

アパタイト核を用いた生体活性硬組織インプラント材料の機能設計*

薮 塚 武 史**

1 はじめに

世界的に進行する高齢化に伴い、骨粗鬆症等による骨折や骨欠損の件数が増加している。また、先天的な骨の形成不全や、手術の際の骨欠損の問題も依然として存在し、硬組織インプラントの需要は今後ますます増加していくと考えられる。

骨欠損部を補うためには移植手術を行うが、この手術は移植する骨の種類によって以下の三種類に大別される。患者自身の健全な部位の骨を移植する「自家骨移植」、他者の骨を利用する「他家骨移植」、人工物で補う「人工骨移植」である。自家骨移植は患者自身の骨を利用するため、生体適合性はもちろんのこと、移植後に元の骨と同化していく性質(吸収置換性)を備えていることもあり、現在も最も有用な骨欠損の治療法であると言われている。しかし、患者自身の健全な部位から骨を切除するため、侵襲性が高いことに加え、骨欠損部が大きい場合は実施することができないという問題がある。また、他家骨移植は主として亡くなった人の骨を利用するため、感染症の懸念や倫理上の問題が存在する。このような観点から、侵襲性が低く、感染症の心配が少ない人工骨等の硬組織インプラントの開発に大きな期待が寄せられている。しかし一般に、体内に人工材料を埋入すると、生体は通常、防御反応によって材料を周辺組織から隔離するため、線維性の非石灰化組織によって覆われ、骨欠損部での材料の固定が妨げられてしまう¹⁾。その結果、人工股関節置換術等では術後にインプラント交換のための再手術が必要とされ、患者への侵襲性および体力的な負担が大きい点が課題として残されている。

1970年代初頭、フロリダ大学のHenchらによって $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$ 系ガラス(Bioglass®)²⁾が、骨と結合する人類史上初めての材料として発表された。Bioglass®の発表以降、骨の主要な無機成分であるア

パタイトを人工的に合成した焼結水酸アパタイト($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)^{3),4)}、ガラス相の中にアパタイトとウォラストナイト(CaSiO_3)を析出させてガラスを強化した結晶化ガラスA-W⁵⁾など、体内で骨と直接結合する生体活性セラミックスが開発され、実用化に至った。生体活性セラミックスの多くは、体内で材料表面に骨の主要な無機成分であるアパタイトの層を形成し、材料と骨の界面に繊維組織が介在することなく材料が生体骨と結合することが明らかにされている^{6),7)}。この生体活性発現機序を、硬組織インプラントを対象用途とした生体活性材料機能の設計指針の一つとして捉えることで、体内で自然に骨と一体化する新たな生体活性硬組織インプラント材料の開発につながる。すなわち、体内においてその表面にアパタイトの層が形成する性質(アパタイト形成能)を材料に付与する表面改質技術の開発が、臨床応用へ向けた課題解決策の有力な候補になると考えられる。

体内における生体活性セラミックス表面でのアパタイト形成能は、1990年代初頭に小久保らによって提案された擬似体液(Simulated body fluid: SBF)を用いて再現できると報告されている^{8),9)}。SBFはヒトの血漿とほぼ等しい無機イオン濃度、pH、温度に調整した無細胞・無タンパクの水溶液である。生体活性セラミックスの多くは、体内でその表面にアパタイトが形成される反応をSBF中でも再現することが報告されている。材料の骨結合能を調べるためには動物実験により検証することが欠かせないが、SBF浸漬試験は、動物実験を実施する前段階で材料のアパタイト形成能を調べ、動物実験に進むかどうかを判定するためのスクリーニング法として有用であり、数々の改変を経て国際標準規格(ISO 23317)に定められている¹⁰⁾。本稿で紹介する研究でも、作製した硬組織インプラント材料のスクリーニング法としてSBF試験を採用している。

2 アパタイト核を用いた生体活性硬組織インプラント材料の機能設計

上述の生体活性セラミックスは骨結合能に優れるこ

* Functional Design of Bioactive Hard Tissue Implant Materials with Apatite Nuclei

** Takeshi YABUTSUKA

とが実証されてきたが、耐衝撃性の観点から単独での使用には限界がある。長期の使用に耐え、衝撃による脆性破壊を示しにくい高い機械的強度を有し、なおかつ骨と早期に結合し一体化することのできる硬組織インプラントの重要性は極めて大きい。そのため、生体内で長期にわたり安定に存在できる高強度な生体不活性インプラントに高い骨結合能を付与するための技術は、患者の QOL 向上に大きく貢献する基盤技術の一つとして重要度が高い。

上述の生体活性材料機能を達成する基盤技術の一つとして、筆者らは結晶性の極めて低いリン酸カルシウム微粒子(アパタイト核)を用いた各種生体不活性インプラント材料への生体活性付与技術の確立に近年精力的に取り組んでいる。前項で紹介した SBF は、血漿に存在するミネラルを純水に溶解し、Tris 緩衝剤と塩酸を用いて生理的 pH (pH=7.40, 36.5°C) に調整することで調製される^{9),10)}。さらに、SBF に Tris 緩衝剤を過剰に溶解させて pH を上昇させると、SBF 中に結晶性の極めて低いリン酸カルシウムの微粒子が析出する。八尾らは、この微粒子を生理的 pH の SBF に浸漬すると早期にアパタイト形成を誘起することを見出し、この微粒子をアパタイト核と命名した¹¹⁾。さらに筆者らは、表面に細孔を形成させた材料の表面および細孔にアパタイト核を担持させることで、セラミックスのみならず、耐衝撃性に優れる合金やエンジニアリングプラスチックにいたる多種多様な材料に、短期間で発現する高いアパタイト形成能が付与されることを見出した(図 1)¹²⁾。本稿では、このアパタイト核の生体活性機能を活用した各種材料への生体活性付与の適用例として、整形外科および歯科における高強度インプラントとして数多く臨床応用されているイットリア安定化ジルコニア(Yttria stabilized zirconia: YSZ)および Co-Cr-Mo 合金^{13),14)}、金属バイオマテリアルの中でも術後の画像診断において長所を発揮する低磁性 Zr 合金¹⁵⁾、骨と類似の弾性率と高い機械的強度を具備し、脊椎ケージとして広く臨床応用されているポリエーテルエーテルケトン(PEEK)¹⁶⁾⁻¹⁸⁾へのアパタイト形成能付与について概説するとともに、生

分解性と生体活性の双方を具備したアパタイト核-キトサンナノファイバー複合材料の開発¹⁹⁾について紹介する。

3 生体不活性セラミックスへのアパタイト形成能付与

YSZ はアルミナと並ぶ代表的な高強度セラミックインプラント材料であり、Bioglass®, 結晶化ガラス A-W, 焼結水酸アパタイト, β -リン酸三カルシウム焼結体等の生体活性セラミックスよりも高い機械的強度を有する。この性質から、YSZ は人工股関節の摺動部として用いられているのみならず、YSZ に適用可能な CAD/CAM (computer-aided design/computer-aided manufacturing) の発達により、歯科領域においても重要度の高い材料として位置づけられている。しかし、YSZ は生体不活性な材料であり、骨欠損部に埋入しても骨と結合しない。そこで筆者らは、酸エッチングによりマイクロレベルの凹凸を形成させた YSZ の表面および細孔にアパタイト核を析出させ、YSZ にアパタイト形成能を付与する研究を行った¹³⁾。

まず、YSZ 表面に細孔を形成するため、YSZ をフッ化水素酸に浸漬した。走査電子顕微鏡(SEM)、レーザープローブ式非接触三次元測定装置を用いて表面形態の変化を観察したところ、フッ化水素酸処理の効果により材料表面全体に細孔が形成され、表面粗さの顕著な増加が認められた。次いで、SBF 調製に使用する $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, $CaCl_2$ を用いてヒトの血漿とほぼ等しい Ca^{2+} 濃度、 HPO_4^{2-} 濃度、および Mg^{2+} 濃度に調節した水溶液を調製し、Tris 緩衝剤と塩酸を用いて pH=8.20, 25.0°C に調整した。以降、この反応溶液を Modified-SBF と記す。フッ化水素酸処理後の YSZ を反応溶液に浸漬し、70.0°C で 24 時間保持させたところ、材料表面近傍にアパタイト核が析出し、エネルギー分散型 X 線分析(EDX)ではアパタイト核の成分である Ca のピークが検出された(図 2 (a) (b))。また、フーリエ変換赤外分光分析(FT-IR)において、アパタイト核の形成を示す P-O 伸縮の吸収帯が検出された(図 2(c))。

得られたアパタイト核担持 YSZ のアパタイト形成能を SBF 浸漬試験により評価した。SBF 浸漬 1 日後のアパタイト核担持 YSZ の表面を観察したところ、アパタイトの鱗片状結晶による YSZ 表面の被覆が認められ、SBF 浸漬 7 日後においてアパタイトのさらなる成長が認められた(図 3 (a) (b))。さらに、SBF 浸漬 1 日後の材料表面においてヒドロキシアパタイトに帰属する回折線が検出され、SBF 浸漬 7 日後の材料表面では回折強度の増大が認められたことから(図 3(c))、YSZ 表面において SBF 浸漬後 1 日以内

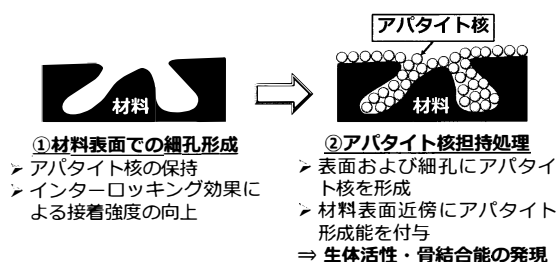


図 1 アパタイト核を用いた表面改質による生体活性硬組織インプラント材料の機能設計

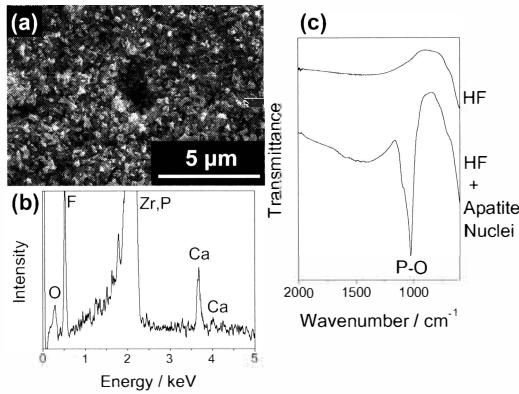


図2 アパタイト核担持 YSZ 表面の(a)SEM 写真, (b)EDX スペクトル, ならびに(c)フッ化水素酸処理直後の YSZ 表面との FT-IR スペクトルの比較. 「HF」はフッ化水素酸処理直後, 「HF + Apatite Nuclei」はフッ化水素酸処理後にアパタイト核を担持したサンプルであることを示す.

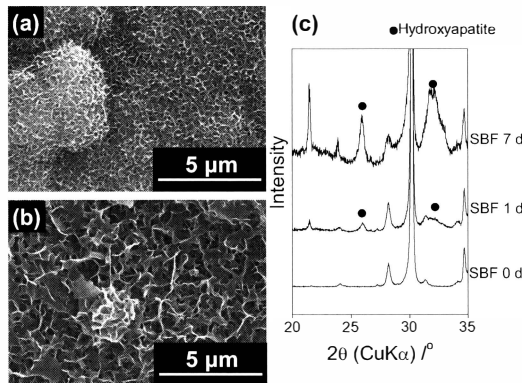


図3 アパタイト核担持 YSZ 表面における(a)SBF 浸漬 1 日後, (b)SBF 浸漬 7 日後の SEM 写真, ならびに(c)SBF 浸漬前, SBF 浸漬 1 日後, SBF 浸漬 7 日後の薄膜 X 線回折パターン.

にアパタイト形成能が発現されたことがわかった. これらの結果から, 細孔を形成させた YSZ の表面および細孔にアパタイト核を担持させることで, SBF 中で早期に発現するアパタイト形成能が, 生体不活性な YSZ に付与されることが明らかになった.

4 生体不活性合金へのアパタイト形成能付与

金属がセラミックスと比較して優れている点は, 強度, 延性, 靱性などの力学特性である. 再生医療研究の発展が著しい今日においても, 股関節, 膝関節, 歯根のような大荷重のかかる硬組織の置換術において, 金属は欠かすことのできない材料であることに変わりはない.

Co-Cr-Mo 合金は, Ti 合金, ステンレス鋼と並ぶ代表的な金属製硬組織インプラント材料として位置づ

けられる. Co-Cr-Mo 合金は耐摩耗性に長所を発揮するため, 整形外科における人工膝関節の摺動部のほか, 歯科における金属床義歯としても幅広く臨床応用されている. Co-Cr-Mo 合金は, 材料表面に酸化クロムの不動態皮膜を形成するため, 耐腐食性に優れる. しかし, Co-Cr-Mo 合金は体内で不動態皮膜表面にリン酸カルシウムを形成するものの, その形成能は極めて低い²⁰⁾. そこで筆者らは, サンドブラストによりミクロな凹凸を形成させた Co-Cr-Mo 合金の表面および細孔にアパタイト核を析出させ, 生体不活性な Co-Cr-Mo 合金にアパタイト形成能を付与する研究を行った¹⁴⁾.

まず, Co-Cr-Mo 合金表面にミクロな凹凸を形成するため, Co-Cr-Mo 合金に平均粒径 14 μm の SiC 粒子を用いて 1 回目のサンドブラストを行い, さらに平均粒径 8 μm の SiC 粒子を用いて 2 回目のサンドブラストを行った. 材料表面を SEM で観察したところ, 多段階のサンドブラストを行うことで, Co-Cr-Mo 合金表面におけるマイクロレベルの粗化ならびに表面粗さの増大が認められた.

次いで, SBF に Tris 緩衝剤を溶解することで pH を上昇させ, pH=8.40, 25.0°C に調節した. 以後, この水溶液を Alkaline-SBF と称する. サンドブラスト後の Co-Cr-Mo 合金を Alkaline-SBF に浸漬し, 70.0°C で 24 時間静置した. 以上の操作により, アパタイト核担持 Co-Cr-Mo 合金を作製した. 得られたアパタイト核担持 Co-Cr-Mo 合金を観察したところ, 材料表面近傍にアパタイト核が析出し, EDX ではアパタイト核の成分である Ca および P のピークが検出された(図 4 (a)(b)).

得られたアパタイト核担持 Co-Cr-Mo 合金のアパタイト形成能を SBF 浸漬試験により評価した. SBF 浸漬 3 日後のアパタイト核担持 Co-Cr-Mo 合金の表面を観察したところ, アパタイトの鱗片状結晶による Co-Cr-Mo 合金表面の被覆が認められ, SBF 浸漬 7 日後においてアパタイトのさらなる成長が認められた(図 5 (a)(b)). さらに, SBF 浸漬 3 日後の材料表面においてヒドロキシアパタイトに帰属する回折線が検出され, SBF 浸漬 7 日後の材料表面では回折強度の

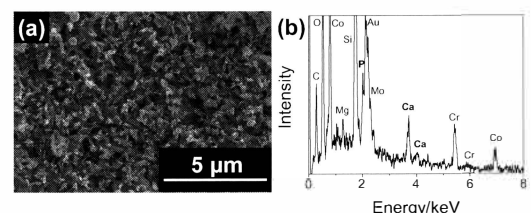


図4 アパタイト核担持 Co-Cr-Mo 合金表面の(a)SEM 写真および(b)EDX スペクトル.

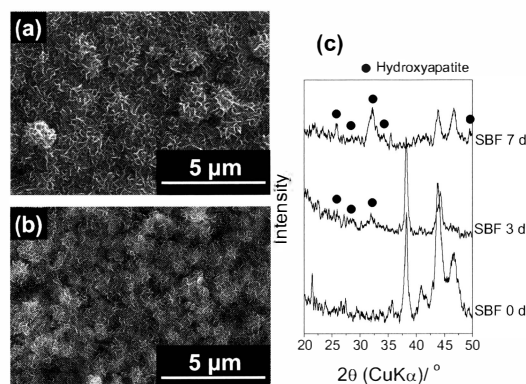


図5 アパタイト核担持 Co-Cr-Mo 合金表面における (a) SBF 浸漬 3 日後, (b) SBF 浸漬 7 日後の SEM 写真, ならびに (c) SBF 浸漬前, SBF 浸漬 3 日後, SBF 浸漬 7 日後の薄膜 X 線回折パターン。

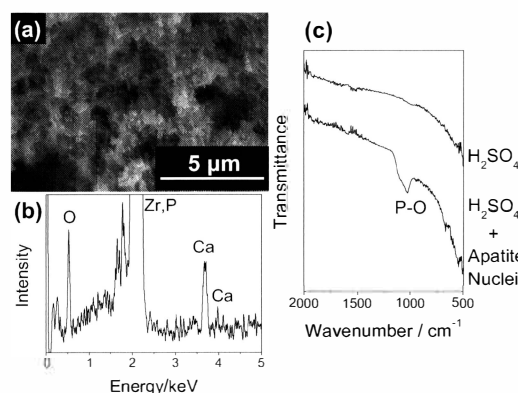


図6 アパタイト核担持 Zr-Sn 合金表面の (a) SEM 写真, (b) EDX スペクトル, ならびに (c) H_2SO_4 処理直後の Zr-Sn 合金表面との FT-IR スペクトルの比較. 「 H_2SO_4 」は H_2SO_4 処理直後, 「 H_2SO_4 + Apatite Nuclei」は H_2SO_4 処理後にアパタイト核を担持したサンプルであることを示す。

増大が認められたことから(図 5(c)), Co-Cr-Mo 合金表面において SBF 浸漬後 3 日以内にアパタイト形成能が発現されたことがわかった。以上より, 細孔を形成させた Co-Cr-Mo 合金の表面および細孔にアパタイト核を担持させることで, 高いアパタイト形成能が Co-Cr-Mo 合金表面にも付与されることが明らかになった。この結果は, アパタイト核担持によるアパタイト形成能付与が, セラミックスのみならず生体不活性な合金にも適用可能であることを示唆している。

5 低磁性合金へのアパタイト形成能付与

金属製の硬組織インプラント材料としてはこれまで, ステンレス鋼, Co-Cr 合金, Ti 合金が広く用いられてきたが, 近年では次世代の材料として Zr 合金が注目されている。硬組織インプラント材料としての Zr の特長は, その低い磁化率にある。ステンレス鋼, Co-Cr-Mo 合金, Ti 合金は強磁場のかかる環境では磁化されやすく, 磁気共鳴画像診断(MRI)や X 線コンピュータ断層撮影(CT)の際にアーチファクトを生じさせ造影を妨げてしまう。Fe, Co および Ni は強磁性, Ti および Zr は常磁性を示すが, Zr の磁化率は Ti の約 1/3 であるため, アーチファクトを起こしにくい次世代の金属製硬組織インプラント材料として有望視されている²¹⁾。

Zr は Ti と同様に不動態皮膜を形成する性質を有しているが, 体内ではその表面にリン酸ジルコニウムを優先的に形成するため, 光学顕微鏡レベルで骨と密着する性質(オッセオインテグレーション)を示さない²⁰⁾。そこで筆者らは, Zr 合金の骨親和性を改善するため, 細孔を形成させた Zr 合金の表面および細孔にアパタイト核を析出させ, Zr 合金にアパタイト形

成能を付与する試みを行った¹⁵⁾。

本稿では, Zr-Sn 合金への適用例を紹介する。まず, Zr-Sn 合金表面に細孔を形成するため, H_2SO_4 によるエッチングを行った。SEM, 3D レーザ顕微鏡を用いて表面性状を分析したところ, H_2SO_4 エッチングの効果により材料表面全体に細孔が形成され, 表面粗さの顕著な増加が認められた。次いで, H_2SO_4 エッチング後の Zr-Sn 合金を, 3 章に記載した Modified-SBF に浸漬し, 70.0°C で 10 時間保持したところ, 材料表面近傍にアパタイト核が析出し, EDX ではアパタイト核の成分である Ca のピークが検出された(図 6 (a)(b))。また, FT-IR において, アパタイト核の形成を示す P-O 伸縮の吸収帯が検出された(図 6(c))。

得られたアパタイト核担持 Zr-Sn 合金のアパタイト形成能を SBF 浸漬試験により評価した。SBF 浸漬 1 日後のアパタイト核担持 Zr-Sn 合金表面を SEM で観察したところ, アパタイトの鱗片状結晶による Zr-Sn 合金表面の被覆が認められ, SBF 浸漬 4 日後においてアパタイトのさらなる成長が認められた(図 7 (a)(b))。さらに, SBF 浸漬 1 日後の材料表面においてヒドロキシアパタイトに帰属する回折線が検出され, SBF 浸漬 4 日後の材料表面では回折強度の増大が認められたことから(図 7(c)), Zr-Sn 合金表面において SBF 浸漬後 1 日以内にアパタイト形成能が発現されたことがわかった。以上の結果より, H_2SO_4 エッチングにより細孔を形成させた Zr 合金にアパタイト核を担持することで, SBF 中で 1 日以内に発現するアパタイト形成能が Zr 合金に付与されることを明らかにした。これは, 硫酸処理もしくはサンドブラスト

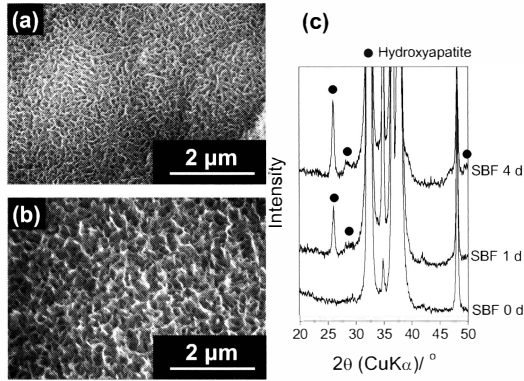


図7 アパタイト核担持 Zr-Sn 合金表面における (a) SBF 浸漬 1 日後, (b) SBF 浸漬 4 日後の SEM 写真, ならびに (c) SBF 浸漬前, SBF 浸漬 1 日後, SBF 浸漬 4 日後の薄膜 X 線回折パターン。

処理により細孔を形成させ, その後アパタイト核を形成させた各種 Ti 合金^{22),23)} と同等のアパタイト形成能であった。

6 スーパーエンジニアリングプラスチックへのアパタイト形成能付与

スーパーエンジニアリングプラスチックの一種であるポリエーテルエーテルケトン(PEEK)は, 優れた機械的強度, 耐衝撃性, 耐摩耗性, 耐疲労性を有している。PEEK は脊椎ケージとして臨床でも使用されており, その軽量性を活かした歯科補綴部材への応用も検討されている。また, PEEK を同量の炭素繊維で補強した炭素繊維強化 PEEK (CFR-PEEK) はより高い機械的強度を有するため, 高強度かつ軽量な全非金属インプラント材料としての応用が期待される。

一般に骨の弾性率は皮質骨で約 20 GPa, 海綿骨で 4-10 GPa 程度である²⁴⁾。金属製硬組織インプラントとして用いられている Ti-6Al-4V 合金の弾性率は 110 GPa, ステンレス鋼の弾性率は約 190 GPa, Co-Cr 合金の弾性率は 210-250 GPa と, 生体骨と比べ格段に高い値となっている²⁰⁾。弾性率が骨と比べて著しく高いインプラントを骨欠損部に長期間埋入した場合, 材料周囲の骨にノーマルな荷重が掛からず, 良好な骨代謝が行われなため, 骨が痩せてしまう現象 (ストレスシールドリング) が起きる懸念があり, インプラントの緩みやインプラント再置換時の再骨折の懸念が指摘されている²⁵⁾。これに対し, PEEK の弾性率は 4 GPa²⁶⁾ と, 金属材料と比べ骨に近い値をとるため, ストレスシールドリングの課題をクリアすることも可能である。

しかし, PEEK も前述の材料群と同様に生体不活性な材料であり, 骨と結合することができない。そこ

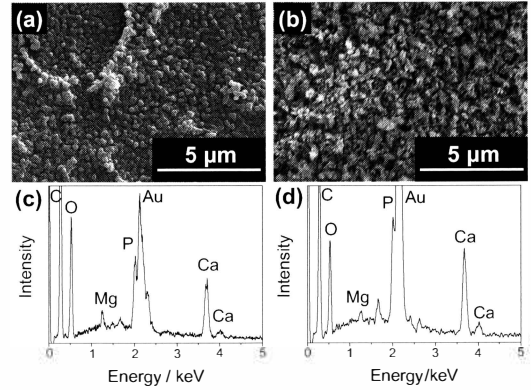


図8 (a, c)アパタイト核担持 PEEK 表面, (b, d)アパタイト核担持 CFR-PEEK 表面における (a, b) SEM 写真および (c, d) EDX スペクトル。

で筆者らは, アパタイト核を用いた生体活性処理を PEEK, CFR-PEEK に適用し, 細孔を形成させた PEEK, CFR-PEEK の表面および細孔にアパタイト核を担持し, アパタイト形成能を付与する研究を進めた¹⁶⁾⁻¹⁸⁾。

まず, PEEK, CFR-PEEK 表面に細孔を形成するため, PEEK, CFR-PEEK を H_2SO_4 に浸漬した。SEM を用いて表面形態を観察したところ, H_2SO_4 処理の効果により材料表面全体にサブミクロンレベルの細孔からなる表面が得られた。次いで, H_2SO_4 浸漬後の PEEK, CFR-PEEK を O_2 プラズマで処理して親水化させたのちに, PEEK は Alkaline-SBF に, CFR-PEEK は Modified-SBF に浸漬し, $70.0^\circ C$ で 24 時間保持することで, 材料表面近傍にアパタイト核を析出させた (図 8 (a) (b)) EDX ではアパタイト核の成分である Ca のピークが検出され (図 8 (c) (d))。

得られたアパタイト核担持 PEEK, アパタイト核担持 CFR-PEEK のアパタイト形成能を SBF 浸漬試験により評価した。SBF 浸漬 1 日後のアパタイト核担持 PEEK, アパタイト核担持 CFR-PEEK の表面を SEM で観察したところ, 両材料群においてアパタイトの鱗片状結晶による材料表面の被覆が認められた (図 9 (a) (b))。さらに, SBF 浸漬 1 日後の試験片表面においてヒドロキシアパタイトの回折線が両材料群で検出されたことから, PEEK, CFR-PEEK 表面においても SBF 浸漬後 1 日以内にアパタイトの形成が誘起されたことがわかった。以上のことから, H_2SO_4 処理により細孔を形成させ, O_2 プラズマ処理により親水化させた PEEK, CFR-PEEK にアパタイト核を担持させることで, PEEK, CFR-PEEK においても SBF 中で早期に発現するアパタイト形成能が付与されたことが示された。この結果は, アパタイト核を用いた表面改質技術が, セラミックスから金属, ポリ

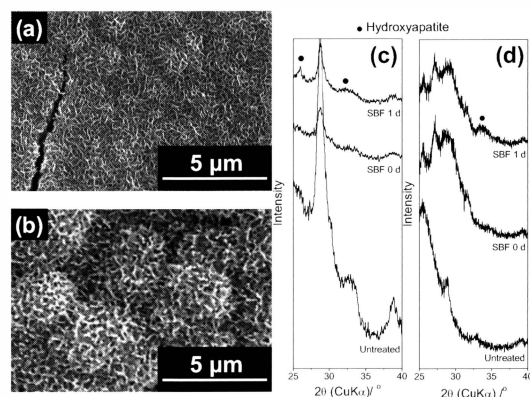


図9 (a, c)アパタイト核担持 PEEK 表面, (b, d)アパタイト核担持 CFR-PEEK 表面における (a, b) SBF 浸漬 1 日後の SEM 写真, ならびに (c, d) SBF 浸漬前, SBF 浸漬 1 日後の薄膜 X 線回折パターンにおける未処理サンプルとの比較.

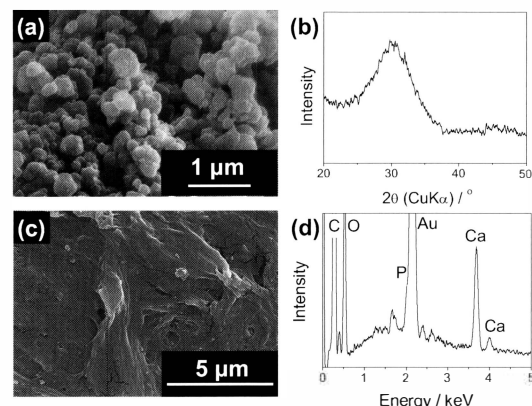


図10 キトサンナノファイバーと複合化したアパタイト核の (a) SEM 写真および (b) 粉末 X 線回折パターン, ならびにアパタイト核-キトサンナノファイバー複合体表面の (c) SEM 写真および (d) EDX スペクトル.

マーに至る多種多様な材質の硬組織インプラント材料へのアパタイト形成能付与に有効であることを示しており, 基材の幅広い種類選択性を有することを示唆している.

さらに, 正本, 高岡らは, 上述のアパタイト核担持 PEEK, アパタイト核担持 CFR-PEEK を日本白色家兎の脛骨に埋入し, 材料表面における骨結合能を調べた^{27), 28)}. 放射線学的評価, 組織学的評価, 力学試験の結果, 両材料群の表面における骨インプラント接触率ならびに骨との接着強度は未処理 PEEK, 未処理 CFR-PEEK の値を統計学的に有意に上回り, アパタイト核担持インプラントは極めて良好な骨結合能を示すことが明らかになった. この結果より, アパタイト核を用いた表面改質技術は, SBF 中でのアパタイト形成能の大幅な向上だけでなく, 生体内における骨結合能を動物実験レベルで大幅に向上させることが実証された.

7 生体活性アパタイト核-キトサンナノファイバー複合材料の開発

最後に, 生分解性ポリマーとアパタイト核の複合化による生体活性複合材料の開発について紹介する. 生分解性ポリマーとしては, ポリ乳酸やポリグリコール酸等の合成高分子が体内埋込型のバイオマテリアルとして臨床応用されている. 一方, キトサンナノファイバーはカニなどの甲殻類の殻から採取できる生物由来の素材であり, 近年さまざまな産業分野で注目を集めている. キトサンナノファイバーに生体活性を付与することができれば, 適度な強度と柔軟性, 生分解性などを併せ持つ新規硬組織修復材料への応用が期待できる. そこで, キトサンナノファイバーとアパタイト核

を複合化することにより, キトサンナノファイバーにアパタイト形成能を付与した生体活性複合材料の開発を進めた¹⁹⁾.

まず, キトサンナノファイバーと複合化させるアパタイト核を調製するため, SBF の 2 倍のイオン濃度を持つ 2.0SBF を調製し, pH = 8.2, 36.5°C に調整したのちに 1 日間静置した. この操作により, 2.0SBF 中にアパタイト核が析出した (図 10(a)). 得られたアパタイト核からはヒドロキシアパタイト等の結晶性リン酸カルシウムに帰属する回折線が検出されず, ブロードなパターンが観察された (図 10(b)). この結果から, 得られたアパタイト核はアモルファスリン酸カルシウムを主要な構成成分とすることが示唆された. 得られたアパタイト核をキトサンナノファイバースラリーに 10 wt% の濃度で混合し, スラリーをプレス成形した後, 乾燥させ複合体を作製した (図 10(c)). 複合体表面における EDX 分析では, アパタイト核に由来する Ca と P が検出された (図 10(d)).

得られたアパタイト核-キトサンナノファイバー複合体のアパタイト形成能を SBF 浸漬試験により評価した. SBF 浸漬 1 日後の複合体表面を SEM で観察したところ, アパタイトの鱗片状結晶による複合体表面の被覆が認められ, SBF 浸漬 7 日後においてアパタイトのさらなる成長が認められた (図 11(a) (b)). さらに, SBF 浸漬 1 日後の材料表面においてヒドロキシアパタイトに帰属する回折線が検出され, SBF 浸漬 7 日後の材料表面では回折強度の増大が認められたことから (図 11(c)), 複合体表面において SBF 浸漬後 1 日以内にアパタイト形成能が発現されたことがわかった. これらの結果より, キトサンナノファイバーと複合化させたアパタイト核により複合体の表

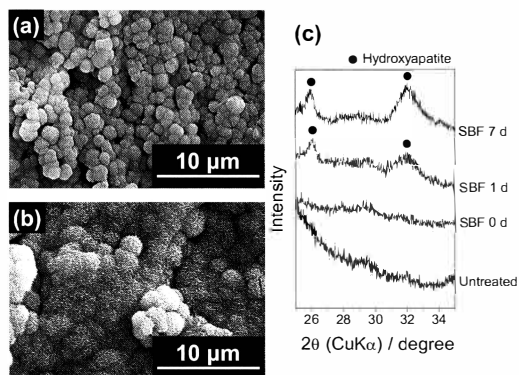


図11 アパタイト核-キトサンナノファイバー複合体表面における(a)SBF浸漬1日後、(b)SBF浸漬7日後のSEM写真、ならびに(c)SBF浸漬前、SBF浸漬1日後、SBF浸漬7日後の薄膜X線回折パターンにおける未処理キトサンナノファイバーとの比較。

面においてアパタイト形成が誘起され、キトサンナノファイバーに高いアパタイト形成能を示すことが明らかになった。本材料は、アパタイト核が有する高いアパタイト形成能と、キトサンナノファイバーが有する生分解性および抗菌活性の双方を具備した硬組織再生材料としての展開が期待される。

8 おわりに

従来、骨と結合する材料は一部のセラミックスに限られていたため、多様な力学的性質を示す生体不活性な材料に高い生体活性を付与する試みはこれまでも数多く試みられてきた。しかし、従来報告されてきた生体活性付与手法の多くは、対象となるインプラント材料が限られているケースがほとんどであり、本稿で紹介したセラミックス、金属からポリマーに至る多種多様な対象材料をカバーする生体活性付与手法の報告は少ない。本稿で提案する、アパタイト核を用いる表面改質は、従来は魅力的な力学的性質を有しながら骨結合能に乏しく、適用範囲が限定的であった各種材料に生体活性を付与することにより、硬組織インプラント材料としての新たな展開をもたらすと考えられる。今後、優れたアパタイト形成能を有するアパタイト核を様々なマテリアル機能と融合する技術をさらに発展させることで、次世代型の新たなバイオデバイスの設計指針構築に貢献していくことが期待される。

謝辞

本稿で紹介した研究の一部は、JSPS 科学研究費補助金基盤研究 B(19H02442, 22H01791), JSPS 科学研究費補助金若手研究 B(16K16401), 鈴木謙三記念

医科学応用研究財団調査研究助成, 村田学術振興財団研究助成, イオン工学振興財団研究助成, 京都大学創立 125 周年記念事業くすのき・125, 京都大学リサーチ・ディベロップメントプログラム「いしずえ」, 生体医歯工学共同研究拠点, ゼロエミッションエネルギー研究拠点のご支援により遂行した。

文 献

- 1) 小久保 正, 金 鉉敏, 表面技術, **52**, 401-405 (2001).
- 2) L. L. Hench, R. J. Splinter, W. C. Allen, T. K. Greenlee Jr., *J. Biomed. Mater. Res. Symp.*, **2**, 117-141 (1972).
- 3) M. Jarcho, *Clin. Orthp.*, **157**, 259-278 (1981).
- 4) 青木秀希, 加藤一男, セラミックス, **10**, 469-478 (1975).
- 5) T. Kokubo, M. Shigematsu, Y. Nagashima, M. Tashiro, T. Nakamura, T. Yamamuro, S. Higashi, *Bull. Inst. Chem., Kyoto Univ.*, **60**, 260-268 (1982).
- 6) M. Neo, S. Kotani, Y. Fujita, T. Nakamura, T. Yamamuro, Y. Bando, C. Ohtsuki, T. Kokubo, *J. Biomed. Mater. Res.*, **26**, 255-267 (1992).
- 7) M. Neo, T. Nakamura, C. Ohtsuki, T. Kokubo, T. Yamamuro, *J. Biomed. Mater. Res.*, **27**, 999-1006 (1993).
- 8) T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro, *J. Biomed. Mater. Res.*, **24**, 721-734 (1990).
- 9) T. Kokubo, H. Takadama, *Biomaterials*, **27**, 2907-2915 (2006).
- 10) International Organization for Standardization (ISO), *Implants for Surgery-In Vitro Evaluation for Apatite-forming Ability of Implant Materials (ISO 23317:2014)*.
- 11) 八尾 健, 日比野光宏, 山口誠二, 岡田英孝, 特許 5261712 号(2013), U. S. Patent No. 8178066 (2012).
- 12) 八尾 健, 日比野光宏, 藪塚武史, 特許 5252399 号(2013), U. S. Patent No. 8512732 (2013).
- 13) H. Zamin, T. Yabutsuka, S. Takai, H. Sakaguchi, *Materials*, **13**, 3045 (2020).
- 14) T. Yabutsuka, H. Mizutani, S. Takai, T. Yao, *Trans. Mat. Res. Soc. Japan*, **43**, 143-147 (2018).

- 15) N. Hashimoto, T. Yabutsuka, S. Takai, *IET Nanobiotechnol.*, **14**, 701–706 (2020).
- 16) T. Yabutsuka, K. Fukushima, T. Hiruta, S. Takai, T. Yao, *Mater. Sci. Eng. C*, **81**, 349–358 (2017).
- 17) T. Yabutsuka, K. Fukushima, T. Hiruta, S. Takai, T. Yao, *J. Biomed. Mater. Res. B*, **106**, 2254–2265 (2018).
- 18) Y. Yamane, T. Yabutsuka, Y. Takaoka, C. Ishizaki, S. Takai, S. Fujibayashi: *Materials*, **14**, 6691 (2021).
- 19) Y. Adachi, T. Yabutsuka, S. Takai, *IET Nanobiotechnol.*, **14**, 668–672 (2020).
- 20) 成島尚之, “未来型人工関節を目指して—その歴史から将来展望まで”, 吉川秀樹, 中野貴由, 松岡厚子, 中島義雄編, 日本医学館 (2013), pp. 163–169.
- 21) 塙 隆夫, “人工股関節のバイオマテリアル—材料選択からデザインまで”, 山本謙吾編, メジカルビュー (2017), pp. 48–55.
- 22) T. Yabutsuka, H. Mizuno, S. Takai, *J. Ceram. Soc. Japan*, **127**, 669–677 (2019).
- 23) T. Yabutsuka, Y. Kidokoro, S. Takai, *IET Nanobiotechnol.*, **14**, 688–694 (2020).
- 24) J. Y. Rho, R. B. Ashman, C. H. Turner, *J. Biomech.*, **26**, 111–119 (1993).
- 25) 新家光雄, まてりあ, **52**, 219–228 (2013).
- 26) D. F. Williams, A. McNamara, R. M. Turner, *J. Mater. Sci. Lett.*, **6**, 188–190 (1987).
- 27) K. Masamoto, S. Fujibayashi, T. Yabutsuka, T. Hiruta, B. Otsuki, Y. Okuzu, K. Goto, T. Shimizu, Y. Shimizu, C. Ishizaki, K. Fukushima, T. Kawai, M. Hayashi, K. Morizane, T. Kawata, M. Imamura, S. Matsuda, *Acta Biomater.*, **91**, 48–59 (2019).
- 28) Y. Takaoka, S. Fujibayashi, T. Yabutsuka, Y. Yamane, C. Ishizaki, K. Goto, B. Otsuki, T. Kawai, T. Shimizu, Y. Okuzu, K. Masamoto, Y. Shimizu, M. Hayashi, N. Ikeda, S. Matsuda, *Sci. Rep.*, **13**, 1443 (2023).

筆者紹介

薮塚武史 京都大学大学院エネルギー科学研究科エネルギー基礎科学専攻講師 博士(エネルギー科学)

2009 年京都大学大学院エネルギー科学研究科エネルギー基礎科学専攻博士後期課程修了。2007 年日本学術振興会特別研究員 DC1, 2009 年同 PD, 同年京都大学大学院エネルギー科学研究科エネルギー基礎科学専攻助教を経て, 2021 年より現職。

連絡先 〒606-8501 京都市左京区吉田本町(勤務先)

(2023. 4. 11 受付)
(2023. 5. 13 受理)