ヒアルロン酸水溶液の潤滑性能に及ぼす電場の効果*

中西義孝^{*1}, 村上輝夫^{*2}, 日垣秀彦^{*2}Effects of Electric Field on Lubricating Ability
of Sodium Hyaluronate Solution

Yoshitaka NAKANISHI, Teruo MURAKAMI and Hidehiko HIGAKI

The effects of an electric field on lubricating ability of sodium hyaluronate solution was examined using a reciprocating friction tester for a sliding pair of a conductive silicone rubber cylindrical surface and a stainless steel plate. Lubricants were water or saline solutions with different concentrations of sodium hyaluronate (HA). Remarkable decrease in friction was observed with externally applied low frequency alternating current (AC3V, $f=10$ Hz, sinusoidal wave) in comparison with high frequency alternating current. The changes in tangential force showed that the externally applied voltage in the mixed lubrication region was capable of shifting the lubrication mode to a milder condition. Under the same applied voltage condition, water solution lubricants were more sensitive to an electric field than saline solution lubricants. These results suggest that adsorption to friction surfaces and movement of HA dissociated in a lubricant between surfaces appear to be controlled by an electric field.

Key Words: Tribology, Friction, Lubrication, Biomechanics, Electric Field, Sodium Hyaluronate, Mixed Lubrication

1. 緒言

生体関節は、主に関節軟骨の弾性変形ならびに関節液の粘性効果に基づくソフトEHL⁽¹⁾やマイクロEHL⁽²⁾を含む流体潤滑を行う一方で、十分な厚さの流体潤滑膜の形成が困難となる過酷な条件下では、境界潤滑や滲出潤滑等⁽³⁾の潤滑モードが協調的に機能する「多モード適応潤滑」^{(4),(5)}機構を有する低摩擦・長寿命の優れたトライボシステムである。しかしながら、変形性関節症や関節リウマチ等の関節疾患によりこのシステムが破綻した場合、関節液の粘度低下により、関節潤滑は非常に厳しいモードへと推移し、ついには境界潤滑膜の破綻をきたすとともに、関節の運動機能障害ならびに疼痛が発生する。これらの症状の緩和を目的として、関節腔へのヒアルロン酸投与が臨床応用されており、関節液の粘性を支配するヒアルロン酸の潤滑効果についても精力的な研究⁽⁶⁾がなされている。また、症状がさらに悪化している症例に対しては人工関節置換術が適用され、症状の緩和、除去に顕著な成果を挙げている。しかしながら一方で、前者において

は投与効果の持続性に問題があり、後者においては、緩みや摩耗の発生等、トライボロジーに関連した現象が原因で抜去される症例も生じており、両者とも改善すべき点が存在することは否めない。

著者らは、関節液および軟骨表面の構成成分に着目した実験的評価により、蛋白成分とリン脂質が関節における境界潤滑性を向上^{(7),(8),(9)}させること、ならびに生体内の電気現象が関節潤滑、特に境界潤滑に重要な影響を与えている可能性を示唆⁽¹⁰⁾した。摩擦面間の電気現象に関して、Zakiら⁽¹¹⁾は摩擦面間のファンデルワールス力や摩擦面表面の電気二重層に着目し、牛の関節軟骨および生体材料間のピン-オン-プレート往復動試験を行い、摩擦面間に印加した直流電場が摩擦挙動に影響を与えることを報告している。また、山本ら^{(12),(13)}は摩擦面間への電圧印加が、表面膜形成、なじみ過程、さらに摩擦摩耗特性に影響を与えることを報告し、電圧印加による摩擦摩耗特性のアクティブ・コントロールの可能性について論じている。

本報では、これらの見地に基づき、関節軟骨と同程度の弾性率を有する導電性材料を摩擦材として選び、ヒアルロン酸水溶液潤滑での摩擦挙動を観察する。また、摩擦面間の電場がヒアルロン酸水溶液の潤滑性能にどのような効果を与えるかについて、摩擦実験なら

* 原稿受付 1995年10月13日。

^{*1} 准員、九州大学大学院 (〒812 81 福岡市東区箱崎6-10-1)。^{*2} 正員、九州大学工学部。

びに摩擦面の観察に基づき検討する。

2. 実験方法

2・1 実験装置および試験片 実験に用いた往復動摩擦試験機の概略を図1に示す。上部試験片は半径20 mm、幅15mmのSUS316円筒面に関節軟骨とはほぼ同程度の弾性率 ($E=9.1\text{MPa}$) を有する厚さ3 mmの導電性シリコンゴムを張り付けたものを、下部試験片には鏡面仕上げ ($R_a=0.04\text{ }\mu\text{m}$) を施したSUS316平面を用いた。両試験片とも実験開始前にエチルアルコール洗浄を行い、19.6Nの一定荷重を負荷後、駆動装置により下部試験片を周期4秒、ストローク20mmで正弦波状往復運動をさせた。感圧紙により接触面積を求め見積もった滑り方向の接触幅は約4mm、平均摩擦面圧は約0.3MPaであった。これは歩行時にみられる高面圧と比較すると低めの面圧であるが、平均速度10mm/sであり、十分な流体潤滑膜の形成には厳しい条件である。実験中の摩擦係数は、ひずみゲージにより計測した上部試験片の各ストローク中の接線力の最大値を10ストローク分平均し、垂直荷重で除すことにより計算した。実験時間は60分であり、導電性シリコンゴムのクリープ変形や摩擦面間のなじみを考慮に入れ、30分間なじみ運転を行い、その後30分間摩擦面間に電場を与えた。印加交流電圧（特に記述がない場合は正弦波形）は1.5Vもしくは3Vに設定した。各実験において印加交流電圧の周波数や出力波形を変化させることにより、それらが摩擦係数および潤滑状態の変化に与える影響について検討した。また比較として、上部試験片を基準電位とし、下部試験片に正もしくは負の電位の直流電圧を与える実験も行った。

2・2 潤滑液 実験に用いた潤滑液は0.5wt%、1.0wt%ヒアルロン酸ナトリウム（鶏冠製、分子量 8.8×10^5 、以下HAと略す）水溶液ならびに0.8wt%HA生理食塩水溶液である。図2にHAの構造式を示す。HAはグルクロン酸のナトリウム塩とN-アセチルグルコサミンがエーテル結合により縮重合した直鎖状の高分子多糖である。弱酸と強塩基の塩であるため、溶媒中では、溶液温度ならびに溶液を構成する各溶質の濃度により決定される特定の電離度をもって電離する。よって、HA全体としては負の電荷を帯びていると考えられる。実験に用いたHA溶液ならびに関節液の粘度を、コーンプレート粘度計により測定した結果（実験室温20℃）を図3に示す。なお、関節液は生後6カ月の関節疾患の観察されなかった豚群から屠殺直後に採取した。HA溶液は豚関節液と比較し、せん断速度依存性は低い。本条件のすべての潤滑液で非ニュートン性を示すことが観察された。また、同じHA濃度

Fig. 1 Schematic representation of reciprocating friction tester

Fig. 2 Structure of sodium hyaluronate (HA)

Fig. 3 Viscosity of water solution of HA

でも生理食塩水溶液の方が水溶液と比較し相対的に粘度が低くなり、0.5wt%HA水溶液と0.8wt%HA生理食塩水溶液がほぼ同じ粘度を示すことが観察された。この原因として、溶媒中のナトリウムイオン等のイオン濃度の違いによるHA溶質の電離度変化等⁽¹⁴⁾が考えられるが詳細については不明である。

2・3 摩擦面付着物の同定 摩擦面への付着物としては、潤滑液溶質であるHAが考えられる。ゆえに、実験終了後の付着物を確認するために次のような実験を行った。まず、蒸留水で洗浄した下部試験片をHA

分解酵素であるヒアルロニターゼ (20unit/ml, pH 5.0 酢酸緩衝液) 水溶液に15分間浸漬させた。次に、蒸留水で再び洗浄・自然乾燥させた後、下部試験片表面の水の接触角を測定した。また、比較としてヒアルロニターゼ水溶液の代わりに酢酸緩衝液を用いて同様の測定を行い、両処理方法による水の接触角の変化を比較・検討した。

2・4 摩擦面観察および摩擦面付着物付着量の測定

摩擦面での付着物の状態を観察するため、実験終了後の下部試験片を蒸留水で洗浄・自然乾燥させ、原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscope ; AFM) で観察した。また、付着量を調べるため同様の処理を施した試験片表面の水の接触角を測定した。

3. 結果および考察

3・1 電圧印加による摩擦係数への影響 0.5wt %HA水溶液潤滑において、電場が摩擦係数に及ぼす影響を図4に示す。直流電圧印加の場合、+3Vでは印加直後、摩擦係数が急激に減少し、-3Vでは、印加初期に摩擦係数が上昇する傾向が観察された。この現象は、同じ部分が常に接触している上部試験片に対し、表面膜形成が比較的容易である下部試験片の表面状態を反映しているものと考えられる。すなわち、下部試験片に正電位もしくは負電位を印加することにより、

負に帯電する傾向にあるHAが、吸着もしくは遊離され、潤滑膜形成に影響を及ぼしたと推測される。しかしながら、この現象は永続的なものではなく、両者とも時間が経過するにつれ、なじみのレベル程度まで摩擦係数が徐々に推移する傾向が観察された。また、+3V印加においては、HA水溶液の褐色への変色とともに下部試験片の非摩擦面に直径0.5mm程度のエッチピットが発生^{(11),(15)}した。また、そのエッチピット部にはSUS表面からの溶出物を取り囲むようにゲル化した高濃度HAが吸着しているのが目視観察により認められた。これらはSUS316表面で腐食作用が起きていることを示すものである。

交流電圧印加の場合、低周波域では電圧印加直後に急激な摩擦係数の減少が統計的有意差 (t 検定, $p < 0.005$) をもって観察されるとともに、印加時間の経過に伴い摩擦係数が徐々に減少する傾向が見られた。しかし、1kHzよりも高い周波数条件では、印加直後に摩擦係数が若干上昇するだけで、電場によると考えられる低摩擦化は観察されなかった。低摩擦化が顕著であった印加条件 (3V, $f=10\text{Hz}$) での上部試験片と下部試験片の相対運動、ならびに接線力の測定例を図5に示す。図のように、往復動試験における接線力は作動条件により複雑な挙動を示す^{(16),(17),(18),(19)}。実験2分後 (図5(A)) には、ストロークエンド付近で接線力のピークが発生しているが、時間の経過とともにそ

Fig. 4 Influence of externally applied voltage on frictional behavior

Fig. 5 Influence of externally applied voltage on tangential force

のピークは小さくなり、30分後（図5(B)）ではほとんど見られなくなることが観察された。また、上部試験片である導電性シリコンゴムの表面を実験終了後に観察すると目視レベルの摩耗痕が確認された。以上の結果より、実験開始から30分間の接線力波形の変化は、摩擦運動時間の経過とともに、上部試験片の表面がなじみ形状となること、言い換えれば、潤滑膜厚さ (h) と合成表面粗さ (σ) の比である膜厚比⁽²⁰⁾ ($\Lambda = h/\sigma$) が徐々に大きくなっていることを推測させる。電圧印加開始から2分後の32分（図5(C)）では、電場の影響と思われる接線力の低下が観察された。しかし、この時点では、なじみ運転中と同様、同一方向の滑り運動中に接線力の大きな変動が観察され、混合潤滑域でのスティックスリップ現象の発生が推察される。印加開始から30分後の60分（図5(D)）では接線力変動が小さくなるとともに、全体的な接線力波形は流体潤滑の波形に類似していることが観察された。これらの結果より、混合潤滑領域において摩擦面間へ低周波交流電場を印加することにより、潤滑状態が改善され、摩擦条件をよりマイルドな方向へ推移させることが示唆された。なお、3Vの交流印加条件下ではSUS316上にはエッチピットは観察されなかった。

3・2 摩擦面付着成分の同定 電場無印加と印加（3V, $f=10\text{Hz}$ ）で実験を行い、ヒアルロニターゼ処理を施した下部試験片の水の接触角の変化を図6に示す。酢酸緩衝溶液処理どうして比較した場合、摩擦面・非摩擦面ともに電場無印加よりも印加の方が相対的に水の接触角が低下することが観察された。

Fig. 6 Influence of treatment with hyaluronidase on contact angle of water on lower specimens

また、印加条件に関わらず、摩擦面の水の接触角は、非摩擦面より低い値を示した。これは、摩擦が関与することにより親水性の膜が摩擦面に形成されることを推測させる。ヒアルロニターゼ処理を行った下部試験片表面は両印加条件ともに、酢酸緩衝溶液処理に比べ摩擦面・非摩擦面間の水の接触角の差が小さくなった。これは下部試験片表面の親水性の膜の主体がHAであることを示唆している。

3・3 摩擦面へのHA付着量と摩擦係数の関係 実験終了後の下部試験片の水の接触角の測定結果を図7に示す。交流電場印加の場合、150Hz以下では、非摩擦面に比べ摩擦面の方が水の接触角が小さく、摩擦面へのHA吸着量が多いことが推測される。しかしな

がら、摩擦面・非摩擦面の接触角の差は、10Hzよりも150Hzの方が大きかった。直流電圧印加の場合、特に+3Vの条件では、摩擦面の接触角が小さく、HA吸着量が多いことが推測されるにも関わらず、摩擦係数の低下は低周波交流電圧印加時に比べ小さい。以上の結果は摩擦面へのHA吸着量と摩擦係数の低下は必ずしも比例せず、低摩擦状態を実現、維持するために最適となる摩擦面へのHA吸着量もしくは摩擦面の表面電荷密度⁽²⁾が存在することが考えられる。また、これらの制御に交流電場の周波数が何らかの影響を及ぼしていることが推測される。

Fig. 7 Contact angle of water on lower specimens after friction tests (water solution of HA)

Fig. 8 Atomic force microscope (AFM) images of lower specimens after friction tests

3・4 原子間力顕微鏡による摩擦表面観察 実験終了後に蒸留水洗浄および自然乾燥処理を施した下部試験片の表面状態を原子間力顕微鏡で観察した結果を図8に示す。電圧無印加ならびに印加の摩擦領域において、実験前の表面で観察された表面粗さが不明瞭となっている。これは潤滑液溶質成分であるHAがSUS表面に吸着しているためと考えられる。直流電場どうしで比較した場合、+3V印加の非摩擦面(図8(g))に直径 $2\mu\text{m}$ 程度の付着物が存在し、その周辺は平滑であるのに対し、他の条件(図8(d),(e),(h))では直径がサブミクロン以下の吸着物が多数存在していることが観察された。+3V印加非摩擦面での現象は、目視では観察されなかったミクロなエッチピットの発生によるものと考えられる。すなわち、周囲よりも電気抵抗が小さな新生面への局所的なHA吸着現象と推測される。一方、無印加および直流電場印加と比較し、交流電圧印加の場合(図8(f))には均一なHAの吸着が観察された。以上のことから、摩擦面間に低周波交流電場を印加することにより、低摩擦化に理想的と考えられる均一なHA吸着膜が形成されることが推測される。

3・5 潤滑液粘度が潤滑性能に与える影響 摩擦条件ならびに摩擦面へのHA吸着量を変化させるため高粘度の潤滑液として1.0wt%HA水溶液を用いた場合の実験結果の一部を図9に示す。実験開始初期(図9(A))において、0.5wt%HA水溶液潤滑時に見られたストロークエンド付近での大きな接線力が観察されなかった。これは潤滑液の粘度上昇による膜厚比の増大

を意味する。しかしながら低周波交流電場(3V, $f=10\text{Hz}$)を印加することにより、0.5wt%HA水溶液潤滑時と同様の接線力波形の推移と、低摩擦化の実現・維持が観察された。この結果は、電場の効果が比較的幅広い混合潤滑領域に表れることを示唆する。

3・6 溶媒が潤滑性能に与える影響 潤滑液をより生理的条件に近い0.8wt%HA生理食塩水溶液にした場合の実験結果を図10に示す。潤滑液粘度を含むすべての実験条件が0.5wt%HA水溶液潤滑実験と同じであることより、両実験の潤滑状態はほぼ同じであると考えられる。周波数10Hzの1.5V, 3V印加において印加直後から摩擦係数が徐々に減少し、印加開始から30分後は印加前と比べ統計的有意差をもって摩擦係数の減少が観察された。しかし、電場によると考えられる摩擦係数の変化は、HA水溶液潤滑の結果と比較すると小さくなっている。この原因として、溶媒として用いた生理食塩水に含まれるナトリウムイオンや塩素イオンはHAに比べ電場の影響を受けやすいこと、ナトリウム塩であるHAの電離度が蒸留水を溶媒としたときに比べ小さくなり、HA全体としての極性が小さくなったこと等が考えられる。また、後者は図3で示した生理食塩水を溶媒とした場合の粘度低下の原因とも共通点があると考えられる。図11に実験終了後の下部試験片の水の接触角の測定結果を示す。接触角は電場無印加を含めた各条件で非摩擦面よりも摩擦面の方が接触角が小さく、下部試験片にHA吸着膜が形成されていることが推測される。しかしながら、電圧印加条件とHA吸着量との間に明解な関連性は認めら

Fig. 9 Influence of externally applied voltage on tangential force (high viscosity HA solution)

Fig. 10 Influence of externally applied voltage on frictional behavior (saline solution of HA)

れなかった。また、非摩擦面における接触角は水溶液潤滑（図 7）と比較し、相対的に大きくなっていることも観察された。水の接触角の変化は潤滑液中のナトリウムイオン、塩素イオンならびに HA 溶質が摩擦面間電場によって受けた複雑な相互作用の結果とみなされ、詳細な解析については更なる研究を要する。

3・7 交流電場波形の変化が潤滑性能に与える影響

図 12 に印加交流電場に矩形波形を用いた場合の実験結果を示す。同じ摩擦条件で正弦波交流電場を印加した場合とは対照的に、印加直後に摩擦係数が若干増加するのみで、低摩擦化の現象は確認されなかった。この原因として、矩形波形は正弦波形のように滑らかに極性が変化しないため、摩擦面間に定常的な潤滑状態を形成できなかったためではないかと考えられる。

これまでの実験結果により、ヒアルロン酸ナトリウム水溶液の潤滑性能を向上させる電場は、電位が時間に対して絶えず変化し、その変化パターンは長周期正弦波形のような電位の時間微分値が小さいものが適していると推察される。

4. 結論

導電性シリコンゴムと SUS316 の摩擦試験において、混合潤滑領域の摩擦面間に正弦波交流電場（3 V, $f=10\text{Hz}$ ）を印加することにより、ヒアルロン酸ナ

Fig. 11 Contact angle of water on lower specimens after friction tests (saline solution of HA)

Fig. 12 Influence of square wave on frictional behavior

リウム水溶液の潤滑性能が向上することが明らかとなった。

最後に試料を提供いただいた生化学工業(株)、福岡市食肉衛生検査所関係各位ならびに原子間力顕微鏡による摩擦表面観察にご協力いただいた九州大学中央分析センター関係各位、九州大学大学院生の澤江義則氏に謝意を表する。なお、本研究は文部省科学研究費(一般研究(B) 07458237、試験研究(B) 07558256)の交付を受けて実施したことを付記する。

文献

- (1) 池内・ほか3名, 機論, 47-420, C(1981), 1046-1053.
- (2) Dowson, D. and Jin, Z. M., Engng. Med., 15, 2, (1986), 63-65.
- (3) Mow, V. C. and Soslowsky, L. J., Basic Orthopaedic Biomechanics, Raven Press, Ltd., New York, (1991).
- (4) T. Murakami, JSME Intem. J., Series III, 33-4, (1990), 465-472.
- (5) T. Murakami, N. Ohtuki and H. Higaki, Thin Films in Tribology, (1993), 637-682, Elsevier.
- (6) K. Mabuchi, Y. Tsukamoto and T. Yamaguchi, J. Biomed. Mater. Res., 28, (1994), 865-870.
- (7) 日垣・ほか3名, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 16, (1995), 369-374.
- (8) H. Higaki, T. Murakami and Y. Nakanishi, Proc. 4th CJUS Conf. Biomechanics, (1995), 154-157, International Academic Publishers.
- (9) 日垣・ほか2名, 機論, 61-588, C(1995), 3396-3401.
- (10) 中西・ほか2名, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 16, (1995), 375-379.
- (11) Zaki, M. and Dowson, D., Mixed Lubrication and Lubricated Wear, (1985), 230-236, Butterworth.
- (12) 山本・ほか2名, 機論, 57-540, C(1991), 2734-2739.
- (13) 山本, トライボロジスト, 38-8, (1993), 678-684.
- (14) 村上・ほか2名, 機講論, 95-25, (1995), 63-64.
- (15) 予・ほか3名, 生体材料, 11, 1, (1993), 27-35.
- (16) F. Hirano and M. Kaneta, Proc. 5th Intem. Conf. Fluid Sealing, (1971), G2-17 - G2-32, BHRA.
- (17) F. Hirano and M. Kaneta, Proc. 5th Intem. Conf. Fluid Sealing, (1971), G3-33 - G3-48, BHRA.
- (18) F. Hirano and T. Murakami, Proc. 7th Intem. Conf. Fluid Sealing, (1975), C4-51 - C4-70, BHRA.
- (19) 村上, 潤滑, 29, 5, (1984), 339-342.
- (20) Johnson, K. L., Greenwood, J. A. and Poon, S. Y., Wear, 19, (1972), 91-108.
- (21) 片岡・ほか3名, 生体適合性ポリマー, (1988), 共立出版.