

抗菌人工股関節「商標：AG-PROTEX®」(製造販売元：京セラ株式会社)

*¹佐賀大学医学部整形外科, *²佐賀大学医学部病因病態科学微生物学, *³前佐賀大学学長, *⁴京セラ株式会社

河野 俊介*¹, 馬渡 正明*¹, 宮本 比呂志*², 佛淵 孝夫*³, 野田 岩男*^{2,4}

Shunsuke KAWANO, Masaaki MAWATARI, Hiroshi MIYAMOTO, Takao HOTOKEBUCHI, Iwao NODA

1. 目的

整形外科領域における人工関節・インプラントを用いた手術は、材質、デザイン、手術法の向上により安定した成績が得られ、超高齢化社会の影響もあり、症例数は増加傾向にある。しかし、人工関節を含む生体内で使用されるすべての医療器具は、インプラント関連感染症を惹起する危険性がある。

インプラント関連感染症の特徴的な病理組織像はバイオフィーム形成であり¹⁾、恒久的な留置を前提とする人工関節では、抜去が困難な場合が多く、バイオフィーム形成や感染周囲組織の不良な血流のため抗菌薬の効果も不十分となり、感染が遷延化する。人工関節術後感染の発症率は、初回人工関節手術で0.2～3.4%、人工関節再置換術で0.5～20%程度とされており^{2)～4)}、複数回の手術加療を要することもある。その結果、重篤な機能障害が生じ、患者と医療者双方に社会的・経済的損失をもたらす重篤な合併症であるため、予防と対策が重要となるが、抗菌能を有した人工関節はほとんどないのが現況である⁵⁾。

近年、人工関節表面の細菌付着やバイオフィーム形成を阻害することを目的に、抗菌性を有する薬剤や有機系・無機系の素材を表面に付与し、インプラント自体に抗菌性をもたせた抗菌人工関節の開発が行われている^{6)～12)}。抗菌人工関節に必要な抗菌薬としては、①十分な抗菌性、②低い細胞毒性、③広い抗菌スペクトル、④耐性菌ができにくい、⑤安定した徐放性などが求められる。無機系抗菌薬は、金属イオン系や酸化チタンなどの光触媒系、酸化カルシウ

ムなどの天然鉱物系に分類され、銀や銅・亜鉛などが使用されている。強い抗菌性と広い抗菌スペクトルをもち、耐性菌が発生しにくい、高容量では毒性に注意が必要である。有機系抗菌薬は化学合成された化合物で、消毒薬としても用いられており、クロルヘキシジンなどが使用されている。広い抗菌スペクトルをもつが、抗菌性が弱く、安定性を欠き、抗菌効果の持続性、耐性菌に懸念がある。抗菌薬は感染治療に広く用いられており、バンコマイシンやアミノグリコシド系抗菌薬が使用されている。強い抗菌性をもつが、抗菌スペクトルが狭く、耐性菌の問題がある。

佐賀大学では、広い抗菌スペクトルと強い抗菌性をもち、毒性が低く、耐性菌を作りにくい無機系抗菌薬である銀に着目し、2005年より抗菌人工股関節の製品化を目的に、研究と開発を行ったので報告する。

2. 方法

銀はすでに様々な医療系材料にコーティングされ、その有効性が示されているが、高濃度の銀には毒性があり、銀皮症(argyria)や肝・腎障害には注意が必要である^{13)～19)}。抗菌人工股関節の開発に際し、許容できない銀の毒性がみられる場合には、臨床で使用することはできないため、安全性の検討を行い、抗菌性能と併せた評価を必要とした。また、人工股関節全置換術(total hip arthroplasty: THA)は、骨内に固定して長期間使用されるため、骨伝導性能・固定性能も必要とされており、従来のセメントレスTHAと同様の骨伝導性能・固着性能が得られるかの確認も必要とした。

そのため我々は、銀を人工股関節に担持させる手法を考案し、*in vitro*・*in vivo*にて、銀イオンの溶出試験、抗菌性能評価、骨固定性能評価、生物学的安全性評価を行い、最終的に臨床治験を行った。

■ 著者連絡先

佐賀大学医学部整形外科
(〒849-8501 佐賀県佐賀市鍋島5-1-1)
E-mail. shunsuke-kawano@hotmail.co.jp

3. 結果

まず、我々は、抗菌性能と優れた骨伝導性・固定性能を両立させるため、従来ある人工関節へのHA (hydroxyapatite) 溶射技術を流用し、酸化銀を混合させたHAを基材にフレーム溶射し、銀含有HA (Ag-HA) 被膜を作成した²⁰⁾。このAg-HA被膜の成分分析では、被膜中に銀成分の残存が確認された。

1) Ag-HA被膜の銀イオン溶出能評価

*in vitro*の経時的溶出試験の168時間後、繰り返し溶出試験の6回目においても、銀イオンの持続的な溶出が確認され、本コーティングは銀イオンの徐放性を有することが実証された²⁰⁾。*in vivo*では、血中銀濃度の上昇を認め、48時間後にピークを迎え、その後漸減することが確認された²¹⁾。

2) Ag-HA被膜の抗菌性能評価

*in vitro*では、まず日本工業規格であるJIS Z 2801:2010「抗菌加工製品－抗菌性試験方法・抗菌効果」に着目し、37℃のウシ血清培地を用いて疑似生体内環境下での抗菌性評価方法を開発した。Ag-HA被膜は大腸菌、黄色ブドウ球菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) に対して高い抗菌活性を有しており、生体環境下でも優れた抗菌性能を有することが示唆された²²⁾。*in vivo*では、ラット脛骨内に埋入した試験片にMRSAを接種し、24時間後、48時間後、72時間後に脛骨を摘出粉碎し、生細菌数を測定した。Ag-HA被膜の生菌数はHA被膜に比べて全期間で有意に少なく、生体内でも抗菌効果が確認された²³⁾。また、ラット皮下モデルにおいて、Ag-HA被膜のバイオフィルムの形成阻害効果も確認された²⁴⁾。

3) Ag-HA被膜の骨固定性能評価

骨固定性能評価では、Ag-HA被膜が、従来のHA被膜同様の骨固定性能が得られることを確認するため、まず、*in vitro*で骨芽細胞前駆細胞株 (MC3T3-E1) の細胞接着・分化の評価を行った。3% Ag-HA被膜の試験片上では多くの細胞が付着・増殖し、HA被膜試験片上との有意差を認めなかった。しかし、50% Ag-HA試験片上では細胞の付着・増殖が有意に低値であり、3%程度の銀濃度では問題ないものの、濃度依存的に骨芽細胞の接着を阻害させることが示唆された²⁵⁾。次に*in vivo*において、ラット脛骨内に試験片を埋植し、埋植2週間後、4週間後、12週間後の骨組織を病理組織学的に観察し、骨接触率 (%: 接触部長の合計/試験片周囲長) を測定した。3% Ag-HA被膜はHA被膜同様に新生骨の形成が確認されたが、50% Ag-HA被膜では新生骨の形成が大幅に低下していた²⁶⁾。ラット大腿骨

を用いた引き抜き強度試験においても、3% Ag-HAはHAと同等の強度を保っており²⁵⁾、Ag-HA被膜は低濃度であれば従来のHA被膜と同等の骨固定性能をもつと考えられた。

4) Ag-HA被膜の生物学的安全性試験

*in vitro*では、濃度依存的に細胞毒性が出現することが確認されており^{22),25)}、*in vivo*にて、ラット脛骨髄腔内へ試験片を埋植し、銀の臓器蓄積性の評価を行った。低濃度であれば、術後12週後も脳・肝臓・腎臓・脾臓への銀の蓄積はほとんど見られず、肝障害・腎障害も認めなかった²⁷⁾。

5) Ag-HAコーティングセメントレス抗菌人工股関節の臨床治験

in vitro, *in vivo*の評価にて、2~3% Ag-HA被膜は有効な抗菌性能と良好な骨固定性能、安全性を有することが確認されたことから、Ag-HA被膜をコーティングしたセメントレス抗菌人工股関節の臨床治験を行った。佐賀大学倫理委員会の認可 (承認番号: 0344-CT021) を得て、同意の得られた20例20股に対し、初回THAを行い、術後1年まで経過観察を行った。使用するインプラントは、既に市販されているAMS HA Cup[®]と910 PerFix Fullcoat D stem[®] (Kyocera, Japan) を基材とし、HAコーティング部分に2% Ag-HA被膜のコーティング (銀含有量: 1.9~2.9 mg) を行った。

日本整形外科学会股関節機能判定基準を用いた臨床評価では、術前47.1が術後1年85.8へ改善していた ($P < 0.01$)。単純X線評価では、カップ・ステム側ともにアライメント変化を認めず、bone ingrowthが確認され、良好な固定性を示した。血中銀濃度は、術前0.6 (0.2~2.3) ng/mlから術後1週1.4 (0.6~4.3) ng/ml、術後2週1.6 (0.7~3.8) ng/mlと術後1~2週をピークとした上昇を認め、術後1年0.6 ng/ml (0.2~2.7) で術前値まで下降し、経過期間中、正常上限14 ng/mlに比して大幅に低い値で推移していた。皮下血腫による創傷治癒遅延1例、術後脱臼を1例認めたが、argyriaや肝・腎障害などの銀関連合併症は認めなかった。既往歴、合併症から感染を引き起こす可能性が高いと考えられる患者も含まれていたが、術後感染も合併しなかった²⁸⁾。

4. まとめ

以上の試験結果を踏まえて世界初のセメントレス抗菌人工股関節が製品化され、2016年4月より使用可能となった (図1)。「抗菌人工股関節 (AG-PROTEX[®])」は、銀の毒性の問題を克服し、生体内で安全に使用することができるとともに、抗菌性能および骨固定性能を合わせもつ画期的な



図1 セメントレス抗菌人工股関節 (AG-PROTEX®)
in vitro, *in vivo*にて抗菌性, 細胞接着性, 骨形成性, 安全性が確認された2~3%の銀含有ハイドロキシアパタイト (Ag-HA) を2,700℃のフレイム溶射法にて, セメントレス人工股関節表面にフルコーティングしたインプラント。

インプラントである。抗菌人工股関節 (AG-PROTEX®) は術後の感染リスクが高い期間 (術後48時間まで) において, 早期感染の原因である術中の落下細菌・術創から侵入した細菌を殺菌することができ, 早期感染に対し抗菌効果が期待できるとともに, HA被膜のコーティングは複数年残存することが知られており²⁹⁾, 慢性感染に対しても予防効果が期待される。現在, Ag-HA被膜のコーティングが行われているのは1機種のみで, ステムのデザインバリエーションが少なく, すべての症例に使用できない点が *limitation* であるが, 今後デザインバリエーションを増やし汎用性を高めていく予定である。また人工膝関節や脊椎インプラント, 骨接合材料, 口腔内インプラントなどへの適用拡大も可能であり, これらのインプラントの術後感染予防に寄与することも期待される。

5. 独創性

「抗菌人工股関節 (AG-PROTEX®)」は, Agの抗菌性能とHAの骨固定性能を有し, Agの含有濃度を調整することで安全性も両立させた, 独創的な世界初のセメントレス抗菌人工股関節である。

謝 辞

最後に, 本稿に記載された研究成果を得るために御協力をいただいた佐賀大学医学部整形外科 園畑素樹先生, 米

倉 豊先生, 嶋崎貴文先生, 塚本正紹先生, 秋山隆行先生, 江頭秀一先生, 上野雅也先生, 京セラ株式会社 安藤嘉基氏, 水野浩彰氏に心より感謝申し上げます。

利益相反の開示

野田岩男: 京セラ株式会社職員
 その他の著者に規定されたCOIはない。

文 献

- 1) Von Eiff C, Peters G, Heilmann C: Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis* **2**: 677-85, 2002
- 2) 日本整形外科学会, 日本骨・関節感染症学会監, 日本整形外科学会診療ガイドライン委員会, 骨・関節術後感染予防ガイドライン策定委員会編: 第1章 骨・関節術後感染症予防のための疫学. 骨・関節術後感染予防ガイドライン 2015 改訂第2版. 南江堂, 東京, 2015, 11-30
- 3) Poon PC, Rennie J, Gray DH: Review of total hip replacement. The Middlemore Hospital experience, 1980-1991. *N Z Med J* **114**: 254-6, 2001
- 4) Lindgren V, Gordon M, Wretenberg P, et al: Deep infection after total hip replacement: a method for national incidence surveillance. *Infect Control Hosp Epidemiol* **35**: 1491-6, 2014
- 5) Kurtz SM, Lau E, Watson H, et al: Economic burden of periprosthetic joint infection in the United States. *J Arthroplasty* **27**: 61-5, 2012
- 6) Norowski PA Jr, Bumgardner JD: Biomaterial and antibiotic strategies for peri-implantitis: a review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **88**: 530-43, 2009
- 7) 安藤 嘉基, 宮本 比呂志, 矢田 光徳, 他: 抗菌性生体材料の開発 (インプラント感染—その予防と対策). *整・災外* **53**: 467-75, 2010
- 8) Antoci V Jr, King SB, Jose B, et al: Vancomycin covalently bonded to titanium alloy prevents bacterial colonization. *J Orthop Res* **25**: 858-66, 2007
- 9) Neut D, Dijkstra RJ, Thompson, JI, et al: A gentamicin-releasing coating for cementless hip prostheses-longitudinal evaluation of efficacy using *in vitro* bio-optical imaging and its wide-spectrum antibacterial efficacy. *J Biomed Mater Res A* **100**: 3220-6, 2012
- 10) Stigter M, Bezemer J, de Groot K, et al: Incorporation of different antibiotics into carbonated hydroxyapatite coatings on titanium implants, release and antibiotic efficacy. *J Control Release* **99**: 127-37, 2004
- 11) Nablo BJ, Prichard HL, Butler RD, et al: Inhibition of implant-associated infections via nitric oxide release. *Biomaterials* **26**: 6984-90, 2005
- 12) Shirai T, Shimizu T, Ohtani K, et al: Antibacterial iodine-supported titanium implants. *Acta Biomater* **7**: 1928-33, 2011
- 13) Klasen HJ: A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver. *Burns* **26**: 131-8, 2000
- 14) Brutel de La Riviere A, Dossche KM, Birnbaum DE, et al: First clinical experience with a mechanical valve with silver coating. *J Heart Valve Dis* **9**: 123-9, 2000

- 15) Olson ME, Harmon BG, Kollef MH: Silver-coated endotracheal tubes associated with reduced bacterial burden in the lungs of mechanically ventilated dogs. *Chest* **121**: 863-70, 2002
- 16) Gosheger G, Hardes J, Ahrens H, et al: Silver-coated megaendoprostheses in a rabbit model—an analysis of the infection rate and toxicological side effects. *Biomaterials* **25**, 5547-56, 2004
- 17) Bouts BA: Images in clinical medicine. *Argyria*. *N Engl J Med* **340**:1554, 1999
- 18) Trop M, Novak M, Rodl S, et al: Silver-coated dressing acticoat caused raised liver enzymes and argyria-like symptoms in burn patient. *J Trauma* **60**: 648-52, 2006
- 19) Hollinger MA: Toxicological aspects of topical silver pharmaceuticals. *Crit Rev Toxicol* **26**: 255-60, 1996
- 20) Noda I, Miyaji F, Ando Y, et al: Development of novel thermal sprayed antibacterial coating and evaluation of release properties of silver ions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **89**: 456-65, 2009
- 21) Shimazaki T, Miyamoto H, Ando Y, et al: In vivo antibacterial and silver-releasing properties of novel thermal sprayed silver-containing hydroxyapatite coating. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **92**: 386-9, 2010
- 22) Ando Y, Miyamoto H, Noda I, et al: Calcium phosphate coating containing silver shows high antibacterial activity and low cytotoxicity and inhibits bacterial adhesion. *Materials Science and Engineering C* **30**: 175-80, 2010
- 23) Akiyama T, Miyamoto H, Yonekura Y, et al: Silver oxide-containing hydroxyapatite coating has in vivo antibacterial activity in the rat tibia. *J Orthop Res* **31**: 1195-200, 2013
- 24) Ueno M, Miyamoto H, Tsukamoto M, et al: Silver-Containing Hydroxyapatite Coating Reduces Biofilm Formation by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* In Vitro and In Vivo. *Biomed Res Int* **2016**: 8070597, 2016
- 25) Eto S, Miyamoto H, Shobuike T, et al: Silver oxide-containing hydroxyapatite coating supports osteoblast function and enhances implant anchorage strength in rat femur. *J Orthop Res* **33**: 1391-7, 2015
- 26) Yonekura Y, Miyamoto H, Shimazaki T, et al: Osteoconductivity of thermal-sprayed silver-containing hydroxyapatite coating in the rat tibia. *J Bone Joint Surg Br* **93**: 644-9, 2011
- 27) Tsukamoto M, Miyamoto H, Ando Y, et al: Acute and subacute toxicity in vivo of thermal-sprayed silver containing hydroxyapatite coating in rat tibia. *Biomed Res Int* **2014**: 902343, 2014
- 28) Eto S, Kawano S, Someya S, et al: First clinical experience with thermal-sprayed silver oxide-containing hydroxyapatite coating implant. *J Arthroplasty* **31**: 1498-503, 2016
- 29) 堀内 忠一, 浜田 良機, 中島 育昌, 他: アパタイトコーティングシステムの長期固定性に関する実験的研究. *日整会誌* **66**: 1137, 1992