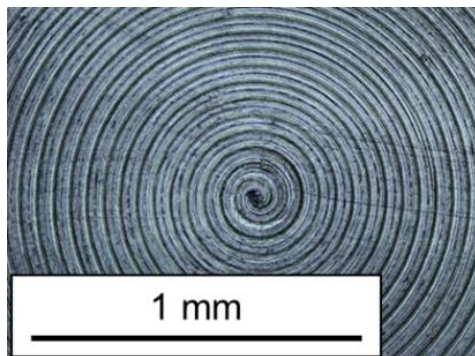
Protein + HA



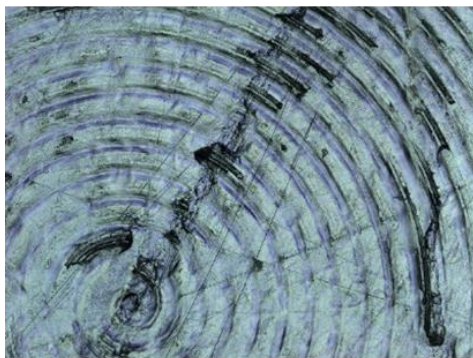
Protein + HA + DPPC

Fig. 3-11 Worn surface of UHMWPE pin at mean contact pressure 3 MPa

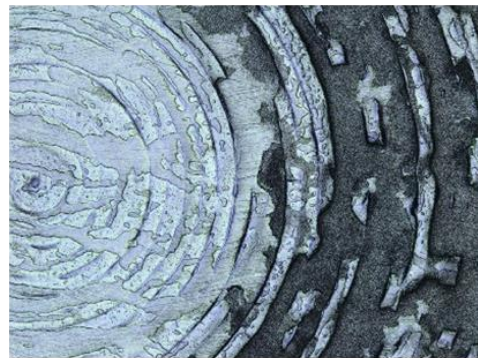
平均接触圧力 3 MPa でも、Protein で初期のマシンマークが消失するほどの摩耗が確認された。HA や DPPC を添加した場合も同様の傾向が確認された。一方で、Protein+HA+DPPC は全面にわたって、フィルム状の形状が確認された。



Initial



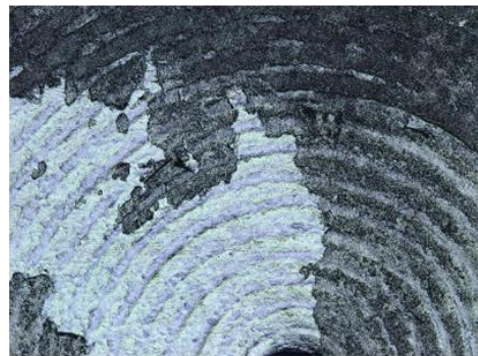
PBS



Protein



Protein + HA



Protein + HA + DPPC

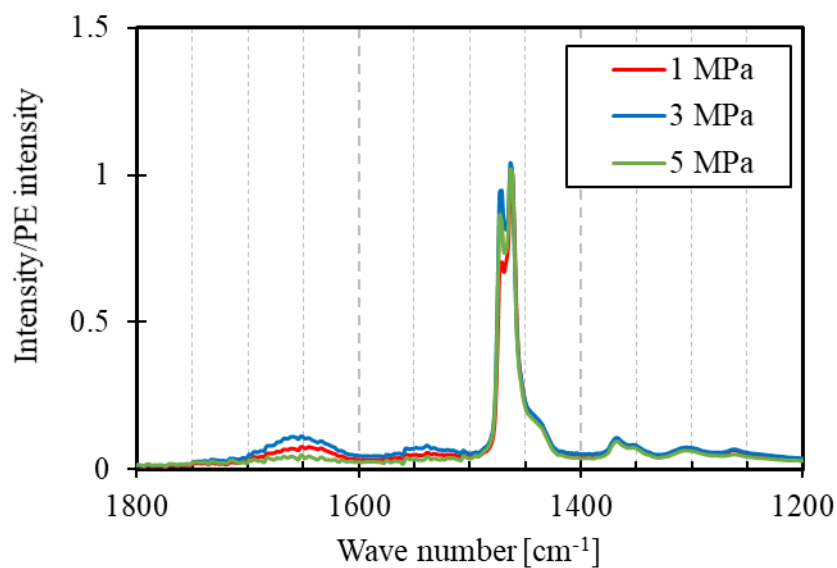
Fig. 3-12 Worn surface of UHMWPE pin at mean contact pressure 5 MPa

平均接触圧力 5 MPa では、中心部ではフィルムが確認されたが、局所的であった。

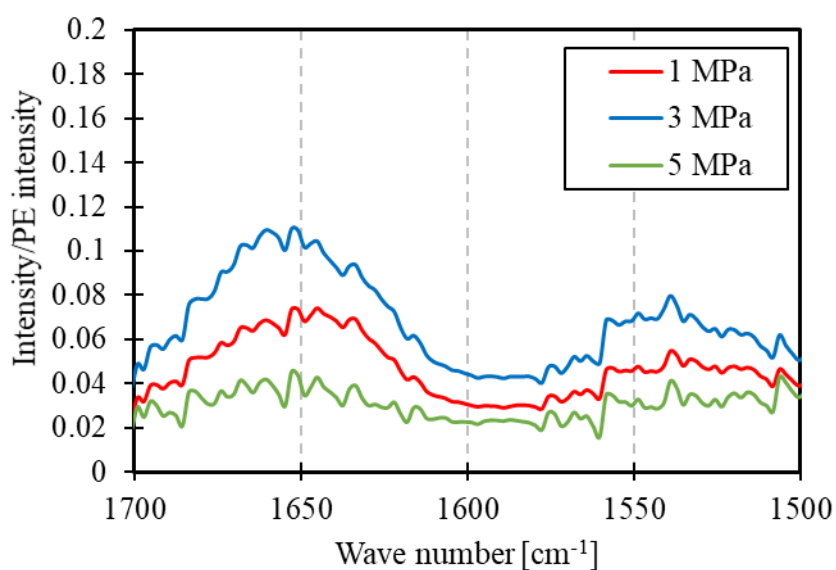
3-3-3. FT-IR 分析

まず Protein で試験後の UHMWPE ピン表面の FT-IR 分析の結果を Fig. 3-13 に示す。なお、バルクである UHMWPE に由来する 1460 cm^{-1} のピーク強度で正規

化した。



(a) Wave number range between 1200 to 1800 cm^{-1}



(b) Wave number range between 1500 to 1700 cm^{-1}

Fig. 3-13 Results of IR spectra tested in protein at each mean contact pressure.

Fig. 3-13 より、僅かではあるが、 1650 cm^{-1} および 1550 cm^{-1} 付近にピークが検出された。これらのピークはそれぞれカルボキシル基とアミンに由来することから、タンパク質が吸着していると分かる。

また顕微鏡写真から摩耗試験後の UHMWPE ピン表面にフィルムが PBS + (Albumin + γ -globulin + HA + DPPC) の平均接触圧力 3 MPa で観測された。化学的組成を特定するために、FT-IR による分析を行った。

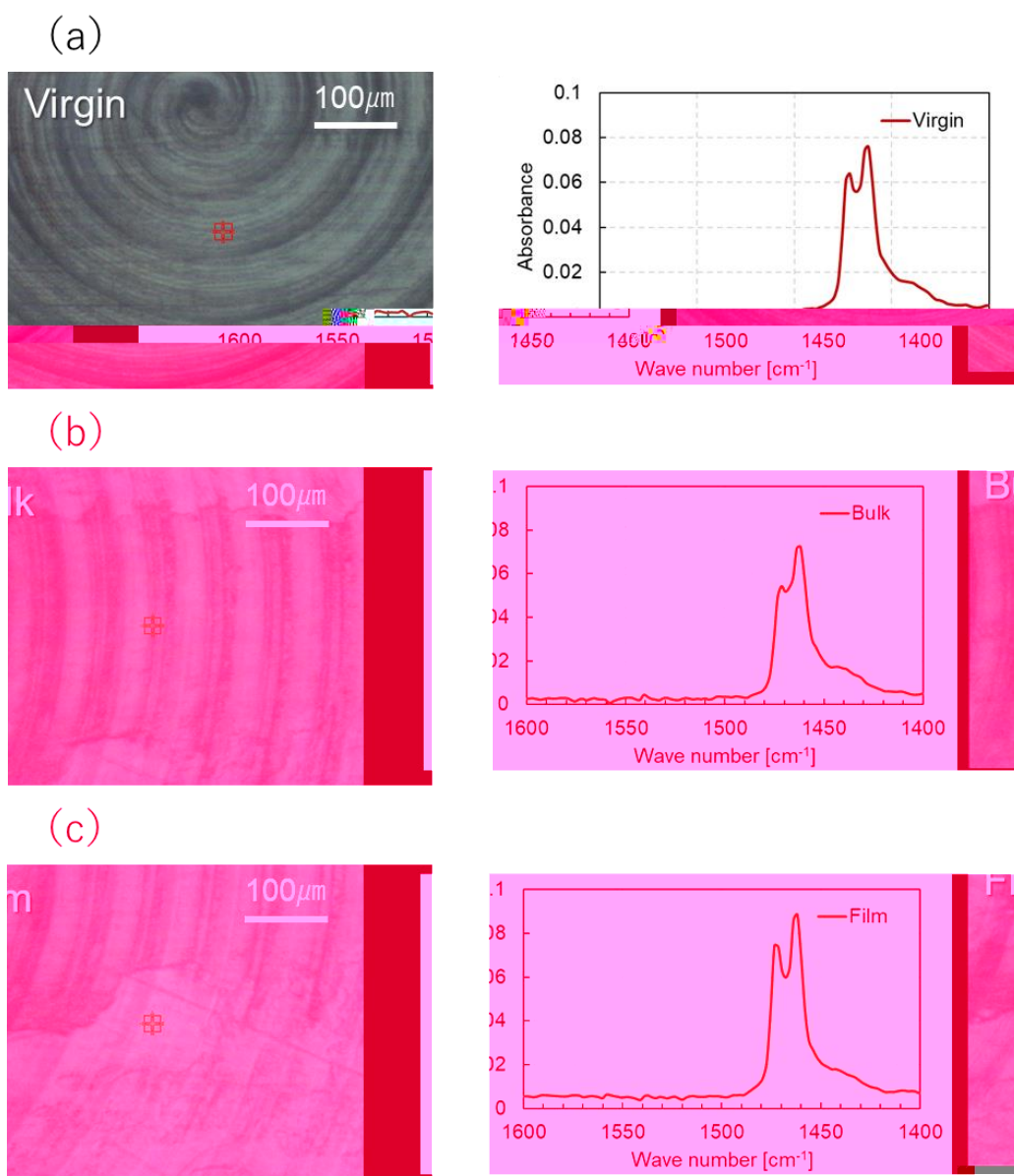


Fig. 3-14 Results of IR spectra

Fig. 3-14 より， 1460 cm^{-1} 付近で(a)，(c)は2つのピークであることに對し，(b)はなだらかなピークが觀察された。

3-4. 考察

本研究では、人工関節材料である UHMWPE と CoCrMo 合金間の摩耗に対し、タンパク質を中心とする生体高分子と接触圧力の影響を調査した。

まず、PBS 中での摩耗量が 0.02 ~ 0.06 mg であることに対し、タンパク質溶液中では 1 桁ほど大きい摩耗量 0.16 ~ 0.32 mg であった。すなわち、タンパク質を添加することにより、急激な摩耗の増加が引き起こされたと言える。Wang らは、タンパク質を含む潤滑液中での UHMWPE の摩耗特性を評価し、摩耗が増加する傾向を示している[7,8]。同様の傾向は、Saikko らや Necas らも示している[9,10]。Saikko らは圧力と摩耗量の関係性を評価しており、平均接触圧力 2 MPa 付近で比摩耗量のピークが確認されている[11]。本研究では平均接触圧力 3 MPa が高い摩耗量を示した。また Shinmori らは UHMWPE と CoCrMo 合金間の摩擦試験を行い、タンパク質の変性・凝着による摩耗形態の変化を報告している[12]。本研究でも、Fig. 3-13 に示す通り、Protein で試験後の UHMWPE の表面からタンパク質に由来するピークが検出されている。そのため、タンパク質の凝着・変性の有無が摩耗量の増減に大きく寄与しており、タンパク質中で摩耗が増加したと考えられる。さらに、IR ピークからも、平均接触圧力 3 MPa で試験した UHMWPE 表面で相対的に高いピークが検出されたことから、Saikko らが報告したように、圧力依存性が考えられる[11]。

次に複数成分の影響を考える。まず、タンパク質溶液に HA を添加することにより、平均接触圧力 1 MPa では摩耗の増加が確認された。平均接触圧力 3 MPa では逆に摩耗の低下が、平均接触圧力 5 MPa では添加前との差が確認されなかった。ヒアルロン酸には、粘度増加の効果を有することが複数の研究で報告されている[12-14]。Fig. 3-9 (a)より、HA の添加によって、平均接触圧力に依らず、ほぼ一定の摩耗量が確認された。このことから、HA 添加によって、接触面内に一定量のタンパク質の流入が維持されることによって、接触圧力に依らない摩耗が生じたと考えられる。

さらに DPPC を添加した場合、平均接触圧力 1 MPa および 5 MPa では摩耗量の増加が確認された。Sawae らは、同じ実験系でタンパク質とリン脂質を混合した場合、タンパク質濃度が生理的範囲にあると摩耗量が増加したと報告している[4]。本研究も生理的範囲で成分量は設定しているため、タンパク質とリン脂質の協調作用により、タンパク質の凝着摩耗作用が促進された結果、摩耗が増大したと考えられる。

しかしながら、平均接触圧力 3 MPa におけるタンパク質・ヒアルロン酸・リン脂質混合溶液中では、むしろ急激な摩耗の低下が確認された。試験後の表面を観察した結果、PBS と近しい加工痕が観察された。詳細に観察すると、一部でフィルムが剥離した様相も確認され、初期の加工痕ではなくフィルムにより被覆された形状であることが分かった。Fig.3-13 より、フィルム・剥離部および試験をしていない UHMWPE の $140 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ を比較すると、ピーク強度の差が観察された。 1463 cm^{-1} は CH_2 の結晶と非晶質両方由来であることに對し、 1473 cm^{-1} は CH_2 の結晶に由来する[15]。すなわち、これらの比は局所的な UHMWPE の結晶化度と捉える事が出来る。

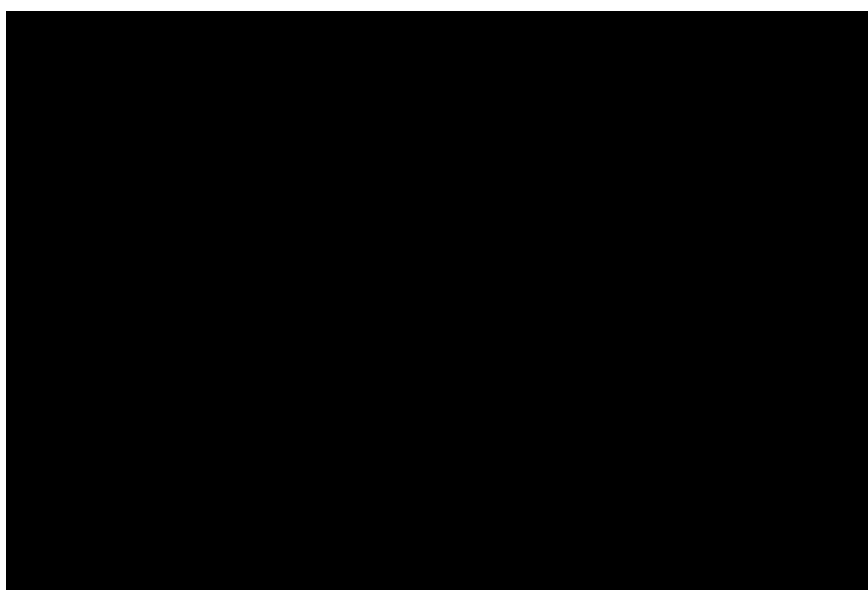


Fig. 3-15 The comparison on the ratio of IR peak intensity at $1473 \text{ cm}^{-1}/1463 \text{ cm}^{-1}$.
These data corresponded Fig. 3-14.

1473 cm^{-1} および 1463 cm^{-1} でのピーク強度の比を Fig. 3-15 に示す。Fig. 3-15 より、形成されたトライボフィルムは、より結晶化したポリエチレンであると言える。

続いて、低摩耗を示したメカニズムについて考える。まず、主な荷重支持・潤滑性能はヒアルロン酸による流体潤滑膜形成と DPPC による境界潤滑膜だと考えられる。ヒアルロン酸添加による粘度増加と摩擦・摩耗低減は前章の結果からも明らかである[12,16]。加えて、先行研究にて DPPC による境界潤滑膜の形成および摩耗の低減が報告されている[17,18]。さらに、ヒアルロン酸と DPPC の協調作用により、摩擦が低減することも示唆されている[19,20]。そして、タンパク質により初期に摩耗が進行した結果、トライボフィルム形成の際に発揮されてい

ると考えられる。前述の通り、表面で観察された特異なフィルムは、バルクである UHMWPE が材料である。フィルム形状を形成するためには、一度バルクから脱離する必要がある。そのため、摺動初期にタンパク質によって摩耗・分離した UHMWPE の摩耗粉が、旋回運動中に再び UHMWPE 表面に吸着し、フィルムを形成したと考えられる。フィルムが形成されたことにより、試験前よりも表面粗さが低下しているため、ヒアルロン酸・DPPC による潤滑膜もより容易に形成できる。このことから、ヒアルロン酸・DPPC による潤滑効果が機能することで摩耗が低減し、良好な潤滑が維持された結果としてトライボフィルムが維持されたと考えられる。

同じ潤滑液成分中でも、平均接触圧力 1 MPa、および 5 MPa ではフィルムの形成および摩耗の低下が見られなかった。平均接触圧力 1 MPa では、潤滑状態が他の圧力条件よりも良好であると考えられる。これにより、タンパク質の凝着により発生した摩耗粉が接触域から排出されると想定される。結果として、フィルム形成に必要な摩耗粉が接触面内に保持されず、摩耗のみが進行したと考えられる。一方で、Fig.3-12 より平均接触圧力 5 MPa では一部フィルムが観察された。しかしながら、平均接触圧力 3 MPa と異なり、部分的に存在している。したがって、摺動により摩耗粉由来のフィルムは形成されたものの、接触圧力が高いためにフィルムが剥離したと考えられる。

3-5. 結言

本章では、ピン-オン-ディスク型多方向すべり摩耗試験機を用いて、関節液成分が UHMWPE と CoCrMo 合金間の摩耗へ及ぼす影響を調査した。得られた知見を以下に記す；

- ✓ PBS にタンパク質を添加することによって、接触圧力に依らず、UHMWPE の摩耗の増大が確認された。これはタンパク質が UHMWPE 表面に凝着・変性することにより、摩耗形態が変化したためだ。
- ✓ ヒアルロン酸はタンパク質と共存する場合、接触圧力に応じてタンパク質の影響の補助や逆に増粘効果による摩耗の低減など、さまざまな影響を及ぼした。
- ✓ DPPC は、ヒアルロン酸と同様に基本はタンパク質の効果を補助する傾向が確認された。
- ✓ 平均接触圧力 3 MP において、タンパク質、ヒアルロン酸、DPPC が共存する場合、PBS と同程度の低い摩耗および特異なフィルムの形成が確認された。これは、各成分と力学条件の適切にかみ合ったことにより、良好な潤滑状態が保たれ、表面形状が維持された結果だと考えられる。
- ✓ タンパク質が摩耗に支配的であるが、力学条件を制御することで、ヒアルロン酸や DPPC も十分な潤滑効果を発現することが示唆される。

参考文献

1. F04 Committee. Test method for wear testing of polymeric materials used in total joint prostheses. West Conshohocken, PA: ASTM International; 2017. doi:10.1520/f0732-17
2. 澤野貴紀, 村上輝夫, 澤江義則, 門田孝洋. 多方向滑りピン・オン・プレート試験機を用いた人工関節材料の摩耗評価 (機械要素, 潤滑, 工作, 生産管理など). 日本機械学会論文集 C 編. 2003;69: 1892–1899.
3. Saikko V, Ahlroos T. Wear simulation of UHMWPE for total hip replacement with a multidirectional motion pin-on-disk device: effects of counterface material, contact area, and lubricant. *J Biomed Mater Res*. 2000;49: 147–154.
4. Sawae Y, Yamamoto A, Murakami T. Influence of protein and lipid concentration of the test lubricant on the wear of ultra high molecular weight polyethylene. *Tribol Int*. 2008;41: 648–656.
5. Saikko V, Calonijs O. Slide track analysis of the relative motion between femoral head and acetabular cup in walking and in hip simulators. *J Biomech*. 2002;35: 455–464.
6. Johnston RC, Smidt GL. Measurement of hip-joint motion during walking. Evaluation of an electrogoniometric method. *J Bone Joint Surg Am*. 1969;51: 1082–1094.
7. Wang A, Essner A, Polineni VK, Stark C, Dumbleton JH. Lubrication and wear of ultra-high molecular weight polyethylene in total joint replacements. *Tribol Int*. 1998;31: 17–33.
8. Wang A, Essner A, Schmidig G. The effects of lubricant composition on in vitro wear testing of polymeric acetabular components. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2004;68: 45–52.
9. Nečas D, Sawae Y, Fujisawa T, Nakashima K, Morita T, Yamaguchi T, et al. The Influence of Proteins and Speed on Friction and Adsorption of Metal/UHMWPE Contact Pair. *Biotribology*. 2017;11: 51–59.
10. Saikko V. Effect of Lubricant Protein Concentration on the Wear of Ultra-High Molecular Weight Polyethylene Sliding Against a CoCr Counterface. *J Tribol*. 2003;125: 638–642.
11. Saikko V. Effect of contact pressure on wear and friction of ultra-high molecular weight polyethylene in multidirectional sliding. *Proc Inst Mech Eng H*. 2006;220: 723–731.

12. Shinmori H, Kubota M, Morita T, Yamaguchi T, Sawae Y. Effects of Synovial Fluid Constituents on Friction between UHMWPE and CoCrMo. *Tribology Online*. 2020;15: 283–292.
13. Nečas D, Yarimitsu S, Rebenda D, Shinmori H, Vrbka M, Sawae Y, et al. On the replacement of articular cartilage: The friction of PVA hydrogel layer in hip simulator test. *Tribol Int*. 2023;178: 108100.
14. Bortel EL, Charbonnier B, Heuberger R. Development of a Synthetic Synovial Fluid for Tribological Testing. *Lubricants*. 2015;3: 664–686.
15. Noda I, Dowrey AE, Haynes JL, Marcott C. Group Frequency Assignments for Major Infrared Bands Observed in Common Synthetic Polymers. In: Mark JE, editor. *Physical Properties of Polymers Handbook*. New York, NY: Springer New York; 2007. pp. 395–406.
16. Sawae Y, Murakami T, Chen J. Effect of synovia constituents on friction and wear of ultra-high molecular weight polyethylene sliding against prosthetic joint materials. *Wear*. 1998;216: 213–219.
17. Saikko V, Ahlroos T. Phospholipids as boundary lubricants in wear tests of prosthetic joint materials. *Wear*. 1997;207: 86–91.
18. Bell J, Tipper JL, Ingham E, Stone MH, Fisher J. The influence of phospholipid concentration in protein-containing lubricants on the wear of ultra-high molecular weight polyethylene in artificial hip joints. *Proc Inst Mech Eng H*. 2001;215: 259–263.
19. Murakami T, Higaki H, Sawae Y, Ohtsuki N, Moriyama S, Nakanishi Y. Adaptive multimode lubrication in natural synovial joints and artificial joints. *Proc Inst Mech Eng H*. 1998;212: 23–35.
20. Jahn S, Seror J, Klein J. Lubrication of Articular Cartilage. *Annu Rev Biomed Eng*. 2016;18: 235–258.

第4章 樹脂材料ベースの新しい人工関節候補材料

目次

4-1. 緒言	79
4-2. UHMWPE 複合材.....	79
4-2-1. 実験方法・材料.....	79
4-2-2. 実験結果	82
4-2-3. 考察	84
4-2-4. 小結言	85
4-3. 関節液成分を添加した SU-8 複合材.....	86
4-3-1. 実験方法・材料.....	86
4-3-2. 実験結果	89
4-3-3. 考察	104
4-3-4. 小結言	106
4-4. 結言	107
参考文献	108

4-1. 緒言

前節までで、人工関節材料である UHMWPE の摩耗特性と関節液成分の関係性についての知見が得られた。タンパク質は UHMWPE 表面に凝着・変性することで摩擦・摩耗特性を損なう傾向や HA の増粘作用による潤滑効果、DPPC による局所的な可塑化などの各種関節液成分による影響に加え、成分同士を混合することにより、それぞれの影響が重ね合わせとして確認された。これらの知見を踏まえた人工関節材料の設計が、機能向上のためには重要である。

本章では、これまで得られた知見の重要性の確認と性能向上を目的とした UHMWPE に代わる新たな材料の評価を行った。UHMWPE 自体の摩耗特性を向上させるための手法として、充てん材を用いた複合化が挙げられる。特に、炭素系ナノ材料はその種類と各種特性から、強化材や潤滑材としての機能を追加で付与可能である。そこで、炭素系ナノ材料を充てんした UHMWPE 複合材について、精製水中とウシ血清中での摩耗特性の変化を評価した。関節液成分を含む潤滑液と比較することで、生体内で充てん材が適切に機能するための条件を調査した。また、抜本的に人工関節カップの強度を向上させるという観点から、エポキシ系の高分子材料である SU-8 に着目し、生体内の関節液中で増粘効果を担っているヒアルロン酸 (Hyaluronic acid: HA) を SU-8/UHMWPE 複合材に充てんし、その摩耗低減効果を検討した。

4-2. UHMWPE 複合材

4-2-1. 実験方法・材料

4-2-1-1. 摩耗試験

UHMWPE 複合材の摩耗特性を評価するために、ピン-オン-ディスク型多方向摩耗試験機を用いて評価を行った。試験機の詳細は第 3 章に記す。

試験条件として、平均接触圧力を 2 MPa (32 N)、すべり速度を 50 mm/s、総滑り距離を 10 km とした。潤滑液には、ウシ胎児血清 (Fetal Bovine Serum, biowest) を 30 vol% 希釈ものと比較として精製水の 2 つを用いた[1]。これにより、充てん材の効果と生体高分子の関係性を重ね合わせて確認することができる。第 3 章と同様に、途中 5 km で試験を止め、洗浄および重量計測を行ったのち、再度 5 km 滑らせた。洗浄の手順も第 3 章と同様に、界面活性剤、精製水、エタノールそれぞれで超音波洗浄後、真空乾燥機にて乾燥させた。

4-2-1-2. ナノ炭素系材料充てん UHMWPE 複合材

本研究では、UHMWPE に炭素系ナノ材料を充てんすることによる複合化技術を応用することで、人工関節材料の摩耗特性の向上を目指した。充てん材として、カーボンナノチューブ (Carbon nanotube, CNT), 酸化グラフェン (Graphene oxide, GO), ナノダイヤモンド (Nano diamond, ND) の三種を用いた。母材および各充てん材の特性は以下の通りである。なお、本材料は Lurea 工科大のメンバーにより作成された[2-4]。Fig. 4-1 に作成プロセスの概略を示す。

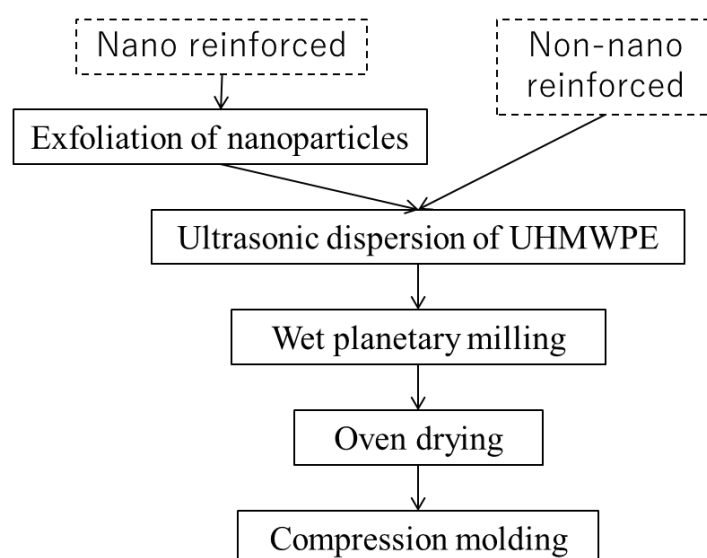


Fig. 4-1 Manufacturing flow chart

ベースレジジン：UHMWPE

ナノ炭素材料を充てんする母材に UHMWPE を使用した。本実験では、医療用グレードの GUR1020 (Ticoma, Germany) を使用した。

多層カーボンナノチューブ (Multi wall carbon nanotube, MWCNT) [5]

単層カーボンナノチューブは、炭素の同素体であり、 sp^2 炭素の六員環ネットワークからなるグラフェンシートを円筒状に丸めた構造をとる。そして MWCNT は、単層カーボンナノチューブが同軸管状に入れ子になったものである。MWCNT は超軽量かつ優れた引張強度、化学的および熱安定性、電気伝導性を有するといった特徴を持つ。これらの優れた特徴から、ポリマー材料の強化材としての利用から燃料電池の電極、宇宙エレベータのケーブルなど様々な分野への応用が考えられている[6]。本研究では以後 CNT と表記する[2]。

ナノダイヤモンド (ND) [7]

ND はダイヤモンド構造を有する球状粒子であり、優れたヤング率、硬度、熱伝導性、電気抵抗率、低摩擦係数、化学的安定性を示すといった特徴を持つ。その形状から大きな比表面積を有し、バルク内で ND 粒子とポリマーマトリックス間の相互作用を最大化することが期待される[8]。また油や水を含む様々な溶媒への分散が可能であり、樹脂材料への充てん材に加え、潤滑油やメッキ、液状研磨剤への添加材としても利用される。ND の直径は 5nm 以下から数十 nm のものが存在するが、本実験では平均サイズが約 30nm のものを使用した[2]。

酸化グラフェン (GO) [9,10]

GO は六員環のシート構造であるグラフェンの端部に、エポキシ基、カルボキシル基、水酸基などの様々な酸素含有官能基が結合した構造を持つ。官能基の影響で親水性を有することから多くの溶媒、特に水中でよく分散し、GO 分散潤滑液は金属間の摩擦に低い摩擦係数を与えることが報告されている[11]。また、グラフェン自体が高移動度、高ヤング率、優れた熱伝導率、大きな比表面積といった特徴を有し、GO 由来の充てん材を有するポリマー複合材は弾性率、引張強度、熱安定性といった特性の大幅な改善を示す[12]。

本研究で用いた各炭素系ナノ材料の含有量を Table.4-1 に示す。

Table. 4-1 Composition of carbo fillers

CNT	ND	GO
1 wt%	0.7 wt%	0.5 wt%

4-2-2. 実験結果

摩耗試験の結果を Fig. 4-2,3 に示す.

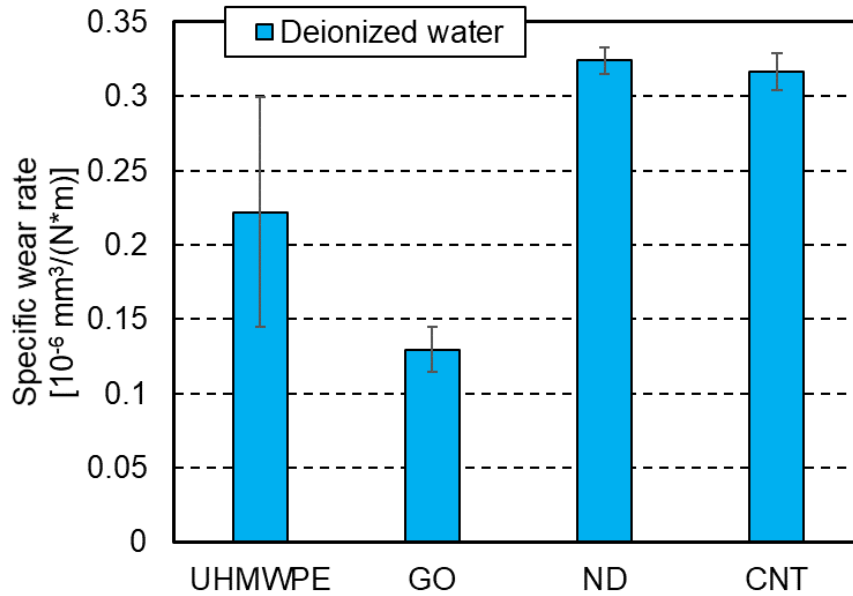


Fig. 4-2 The comparison of specific wear rate of UHMWPE and composites in deionized water. Error bar means standard deviation of 4 samples.

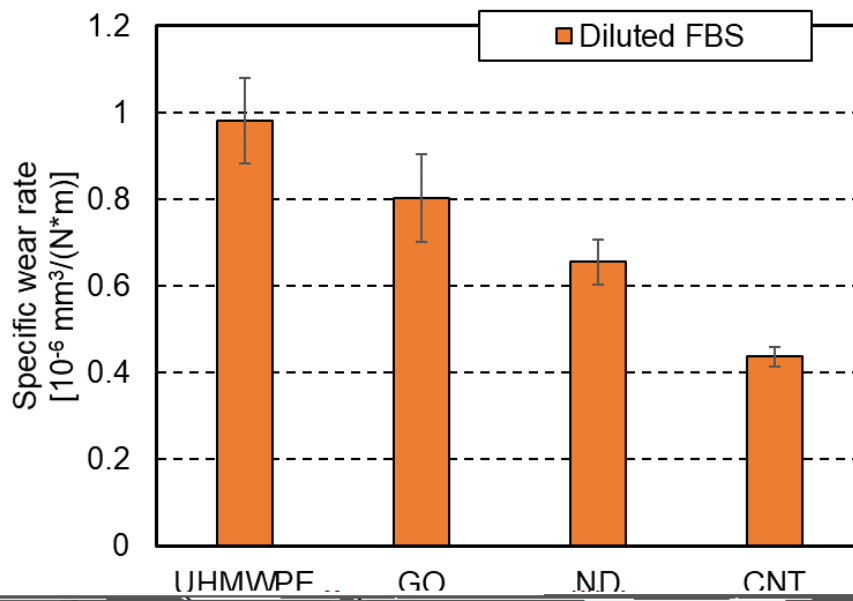


Fig. 4-3 The comparison of specific wear rate of UHMWPE and composites in diluted FBS. Error bar means standard deviation of 3 samples.

Fig.4-2 より、精製水中では GO が最も低い比摩耗量を示した。ND, CNT は無充てんの UHMWPE よりも高い比摩耗量を示した。一方で、希釈ウシ血清中では、比摩耗量の傾向が逆転した。無充てんの UHMWPE が最も高い比摩耗量を示し、

4-2-3. 考察

炭素系ナノ材料を充てんした UHMWPE 複合材の摺動特性を調査するために、ピン-オン-ディスク型多方向すべり摩耗試験機を用いて評価を行った。充てん材の効果を確認するために、精製水と希釈ウシ血清の2つの潤滑液を用いた。

GO は精製水中で最も低い摩耗となった。試験後の表面を観察すると、フィルム状の構造が確認された。このフィルムは第3章から、バルクの UHMWPE であると考えられる。グラフェンは、層状の構造を有することから固体潤滑剤として用いられている[11]。さらに、酸化グラフェンは分子の端に様々な官能基を有し、反応性に富んでいる[12]。そのため、充てん材が固体潤滑剤として機能したことに加え、発生した UHMWPE 摩耗粉と相互作用を及ぼし、低摩耗およびフィルムを形成したと考えられる。しかしながら、希釈ウシ血清中では無充てんの UHMWPE に次いで高い比摩耗量を示し、粗い摩耗面が観察された。本研究で用いた希釈ウシ血清中の総タンパク質濃度は、およそ 1.1 wt% である。Sawae らはタンパク質濃度と UHMWPE の比摩耗量の関係性を評価し、総タンパク質濃度が 1 wt% を境に摩耗が増大することを報告している[13]。また、タンパク質を含む潤滑液中では、部分的に島状の突起が形成されることも報告されている[14]。さらに、この表面形状の変化は、タンパク質により凝着摩耗へのシフトした際にも観察されている[15]。GO は固体潤滑剤として機能すると考えられるが、タンパク質の凝着・脱離の際に、この潤滑膜も破壊されると推察される。したがって、摩耗形態がアブレシブから凝着へシフトしたことにより、GO の潤滑膜が形成できず、摩耗が進行したと言える。

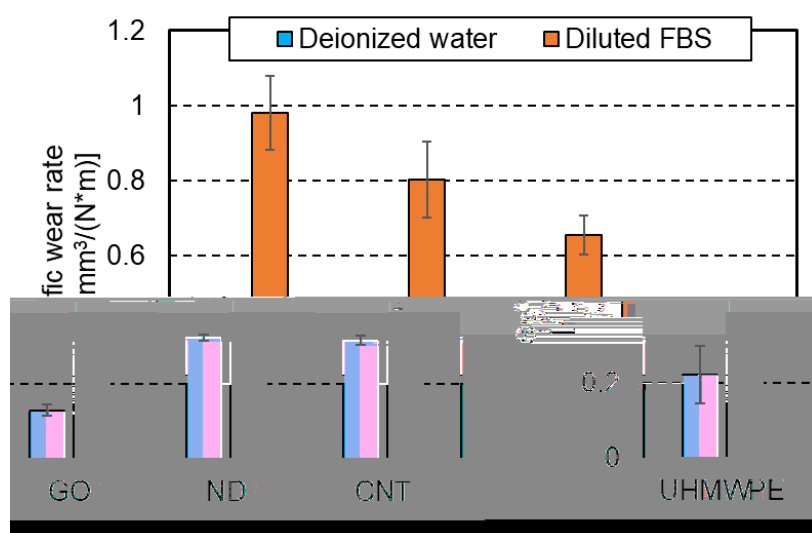


Fig. 4-6 Summary of the wear data from Fig. 4-2 and 3.

CNT は、無充てんの UHMWPE と比べ、精製水中での摩耗の低下は見られなかった。一方で、希釈ウシ血清中では一番低比摩耗量を示した。精製水中での比摩耗量は $3.16 \text{ mm}^3/(\text{N}\cdot\text{m})$ であり、希釈ウシ血清中では $0.436 \text{ mm}^3/(\text{N}\cdot\text{m})$ であった。Fig. 4-6 から明らかなように、CNT は潤滑液による摩耗量の差が最も小さかった。CNT はバルクの強化剤としての機能が期待されており、実際に CNT 添加によって破壊靱性値が上昇することが報告されている [3]。そのため、CNT は凝着摩耗が発生する表面ではなく、バルクの強度を向上させたと考えられる。そして GO のように表面ではなく、バルク内部の機械的特性を向上させるため、潤滑液の違いによる摩耗への影響が小さく、UHMWPE と比べ、比摩耗量が希釈ウシ血清中は低下したと考えられる。

ND については、精製水中では CNT と同程度の摩耗量を、希釈ウシ血清中では GO と CNT の中間程度の摩耗量を示した。ND は接触界面でボールベアリングのように荷重支持・潤滑を行うと考えられる。しかしながら、界面での作用が限定的だったため、摩耗特性には大きく寄与しなかったと考えられる。

4-2-4. 小結言

本研究では、炭素系ナノ材料を充てんした UHMWPE 複合材の摩耗特性を、充てん材の影響・人工関節代替材料 2 つの観点から評価を行った。結果として、各種充てん材の効果は、潤滑液成分などの環境因子の影響を大きく受けることが示された。

4-3. 関節液成分を添加した SU-8 複合材

4-3-1. 実験方法・材料

4-3-1-1. 摩耗試験

ピン・オン・ディスク型の多方向摩耗試験機を用いて評価を行った。試験機は、前節と同じものを用いた。試験温度は室温とし、ピン試験片の平均接触圧力は 2 MPa (56.5N), すべり速度は 50 mm/s とした。この試験では、同じピン試験片を 3 本同時に評価した(以後サンプル A, B, C とする)。さらに面圧 2 MPa を負荷させただけのピン試験片(サンプル D とする)を吸水およびクリープ変形のコントロールとして用意した。潤滑液には生体関節を模擬するために、30%に希釈したウシ血清アルブミン(Bovine Serum, gibco)を用いた[1]。すべり距離が 5km, 10 km, 20km に達した時点で試験を止め、洗浄した後に摩耗量を測定した。なお摩耗量の計測および比摩耗量の算出に関しては、後に記す。

4-3-1-2. SU-8 複合材

ピン試験片

ピン試験片に用いた材料を Table.4-2 に、ピン試験片の寸法を Fig. 4-7 に示す。ディスク試験片には、第 3 章と同様に CoCrMo 合金を用いた。

Table. 4-2 Nomenclature and material composition.

Abbreviation	Materials
UHMWPE	UHMWPE
SU8	SU-8 + 7.5wt.% hardener
UH25	SU8 + 25wt.% UHMWPE powder
UH25HA02	UH25 + 0.2wt.% Hyaluronic acid
UH25HA05	UH25 + 0.5wt.% Hyaluronic acid
UH25HA2	UH25 + 2.0wt.% Hyaluronic acid

Fig. 4-7 Shape and dimensions of Pin specimen (The unite is “mm”)

また、ピン試験片の材料の詳細を下記に記す。

UHMWPE

UHMWPE は $[-CH_2-]_n$ の構造式であらわされる分子量が 200~600 万程度の直鎖状高分子である。本実験では、第 3 章と同じ UHMWPE ピンを一部用いた。また、UH25 には粒子径 40-48 μm の UHMWPE 粉末(Sigma-Aldrich)を使用した。

SU-8

SU-8 (Micro-Chem Inc.) はエポキシ樹脂を基にしたネガ型フォトレジストである。エポキシ樹脂は多機能材料であり、構造接着剤として工業的に用いられるようになり、近年ではその高い電気絶縁性からエレクトロニクス分野においても盛んに使用されている[16]。このエポキシ樹脂の中でも近年研究を進められているのが、分子 1 つにつき 8 個のエポキシ環を持つ SU-8 である[17]。本実験ではグレードが 2025 の SU-8 に硬化剤を添加したものを使用した。試験片の作成手順は以下に示す。まず、SU-8 を 50°C に加熱しながら 7.5wt.%の硬化剤と混合させた。その後、室温で 11 時間放置し、さらに 50°C で 11 時間保持し作成した。SU-8/UHMWPE 複合材は、はじめに SU-8 に UHMWPE 粒子を混合させたのち、上記と同様の手順で作成した。同様に SU-8/UHMWPE 複合材にヒアルロン酸 (HA, Kikko-man) を充てんさせた材料も、SU-8 に UHMWPE 粒子を添加させ

し、吸水された重量を差し引いたうえで、比摩耗量を算出する。しかしながら、SU-8のように吸水特性を示す材料の場合、摩耗による重量損失よりも吸水による重量増加が大きくなり、正確な重量変化が現れず比摩耗量を導出することができない。ピン試験片の重量変化を用いない摩耗量測定方法としては、試験片の先端形状(球状や円錐状)や寸法の変化を測定して算出する方法などがよく用いられている[18]。微小な摩耗量の測定も可能であるが、摩耗粉が付着や形状の変形による接触状態の変化が発生するため、統一した力学条件下での時間変化を追跡することは困難となる。

そこで本実験では、ピン試験片の摺動面に微小円孔スケールを導入し、摩耗試験前後の円孔の深さ変化を測定することにより、比摩耗量を導出することを試みた (Fig. 4-8)。微小円孔スケールによる比摩耗量の導出ために、式(4.1)を用いた。

$$\text{比摩耗量}[mm^3/(N \cdot m)] = \frac{\text{微小円孔深さの減少量}[mm] \times \text{断面積}[mm^2]}{\text{荷重}[N] \times \text{すべり距離}[m]} \quad (4.1)$$

ここで、微小円孔深さの減少量とは、摩耗試験前の微小円孔深さから、摩耗試験後の微小円孔深さおよび荷重負荷に伴うクリープ変形による微小円孔深さの減少量を差し引いたものとする (Fig. 4-8 (b)の d'に相当)。微小円孔スケールは、NC加工機 (MODEL MDX-40, Roland) を用いてピン試験片の摺動面に直径 0.2~0.3 mm となるように導入した。なお、微小円孔スケールは中心および中心から 2 mm の位置に 4 か所、合計 5 か所に導入し、この 5 つの微小円孔スケールの深さの減少量の平均値を比摩耗量の導出に用いた (Fig. 4-8 (a))。NC加工機を用いてピン試験片の摺動面に導入した微小円孔スケールは、共焦点レーザー顕微鏡 (詳細は第 2 章) により測定した。観察におけるピッチサイズは 0.05 μ m であり、微小円孔全体とその周辺の摺動面が観察範囲に収まるように測定した。その後、キーエンス社製マルチファイル解析アプリケーションを用いて、摺動面を基準面に指定し、微小円孔の底面との平均段差を計測した。ここで得られた値を微小円孔の深さとする。

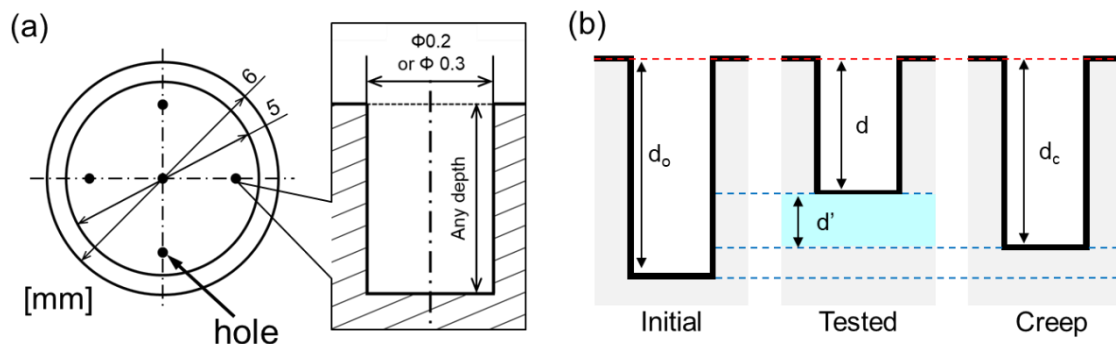


Fig. 4-8 Schematic of fine micro holes on the pin surface (a) and image of depth change by wear (b)

はじめに、この微小円孔スケールを用いた測定方法の精度を確認するために、UHMWPE の比摩耗量を微小円孔スケールと重量変化の二つの方法により測定し、その結果を比較する実験を行った。加えて、微小円孔スケールの導入により比摩耗量の値に影響を及ぼすか否かを調査するために、UHMWPE について、微小円孔スケールは導入せず重量変化のみで比摩耗量を測定する実験も行った。その後、SU-8 複合材についての評価を行った。

4-3-2. 実験結果

4-3-2-1. SU-8/UHMWPE 複合材の重量増加

まず SU-8 の吸水特性を確認するために、UHMWPE と SU8 のピン試験片を 30vol%希釈ウシ血清アルブミンに 28 時間浸すことによる、その重量変化を調査した。Fig. 4-9 に各試験片の重量変化を示す。この結果から、SU-8 吸水特性にともなく重量が増加が確認できた。

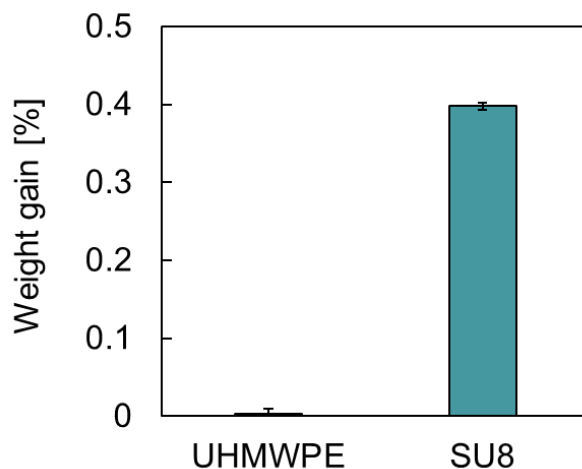


Fig. 4-9 Weight gain of UHMWPE and SU8 pin specimens soaked in lubricant (30% dilution bovine serum) after 28 hours.

4-3-2-2. 微小円孔スケールを用いた測定方法の精度

微小円孔スケールを用いることによる測定精度を確かめるために、吸水特性が低い UHMWPE に対して、同一試験片の円孔深さ変化・重量変化の相関性を評価した。Fig. 4-10 に UHMWPE の摩耗試験のすべり距離に対する重量変化の結果を、Fig. 4-11 にすべり距離に対する微小円孔スケールの深さの減少量の測定結果をそれぞれ示す。また、これらの結果から導出される UHMWPE の比摩耗量を、Fig. 4-12 に示す。サンプル A, C については 2 通りの測定方法においても非常に近い値が導出できた。しかしながら、サンプル B については、Fig. 4-13 に示すように微小円孔スケール内部に摩耗粉が詰まってしまい、摩耗試験後の本来の

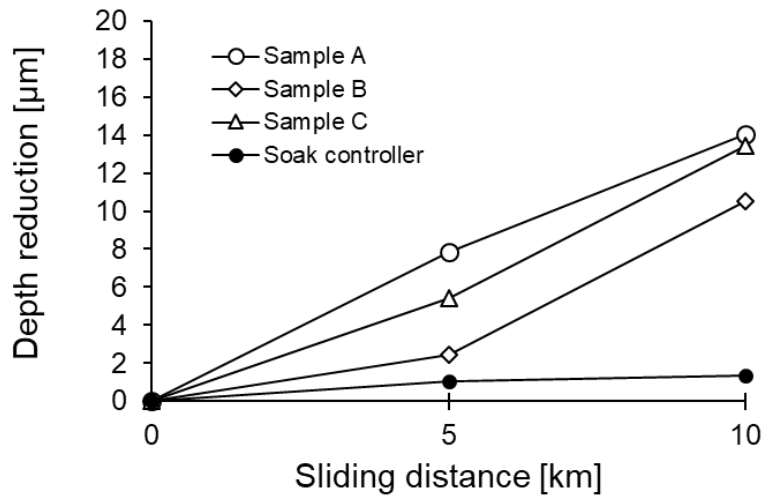


Fig. 4-11 Depth reduction of fine hole scales of four samples (UHMWPE) versus sliding distance.

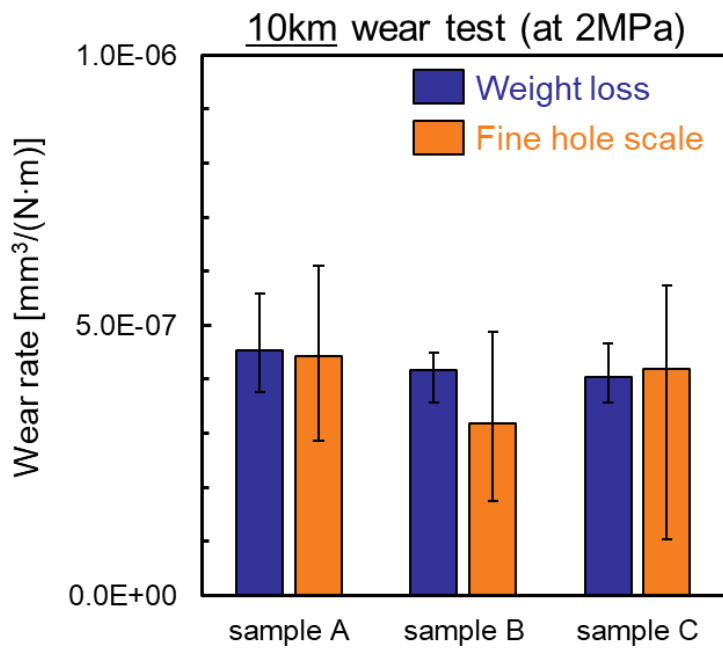


Fig. 4-12 Comparison of wear rate for three samples (UHMWPE) measured by two methods (weight loss and fine hole scales). Error bars indicate maximum and minimum values for 5 measurements.

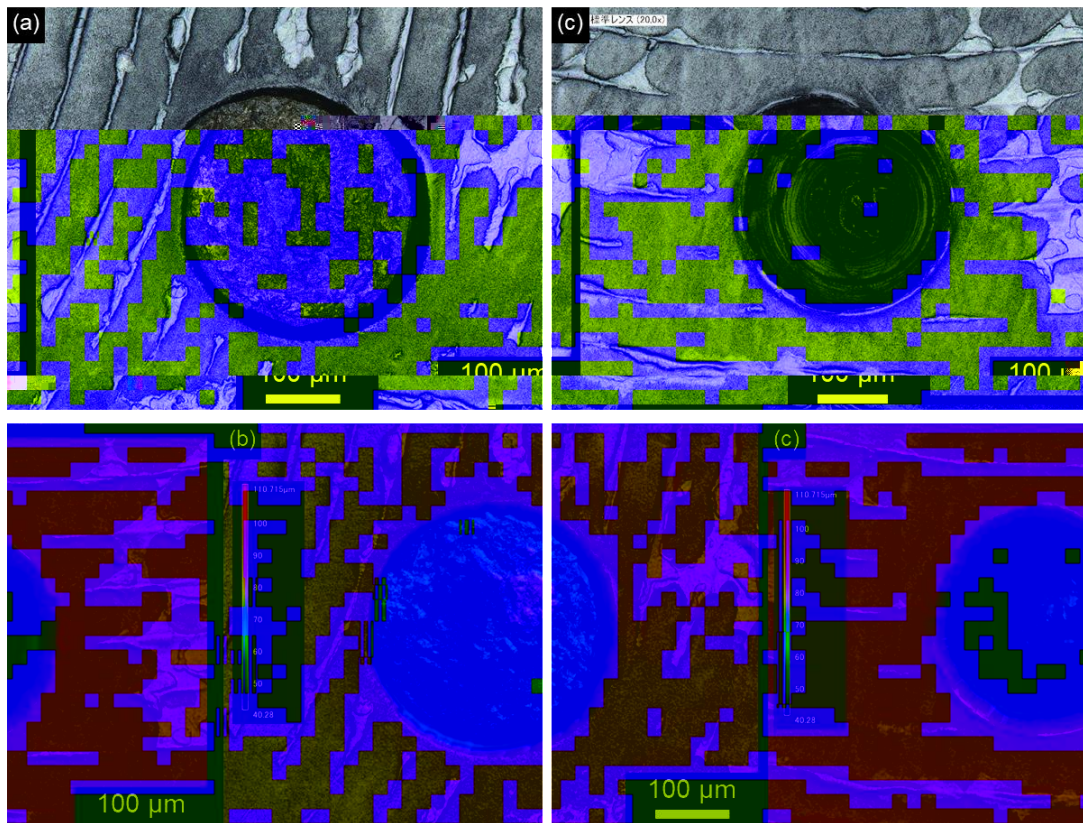


Fig. 4-13 Blockage of fine hole scale by wear particles. (a) is image by optical microscope and (b) is 3D image of (a) by laser microscope. (c) is fine hole with measurable depth. (d) is 3D image of (c).

4-3-2-3. SU-8/UHMWPE 複合材の摩耗特性

Fig. 4-14 に各サンプルのすべり距離毎の比摩耗量の推移を示す。UHMWPE はすべり距離が 10km に達した時点で、摩耗試験を終了した。また SU8 はすべり距離が 5km に達した時点でピン試験片の側面にき裂および破損が確認され、10km 到達時にピン試験片が破断していたため、その時点で摩耗試験を中断した。一方、UH25 のように SU-8 に UHMWPE を充てんした材料ではき裂の発生や破損は生じなかった。

すべり距離 10km 時点での比較を行うと、UH25 は UHMWPE と比べ比摩耗量が 62%低減した。またヒアルロン酸を充てんさせたことによる効果として、UH25 とヒアルロン酸入りの材料を比較すると UH25HA02 では 49%、UH25HA05 では 72%、UH25HA2 では 54%の比摩耗量の低減が確認された。

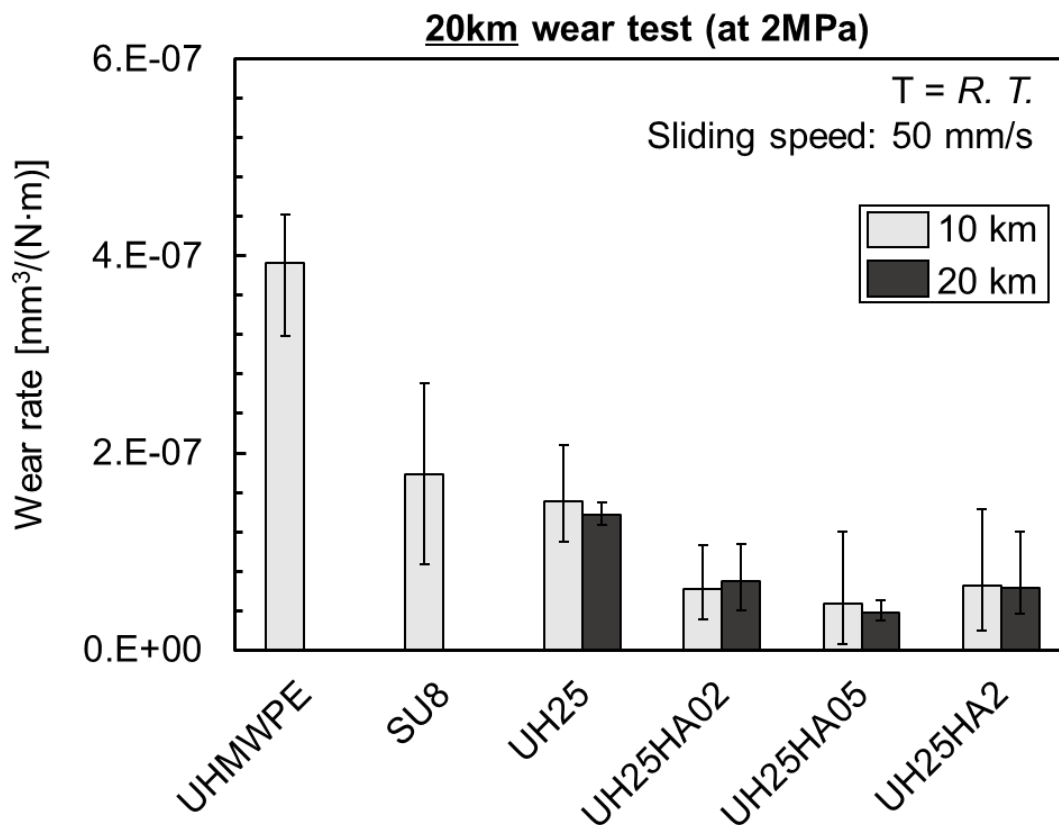


Fig. 4-14 Comparison of wear rate of UHMWPE, SU8, UH25, UH25HA02, UH25HA05 and UH25HA2.

4-3-2-4. ピン試験片の表面観察

Fig. 4-15 ~ 20 に各ピン試験片における微小円孔スケール周辺の観察画像を示す。SU8を除くすべての材料で、微小円孔スケールを起点として発生したき裂は確認されなかった。また、Fig. 4-21 に UH25, UH25HA2 の摺動面の観察画像を示す。摩耗試験後の 2 つの材料で、摺動面形状に大きな差異は確認できなかった。両材料の摺動面の特徴として、Fig. 4-21 (b), (d)中の矢印で示すような UHMWPE 粒子を起点とする微小なき裂が発生が確認された。

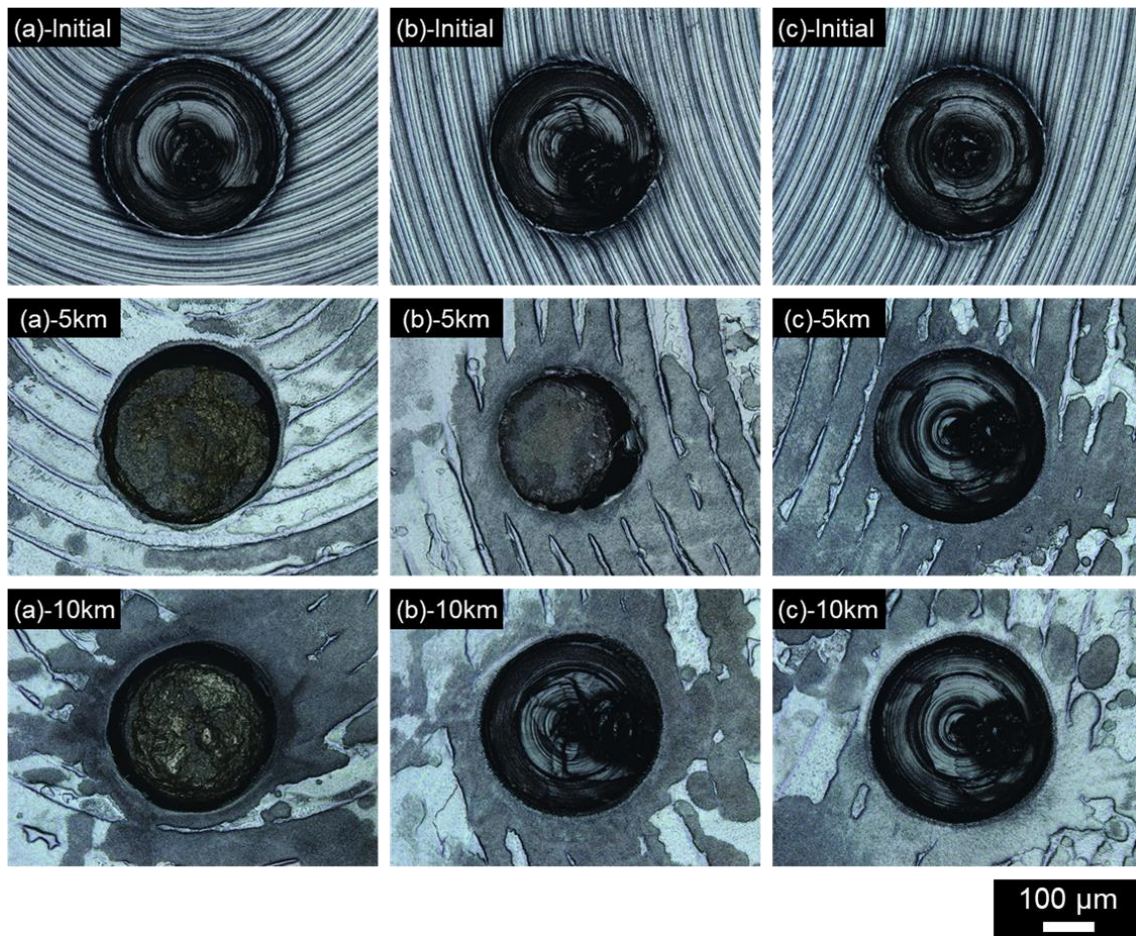


Fig. 4-15 Images for each slip distance around fine hole scale in UHMWPE.
(a), (b) and (c) are all different fine holes.

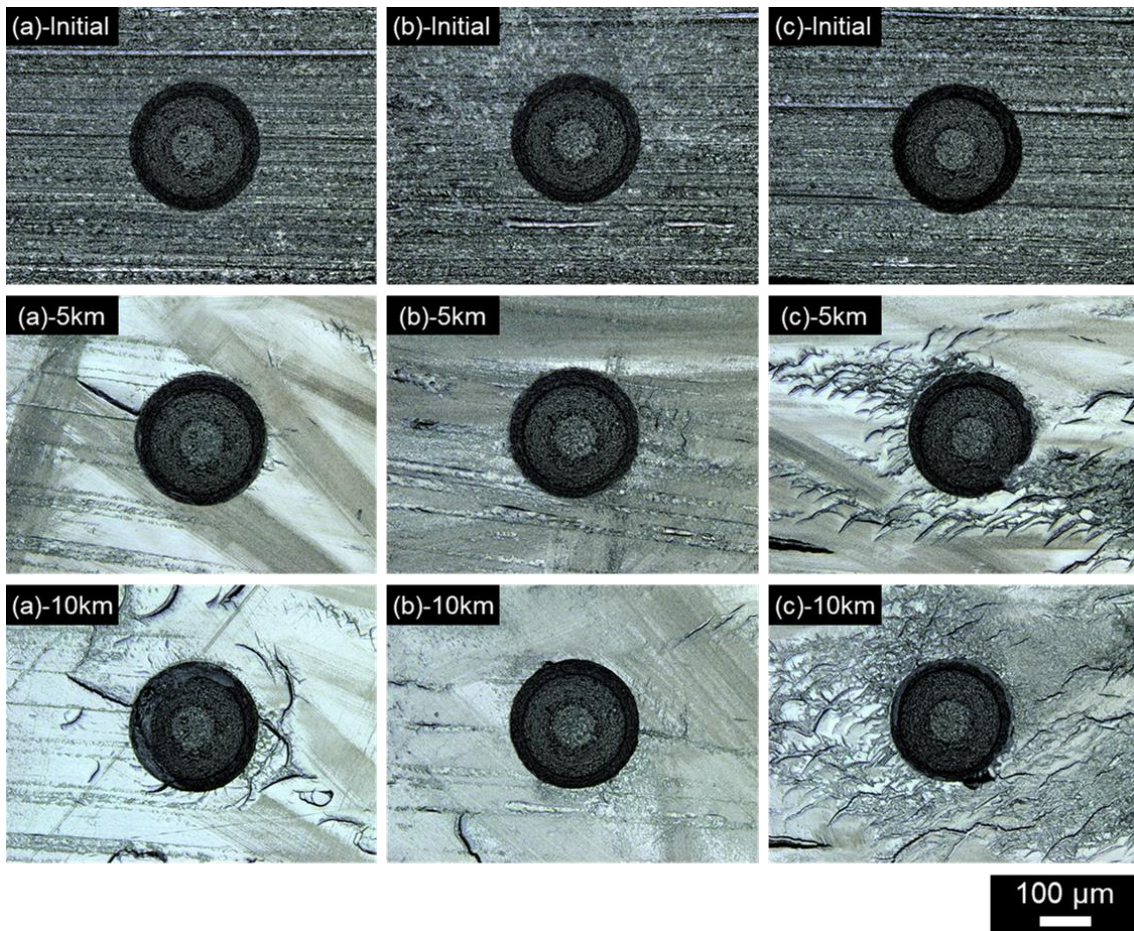


Fig. 4-16 Images for each slip distance around fine hole scale in SU8.
 (a), (b) and (c) are all different fine holes.

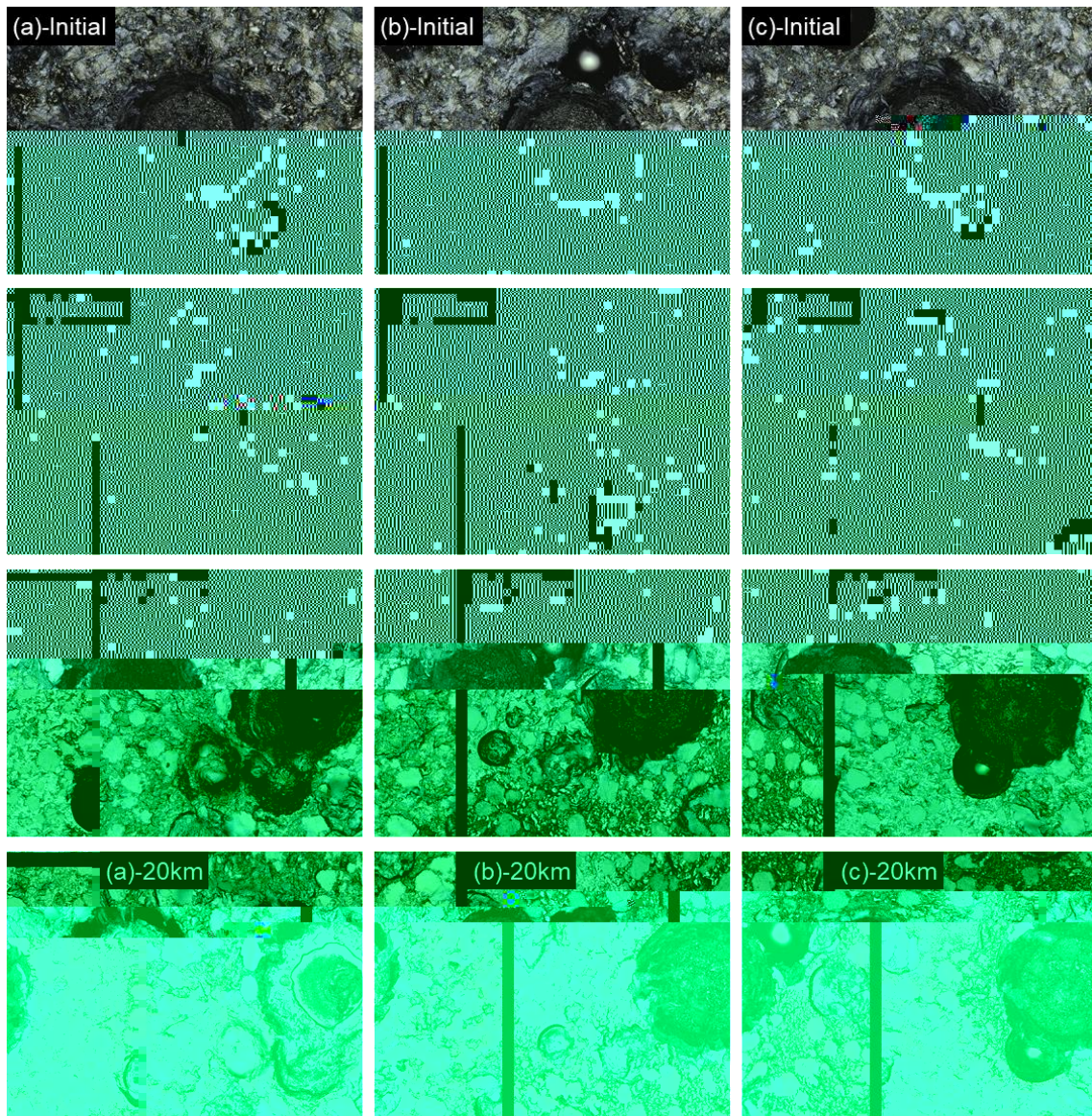


Fig. 4-17 Images for each slip distance around fine hole scale in UH25.
(a), (b) and (c) are all different fine holes.

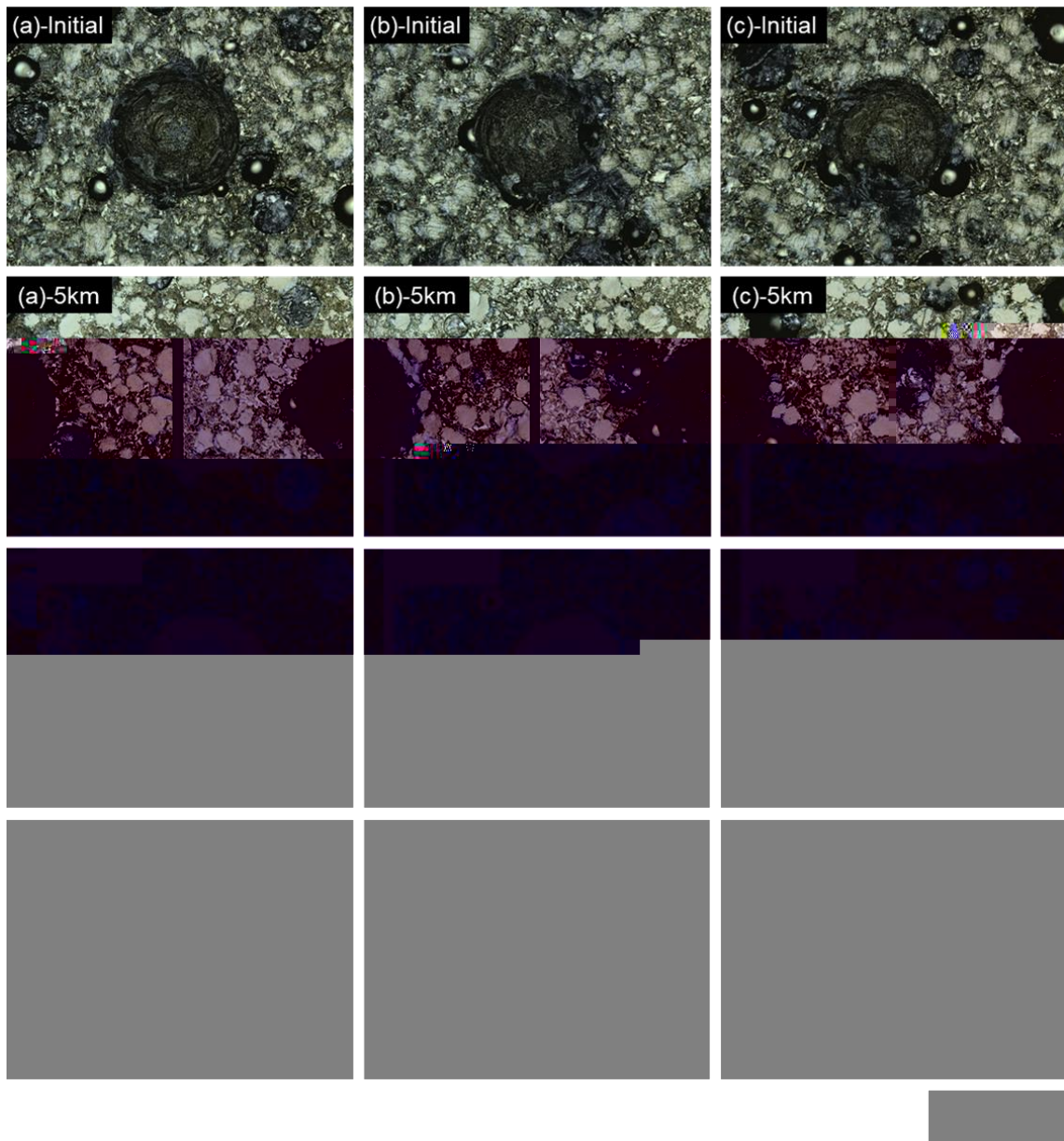


Fig. 4-18 Images for each slip distance around fine hole scale in UH25HA02.
 (a), (b) and (c) are all different fine holes.

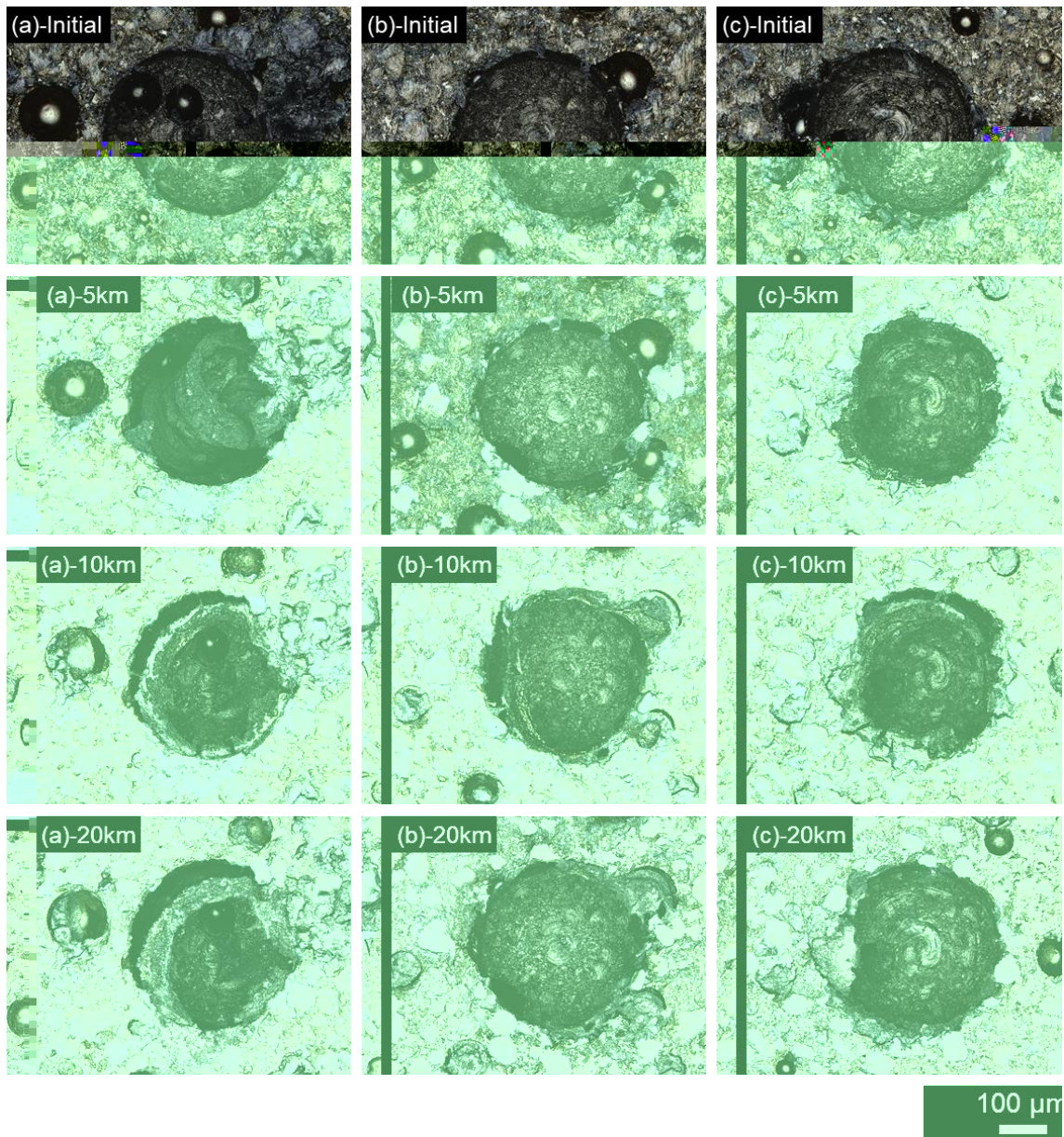


Fig. 4-19 Images for each slip distance around fine hole scale in UH25HA05.
 (a), (b) and (c) are all different fine holes.

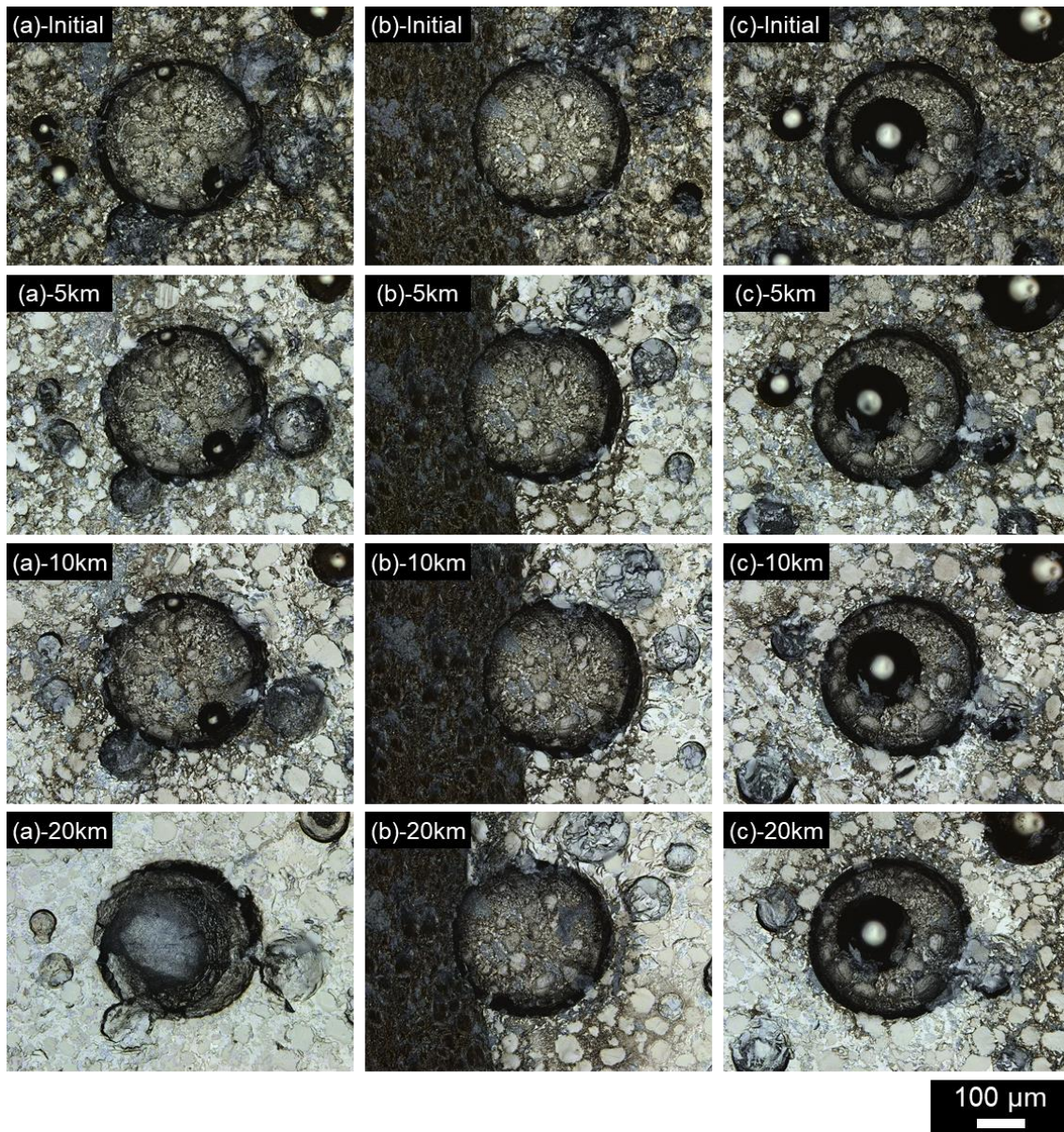


Fig. 4-20 Images for each slip distance around fine hole scale in UH25HA2.
(a), (b) and (c) are all different fine holes.

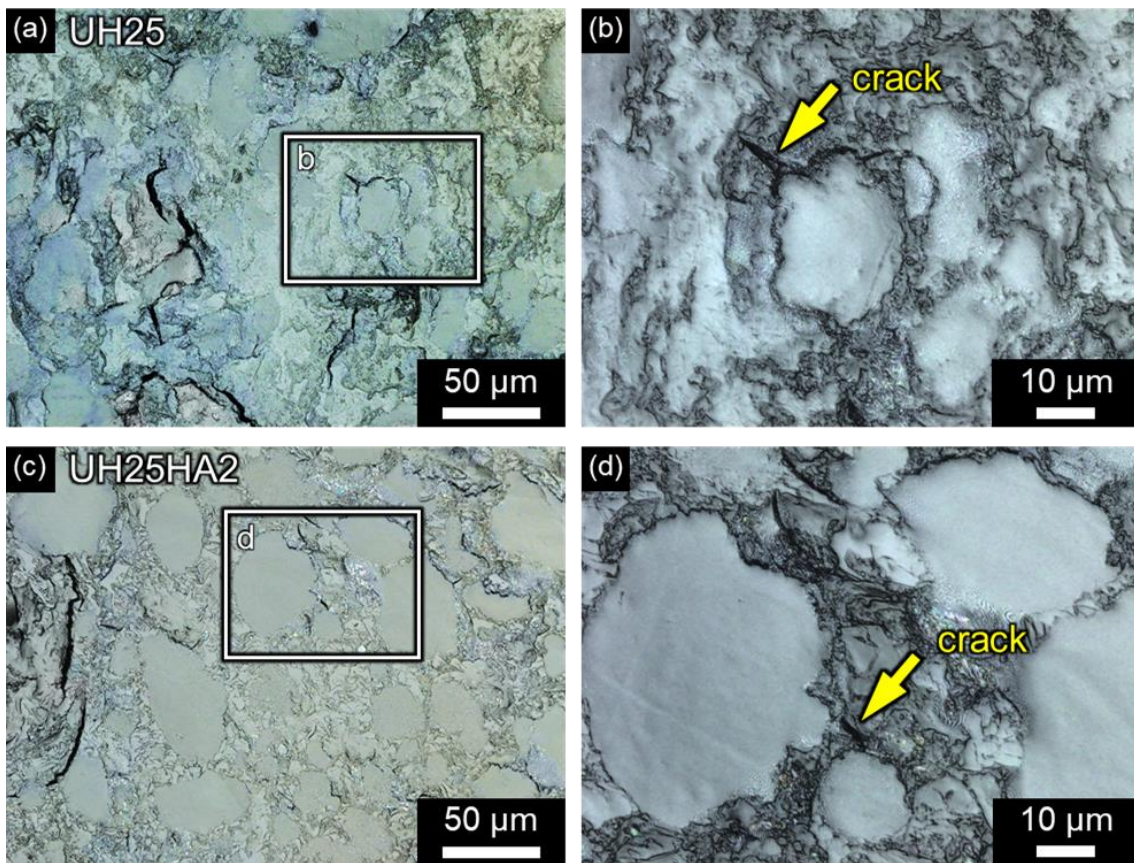


Fig. 4-21 (a) Image for wear surface of UH25. (b) The high magnification of (a).
 (c) Image for wear surface of UH25HA2. (d) The high magnification of (c).
 Yellow arrows indicate micro crack.

4-3-2-5. ピン試験片表面の形状測定

共焦点レーザー顕微鏡を用いて、UHMWPE、UH25、UH25HA02 および UH25HA2 のピン試験片の摩擦面形状を測定した。Fig. 4-22~25 にその観察画像を示す。図(b)に示すのは(a)に示した黄色およびピンク色の直線の断面プロファイルである。UHMWPE に着目すると、中心部が最も高く、外縁部に向かって低くなるという円錐形のような表面形状が観察された。一方で SU-8 複合材では、HA を含まない材料で中心部が外縁部に比べ 5~10 μm ほど高くなっており、緩やかな勾配が確認でき、また HA を含む材料ではテーパ部分近傍を除けば平坦な形状が確認された。

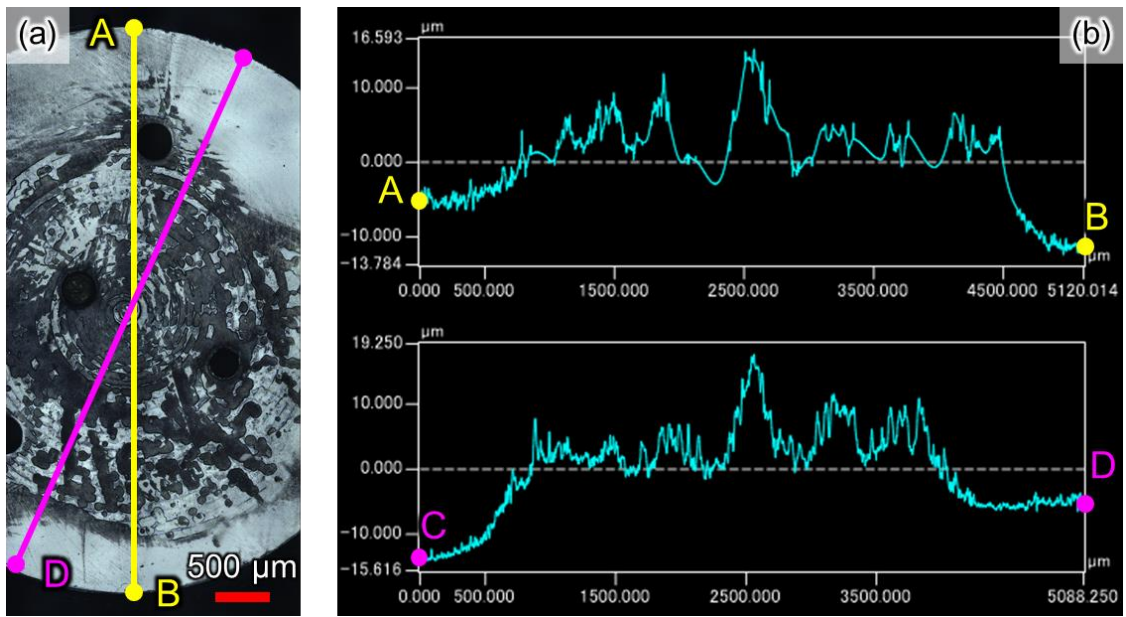


Fig. 4-22 Cross-sectional profile between A and B, C and D on the friction surface of the pin specimen of UHMWPE.

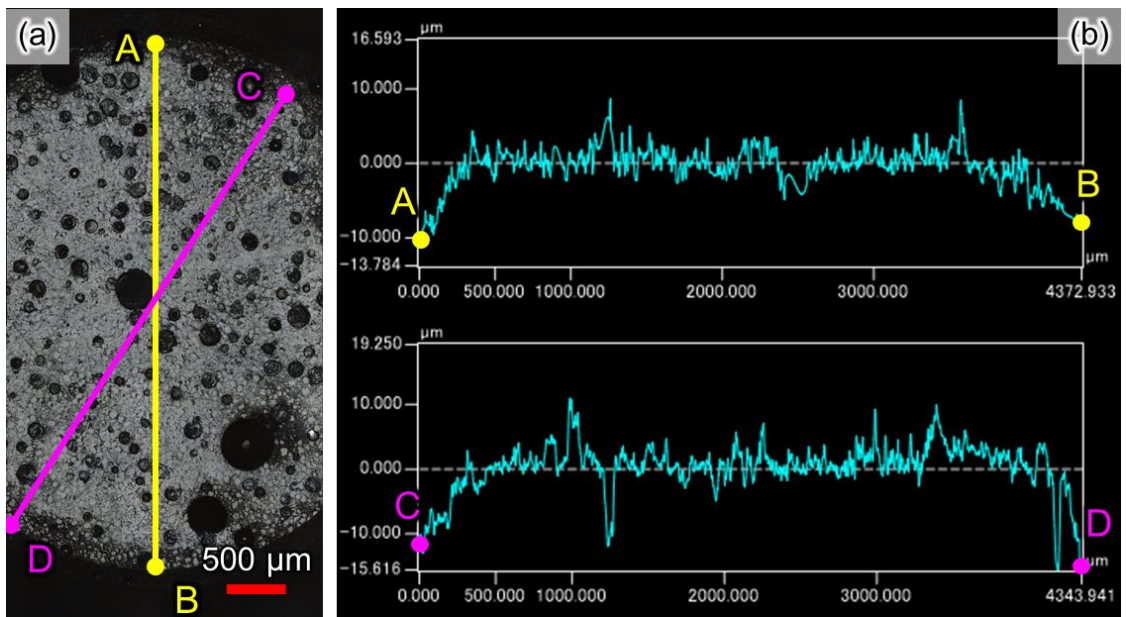


Fig. 4-23 Cross-sectional profile between A and B, C and D on the friction surface of the pin specimen of UH25HA2.

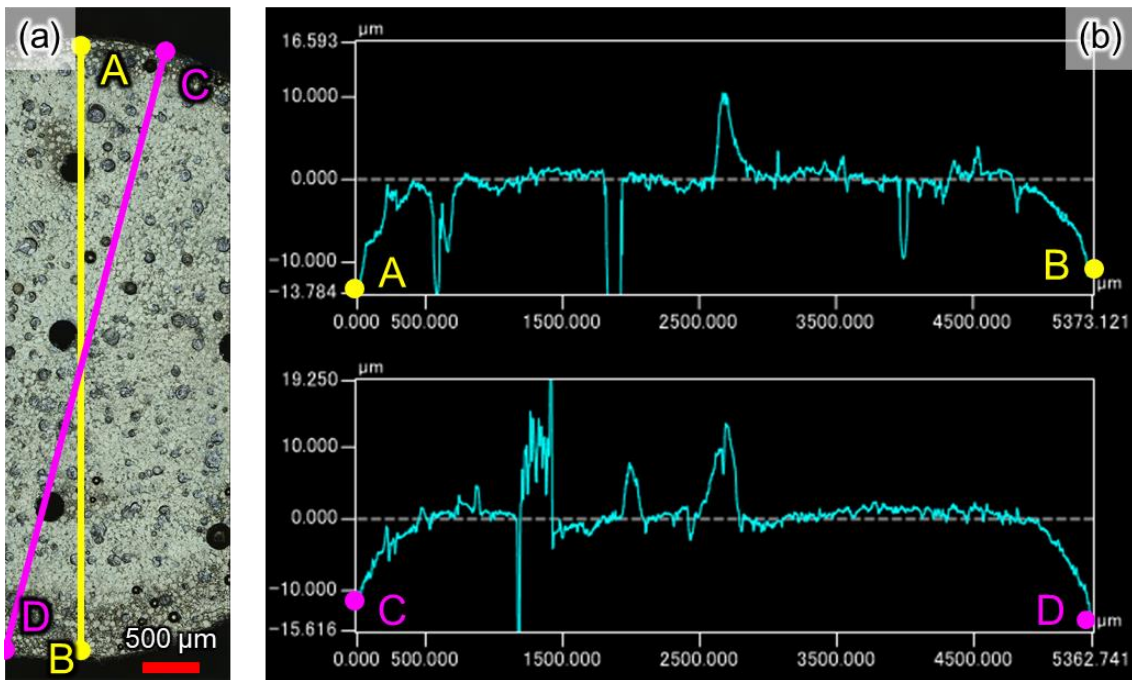


Fig. 4-24 Cross-sectional profile between A and B, C and D on the friction surface of the pin specimen of UH25HA02.

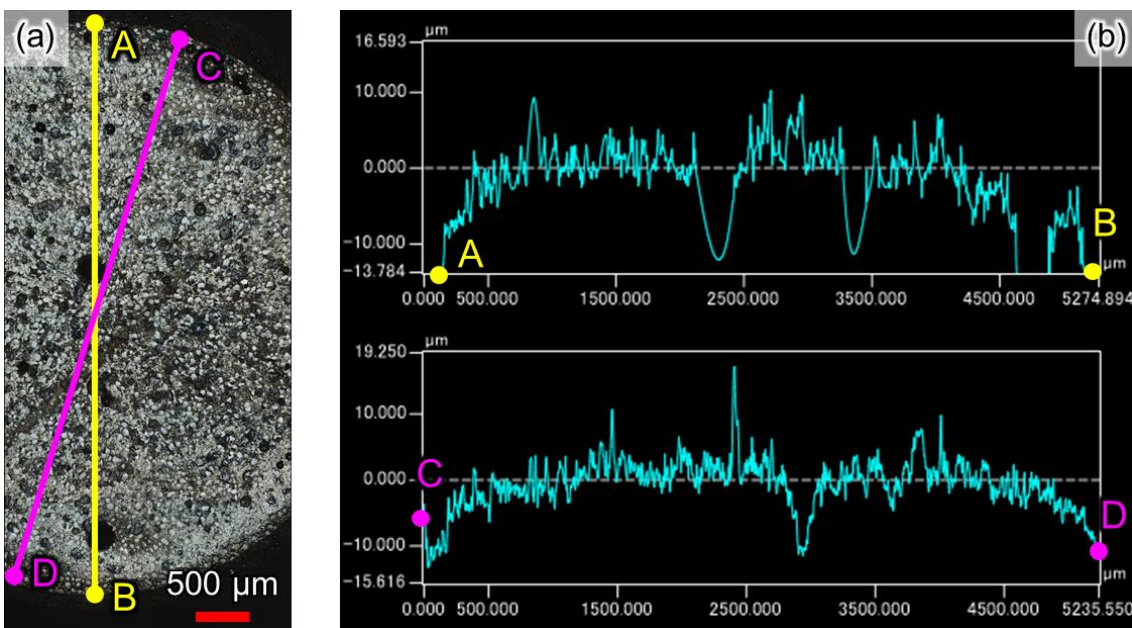


Fig. 4-25 Cross-sectional profile between A and B, C and D on the friction surface of the pin specimen of UH25.

4-3-2-6. ディスク試験片の表面観察

UH25HA02 の摩耗試験後のディスク試験片の摩耗トラック周辺を観察した結

果を Fig. 4-26 に示す. 摩耗トラック上において, 摩耗痕および摩耗粉の癒着等は確認されなかった.

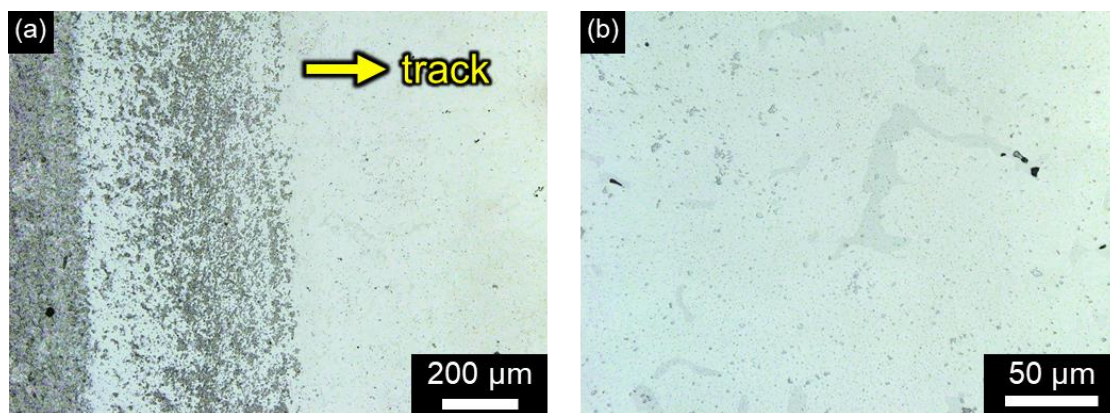


Fig. 4-26 (a) Image of wear track and its outside. (b) The high magnification image for wear track.

4-3-3. 考察

UHMWPE 粒子添加による SU-8 の韌性改善

実験から、SU-8 単体のピン試験片は 10km の摩耗試験後に全て破断してしまい、韌性に乏しく脆性的であることが確認された。また、Fig. 4-27 に示すように、摩耗試験後のピン試験片摩擦面の観察においても、表面に多くのき裂が確認された。一方で、SU-8 に UHMWPE 粒子を添加した UH25 などには、ピン試験片の破損などは見られず、韌性が大きく改善されたことが分かった。また、Fig. 4-21 に示すように、摩耗試験後の表面観察からも、SU-8 単体と比較して長さが 50 μ m を超えるような大きなき裂は存在せず、表面形状が大きく変化したことが分かる。Fig. 4-21 中の黄色の矢印で示す微小なき裂の様子に着目すると、このき裂の進展は UHMWPE 粒子によって妨げられていることが確認できる。すなわち、UHMWPE 粒子が母材である SU-8 を繋ぎとめることにより、き裂の成長を阻害した結果、韌性が改善されたと言える。

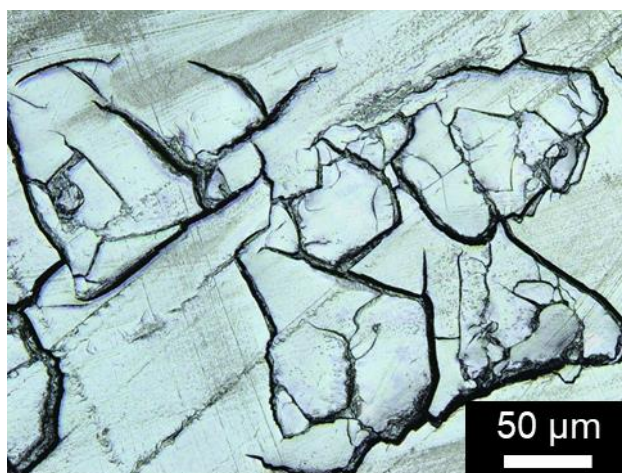


Fig. 4-27 Image for wear surface of SU8.

潤滑液中のタンパク質の影響

UHMWPE と比較して、SU-8 および SU-8 複合材は低い比摩耗量を示した。これは SU-8 が UHMWPE よりも硬い材料であることに加え、潤滑液中のタンパク質との親和性が関係していると考えられる。タンパク質を含む潤滑液においては、タンパク質の吸着および変性が、UHMWPE の摩擦・摩耗が増加することが知られている [15,18,19]。Shinmori らは、UHMWPE が疎水性の物質であるために、疎水性相互作用によりタンパク質が摩擦面に吸着し、摩擦の形態がアブレイブ摩耗から凝着摩耗に近いメカニズムに遷移するために生じると報告している [15]。さらに HA が加わると、HA の増粘作用により流体膜が形成され、摺動面

に流入する潤滑液が増加するため、タンパク質の吸着による摩擦・摩耗の増大は促進されるとも報告している。一方で、SU-8は吸水特性も有することからも、親水性の材料である。そのため UHMWPE のような疎水性相互作用によるタンパク質の吸着およびそれに伴う摩耗への影響は小さいと考えられ、相対的に SU-8 の比摩耗量が小さくなったと言える。

UHMWPE 粒子添加による潤滑効果

Fig. 4-28 の赤の枠線で示すように、UHMWPE 粒子が引き伸ばされたような形状が観察された。すなわち、UHMWPE が SU-8 表面を被覆したと言える。Fig. 4-29 に示すように、母材の SU-8 が摩耗すると、UHMWPE 粒子の突出し、露出した UHMWPE が薄く引き伸ばされて母材を覆うように変形することで、トライボロジー特性が向上したと言える。SU-8 の摩擦係数は乾式ボールオンディスク試験による測定で 0.52 と報告されており、決して自己潤滑性が高いわけではない[17]。そのため、自己潤滑性に優れた UHMWPE がその表面を一部覆うことで、SU-8 が担う相手面との接触面積が減少し、摩擦面全体として低摩擦を実現したと考えられる。Hirwani らは、同じ材料を一方向滑り摩耗試験にて評価した結果、本実験と同様に UHMWPE を SU-8 に適量添加することによって、摩擦・摩耗が低下することを報告している[20]。本研究は、多方向すべりであるため、一方向に比べ、UHMWPE の配向は発生しにくいと考えられる[21]。それにも関わらず、摩耗が低下していることから、摩擦方向の接線力は UHMWPE 自体の自己潤滑性が、垂直荷重はバルクの SU-8 がそれぞれ支持することで、潤滑機能が向上したと言える。

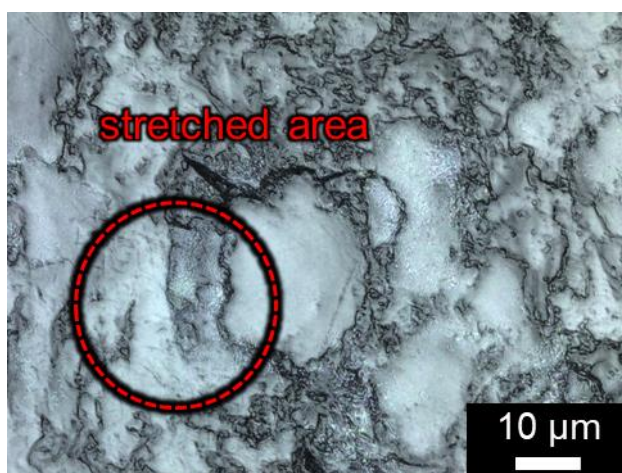


Fig. 4-28 The high magnification image for wear surface of UH25. The area surrounded by red border is thinly stretched UHMWPE.

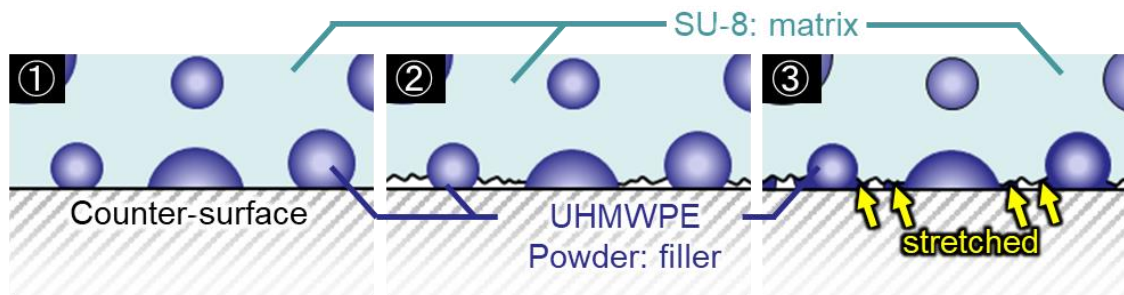


Fig. 4-29 Schematic diagram shows the deformation process of UHMWPE particle.
 ① Start of wear test, ② Matrix (SU-8) wear and ③ The protruding UHMWPE particles are thinly stretched.

HA 充てんによる潤滑効果

SU-8/UHMWPE 複合材に対し、HA を充てんさせることにより摩耗が著しく低下した。HA を充てんした材料で摩耗が進行すると、Fig. 4-30 に示すように摩耗粉中に含まれていた HA が潤滑液中に流出すると考えられる。この HA が摺動面の局所的な粘度上昇を引き起こし、流体膜の形成を促進した結果、潤滑状態の改善に寄与したのではないかと考えられる。この場合、HA は摩耗が発生するごとに摺動面へ供給され続けるため、長期間にわたって優れたトライボロジー特性を維持できる可能性を示唆する。

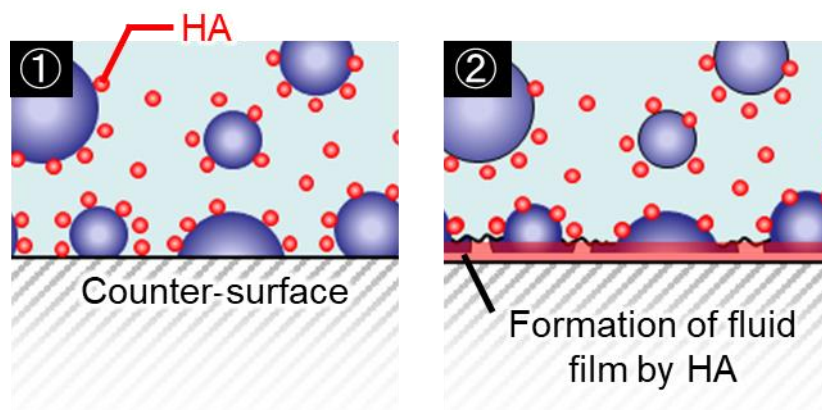


Fig. 4-30 Schematic diagram shows the formation of fluid film by HA.
 ① Start of wear test. ② HA spills onto sliding surface.

4-3-4. 小結言

SU-8 複合材の摩耗特性を、微小円孔スケールを用いて評価した。充てん材として、関節液にも含まれる HA を添加した結果、局所的な増粘効果により、摩耗の低減が確認された。

4-4. 結言

本章では、現行の人工関節材料である UHMWPE の代替材料として、炭素系ナノ材料を用いた UHMWPE 複合材とエポキシ系樹脂材料である SU-8 複合材の摩耗評価を行った。UHMWPE 複合材の評価結果から、生体内での充てん材の効果を正しく理解するためには、潤滑液に生体高分子が存在するなど適切な実験系の選択が重要であることが示唆された。また、SU-8 複合材の評価結果から、充てん材として生体高分子を適切に用いることで、生体適合性を担保しつつ材料のトライボロジー特性を向上させることが可能であると明らかになった。

参考文献

1. F04 Committee. Test method for wear testing of polymeric materials used in total joint prostheses. West Conshohocken, PA: ASTM International; 2017. doi:10.1520/f0732-17
2. Somberg J. Mechanical and Thermal Characterisation of Novel UHMWPE Composites for Total Joint Arthroplasty.
3. Melk L, Emami N. Mechanical and thermal performances of UHMWPE blended vitamin E reinforced carbon nanoparticle composites. *Composites Part B*. 2018;146: 20–27.
4. Vadivel HS, Golchin A, Emami N. Tribological behaviour of carbon filled hybrid UHMWPE composites in water. *Tribol Int*. 2018;124: 169–177.
5. Suñer S, Bladen CL, Gowland N, Tipper JL, Emami N. Investigation of wear and wear particles from a UHMWPE/multi-walled carbon nanotube nanocomposite for total joint replacements. *Wear*. 2014;317: 163–169.
6. Smart SK, Cassady AI, Lu GQ, Martin DJ. The biocompatibility of carbon nanotubes. *Carbon N Y*. 2006;44: 1034–1047.
7. Golchin A, Villain A, Emami N. Tribological behaviour of nanodiamond reinforced UHMWPE in water-lubricated contacts. *Tribol Int*. 2017;110: 195–200.
8. Mochalin VN, Gogotsi Y. Nanodiamond--polymer composites. *Diam Relat Mater*. 2015;58: 161–171.
9. Suñer S, Joffe R, Tipper JL, Emami N. Ultra high molecular weight polyethylene/graphene oxide nanocomposites: Thermal, mechanical and wettability characterisation. *Composites Part B*. 2015;78: 185–191.
10. Suñer S, Gowland N, Craven R, Joffe R, Emami N, Tipper JL. Ultrahigh molecular weight polyethylene/graphene oxide nanocomposites: Wear characterization and biological response to wear particles. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2018;106: 183–190.

11. Kinoshita H, Nishina Y, Alias AA, Fujii M. Tribological properties of monolayer graphene oxide sheets as water-based lubricant additives. *Carbon* N Y. 2014;66: 720–723.
12. Zhu Y, Murali S, Cai W, Li X, Suk JW, Potts JR, et al. Graphene and graphene oxide: synthesis, properties, and applications. *Adv Mater.* 2010;22: 3906–3924.
13. Sawae Y, Yamamoto A, Murakami T. Influence of protein and lipid concentration of the test lubricant on the wear of ultra high molecular weight polyethylene. *Tribol Int.* 2008;41: 648–656.
14. Saikko V, Ahlroos T. Wear simulation of UHMWPE for total hip replacement with a multidirectional motion pin-on-disk device: effects of counterface material, contact area, and lubricant. *J Biomed Mater Res.* 2000;49: 147–154.
15. Shinmori H, Kubota M, Morita T, Yamaguchi T, Sawae Y. Effects of Synovial Fluid Constituents on Friction between UHMWPE and CoCrMo. *Tribology Online.* 2020;15: 283–292.
16. 垣内弘. (No Title). 熱硬化性樹脂. 1994;15: 149.
17. Saravanan P, Satyanarayana N, Sinha SK. Self-lubricating SU-8 nanocomposites for microelectromechanical systems applications. *Tribol Lett.* 2013;49: 169–178.
18. Nečas D, Sawae Y, Fujisawa T, Nakashima K, Morita T, Yamaguchi T, et al. The Influence of Proteins and Speed on Friction and Adsorption of Metal/UHMWPE Contact Pair. *Biotribology.* 2017;11: 51–59.
19. Saikko V. Effect of Lubricant Protein Concentration on the Wear of Ultra-High Molecular Weight Polyethylene Sliding Against a CoCr Counterface. *J Tribol.* 2003;125: 638–642.
20. Hirwani JK, Sinha SK. Mechanical and Tribological Studies of SU-8 Composites Filled With UHMWPE and Gum Acacia Under Dry and Bovine Serum Albumin Lubricated Conditions. *J Tribol.* 2020;143: 011701.

21. 澤野貴紀, 村上輝夫, 澤江義則, 門田孝洋. 多方向滑りピン・オン・プレート試験機を用いた人工関節材料の摩耗評価 (機械要素, 潤滑, 工作, 生産管理など). 日本機械学会論文集 C 編. 2003;69: 1892-1899.

第 5 章 関節液成分による PVA の摩擦特性への影響①： マイグレートコンタクト

目次

5-1. 緒言	112
5-2. 実験方法・材料.....	112
5-2-1. 摩擦試験	112
5-2-2. 分析・観察.....	118
5-3. 実験結果	119
5-3-1. 摩擦試験	119
5-3-2. FT-IR 分析結果.....	128
5-4. 考察	131
5-5. 結言	136
参考文献	137

5-1. 緒言

前章までは、人工関節材料である UHMWPE を起点とした樹脂材料のトライボロジー特性に対する関節液成分の影響を調査した。これにより、人工関節の設計を行う上での1つの指針が得られたと考える。しかしながら、更なる人工関節の高機能化には、抜本的な材料・デザインの改変が求められる。そこで、本来の生体関節をより模倣することに着想し、人工の軟骨組織を組み込んだデザインコンセプトが検討されている。そして、人工軟骨の候補材料として高含水性高分子ハイドロゲルが挙げられ、材料特性や力学特性、固定方法などが様々な角度から研究されている。

トライボロジーの観点から考えると、生体関節の機能を模倣するためには、モデルである生体関節の潤滑メカニズムのより詳細な理解が不可欠である。これまでに、関節液成分による境界膜潤滑やマイクロ EHL 効果、固液二相性潤滑、表面ゲル水和層潤滑など多くの潤滑機構が提案されてきた[1-6]。実際の関節では、これらの潤滑機構が同時もしくは順次機能することで、高荷重・低摩擦を維持していると考えられている[7]。

これらの潤滑機構を実験的に解明するために、生体の軟骨を直接試験に用いた研究が一部で行われている。しかしながら、サンプル間のばらつきやサンプルへの加工精度、コスト等の面で再現性を担保することが困難である。そのため、本章では、高含水ハイドロゲルを軟骨組織のモデルとし、ハイドロゲルのトライボロジー特性について調査した。軟骨組織は、80%にもおよぶ高含水性、1 MPaの弾性率、 $10^{-15} \text{ m}^4/(\text{N}\cdot\text{s})$ の低い透水性、さらに階層的な内部構造など、さまざまな特性を材料として有する。その中でも、含水性・弾性に着目し、これらの特性と関節液成分が潤滑にどのような影響を及ぼすかを、単純な一軸往復動摩擦試験を通して調査した。

5-2. 実験方法・材料

5-2-1. 摩擦試験

ボール-オン-プレート型一軸往復動摩擦試験を行った。摩擦試験機は第2章と同様の装置を用いた。測定部の模式図を Fig. 5-1 に示す。試験片をバスに置き、両端をねじで固定して、試験溶液(30 ml)を注いだ。上部のアームにガラスレンズ

を取り付けた治具を取り付けた。

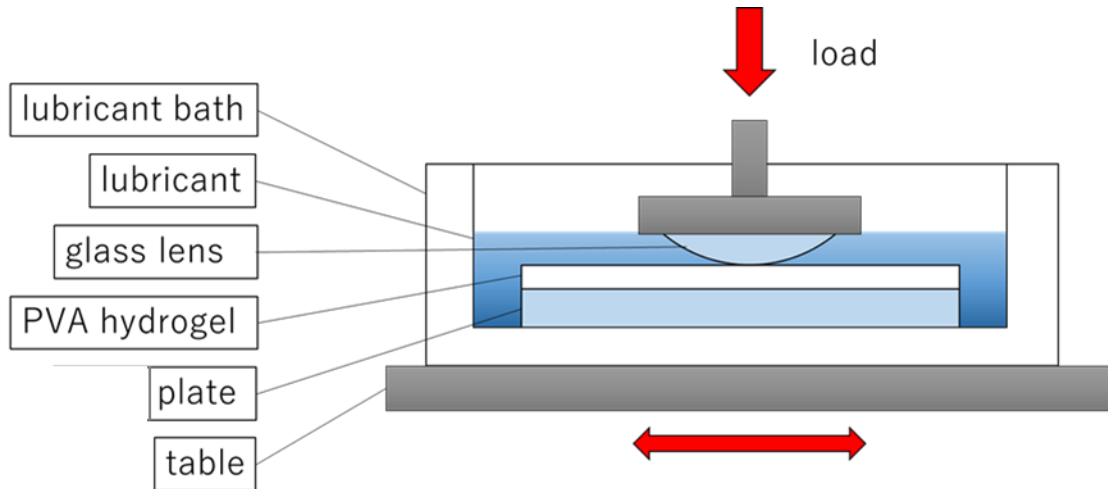


Fig. 5-1 Schematic of measurement part

プレート試験片は、20 mm × 50 mm に切り出した厚さ 2 mm のゲルをシアノアクリレート系の瞬間接着剤でポリカーボネート板 (t1 mm × 25 mm × 70 mm) に貼り付けた。相手面には、光学用ガラスレンズを用いた。ガラスレンズの曲率半径は 50 mm、材質はホウケイ酸塩クラウン光学ガラス (BK7) である。

試験条件として、すべての試験を荷重 500 g (4.9 N)、ストローク 25 mm で行った。すべり速度は、1, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mm/s の 8 通りで行った。なお、一部の試験溶液では、追加で 2, 3, 4 mm/s でも行った。往復回数は 500 回を基本としている (総滑り距離 25 m)。装置の都合上、1 mm/s のみ往復回数を 200 回 (総滑り距離 10 m) とした。

試験前に、ガラスレンズとその固定具、溶液バスを界面活性剤水溶液で 30 分、精製水で 30 分、エタノールで 15 分、それぞれ超音波洗浄した。洗浄後は自然乾燥させた。

PVA ハイドロゲル

本試験では、軟骨組織のモデルとしてポリビニルアルコール (polyvinyl alcohol, PVA) ハイドロゲルを用いた。PVA ハイドロゲルは、ビニルアルコール [-CH₂-CH(OH)-] の重合体であるが、モノマーであるビニルアルコールは不安定な物質であり、アセトアルデヒドに変化してしまう。そのため、一般的にはポリ酢酸ビニルをけん化することで作成される。PVA ハイドロゲルは軟骨組織に近い柔軟性と含水性を持ち、生体適合性も有することから人工軟骨の候補材料として

研究が進められている[8-11].

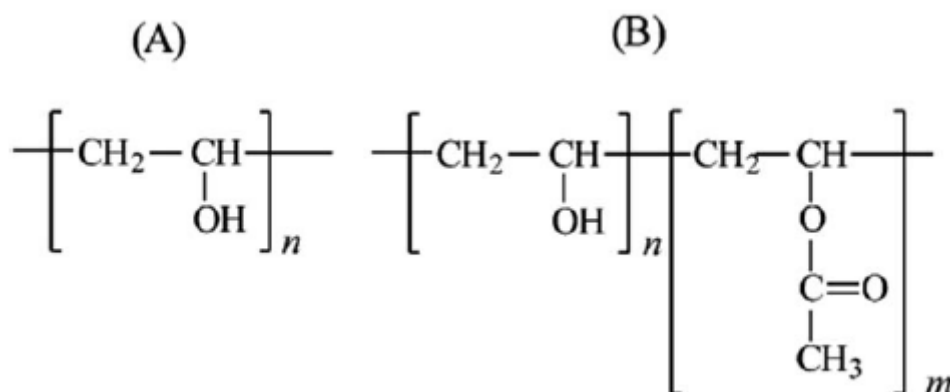


Fig. 5-2 Structural formula of PVA. (A) fully hydrolyzed and (B) partially hydrolyzed.[12]

今回の実験で用いた PVA ハイドロゲルは架橋剤を使用せず、凍結解凍処理を繰り返すことにより、水素結合を介した架橋で網目構造を形成する物理架橋ゲルである。これは凍結時の氷の成長に伴い、PVA 高分子鎖同士が近接することで分子が水素結合を核として絡み合い、解凍時にその一部が維持されることで、立体構造を形成している。本研究では Nakashima らの結果を参考に、凍結解凍回数を 4 回とした[8]。凍結解凍法を利用した作成手順は以下の通りである。

- 1) 精製水と PVA 粉末(クラレ製 PVA117, 重合度 1700, けん化度 98~99mol%) を所定の重量 (PVA : 15wt%) となるようそれぞれ量り取った。
- 2) 精製水と回転子をサンプル瓶に入れ、常温のままスターラーにて 500 rpm で攪拌しながら少しずつ PVA 粉末を加えた。すべて加えたのち、常温で 10 分程度攪拌した。
- 3) 十分に攪拌したのち、ホットスターラーに設置したビーカーにサンプル瓶を移した。その後、90~95°Cで湯煎しながら攪拌し、PVA 粉末を溶解させた。湯煎時は、ビーカーの底にスライドガラス 2 枚を重ねて敷き、サンプル瓶を上げ底することで、瓶の底での PVA の焦げ付を防止した。湯煎開始時は 500rpm 程度で回し、回転子が回転しにくくなったら、安定して回転する回転数に順次落としながら攪拌を続け、最終的に 80rpm 程度まで回転数を落とした。
- 4) 完全に PVA が溶解した後、湯煎から取り出してサンプル瓶を取り出し、PVA 溶液が室温に戻りかつ気泡が無くなるまで常温で攪拌を行った。回転数は 80 rpm 程度に設定した。
- 5) 溶液が室温に戻り次第、溶液をモールドに流し込んだ。モールドはアクリル

樹脂で作成し、2mm のスペーサーを張り付けることで、厚さ 2 mm のシート状の PVA ハイドロゲルが調整可能となる。流し込んだ際に混入した気泡を取り除き、アクリル樹脂の板で蓋をした。その後、モールドを環境試験機 (SH-241, Espec) に入れた。試験機では、-20°C で 8 時間の凍結と、4°C で 16 時間の解凍プロセスを 4 回繰り返した。

6) 凍結・解凍終了後、型からゲルを取り出し、精製水中で保存した。なお、凍結・解凍中に水分の蒸発が発生しているため、完全に PVA ハイドロゲルを膨潤させるために一週間以上精製水中で保存した。

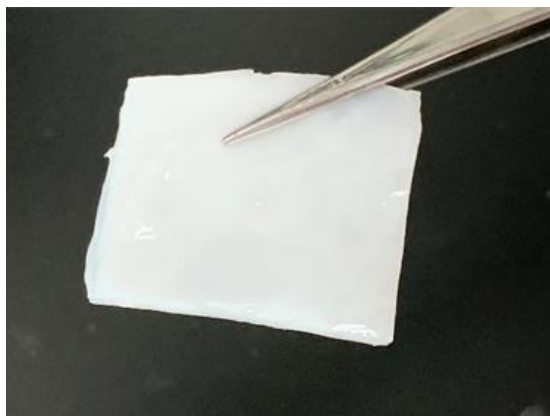


Fig. 5-3 PVA hydrogel

試験に用いた PVA ハイドロゲルの特性は以下の表のとおりである。

Table. 5-1 Material properties of PVA hydrogel

Water content	79 wt%
Young's modulus	1.2 MPa
Permeability	$2.0 \times 10^{-13} \text{ m}^4/\text{Ns}$
Poisson's ratio	0.45

本実験では、PVA ハイドロゲルをポリカーボネートに張り付けている。通常のヘルツの接触理論は半無限大の弾性体を仮定しており、今回のような薄膜を接着した場合の接触を考える場合には適切ではない。そこで本研究では下記の式を用いて接触面積および接触圧力を算出した[13]。接触中心から距離 x における圧力分布 $p(x)$ は、

$$p(x) = \frac{(1-\nu)^2}{1-2\nu} \cdot \frac{E}{1-\nu^2} \cdot \frac{a^2}{2Rb} \cdot \left(1 - \frac{x^2}{a^2}\right) \quad (5-1)$$

で表される。ここで、 a [m] は接触半径、 b [m] は弾性体（薄膜）の厚さ、 R [m] は剛体円筒の半径、 ν [-] は弾性体のポアソン比、および E [Pa] は弾性体の弾性率で

ある。この時、単位幅当たりにかかる荷重 P は、

$$P = \frac{1}{3} \cdot \frac{(1-\nu)^2}{1-2\nu} \cdot \frac{E}{1-\nu^2} \cdot \frac{a^3}{Rb} \quad (5-2)$$

で表せる。今回接触面は円形であるため、(5-1)を z 軸周りに回転させる、すなわち z 軸に関して積分することで接触域にかかる荷重を算出することができる。

$$\begin{aligned} P &= \pi \int_0^A x^2 dz \\ &= \frac{\pi}{4} \cdot \frac{(1-\nu)^2}{1-2\nu} \cdot \frac{E}{1-\nu^2} \cdot \frac{a^4}{Rb} \end{aligned} \quad (5-3)$$

(5-2) と (5-3) より、接触半径と圧力分布を算出することが可能となる。計算の結果、接触半径は 3.42 mm、最大接触圧力は 0.267 MPa となった。

試験溶液

試験溶液は、第 2,3 章と同様に、擬似関節液を使用した。作成手順は第 2 章と同様である。本試験で使用した試験液の組成と試験回数を Table.5-2 に示す。なお、Protein は、Albumin と γ -globulin, HA は Hyaluronic acid, DPPC は、Dipalmitoylphosphatidylcholine を意味する。

Table. 5-2 Composition of test lubricants

Lubricant	Constituents	Concentration [wt%]	Test times
Water	-	-	3
PBS	-	-	2
DPPC	DPPC	0.01	3
HA*	HA	0.5	4
Protein*	Albumin+ γ -globulin	1.4+0.7	4
H+D	HA+DPPC	0.5+0.01	4
P+D*	Albumin+ γ -globulin+DPPC	1.4+0.7+0.01	4
P+H*	Albumin+ γ -globulin+HA	1.4+0.7+0.5	4
P+H+D*	Albumin+ γ -globulin+HA+DPPC	1.4+0.7+0.5+0.01	4

*tested at 2, 3, and 4 mm/s for 2 times

また、後述の FT-IR 分析のために、生理食塩水 (NaCl: 0.9 wt%) に DPPC を添加した潤滑液を用いてすべり速度 3 mm/s での試験を行った。

流体膜計算

本研究における流体膜厚に関して、Dowson らの軟質材料を有する剛体の点接触式を用いて算出した[14]. 中心膜厚 h_c は、

$$h_c = R_x * 3.66 * U^{0.54} * L^{0.37} * W^{-0.18} * (1 - 0.61 * e^{-0.12*k}) \quad (5-4)$$

で表される. ここで, k は楕円率 (等価半径 $R_x = R_y$ の場合, $k = 1$), U , L , W はそれぞれ速度, 軟質材料の厚さおよび荷重の無次元パラメータであり、

$$U = \frac{\eta * u}{E' * R_x}$$

$$L = \frac{ht * E'}{R_x * E''}$$

$$W = \frac{w}{E' * R_x^2}$$

となる. η [Pa*s]は粘度, u [m/s]は平均速度, w [N]は荷重, ht [m]は軟質材料は厚さである. また, E' および E'' は, 軟質材料の等価弾性率および軟質材料の厚みを考慮した等価弾性率である. ここで, 本実験では軟質材料は片面だけであることを考慮し、

$$\frac{1}{E'} = \frac{1}{2} * \left(\frac{1 - \nu^2}{E} \right)$$

$$\frac{1}{E''} = \frac{(1 + \nu) * (1 - 2 * \nu)}{(1 - \nu) * E}$$

と表すことができる.

精製水の粘度を 0.001 Pa*s とした場合, すべり速度 1, 10, 100 m/s での理論膜厚はそれぞれ, 0.075, 0.261, 0.908 μm と見積もることができた. また, ヒアルロン酸溶液は非ニュートン性を示すことから, Fig. 2-5 の結果を用いて粘度曲線を近似した結果を計算に用いた ($\eta \doteq 1.985 * \dot{\gamma}^{-0.578}$, $\dot{\gamma}$:せん断速度[1/s]). その結果, すべり速度 1 mm/s 粘度 0.019 Pa*s で 0.37 μm , すべり速度 10 mm/s 粘度 0.01 Pa*s で 0.908 μm , すべり速度 100 mm/s 粘度 0.004 Pa*s で 1.92 μm とそれぞれ見積もることができた. PVA ハイドロゲルの表面粗さが 2~3 μm であったことから, 粗さよりも低いもしくは同程度の流体膜であると言え, 潤滑状態は境界・混合潤滑領域であると考えられる.

5-2-2. 分析・観察

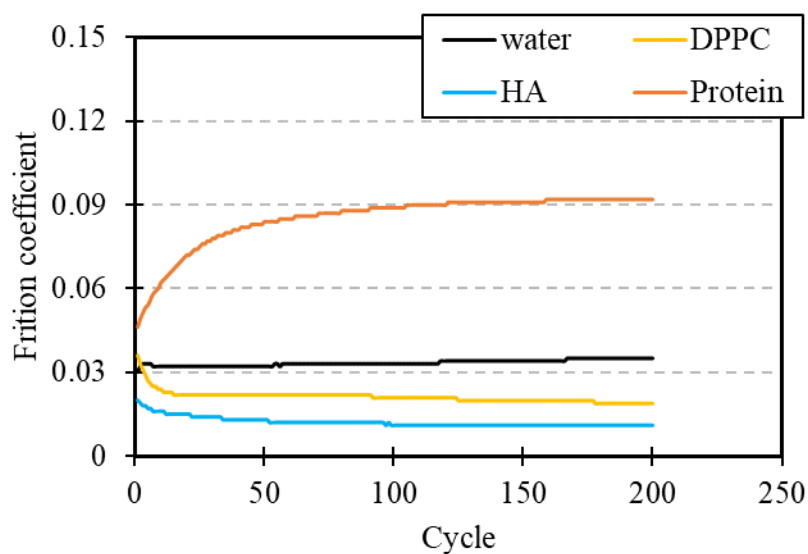
試験後の PVA ハイドロゲルに対して、FT-IR 分析を行った。FT-IR 分析には、第 2 章と同様に、Nicoletti 10 を用いた。測定モードは ATR 法、プリズムにはゲルマニウムを用いた。アパーチャーサイズは $150 * 150 \mu\text{m}$ 、分解能は 4 cm^{-1} 、スキャン回数は 256 である。

5-3. 実験結果

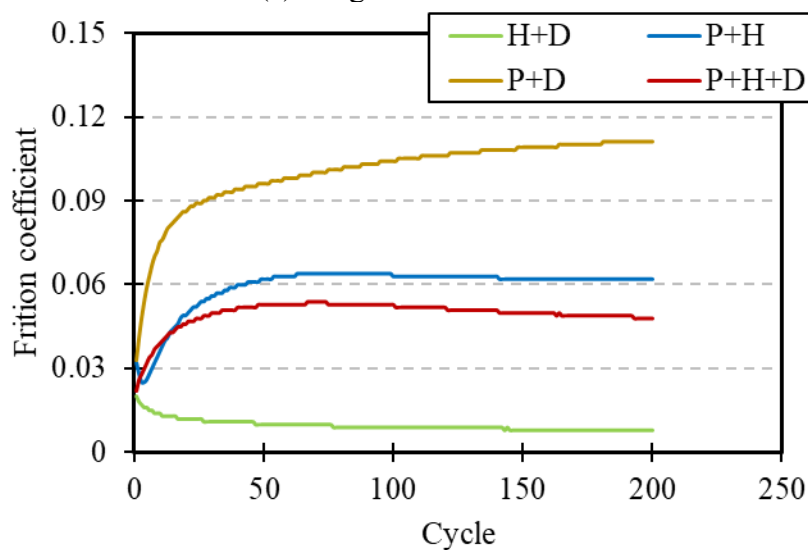
5-3-1. 摩擦試験

往復摩擦試験結果を以下に示す。

まず、各すべり速度におけるサイクル数毎の摩擦係数の推移を Fig. 5-4~11 に示す。

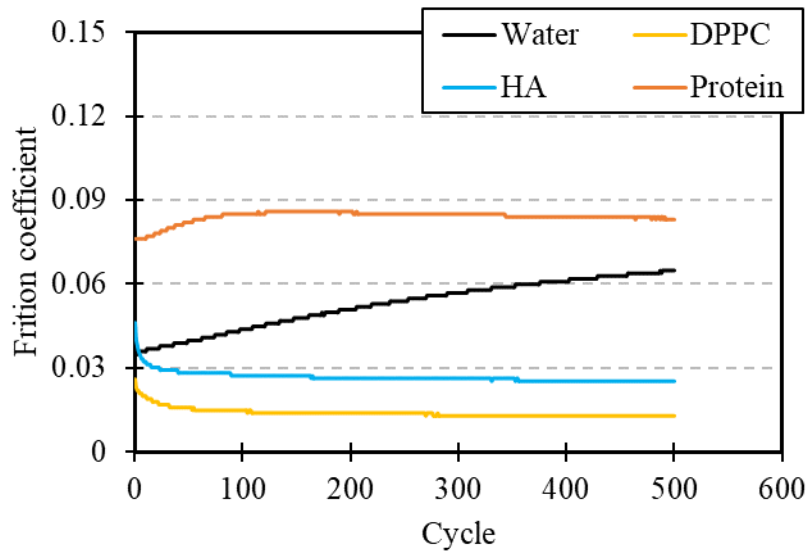


(a) Single constituents

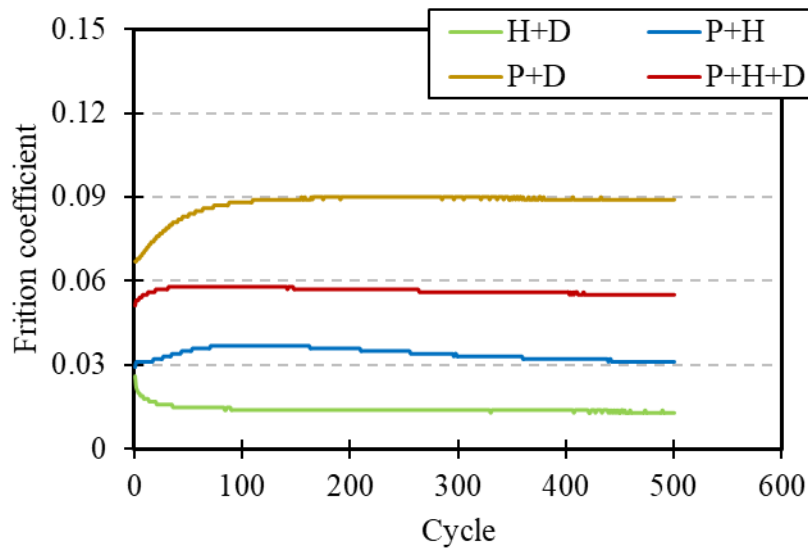


(b) Mixtures

Fig. 5-4 Transition of friction coefficient at 1 mm/s

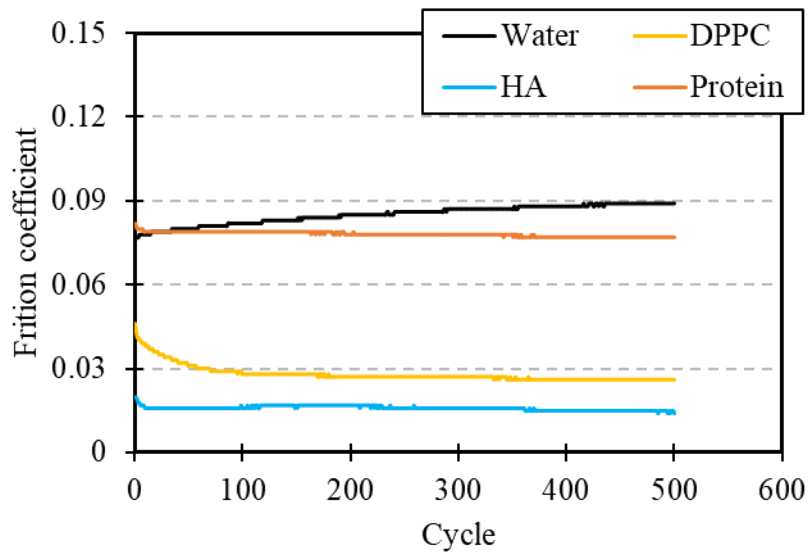


(a) Single constituents

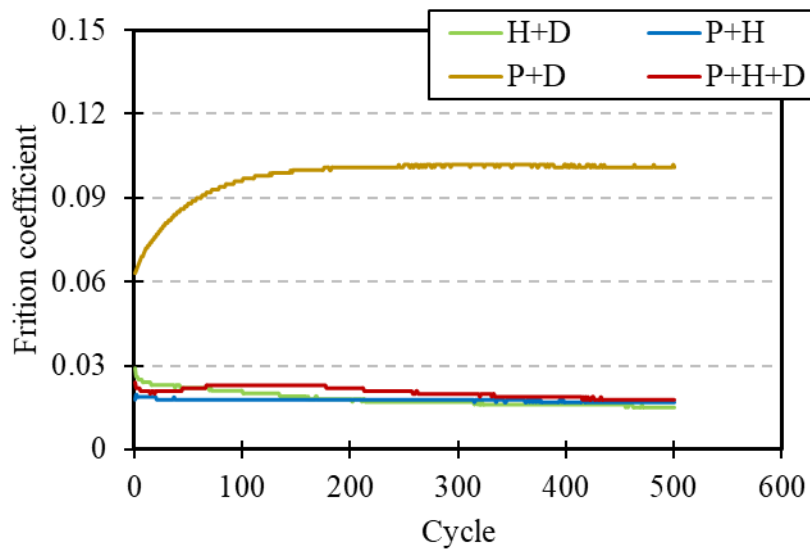


(b) Mixtures

Fig. 5-5 Transition of friction coefficient at 5 mm/s

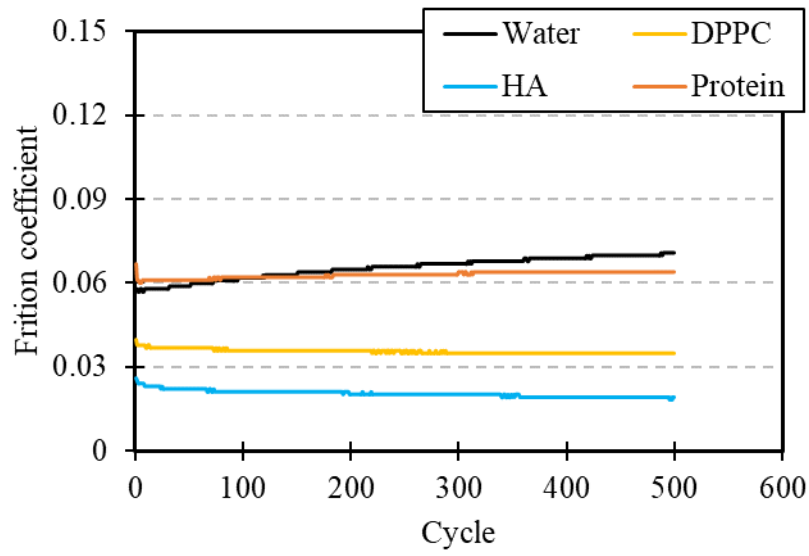


(a) Single constituents

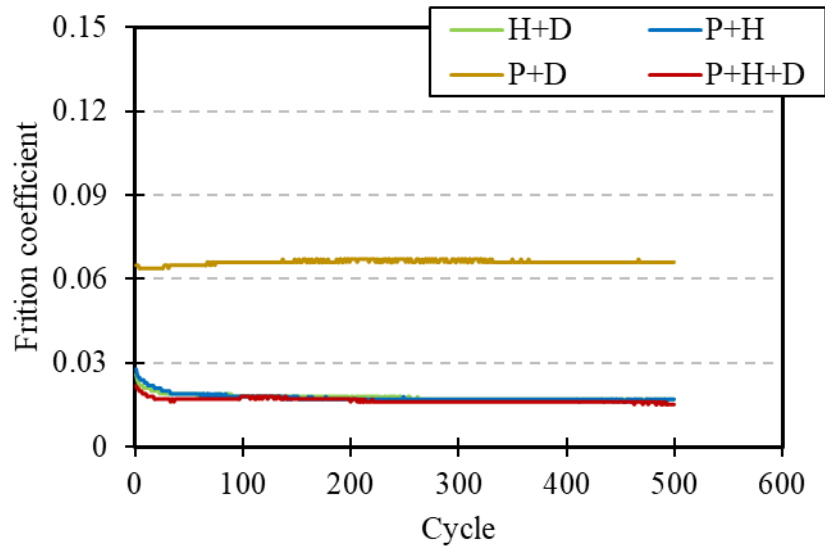


(b) Mixtures

Fig. 5-6 Transition of friction coefficient at 10 mm/s

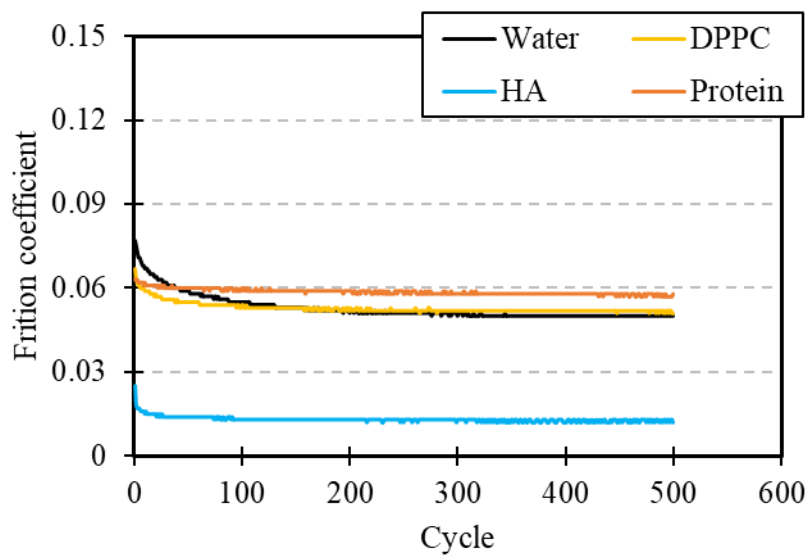


(a) Single constituents

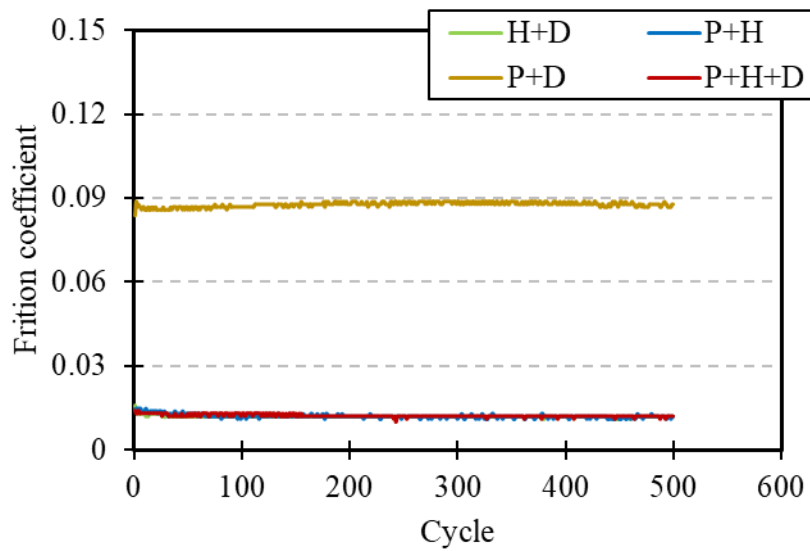


(b) Mixtures

Fig. 5-7 Transition of friction coefficient at 20 mm/s

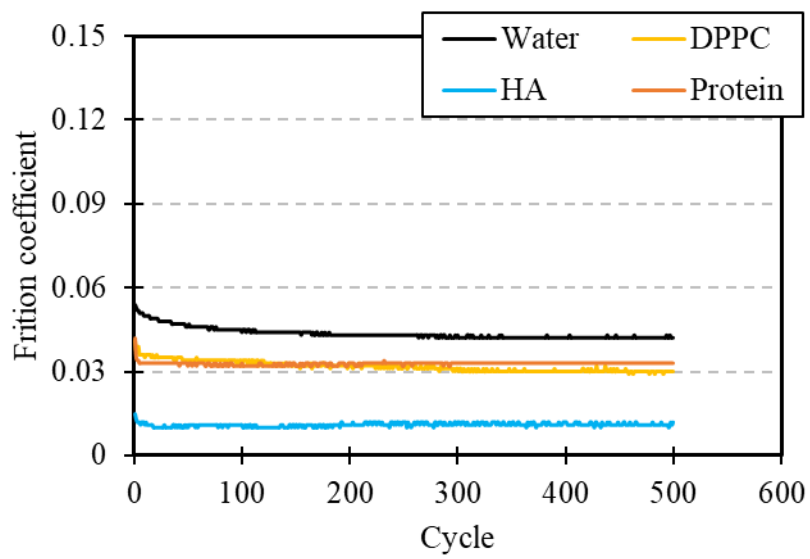


(a) Single constituents

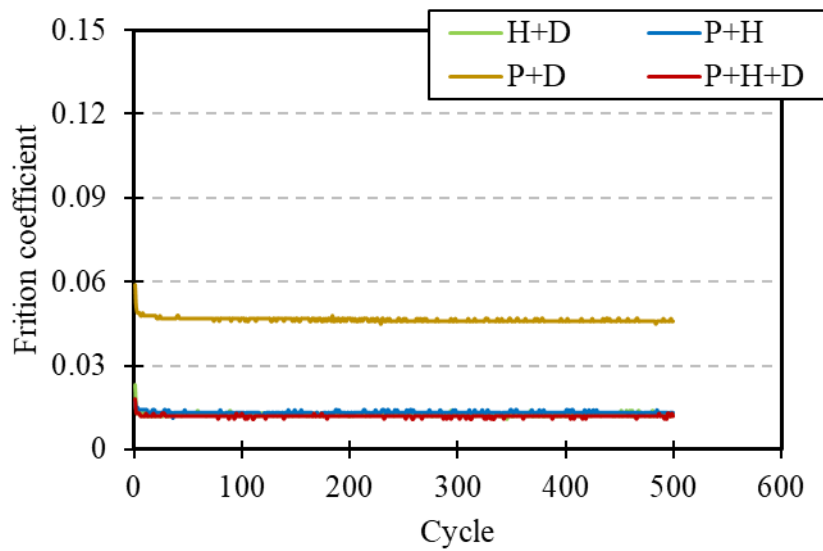


(b) Mixtures

Fig. 5-8 Transition of friction coefficient at 40 mm/s

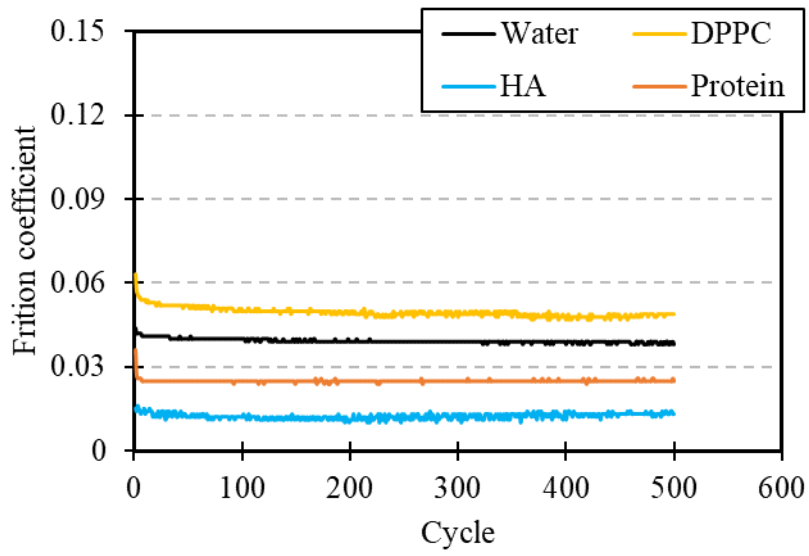


(a) Single constituents

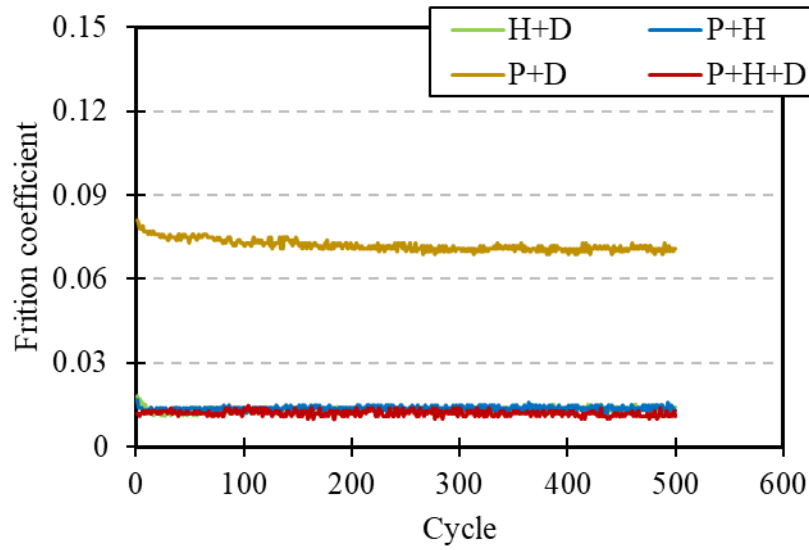


(b) Mixtures

Fig. 5-9 Transition of friction coefficient at 60 mm/s

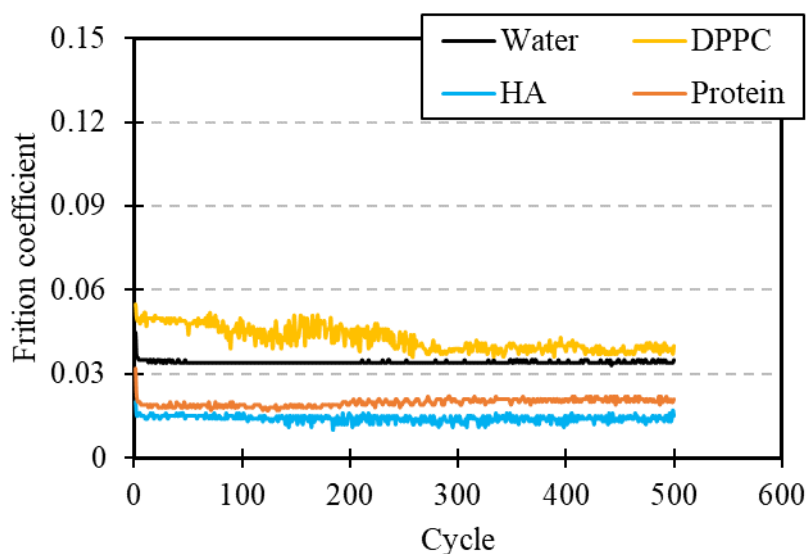


(a) Single constituents

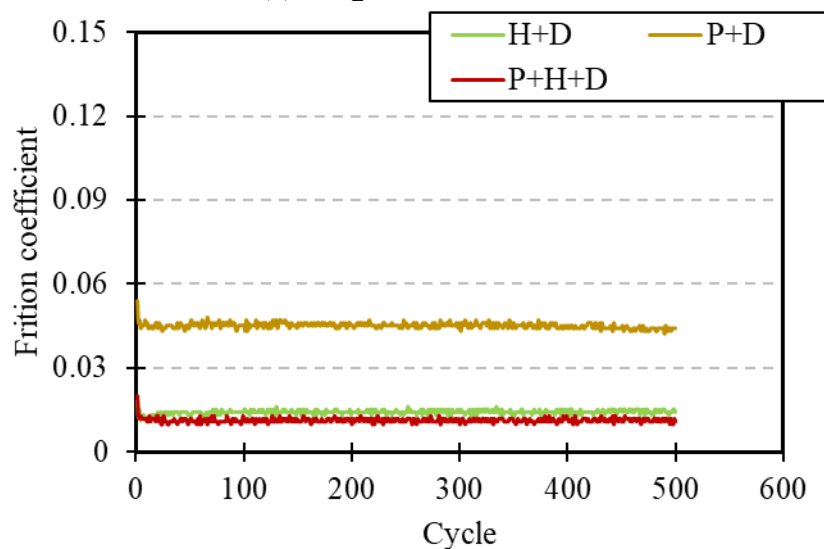


(b) Mixtures

Fig. 5-10 Transition of friction coefficient at 80 mm/s



(a) Single constituents



(b) Mixtures

Fig. 5-11 Transition of friction coefficient at 100 mm/s

Fig. 5-4~7 に示す通り，タンパク質を含む溶液中では，サイクルを重ねるごとに徐々に摩擦係数が上昇する傾向が確認された．逆に，ヒアルロン酸や DPPC，およびそれらの混合液中では，試験開始直後に低下した後に定常に推移する挙動が観察された．また，Fig. 5-8~11 に関しては，どの溶液中でも試験開始直後から摩擦係数の定常な推移を確認した．

Fig. 5-4~11 から分かる通り，どの条件も試験後半では摩擦係数が定常に推移している．そこで，後半 100 サイクル (1 mm/s のみ 50 サイクル) の値を平均し，各試験での実験値として比較を行う．Fig. 12, 13 は，横軸に滑り速度，縦軸に摩

摩擦係数をプロットした結果である。なおグラフの値は 3 または 4 回の平均値であり、エラーバーはその標準偏差を示す。

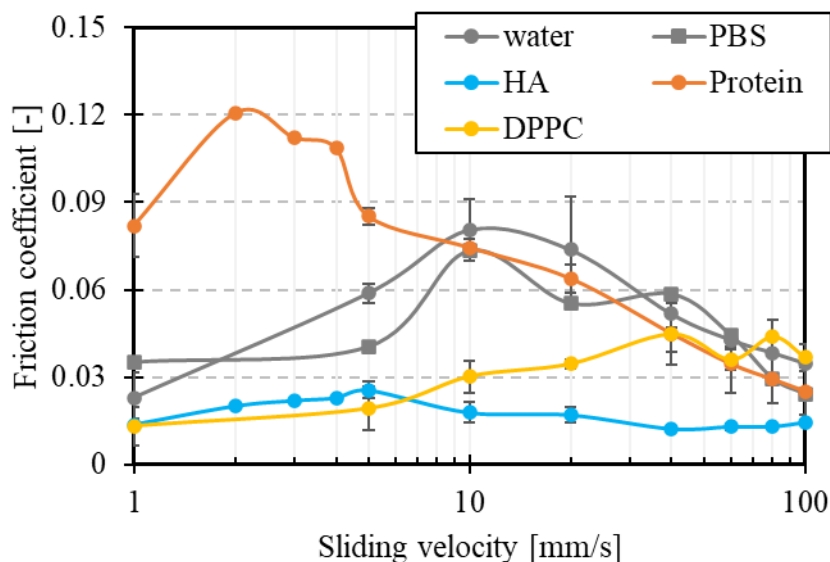


Fig. 5-12 Transition of friction coefficient via sliding velocity tested in single constituent lubricant. Error bars mean the standard deviation of test times on each condition.

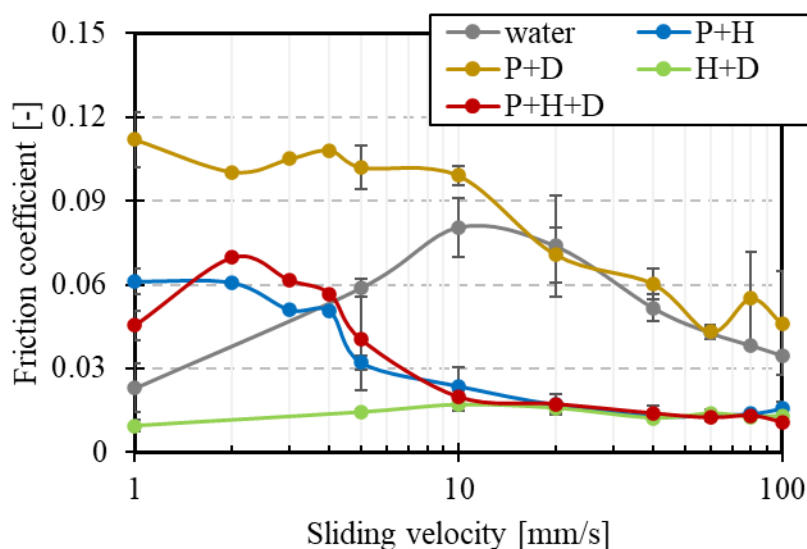


Fig. 5-13 Transition of friction coefficient via sliding velocity tested in mixture lubricant. Error bars mean the standard deviation of test times on each condition.

Fig. 5-12 より、精製水・PBS 中ではすべり速度 10 mm/s をピークに摩擦係数が減少に転じた。タンパク質溶液中でも同様にピークが確認されたが、より低速であるすべり速度 2 mm/s 付近であった。低速度域では、精製水中と比べ高い摩擦

を示した。また、すべり速度 10 mm/s 以降では、精製水中と近い摩擦係数でソフトした。ヒアルロン酸溶液中では、すべり速度 5 mm/s 近傍でピークを示し、さらにすべての速度域で精製水よりも低い摩擦を示した。DPPC 溶液中では、低速域ではヒアルロン酸と同程度の摩擦を示す一方で、すべり速度 5 mm/s を境に徐々に上昇し、すべり速度 40 mm/s 以降は精製水中での摩擦と同程度になった。

成分を混合させた場合 (Fig. 5-13), タンパク質を含む溶液中では、すべり速度 1~5 mm/s の間で高い摩擦係数を記録した。特に Protein+DPPC は、低速域では高い摩擦係数を維持した。また Protein+HA および Protein+HA+DPPC では、すべり速度 10 mm/s 以降では低摩擦を示した。逆に、HA+DPPC では、すべての速度域で低摩擦を維持した。

5-3-2. FT-IR 分析結果

試験後の PVA ハイドロゲルに対して、FT-IR 分析を行った。結果を Fig. 5-14~15 に示す。なお、摩擦によるタンパク質の吸着を確認するために、Fig. 5-14 に示す未試験の PVA ハイドロゲルの IR スペクトルを用いて、差スペクトルとして Fig. 5-15 のデータとなった。IR スペクトルは、低速域 (Protein+HA; すべり速度 4 mm/s, その他; すべり速度 3 mm/s) で実験した試験片と、高速域の例として Protein のすべり速度 80 mm/s で実験した試験片の分析結果である。

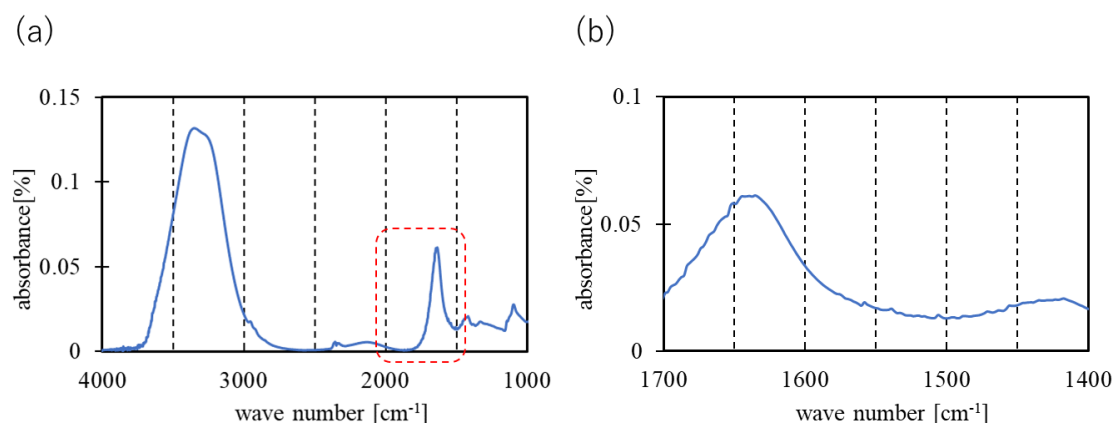
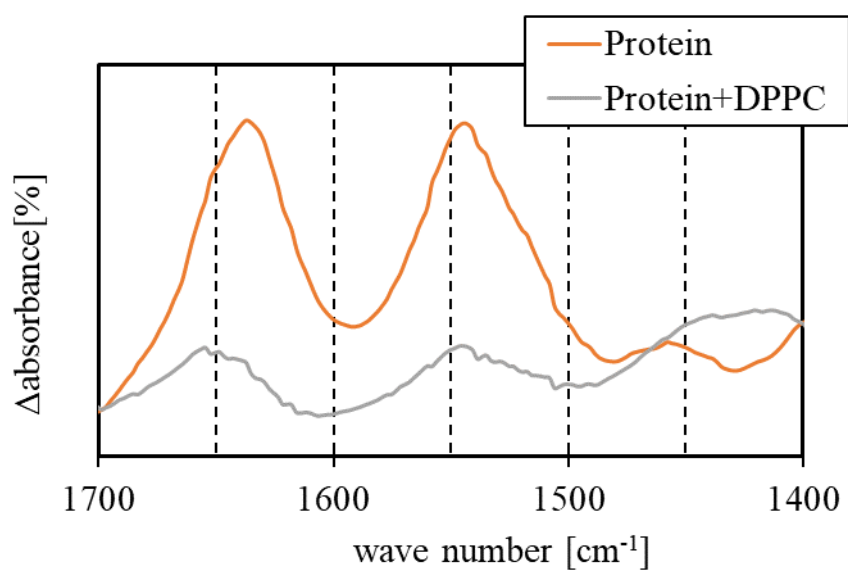
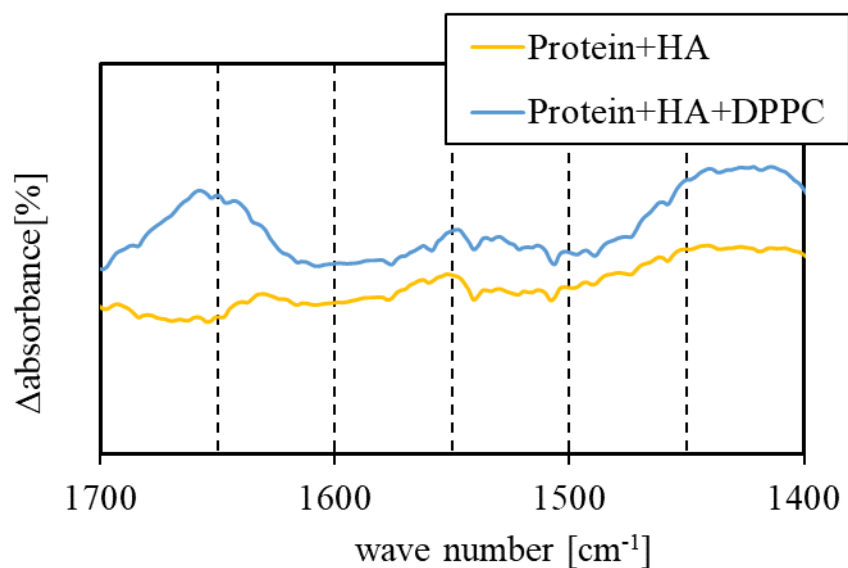


Fig. 5-14 non-tested PVA hydrogel



(a) Tested in Protein and Protein+DPPC solution



(b) Tested in Protein+HA and Protein+HA+DPPC

Fig. 5-15 FT-IR results.

Fig. 5-15 より, タンパク質溶液中で摩擦試験をした PVA ハイドロゲルの表面で, 1550 cm^{-1} と 1650 cm^{-1} 付近にピークが検出された. 1550 cm^{-1} のピークは C=O の伸縮振動を表し, アミド 1 吸収帯と呼ばれている. 1650 cm^{-1} のピークは N-H 変角振動, C-N 伸縮振動との間の相互作用によって現れ, アミド 2 吸収帯と呼ばれるものである. 特に Protein および Protein+DPPC では顕著に確認されたのに対し, ヒアルロン酸を含む Protein+HA, Protein+HA+DPPC ではアミド 2 バンドの検

出量が小さかった。

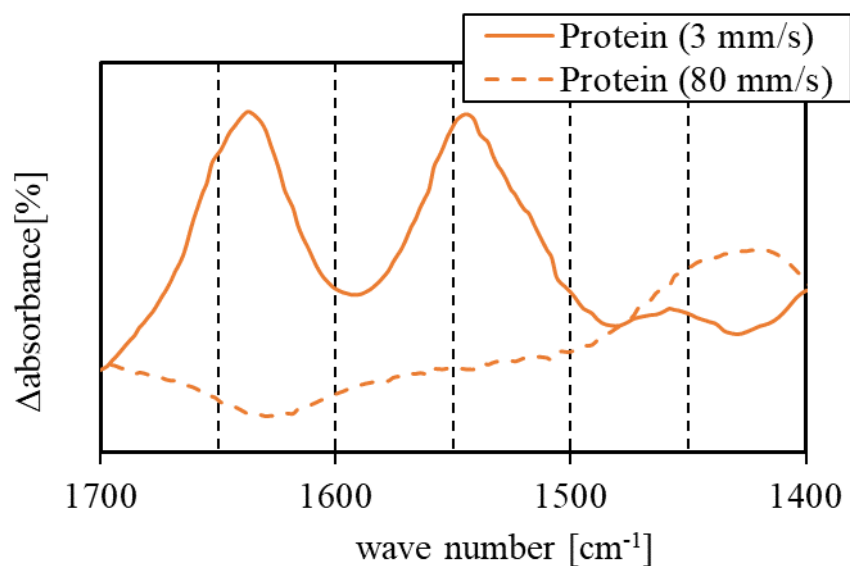


Fig. 5-16 IR spectra comparison of sliding velocity tested in Protein

また、Fig. 5-16 に Protein のすべり速度 3 mm/s および 80 mm/s で実験した試験片の IR スペクトルの比較を示す。アミド 1, 2 バンド共に、すべり速度 80 mm/s ではピークが検出されなかった。

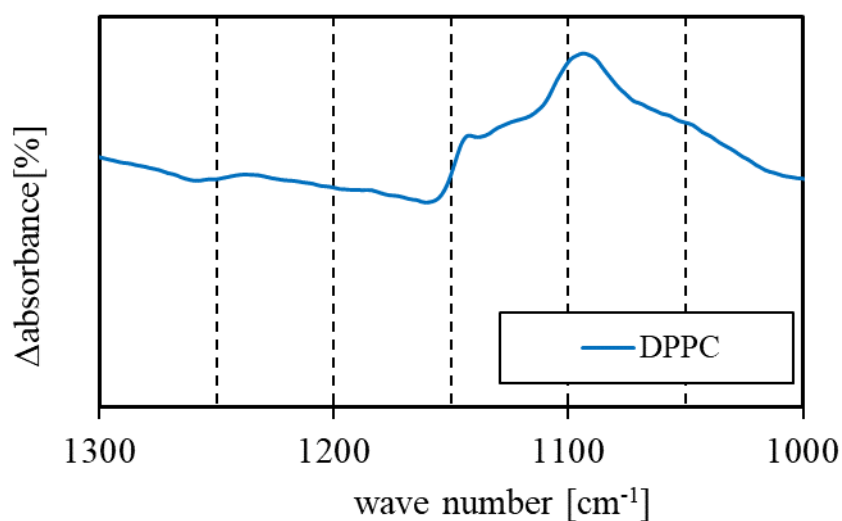


Fig. 5-17 IR spectra of DPPC solution at 3 mm/s

生理食塩水に DPPC を溶解させた潤滑液で試験した後の PVA ハイドロゲル表面の分析結果を Fig. 5-17 に示す。結果として、DPPC のリン酸由来する PO_2^- のピークが 1090 および 1240 cm^{-1} 付近で検出された[15,16].

5-4. 考察

本章では、PVA ハイドロゲルを用いて、ボールオンプレート型の摩擦試験を、関節液成分を含む潤滑液中で行った。その結果、成分ごとまたは成分の組み合わせが大きく影響を及ぼすこと、またその効果が滑り速度によって変化することを確認した。

まず精製水中では、ある滑り速度を境に摩擦係数が上昇から減少へと転じた。Gong らは、ハイドロゲルの摩擦挙動に対して、凝着・反発モデルを提唱している[17,18]。これは、ハイドロゲル最表面の高分子鎖の熱振動に伴う相手面への脱吸着挙動とすべり速度の関係を、高分子鎖をばねに見立て、滑り速度の変化により相対的に高分子鎖が延ばされることによって発生した弾性ひずみが摩擦として生じ、さらに摩擦が速度依存性を示すことをモデル化している。本研究でも、すべり速度 10 mm/s 以下の速度域ですべり速度とともに摩擦係数が上昇したのち現象に転じる挙動が確認されたことから、同様のメカニズムで摩擦が発生したと考えられる。またすべり速度 10 mm/s 以降では速度とともに摩擦係数が減少した。これはストライベックカーブにおける混合潤滑状態へとシフトしたと考えられ、流体潤滑膜が徐々に形成されることによって表面の高分子鎖の脱吸着の影響が減少したと言える。

次に、ヒアルロン酸を添加した場合、摩擦係数が全体的に低下し、さらにピークを示す速度が低速側に移動した。まず摩擦係数のピーク速度のシフトについて考える。Gong らの凝着摩擦モデルにおいて、最大摩擦を示す速度を遷移速度 v_f と定義し、最終的に、

$$v_f \cong \frac{(k_b T)^{\frac{1}{3}} * E^{\frac{2}{3}}}{\eta} \quad (5-5)$$

の物性値のみの形で整理される[17,18]。精製水と比較した場合、ヒアルロン酸添加により粘度 η が増加する[19,20]。結果として式 (5-5) より、遷移速度 v_f が低速側へシフトしたと考えられる。また、摩擦係数が広い速度域で低下したことに関しては、ヒアルロン酸分子が接触界面に侵入することにより、ハイドロゲル高分子鎖の吸着を妨げた結果だと考えられる。Nakano らは、ヒアルロン酸の濃度増加に伴い、摩擦の低下および吸着点の減少を報告している[21]。さらに、式 (5-4) からすべり速度の増加とともに、形成される流体膜の厚さも増加し、すべり速度 100 mm/s では PVA ハイドロゲルの表面粗さと同程度になった。これは接触面内の一部が形成された流体膜による荷重支持が発生していると推察される。

そのため、低速域ではヒアルロン酸分子の介在による吸着点の減少、高速域では増粘効果に伴う流体膜による支持効果によって摩擦が低下したと考えられる。

リン脂質である DPPC によって、特に低速度域で摩擦係数が低下した。Fig. 5-17 より、PVA ハイドロゲル表面に DPPC の吸着が確認された。DPPC は、分子内に親水基・疎水基それぞれを有する両親媒性の分子である。そのため、PBS 中に分散させるために、親水基を溶媒に向けたリポゾームの形で分散させている。

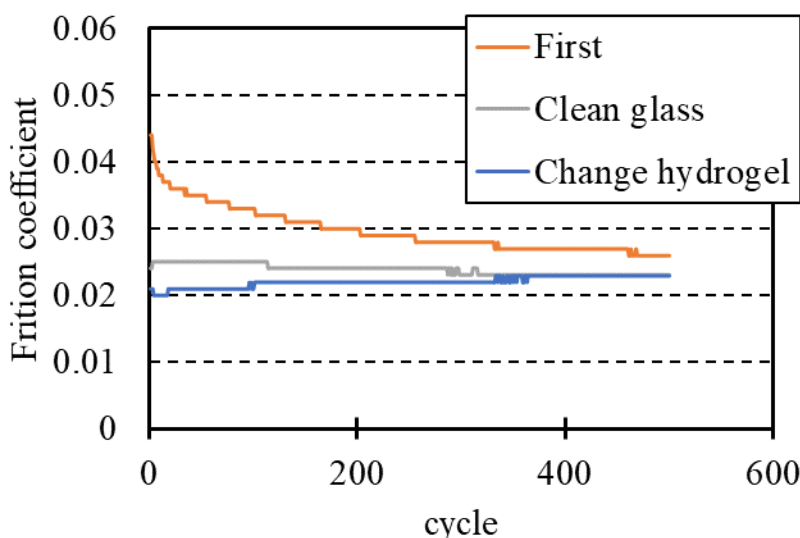


Fig. 5- 18 Transition of friction coefficient in DPPC solution at 5 mm/s. “First” means the result of initial procedure, “Clean glass” means same hydrogel, same solution but only cleaned glass lens from “First” condition, and “Change hydrogel” means only change hydrogel which is non-tested.

PVA ハイドロゲルおよびガラスレンズは親水性を示すため、DPPC が吸着膜を形成したと考えられる。Fig. 5-18 の“First”は DPPC 溶液中での摩擦係数の推移を表しており、サイクル毎に徐々に摩擦係数が低下する挙動が観察され、これが吸着膜が形成されている過程だと言える。また、PVA ハイドロゲルをそのままにガラスレンズを洗浄した場合、またはレンズを洗浄せず PVA ハイドロゲルを取り換えた場合の結果も Fig.5-18 に示す。これらから分かるように、試験開始直後から低摩擦を維持していることから、DPPC の吸着膜は PVA ハイドロゲル・ガラスレンズ両方に吸着していると言える。両面に DPPC の吸着膜が形成されることにより、接触界面では DPPC の親水基同士が摩擦していると考えられる。生体の関節において、軟骨表面での DPPC の水和層同士が摩擦されることにより、低摩擦になることが報告されている[7,22,23]。そのため、低速度域では DPPC の吸着膜および水和層によって低摩擦を示したと言える。ただし、すべり速度が

増加することに伴い、潤滑に対する表面の影響が低下していくため、徐々に摩擦が増加し、すべり速度 40 mm/s 付近で精製水の挙動に漸近したと考えられる。

タンパク質溶液中では、低速域で摩擦の増加が確認された。FT-IR の結果、この条件ではタンパク質に由来する $1650, 1550 \text{ cm}^{-1}$ のピークが検出された。同様の結果を先行研究でも FT-IR を用いて報告されている[19,24,25]。特に Protein のピークを見ると、 $1650, 1550 \text{ cm}^{-1}$ からわずかに低波数側にシフトしている。Necas らは、このシフトはタンパク質の構造変化に由来し、UHMWPE へのタンパク質の凝着が増大すると報告している[25]。そのため、PVA ハイドロゲル上でもタンパク質が凝着およびせん断することにより変性した結果、摩擦が増加したと言える。一方で、高速度域では、精製水と同程度、もしくは少し低い摩擦係数を示した。FT-IR を行った結果、高速域のサンプルではタンパク質由来のピークが検出されなかった (Fig. 5-16)。Nakashima らは 2 種のタンパク質を潤滑に用いた場合、適当な濃度・試験条件においてそれぞれのタンパク質による層の形成および低摩擦の発現を、蛍光観察を用いて報告している[26]。また David らは PMMA と金属間での潤滑膜形成メカニズムについて蛍光観察法を用いて観察した。結果として、 γ -グロブリンが薄く安定した層を形成し、その上にアルブミンは低せん断層を形成するのではと潤滑膜形成の観点から提案している[27,28]。本実験での高速域は、Fig.5-13 から分かるように、混合潤滑域だと考えられる。すなわち、潤滑状態としては、表面の影響が顕著な境界潤滑状態に加え、一部流体膜の形成による流体潤滑状態になっていると言える。流体による荷重支持により、タンパク質の吸着・変性が抑制されると推察され、タンパク質が溶媒側に水和層を露出した本来の構造を保つことで、潤滑性能がわずかに向上したと考えられる。

続いて、成分を混合させた場合を考える。HA+DPPC はすべての速度域で 0.02 以下の低い摩擦係数を維持することが確認された。Fig. 5-19 は、Fig. 5-12, 13 の HA, DPPC および HA+DPPC を比較した図である。

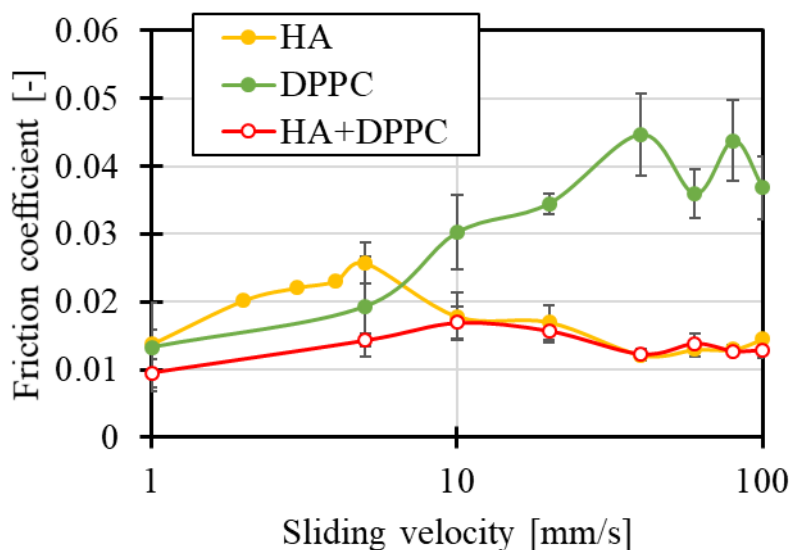


Fig. 5-19 Comparison of HA, DPPC and HA+DPPC

グラフから明らかなように、すべり速度 10 mm/s 以下では HA より DPPC の方が低い摩擦係数を示し、HA+DPPC はさらに低い結果となった。Gong らは凝着摩擦域での摩擦を、

$$f = \frac{Tv\tau_f (\tau_b/\tau_f)^2}{R_F^4 \tau_b/\tau_f + 1} \quad (5-6)$$

$$\frac{\tau_b}{\tau_f} = \exp(F_{ads}/T) \quad (5-7)$$

のように示している[17,29]。ここで、 f :摩擦応力、 T :熱力学的エネルギー ($\equiv kBT$)、 τ_b :分子鎖が吸着している時間、 τ_f :分子鎖が再度吸着するまでの時間、 v :すべり速度、 F_{ads} :凝着エネルギー、である。また、高分子鎖による弾性エネルギーは、

$$f_{el} \propto mv\tau_b \quad (5-8)$$

で表せる。ここで、 m :凝着点の数、 v :すべり速度、 τ_b :凝着している時間をそれぞれ示す。式(5-6)、(5-7)より、両親媒性分子である DPPC の吸着により凝着力が低下すると、摩擦応力が減少することが分かる。さらに式(5-8)より、HA による吸着点の減少も摩擦に寄与する高分子鎖の弾性ひずみを低減させることがわかる[21]。そして、これらの効果が複合することによって、HA+DPPC はさらに一段階低い摩擦係数になったと考えられる。一方で、すべり速度 10 mm/s 以降は、表面の相互作用よりも潤滑液の粘性がより大きく寄与する状態であるため、増粘効果のある HA と同じ挙動にシフトしたと言える。

続いてタンパク質を含む溶液の比較を Fig. 5-20 に示す。

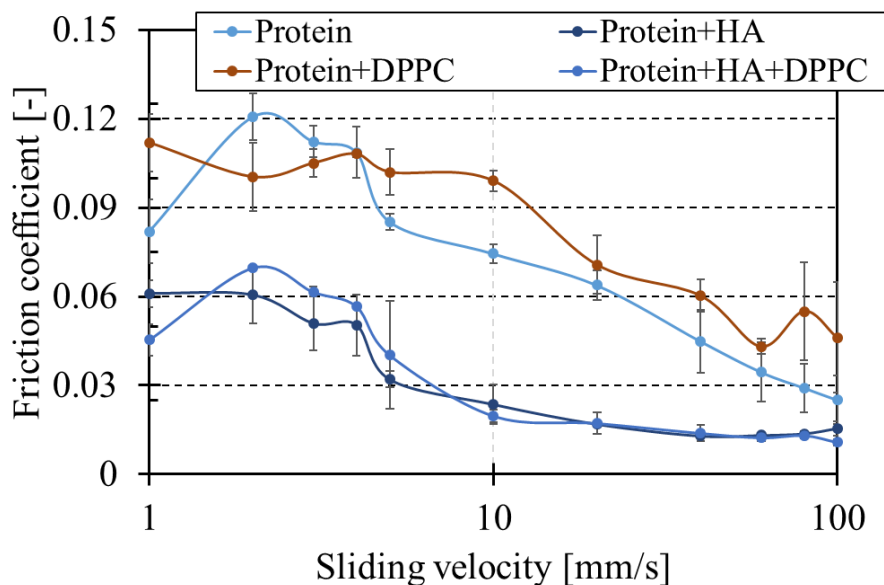


Fig. 5-20 Friction results tested in protein solutions

Protein と比べ、Protein+DPPC は高い摩擦を示した。先行研究にて、タンパク質と DPPC が凝集体を形成し、摩擦を上昇させることが報告されている[30,31]。そのため、凝集によってタンパク質の影響がより顕著になったと考えられる。一方で、HA を含む Protein+DPPC および Protein+HA+DPPC は、低速域でタンパク質に近い挙動を示したが、すべり速度 10 mm/s 以降の速度域では HA 単体と同じ挙動を示した。高速域では前述の通り、潤滑液の粘性が支配的であるため、直接粘性に寄与する HA の効果が顕著に現れたと言える。低速域ではタンパク質の凝着による影響が支配的ではあるが、式(4)の HA による高分子鎖の吸着点の減少も同時に発生するため、摩擦係数の絶対値が低下したと考えられる。なお DPPC の影響は、タンパク質と同じく表面への吸着によって発現するが、分子量や濃度の差によりタンパク質の影響の方が顕著であるため、摩擦係数としては現れなかったと推察される。

5-5. 結言

本章では、PVA ハイドロゲル上をガラスレンズが滑る一軸往復動摩擦試験を行い、サンプル間の摩擦に対する関節液成分の影響を調査した。本実験から得られた知見は以下の通りである；

- ✓ 通常の機械材料と異なり、境界潤滑領域で特有の速度—摩擦依存性が確認された。
- ✓ タンパク質を添加することにより、低速域で摩擦の増加が確認された。分析の結果、PVA ハイドロゲル表面にタンパク質の凝着が検出された。そのため、タンパク質により表面の凝着力が増加した結果、摩擦が増大した。一方で、高速域では精製水と同程度の摩擦係数となった。これは潤滑領域が境界から混合へシフトし、タンパク質の凝着および変性が抑制されたためだと言える。
- ✓ ヒアルロン酸を添加することにより、全速度域で摩擦の絶対値が低下した。低速度域ではヒアルロン酸の介在によるハイドロゲル表面の凝着力が低下、高速域では増粘効果による潤滑状態のシフトによって、それぞれ摩擦を低減させたと考えられる。
- ✓ DPPC を添加した場合、低速域で摩擦の低下が確認された。DPPC は両親媒性の分子であることから、摩擦表面へ親水部を表に出した状態で吸着し、水和層を形成することで、摩擦が低下したと考えられる。
- ✓ 成分を混合した場合、速度域に応じた各成分の潤滑効果が確認された。特にヒアルロン酸を含む場合、摩擦のレベルを全体的に低下させ、高速域では粘度の影響により、どの溶液でも同じ摩擦挙動が確認された。
- ✓ ヒアルロン酸と DPPC が共存する場合、低速域では DPPC が、高速域ではヒアルロン酸がそれぞれ潤滑機能を発揮することにより、すべての速度条件で安定して低摩擦を維持した。

参考文献

1. 笹田直. 動物関節における表面ゲル水和潤滑. トライボロジスト = JOURNAL OF JAPANESE SOCIETY OF TRIBOLOGISTS. 2007;52: 573–578.
2. Ateshian GA. A theoretical formulation for boundary friction in articular cartilage. *J Biomech Eng.* 1997;119: 81–86.
3. Dowson D, Jin ZM. Micro-elastohydrodynamic lubrication of synovial joints. *Eng Med.* 1986;15: 63–65.
4. Walker PS, Dowson D, Longfield MD, Wright V. “Boosted lubrication” in synovial joints by fluid entrapment and enrichment. *Ann Rheum Dis.* 1968;27: 512–520.
5. McCutchen CW. The frictional properties of animal joints. *Wear.* 1962;5: 1–17.
6. Radin EL, Swann DA, Weisser PA. Separation of a hyaluronate-free lubricating fraction from synovial fluid. *Nature.* 1970;228: 377–378.
7. Murakami T, Higaki H, Sawae Y, Ohtsuki N, Moriyama S, Nakanishi Y. Adaptive multimode lubrication in natural synovial joints and artificial joints. *Proc Inst Mech Eng H.* 1998;212: 23–35.
8. 中嶋和弘, 村上輝夫, 澤江義則. 人工軟骨候補材料ポリビニルアルコールハイドロゲルの摩耗評価及び耐摩耗性向上に寄与する蛋白質の影響. 日本機械学会論文集 C 編. 2004;70: 2780–2787.
9. Kobayashi M, Toguchida J, Oka M. Preliminary study of polyvinyl alcohol-hydrogel (PVA-H) artificial meniscus. *Biomaterials.* 2003;24: 639–647.
10. Oka M, Ushio K, Kumar P, Ikeuchi K, Hyon SH, Nakamura T, et al. Development of artificial articular cartilage. *Proc Inst Mech Eng H.* 2000;214: 59–68.

11. Murakami T, Yarimitsu S, Sakai N, Nakashima K, Yamaguchi T, Sawae Y, et al. Superior lubrication mechanism in poly(vinyl alcohol) hybrid gel as artificial cartilage. *Proc Inst Mech Eng Pt J: J Eng Tribol.* 2017;231: 1160–1170.
12. Ben Halima N. Poly(vinyl alcohol): review of its promising applications and insights into biodegradation. *RSC Adv.* 2016;6: 39823–39832.
13. Johnson KL, Johnson KL. *Contact Mechanics.* Cambridge University Press; 1987.
14. Dowson D, Yao JQ. Elastohydrodynamic Lubrication of Soft-Layered Solids at Elliptical Contacts: Part 2: Film Thickness Analysis. *Proc Inst Mech Eng Pt J: J Eng Tribol.* 1994;208: 43–52.
15. Cernescu A, Szuwarzyński M, Kwolek U, Wydro P, Kepczynski M, Zapotoczny S, et al. Label-Free Infrared Spectroscopy and Imaging of Single Phospholipid Bilayers with Nanoscale Resolution. *Anal Chem.* 2018;90: 10179–10186.
16. Lazar G, Ureche D, Ifrim IL, Stamate M, Ureche C, Nedeff V, et al. Effects of the environmental stress on two fish populations revealed by statistical and spectral analysis. *J Environ Eng Landsc Manage.* 2012;11. Available: https://www.researchgate.net/profile/Gabriel-Lazar-3/publication/259641327_Effects_of_the_environmental_stress_on_two_fish_populations_revealed_by_statistical_and_spectral_analysis/links/0a85e533f97f02b928000000/Effects-of-the-environmental-stress-on-two-fish-populations-revealed-by-statistical-and-spectral-analysis.pdf
17. Gong J, Osada Y. Gel friction: A model based on surface repulsion and adsorption. *J Chem Phys.* 1998;109: 8062–8068.
18. Gong JP. Friction and lubrication of hydrogels—its richness and complexity. *Soft Matter.* 2006;2: 544–552.
19. Shinmori H, Kubota M, Morita T, Yamaguchi T, Sawae Y. Effects of Synovial Fluid Constituents on Friction between UHMWPE and CoCrMo. *Tribology Online.* 2020;15: 283–292.
20. Bortel EL, Charbonnier B, Heuberger R. Development of a Synthetic Synovial Fluid for Tribological Testing. *Lubricants.* 2015;3: 664–686.

21. Nakano Y, Kurokawa T, Du M, Liu J, Tominaga T, Osada Y, et al. Effect of Hyaluronan Solution on Dynamic Friction of PVA Gel Sliding on Weakly Adhesive Glass Substrate. *Macromolecules*. 2011;44: 8908–8915.
22. Jahn S, Seror J, Klein J. Lubrication of Articular Cartilage. *Annu Rev Biomed Eng*. 2016;18: 235–258.
23. Yarimitsu S, Nakashima K, Sawae Y, Murakami T. Influence of Phospholipid and Protein Constituents on Tribological Properties of Artificial Hydrogel Cartilage Material. *Journal of Biomechanical Science and Engineering*. 2013;8: 257–267.
24. James SP, Blazka S, Merrill EW, Jasty M, Lee KR, Bragdon CR, et al. Challenge to the concept that UHMWPE acetabular components oxidize in vivo. *Biomaterials*. 1993;14: 643–647.
25. Nečas D, Sawae Y, Fujisawa T, Nakashima K, Morita T, Yamaguchi T, et al. The Influence of Proteins and Speed on Friction and Adsorption of Metal/UHMWPE Contact Pair. *Biotribology*. 2017;11: 51–59.
26. Nakashima K, Sawae Y, Murakami T. Study on Wear Reduction Mechanisms of Artificial Cartilage by Synergistic Protein Boundary Film Formation. *JSME Int J Ser C Mech Syst Machine Elements Manufact*. 2005;48: 555–561.
27. Nečas D, Vrbka M, Marian M, Rothhammer B, Tremmel S, Wartzack S, et al. Towards the understanding of lubrication mechanisms in total knee replacements – Part I: Experimental investigations. *Tribol Int*. 2021;156: 106874.
28. Nečas D, Vrbka M, Galandáková A, Křupka I, Hartl M. On the observation of lubrication mechanisms within hip joint replacements. Part I: Hard-on-soft bearing pairs. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2019;89: 237–248.
29. Tominaga T, Kurokawa T, Furukawa H, Osada Y, Gong JP. Friction of a soft hydrogel on rough solid substrates. *Soft Matter*. 2008;4: 1645–1652.
30. Sawae Y, Yamamoto A, Murakami T. Influence of protein and lipid concentration of the test lubricant on the wear of ultra high molecular weight polyethylene. *Tribol Int*. 2008;41: 648–656.

31. Hernández-Caselles T, Villalaín J, Gómez-Fernández JC. Influence of liposome charge and composition on their interaction with human blood serum proteins. *Mol Cell Biochem.* 1993;120: 119–126.

第 6 章 関節液成分による PVA の摩擦特性への影響②： コンスタントコンタクト

目次

6-1. 緒言	142
6-2. 実験方法・材料.....	142
6-2-1. 回転式レオメータの応用	142
6-2-2. 試験片	143
6-2-3. 試験条件	144
6-2-4. 分析装置	145
6-3. 実験結果	145
6-3-1. 摩擦試験	145
6-3-2. 表面観察・分析.....	148
6-4. 考察	154
6-5. 結言	159
参考文献	160

6-1. 緒言

第5章では、ガラスレンズを用いたボール-オン-プレート型の摩擦試験を行った。接触形態としては、PVA ハイドロゲルを張り付けたプレートがステージとともに動くため、ハイドロゲル上の接触点が常に移動するマイグレートコンタクトとなる。この接触形態では、関節液成分の影響に加え、くさび膜効果による流体膜形成やハイドロゲル特有の固液二相潤滑の効果など複数の潤滑機構が寄与する複雑な状態であると考えられる。特にハイドロゲルが非接触時に再水和する挙動は、潤滑特性に大きく影響を与える[1,2]。ハイドロゲルと関節液成分による潤滑特性をより詳細に検討する上で、ハイドロゲル表面および内部の再水和の影響を切り離すことは重要となる。そのため、ハイドロゲル上の接触点が移動しないコンスタントコンタクトでの評価が求められる。本章では、コンスタントコンタクト状態での摩擦試験を行い、ハイドロゲル表面と関節液成分の相互作用が及ぼす摩擦への影響を調査した。また、試験機として回転式レオメータを応用することで、ハイドロゲル特有の摩擦—速度間の依存性を広い速度域で評価した。

6-2. 実験方法・材料

6-2-1. 回転式レオメータの応用

回転式レオメータ（MCR 302 WESP, T-PTD 200, Anton Paar）を用いて、ボールオンプレート型の摩擦測定を行った。前述の通り、超低速を含む広い速度域を有することから、液体の粘性やゲルのような材料の粘弾性特性の評価に本来は用いられる。本実験では、測定部のアタッチメントを変更し、摩擦試験を行った。すなわち、シャフト先端に取り付けられたボールに対し、3枚のプレートが回転軸に対して45°方向から接触・荷重支持する構造となっている（Fig.6-1）。これにより、レオメータ本来の広い回転速度域を活かしつつ、点接触での摩擦測定が可能となる。接触点での滑り速度は $10^{-5} \sim 10^3$ mm/s の範囲で変化させることが可能である。また、荷重に関しては、回転軸方向に対して50N、接触点である45°方向にはおよそ25Nまで負荷可能である。またバスを固定するステージ下部にペルチェ素子が内蔵されており、温度管理も可能となっている。

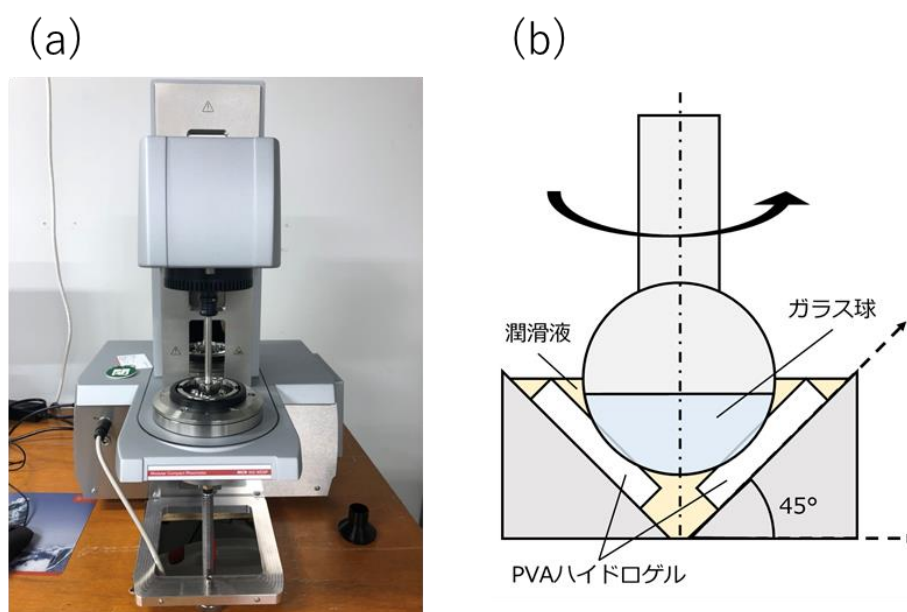


Fig. 6-1 Picture of rheometer(a) and schematic of measurement part(b)

6-2-2. 試験片

試験片として、前章と同様に、PVA 水素ゲルとガラス球を用いた。プレート試験片には、厚さ 2 mm の PVA 水素ゲルを 6*10 mm の寸法で切り出し、ポリカーボネート板 (t3*6*15 mm) 上に接着したものを用意した。ガラス球には、ソーダガラス製で直径 12.7 mm のものを用意した。

潤滑液には、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) を基剤とし、タンパク質であるアルブミンと γ -グロブリン、ヒアルロン酸、そしてリン脂質の一種であるジパルミトイルホスファチジルコリン (Dipalmitoylphosphatidylcholine, DPPC) を溶解させた溶液を使用した。組成は Table. 6-1 に記す。なお作成手順に関しては、第 3 章と同様である。また、潤滑液については、以降 HA+DPPC を H+D, Protein+DPPC を P+D, Protein+HA を P+H, Protein+DPPC を P+H+D と表記する。

Table. 6-1 Composition of test lubricants

Constituents (wt%)	PBS	DPPC	HA	Protein	H+D	P+D	P+H	P+H+D
Protein	-	-	-	1.4 + 0.7	-	1.4 + 0.7	1.4 + 0.7	1.4 + 0.7
HA	-	-	0.5	-	0.5	-	0.5	0.5
DPPC	-	0.01	-	-	0.01	0.01	-	0.01

6-2-3. 試験条件

本実験における測定部の概略図を Fig. 6-1(b)に記す。前述の通り，ボール側にガラス球，プレート側に PVA ハイドロゲルを用いた。ボール側が回転することにより，PVA ハイドロゲル上の接触点は移動することがないため，コンスタントコンタクトを実現できる。荷重は 1, 5, 10 N とし，温度は 25°C 一定とした。すべり速度に関しては，動的な条件での速度変化による影響を観察するために，連続的に $10^{-5} \sim 10^3$ mm/s の範囲で上昇させていった。また，含水性と粘弾性特性に由来する緩和挙動の影響を排除するために，摩擦試験前に 1 時間のクリープ時間を設定した。1 回の試験のフローを下記に記す。

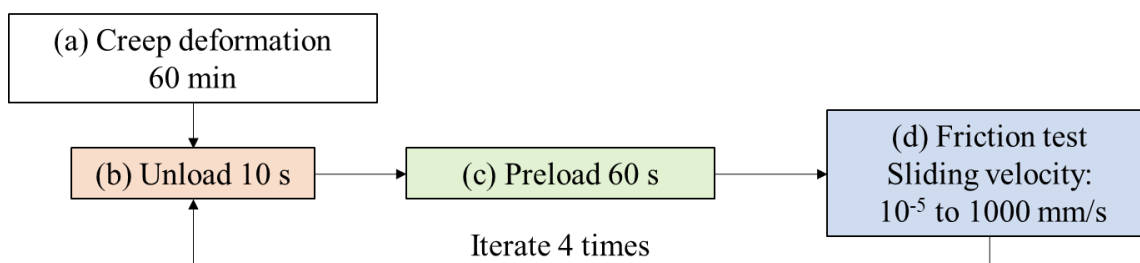


Fig. 6-2 The flow of friction test

なお，b)~c)を 4 回繰り返す，同条件・同サンプルでの再現性・変動を確認した。これを 1 試験の実験値として用い，各条件で 3 試験ずつ行った。

また，接触半径，最大接触圧力については式(5-2), (5-3)より，荷重 1 N で 1.37 mm, 0.338 MPa, 荷重 5 N で 2.05 mm, 0.755 MPa, 荷重 10 N で 2.44 mm, 1.07 MPa となった[3]。

理論膜厚についても，式(5-4)を用いて計算した[4]。計算結果を Table. 6-2 に示す。なお，PBS の粘度についてはニュートン性流体と仮定し，粘度 1 mPa*s を用いた。ヒアルロン酸溶液については，第 5 章と同様に粘度測定の結果から各すべり速度での粘度を見積もった。Table. 6-2 中の HA における各膜厚の横に計算で用いた粘度の値 (mPa*s) を記す。計算結果から，直接接触が生じている境界または混合潤滑条件であると言える。

Table. 6-2 Theoretical fluid film thickness at each condition

	PBS [μm]			HA* [μm]		
	1 mm/s	10 mm/s	100 mm/s	1 mm/s	10 mm/s	100 mm/s
1 N	0.039	0.138	0.478	0.159 (13)	0.346 (5.5)	0.731 (2.2)
5 N	0.029	0.103	0.357	0.106 (10.5)	0.226 (4.3)	0.491 (1.8)
10 N	0.026	0.091	0.317	0.088 (9.5)	0.187 (3.8)	0.420 (1.7)

*: " η " means the viscosity value used for calculation and the unit is "mPa*s".

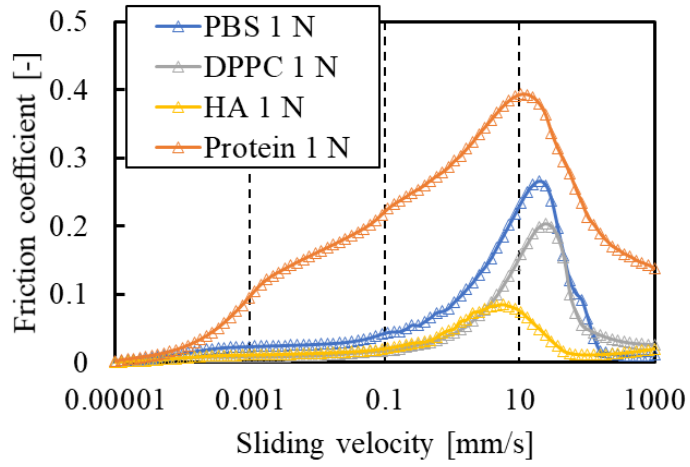
6-2-4. 分析装置

試験後のPVAハイドロゲルに対して、共焦点レーザー顕微鏡（VK-X250, Keyence）による表面観察とFT-IR分析（Thermo Fisher scientific, Nicolet iN10）による化学分析を行った。手順については、前章と同様である。

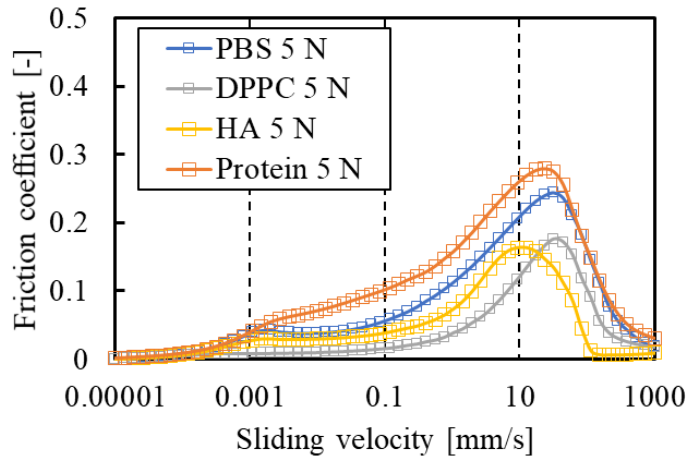
6-3. 実験結果

6-3-1. 摩擦試験

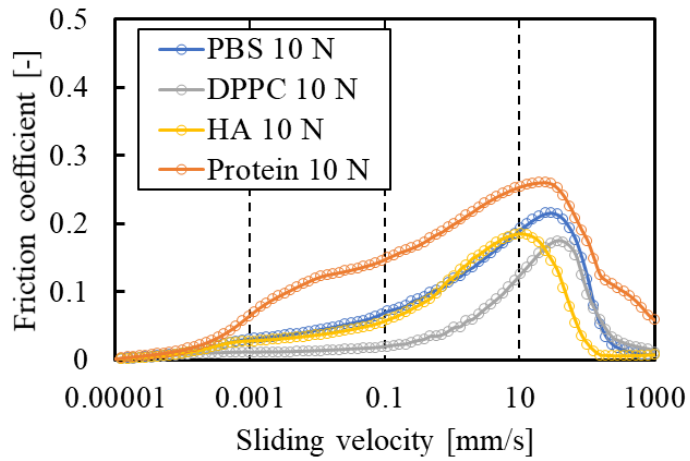
実験結果を Fig. 6-3,4 に示す。横軸に滑り速度、縦軸に摩擦係数をプロットしている。また各データは3回に平均値である。



(a) 1 N

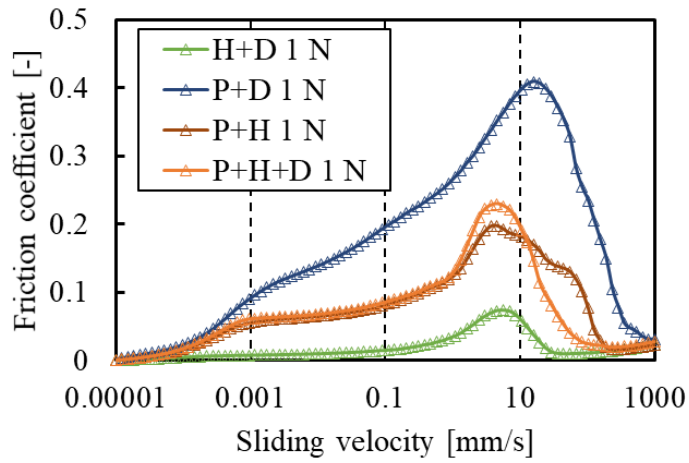


(b) 5 N

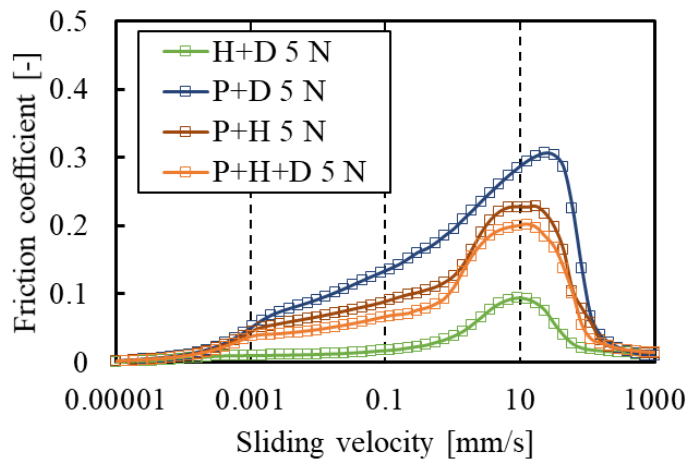


(c) 10 N

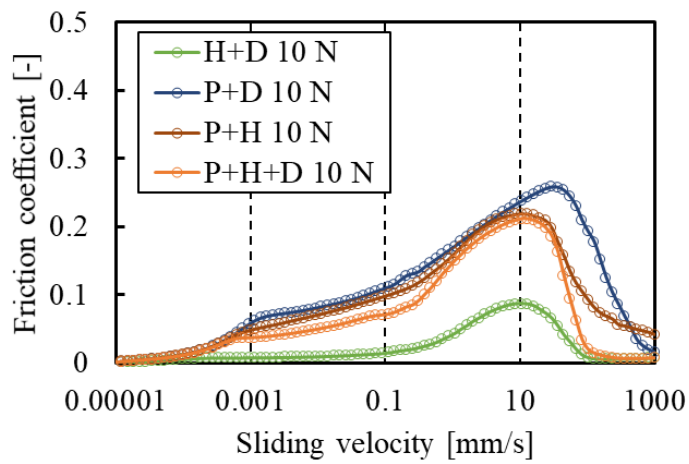
Fig. 6-3 The results of the friction coefficient function of sliding speed tested in single constituent lubricant



(a) 1 N



(b) 5 N



(c) 10 N

Fig. 6-4 The results of the friction coefficient function of sliding speed tested in a mixture of lubricant

グラフから分かる通り、成分ごとの影響が確認された。Fig. 6-3 において、PBS を基準に比較すると、どの荷重条件でも、Protein による摩擦係数の上昇が確認された。また、HA は摩擦係数を低下させたが、10 N での低速域では PBS と同程度の摩擦係数を示した。また、他の成分よりも最大摩擦を示す速度が低速で確認された。DPPC は、荷重に関わらず、低速域で特に低い摩擦係数を示した。

Fig. 6-4 において、H+D は荷重・速度に関わらず、低摩擦を示した。P+D では、Protein と同様にすべての荷重条件・速度で摩擦の上昇が確認された。ただし、荷重が増加するとともに、摩擦係数の絶対値がわずかに低下する傾向が見られた。P+H および P+H+D は、低速域では Protein に近い挙動を、高速域では HA に近い挙動をとともに示した。

6-3-2. 表面観察・分析

表面観察

共焦点レーザー顕微鏡での観察像を以下に示す。

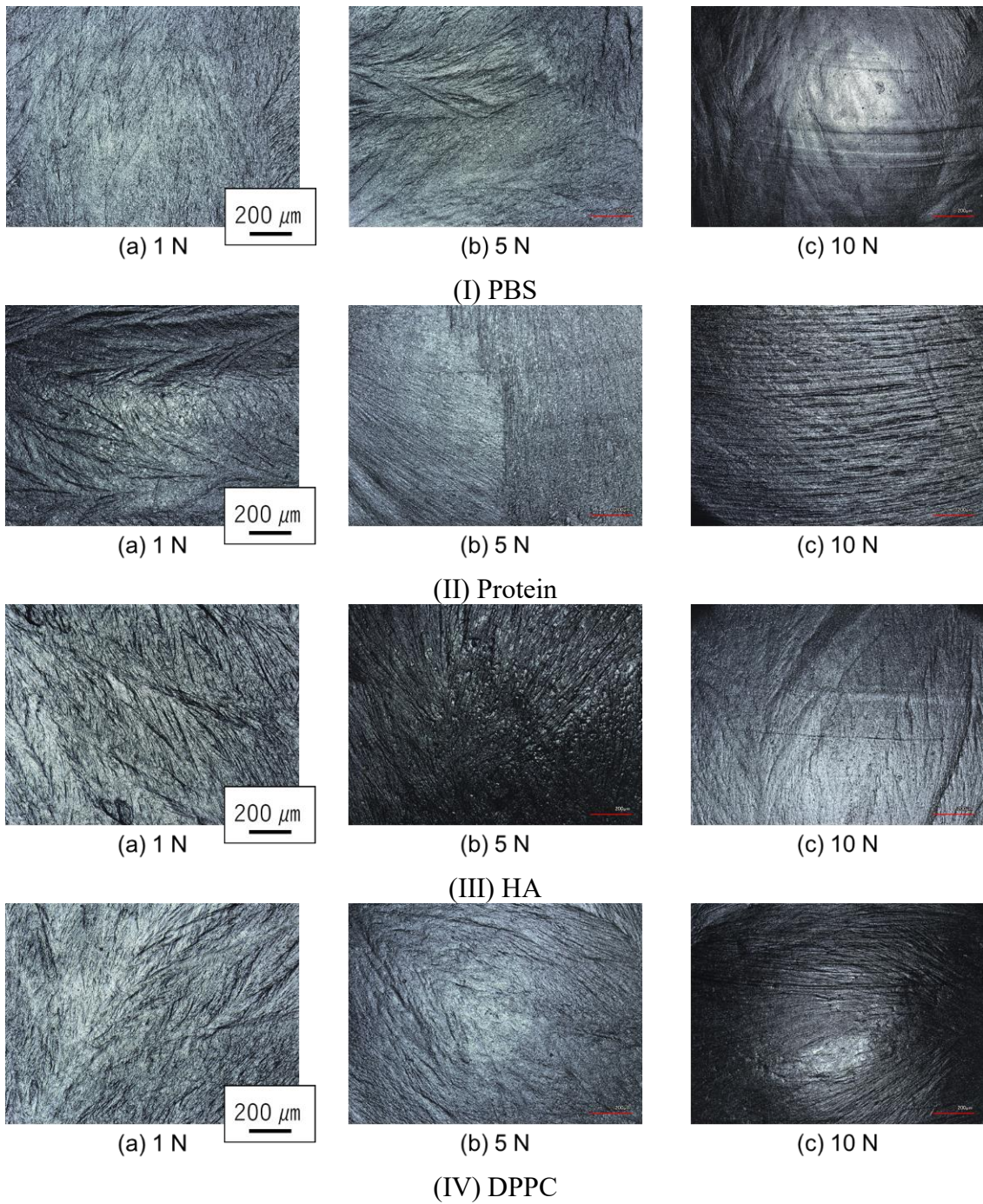


Fig. 6-5 Surface images tested in lubricant containing a single constituent

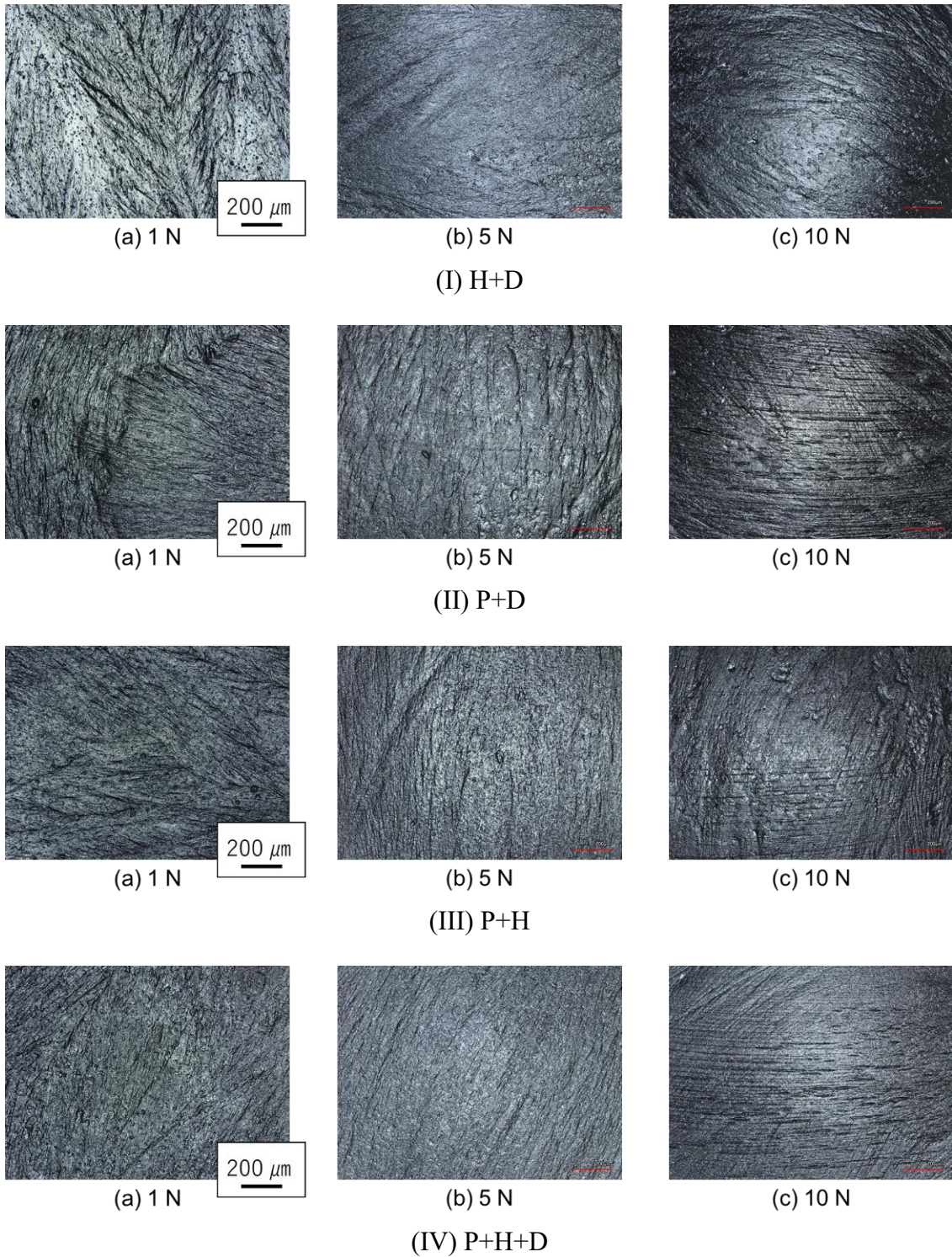


Fig. 6-6 Surface images tested in mixture lubricant

Fig. 6-5, 6 より，潤滑液成分による顕著な差は確認されなかった．一方で，荷重による影響は顕著に確認され，特に 10 N では滑り方向に平行な摩耗痕が確認された．ただし，Protein および P+D のみ 5 N でも摩耗痕が確認された．

FT-IR 分析

FT-IR による分析結果を Fig. 6-7~11 に示す．なお，Fig.6-7 は試験をしていない PVA ハイドロゲルの FT-IR の結果であり，タンパク質の吸着を見るために，Fig. 6-6 のデータを用いて差スペクトルを算出した (Fig. 6-7~10)．

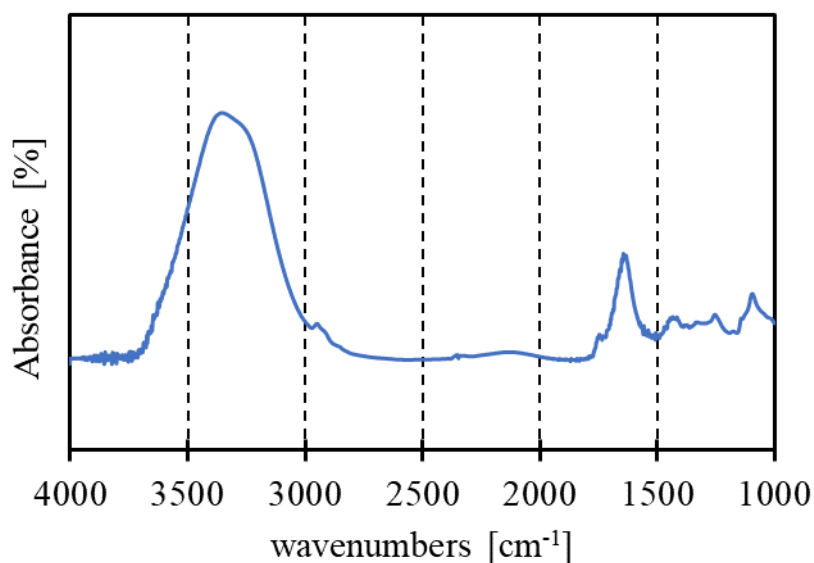


Fig. 6-7 IR spectra of PVA hydrogel

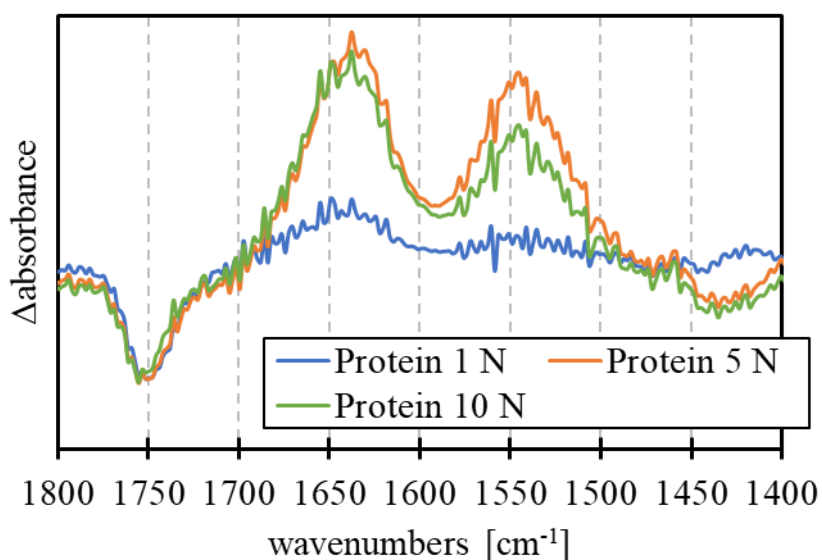


Fig. 6-8 IR spectra tested in Protein

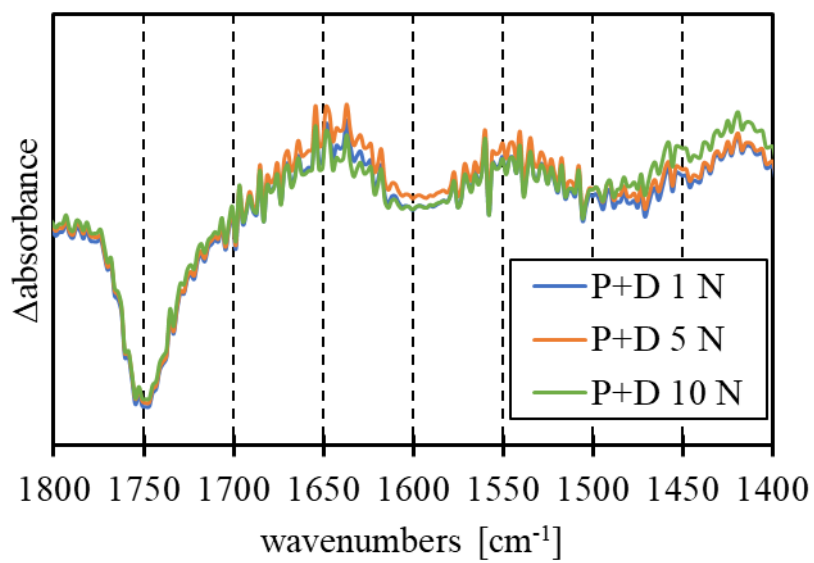


Fig. 6-9 IR spectra tested in P+D

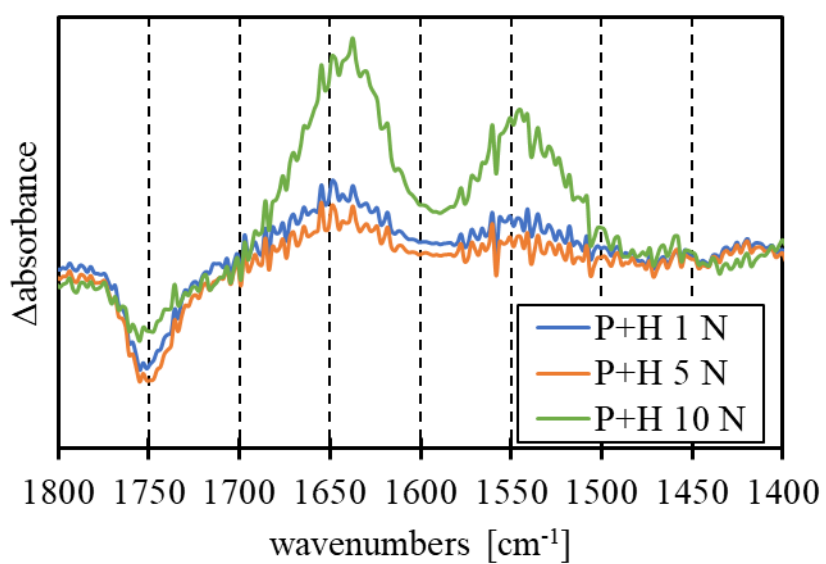


Fig. 6-10 IR spectra tested in P+H

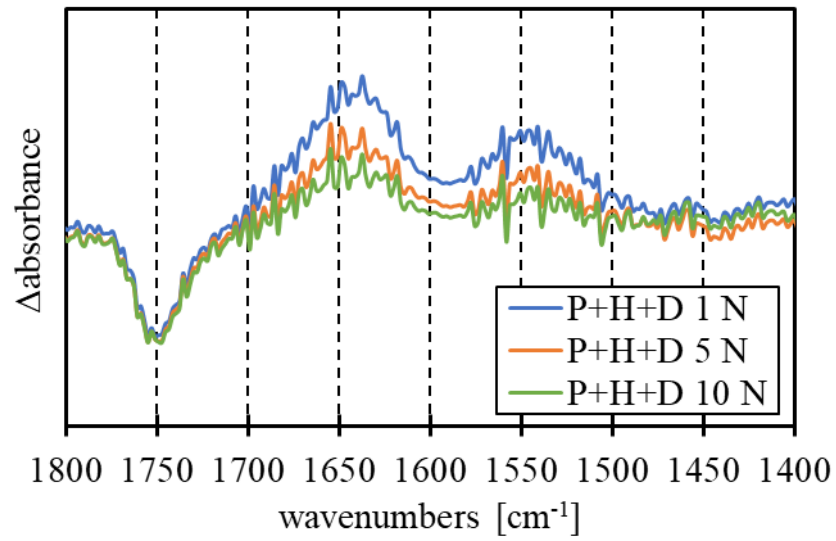


Fig. 6-11 IR spectra tested in P+H+D

第 5 章と同様に、タンパク質に由来する 1550 cm^{-1} と 1650 cm^{-1} 付近にピークが検出された。

6-4. 考察

本章では、PVA ハイドロゲルを用いて、回転式レオメータを応用した摩擦試験を擬似関節液中で行った。結果として、成分の影響と成分間の相互作用が確認された。

まず、すべての溶液条件にて、摩擦係数の最大値を境に、速度に対する相関性の変化が見られた。これは、第5章と同様に、Gongらの凝着摩擦理論で説明できる[5,6]。すなわち、低速域ではハイドロゲルの高分子鎖の脱吸着挙動と脱離するまでの伸びによる弾性ひずみにより摩擦が発生する。そして、高分子鎖の伸びは、相対速度に応じて増大するため、速度とともに摩擦係数も増大する。速度がある程度大きくなると、摩擦の起因となる吸着が再度発生ずらくなり、結果的にピークとそれ以降の摩擦の低下を引き起こす。さらに、球と平面の接触であるため、くさび膜効果による流体膜形成がすべり速度 100 mm/s 以降で確認された。

タンパク質を添加した場合 (Protein)、摩擦係数の上昇が確認された。荷重 1 N では PBS との差が顕著である一方で、荷重 5 N および 10 N と荷重が増加するにつれ差は小さくなった。試験後の表面を観察すると、荷重 5 および 10 N では摺動方向に沿った摩耗痕が観察され、特に 10 N では細かなスクラッチが多数見られた。FT-IR の結果を見ても、高荷重ほどタンパク質由来の強いピークが検出された。これらのピークは本来検出される波数よりもわずかにシフトしており、タンパク質の構造変化が生じたと考えられる[7]。したがって、タンパク質の凝着および変性が摩擦の増大を引き起こし、荷重の増加とともにタンパク質の凝着量も増加したため、摩擦のみならず摩耗も進行したと考えられる。また、摩擦係数に着目すると、ピーク以降の速度域では、PBS と近い挙動を示している。この領域は混合・流体潤滑域であると考えられ、表面間の影響よりも間に生じる流体膜の影響が摩擦に寄与している。そのため、タンパク質はあくまで表面に対して影響を及ぼしていると言える。

HA については、荷重 1 N において摩擦の低下が低速域で見られた。荷重の増加とともに HA による摩擦低下の効果が抑制され、荷重 10 N では PBS と同程度の摩擦係数を示した。しかしながら、すべての荷重条件において、すべり速度 10 mm/s 付近の低速側で摩擦係数のピークを示し、比較的低い速度で混合潤滑状態へと移行した。これについても、Gongらの凝着摩擦理論から、ヒアルロン酸の増粘効果によって低速でピーク速度を示し、潤滑状態の移行が発生したと言える[6]。また、ヒアルロン酸の分子が接触界面に介在することで摩擦が低下する

ことは、Nakano らによって報告されている[8]。試験後の表面を観察すると、荷重 10 N における摩耗痕が HA では比較的になく、ヒアルロン酸分子によって部分的に表面が保護されたと考えられる。さらに、ストライベック曲線を考えると、混合潤滑状態では粘度が高いほど低い摩擦係数を示すため、高速域においても流体潤滑への移行が早かったと考えられる。

DPPC については、低速域で摩擦の低下が確認された。この傾向は、荷重が増加しても確認され、荷重 10 N では HA よりもさらに低い摩擦係数となった。これは、DPPC が両親媒性の分子であり、ガラス・PVA 両面に親水基側を露出させ吸着膜を形成したからと考えられる。

H+D に関しては、すべての荷重条件・速度域で低摩擦を示した。この傾向は、第 5 章でも確認された。Fig.6-3, 4 を比較すると、ピーク速度より低い速度では DPPC と H+D の挙動が一致しており、特に荷重 10 N では明らかに同じ挙動を示した。また、ピーク速度以降では、HA の挙動へとシフトした。このことから、低速域では DPPC の、高速域では HA の潤滑効果によって、摩擦を低減していると言える。

タンパク質を含む溶液中では、摩擦の上昇が確認された。特にすべり速度 1 mm/s 以下の低速度域で顕著であった。しかしながら、ヒアルロン酸を含む P+H および P+H+D はピーク速度付近で PBS よりも低く、HA より高い摩擦を示した。FT-IR の結果を見ると、すべての溶液でタンパク質の吸着が確認された。また、10 N での試験後の表面より、タンパク質単体と同じ複数の摩耗痕が確認された。このことから、表面の相互作用がメインとなる低速域（境界潤滑状態）ではタンパク質が摩擦に支配的であり、ピーク速度近傍およびそれ以降では潤滑液の粘性が支配的となり、タンパク質以外の成分の影響が顕著に現れたと考えられる。

本実験では、摩擦前にクリープ時間を設けている。これは、ハイドロゲルなどの粘弾性体特有の時間に依存した変形および物性値の変動の影響を排除するためである。また、生体の関節に着目すると、軟骨表面の分子鎖が水和することによって低摩擦を実現していると言われている[9,10]。表面の水和の影響は、軟骨に限らず、ハイドロゲルでも確認されている[1,11]。固液二相性潤滑の観点から考えると、ハイドロゲル表面および内部へ水が再吸収されることは潤滑に大きく影響する。Murakami らは、PVA ハイドロゲルおよびブタの軟骨を用いた摩擦試験を行い、一定時間の除荷を与えることによって、再摩擦時の摩擦係数が実験

初期値と同等の低い値を示すことを明らかにした[12,13]. しかしながら, 本実験ではハイドロゲル上の接触点が常に一定であるため, 水和が生じにくい系となっている. 一方で, 第5章の実験系は, クリープ・表面の再水和も含めた摩擦を観察している. よって, 本実験と第5章の比較を行うことで, ハイドロゲルの再水和と摩擦の関連性を考えることができる. 比較として, Fig. 6-12~15 にそれぞれの結果を示す. なお, 完全な実験条件の統一は出来ないため, 今回は最大接触圧力が近い実験の結果を比較に用いた. 図の (M) は第5章のマイグレートコンタクト状態, (C) は本章のコンスタントコンタクト状態の結果を示す.

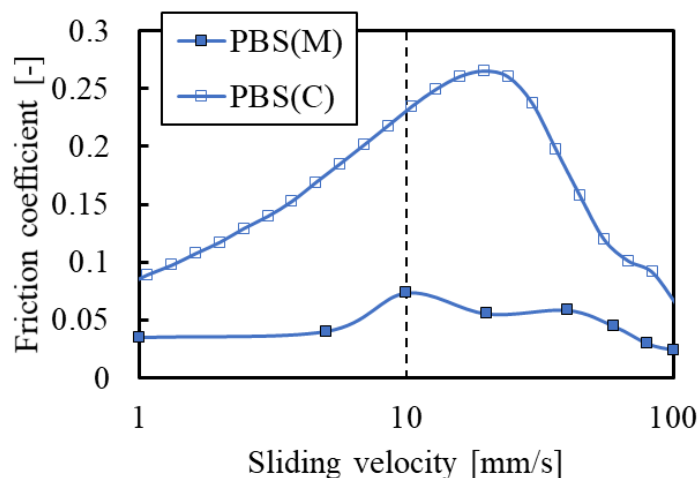


Fig. 6-12 Comparison of friction coefficient function of sliding velocity tested in PBS

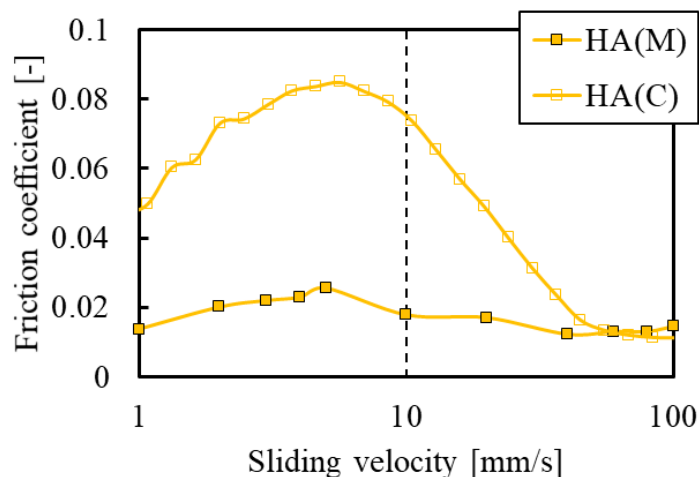


Fig. 6-13 Comparison of friction coefficient function of sliding velocity tested in HA

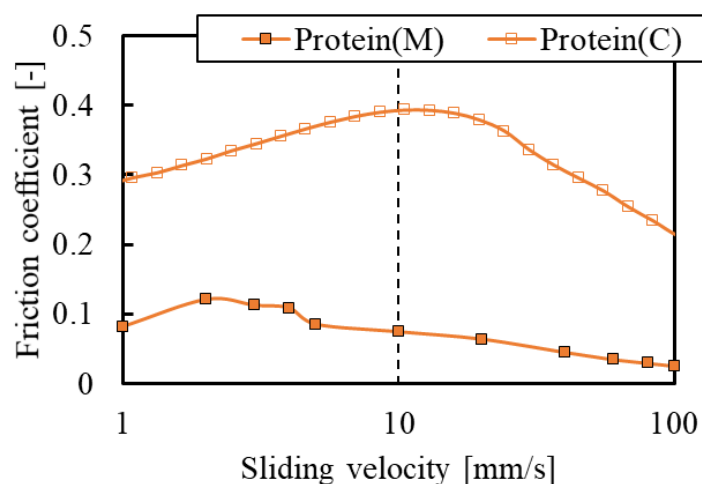


Fig. 6-14 Comparison of friction coefficient function of sliding velocity tested in Protein

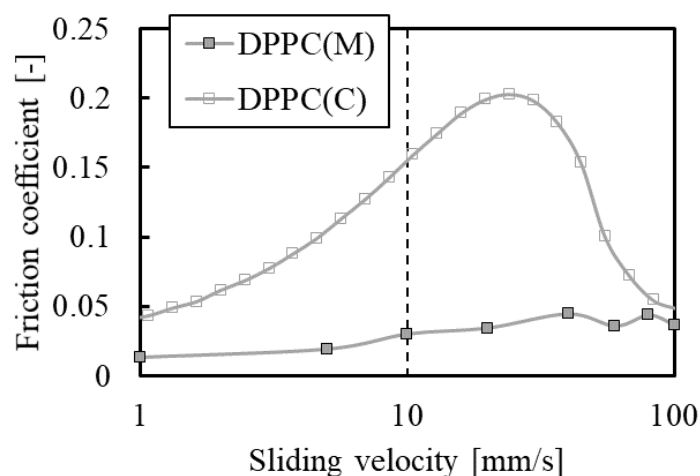


Fig. 6-15 Comparison of friction coefficient function of sliding velocity tested in DPPC

Fig.6-12~15より、どの潤滑条件でも(M)が低い摩擦係数を示した。これは接触点移動できるかどうか、すなわち再水和が可能かに由来すると考えられる。前述の通り、(C)はハイドロゲル状の接触点移動せず、かつ試験前にクリープ変形を与えている。特にクリープ変形に伴い、ハイドロゲル内部の水の流動が定常になっている。そのため、摩擦メカニズムとしては凝着摩擦理論が主として考えられる[6]。一方で、(M)は接触点常在に移動し、接触していない箇所は潤滑液にさらされる。そのため、(M)ではガラスレンズの移動とともに固液二相性に由来するハイドロゲル内部の水による荷重支持と非接触時の再水和が発生するため、低摩擦を示したと考えられる。同様の傾向は、Simicらも報告している[1]。彼らは再水和の影響を、ハイドロゲル表面の架橋密度と接触形態を変える

ことにより評価し、十分な水和が見込める接触形態では短い時間でも再水和し、低摩擦を維持することを明らかにした。これらより、(M) が低い摩擦を示した要因は、二相性潤滑および最表面の再水和であると言える。

一方で、HA や DPPC のすべり速度 100 mm/s 付近では、(M)、(C) の差が小さくなっている。これは流体潤滑状態へシフトしている遷移領域であると考えられる。そのため、水和層や固液二相性など表面からの影響が摩擦に対して低下したことを示唆する。特に HA は、すべり速度 80 mm/s 以降で摩擦係数 0.02 を示し、(M)、(C) とともに同程度となった。すなわち、ヒアルロン酸などによる粘度増加は、ハイドロゲル表面の凝着が支配的な境界潤滑域での摩擦を低下させるのみならず、流体潤滑への移行を容易にさせることを意味する。

6-5. 結言

本章では、回転式レオメータを応用して、PVA ハイドロゲルとガラス球間の摩擦に対する関節液成分の影響を確認した。特に、ハイドロゲル上の接触点を固定することで、内部の水の影響を排除した場合を着目した。得られた知見を以下に示す；

- ✓ ハイドロゲル特有の速度に応じた摩擦挙動が確認された。
- ✓ タンパク質は、ハイドロゲル表面に凝着することで、全速度域での摩擦の増大が生じた。
- ✓ ヒアルロン酸は、接触面内に介在すること、潤滑液の粘度を増加させることで、摩擦係数を低減させた。特に増粘効果によって、高速域での混合潤滑から流体潤滑への移行する速度が低かった。
- ✓ DPPC は、摩擦面に吸着膜を形成し、水和層間で摩擦が発生するため、低速域で摩擦が低下した。
- ✓ 成分を混合した場合、速度・荷重条件に応じて、成分ごとの潤滑効果が重ね合わせとして発現し、摩擦挙動を変化させた。
- ✓ ハイドロゲル上の接触点が移動するマイグレートコンタクトと比較した場合、摩擦係数のレベルに差が生じ、最大摩擦係数では2～3倍程度増加した。このことから、ハイドロゲル表面の再水和もしくは除荷により内部への水の再流入を可能にすることが、超潤滑をハイドロゲルで維持する上で不可欠である。

参考文献

1. Simič R, Yetkin M, Zhang K, Spencer ND. Importance of Hydration and Surface Structure for Friction of Acrylamide Hydrogels. *Tribol Lett.* 2020;68. doi:10.1007/s11249-020-01304-x
2. Murakami T, Sakai N, Yamaguchi T, Yarimitsu S, Nakashima K, Sawae Y, et al. Evaluation of a superior lubrication mechanism with biphasic hydrogels for artificial cartilage. *Tribol Int.* 2015;89: 19–26.
3. Johnson KL, Johnson KL. *Contact Mechanics.* Cambridge University Press; 1987.
4. Dowson D, Yao JQ. Elastohydrodynamic Lubrication of Soft-Layered Solids at Elliptical Contacts: Part 2: Film Thickness Analysis. *Proc Inst Mech Eng Pt J: J Eng Tribol.* 1994;208: 43–52.
5. Gong J, Osada Y. Gel friction: A model based on surface repulsion and adsorption. *J Chem Phys.* 1998;109: 8062–8068.
6. Gong JP. Friction and lubrication of hydrogels—its richness and complexity. *Soft Matter.* 2006;2: 544–552.
7. Nečas D, Sawae Y, Fujisawa T, Nakashima K, Morita T, Yamaguchi T, et al. The Influence of Proteins and Speed on Friction and Adsorption of Metal/UHMWPE Contact Pair. *Biotribology.* 2017;11: 51–59.
8. Nakano Y, Kurokawa T, Du M, Liu J, Tominaga T, Osada Y, et al. Effect of Hyaluronan Solution on Dynamic Friction of PVA Gel Sliding on Weakly Adhesive Glass Substrate. *Macromolecules.* 2011;44: 8908–8915.
9. Jahn S, Seror J, Klein J. Lubrication of Articular Cartilage. *Annu Rev Biomed Eng.* 2016;18: 235–258.
10. 笹田直. 動物関節における表面ゲル水和潤滑. *トライボロジスト = JOURNAL OF JAPANESE SOCIETY OF TRIBOLOGISTS.* 2007;52: 573–578.
11. Liu W, Simič R, Liu Y, Spencer ND. Effect of contact geometry on the friction of acrylamide hydrogels with different surface structures. *Friction.* 2022;10: 360–373.
12. Murakami T, Yarimitsu S, Sakai N, Nakashima K, Yamaguchi T, Sawae Y. Importance of adaptive multimode lubrication mechanism in natural synovial joints. *Tribol Int.* 2017;113: 306–315.
13. Murakami T, Yarimitsu S, Nakashima K, Sawae Y, Sakai N. Influence of synovia constituents on tribological behaviors of articular cartilage. *Friction.* 2013;1: 150–162.

第7章 総括・展望

7-1. 総括

本研究では、関節液成分が生体材料の摩擦・摩耗特性へ及ぼす影響を調査した。関節液成分としては、生体関節内で含有量が多い2種のタンパク質（アルブミン、 γ -グロブリン）、ヒアルロン酸、リン脂質の1種であるジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）を採用した。生体材料として、実際に人工下肢関節に使用されている UHMWPE と、人工軟骨材料として研究されている PVA ハイドロゲルを対象とした。UHMWPE と PVA ハイドロゲルは、どちらの材料も高分子化合物という枠組みでは同じ分類となる。しかし、材料としての大きな違いは、弾性と含水性および透水性が挙げられる。これは、UHMWPE が長いポリエチレン分子鎖のみで結晶・非晶質で構成されているのに対し、PVA ハイドロゲルはポリビニルアルコール分子鎖による網目構造内に水分子を内包する固液二相物質であることに起因する。このような材料の違いと関節液成分による摩擦・摩耗特性の違いを以下に記す。

- ✓ Protein : UHMWPE および PVA ハイドロゲル両方で摩擦・摩耗の増加が確認された。FT-IR 分析の結果、タンパク質に由来するピークも共に観測されている。しかしながら、ハイドロゲルの高速条件では、逆にわずかだが摩擦の低下が確認され、この条件では FT-IR によるタンパク質由来のピークは検出されなかった。これらより、タンパク質の変性による構造変化を伴って、内部にある疎水部分を露出することが、表面凝着および表面全体の凝着力の増加を引き起こし、摩擦や摩耗を増大させたと言える。一方で、変性が生じない、すなわち本来の親水部分を表に露出した状態では、親水部分に形成される水和層を介して摩擦を低減させる効果はあることを示唆する。これらは、摩擦材料の表面特性（親水・疎水表面）とせん断時の速度の2つのパラメータに依存すると言える。
- ✓ HA : UHMWPE および PVA ハイドロゲルともに摩擦の低下が確認された。ヒアルロン酸添加により、潤滑液の粘度増加も確認されている。UHMWPE のようにある程度の弾性率を有する場合は、混合・流体潤滑状態において、粘度増加に伴う流体膜形成が期待される。一方で、PVA ハイドロゲルに関しては、凝着摩擦理論から、境界潤滑状態である低速度域でもヒアルロン酸

分子の介在に伴い、表面全体の凝着力が低下する。これらによって摩擦が共に低下したと考えられる。

- ✓ DPPC : UHMWPE および PVA ハイドロゲルそれぞれで異なる挙動を示した。PVA ハイドロゲルでは、表面に吸着膜を形成することで特に低速域で摩擦が低下した。ハイドロゲルはもともと弾性に富んでいるため、一部は内部に拡散したとしても、リポソームの形で分散させている DPPC がハイドロゲル・ガラス表面両方に形成された吸着膜の影響の方が顕著に現れたと考えられる。そして、DPPC の親水ヘッドに存在する水和核同士で摺動することで、摩擦が低下したと言える。UHMWPE では、摩擦が増加した。PVA ハイドロゲルと異なり、UHMWPE は疎水性を示すため、溶液中のリポソームが形状を維持できなくなり、より小さな分子ユニットで液中に存在したと考えられる。これにより、表面ではなく内部への拡散に伴う可塑化が生じたと考えられる。結果として、局所的な物性が変化し、摩擦が増大した。
- ✓ P+H : UHMWPE では、Protein と同程度もしくは高い摩擦が確認された。これは、HA の増粘効果によって接触域に流入するタンパク質の量が増大したためだ。一方で、PVA ハイドロゲルでは低速域で中程度の摩擦の増加、高速度域では摩擦の低下が確認された。低速域では Protein の凝着と HA 分子の介在が競合するため、Protein の摩擦挙動を示しつつも絶対値が低下したと言える。高速度域では、HA による増粘効果および速度増加による流体膜形成が促進された結果、摩擦が低減した。
- ✓ H+D : UHMWPE は一定の力学条件で、PVA ハイドロゲルは荷重・すべり速度に依らず低摩擦・低摩耗を示した。これは、DPPC の境界潤滑膜形成および HA による流体潤滑膜形成の促進が機能した結果であると考えられる。
- ✓ P+H+D : UHMWPE の場合、Protein と近いもしくはより高い摩擦・摩耗挙動を示した。これは、P+H の効果に加え、タンパク質と DPPC が凝集体を形成することで、さらに接触域に流入するタンパク質量が増価した結果だと言える。PVA ハイドロゲルの場合、P+H と近い摩擦挙動を示した。DPPC は Protein と同じく表面に吸着することで効果を発揮するが、タンパク質の含有量が多いために、PVA 表面にはタンパク質が主に付着したと考えられる。結果として、P+H と同じ摩擦挙動になったと考えられる。

上記のように、関節液成分ごとに摩擦・摩耗への影響を及ぼす。加えて複数成分が混在する場合、特に PVA ハイドロゲルの摩擦・摩耗挙動に関しては、各関節液成分の効果の重ね合わせとして記述できる。

本研究では、種々の実験系、試験片、潤滑液をそれぞれ用いた試験を行った。これにより、1つ1つでは解明できないトライボロジー事象を、それぞれの重ね合わせとして、または共通要素を抽出することで評価することができた。特に、実験ごとの関節液成分の影響の違いは、今後より詳細な検討がひつようである。しかしながら、各実験系の力学条件・材料特性から、その違いを生み出したパラメータを抽出できたとも言える。すなわち、人工関節材料を設計するために、今後検討すべき方向性を本研究の知見として得られた。また、共通要素として得られた知見は、材料設計を行ううえで、クリアしなければならない基礎的な指標になると考える。

7-2.展望

本研究で得られた知見を踏まえ、次世代人工関節を開発する上で必要となる要素を概説する。

本研究では、関節液に含まれる生体高分子が生体材料のトライボロジー特性に及ぼす影響を調査した。その中でも、タンパク質分子の凝着及び変性がUHMWPE、PVA ハイドロゲル両材料の潤滑特性を悪化させる傾向が明らかになった。そのため、変性タンパク質の凝着を抑制することがトライボロジー特性の向上に有用であると言える。UHMWPE の場合、表面エネルギーが低く疎水性が強いため、疎水性相互作用によりタンパク質を引き付けやすい。そのため、表面改質、コーティング処理もしくは材料の変更による表面の親水化が有用である。

一方で、PVA などのハイドロゲルは親水性であるため静的な吸着は抑制できるものの、高荷重・低速度などの運動条件によって、せん断によるタンパク質の変性と凝着が生じてしまう。しかし、ヒアルロン酸など分子量の大きな成分を添加することによって、摩擦のレベルが低下することが本実験により明らかになった。そのため、Sasada らが提唱する“表面ゲル水和潤滑”機構のように、最表面の局所粘度を増加させることが有用であると考えられる。

また、ハイドロゲルは表面に存在する未架橋の高分子鎖が水和することによって、摩擦を大きく低減させている。しかしながら、十分に水和できない場合、1桁以上高い摩擦を示した。そのため、相手面にディンプルなど形成することにより、水を保持できるスペースを設けることによって、摺動中も水和が可能にすることが重要である。

上記以外にも、材料強度や設計デザインなどの刷新により、高機能化された次世代人工関節が期待される。

謝辞

本研究の遂行，ならびに本論文の執筆にあたり，終始変わらぬ懇切丁寧なご教授ならびに御指導を賜りました，九州大学大学院工学研究院・澤江義則教授に心より感謝申し上げますと共に，厚く御礼申し上げます。澤江先生には，普段の研究活動のみならず，国内外での学会発表や海外との共同研究など，大変貴重な経験を数多く積ませて頂きました。重ねて御礼申し上げます。

九州大学大学院工学研究院・工藤奨教授，九州大学大学院工学研究院・八木和行准教授には，本論文の御校閲ならびに御審査頂き，大変貴重な御意見ならびに御助言を頂きました。心より感謝申し上げますと共に，厚く御礼申し上げます。

東京大学大学院農学生命科学研究科・山口哲生准教授には，物理学の視点から多大な御助言を賜りました。厚く御礼申し上げます。

九州大学大学院工学研究院・森田健敬助教からは，本研究を遂行するために必要な実験設備ならびに分析装置の操作方法など，技術的方面で多大なる御指導，御助言を賜りました。心より御礼申し上げます。また，試験片や実験器具の加工等で大変お世話になりました，九州大学工学部技術部・渡辺秀樹技術職員に厚く御礼申し上げます。

ルレオ工科大・Nazanin Emami 教授，Julian Somberg 氏には，UHMWPE 複合材に関する研究を共同でさせて頂きました。心より御礼申し上げます。

インド工科大デリー校の Sujeet Kumar Sinha 教授，Jaswant Kumar Hirwani 氏には，SU-8 複合材に関する研究を共同でさせて頂きました。また，実際に現地での研究活動を行う機会を頂き，材料に関する理解を深めることができました。厚く御礼申し上げます。

九州大学大学院工学研究院・鎗光清道准教授には，高分子ハイドロゲルの摩擦現象の考察を進める上で，多くの御助言を賜りました。厚く御礼申し上げます。

研究生活をともにした九州大学大学院工学府・設計工学研究室の皆様には多大なる御助力を頂きました。特に，秘書の井上文子氏には事務手続き関係で多くのサポートを頂きました。ここに深く感謝申し上げます。

2023 年 1 月

新盛 弘法