

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：37120

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K17093

研究課題名（和文）新規セラミックス人工骨補填材の創製と骨伝導性発現機序の追究

研究課題名（英文）Fabrication of novel ceramic artificial bone substitute and study on mechanism of osteoconductivity

研究代表者

荒平 高章（Arahira, Takaaki）

九州情報大学・経営情報学部・講師

研究者番号：30706958

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、石膏硬化体を出発物質としてpHの異なる3種類のリン酸溶液で水熱処理を施した結果、異なる3種類の化合物が生成することが明らかになった。また、材料特性評価や強度試験、構造観察、細胞実験結果から、どの材料も生体材料として使用できる可能性が示唆された。これら3種類の化合物は構造や力学特性が異なるため、適用箇所などに応じて選択することで生体材料としての幅が広がると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、生体材料の無機成分として広く用いられているハイドロキシアパタイトやリン酸三カルシウムなどに代わる無機材料を探索し、その無機材料の生体材料としての可能性を見出すことを目的としている。本実験では、出発物質が同じであっても、その後処理条件を変えることによって異なる化合物が生成することを明らかにしている。また、それらの化合物に対して材料評価、強度試験、細胞実験などを行った結果、生体材料として使用できる可能性を見出すことに成功した。

研究成果の概要（英文）：In this study, it is revealed that three different kinds of compounds were formed by hydrothermal treatment with phosphoric acid solutions of different pH. In results of this experiment, it is suggested that all compounds were used as biomaterial.

研究分野：材料力学

キーワード：生体材料 力学特性 無機

## 様式 F - 19 - 2

### 1. 研究開始当初の背景

近年、骨再生医療分野において、ヒドロキシアパタイト(HAP)やリン酸三カルシウム( $\beta$ -TCP)といったリン酸カルシウムは、骨補填材として、顆粒状やブロック状、多孔質構造といった様々な形態で研究・開発されてきた。リン酸カルシウム系骨補填材は、新生骨形成とともに生体内で吸収され骨に置換されていくことが理想とされているが、HAPは生体内で吸収されずに残存し、 $\beta$ -TCPは生体吸収性を有しているが、力学特性が低いことが懸念されている。また、最近では、炭酸アパタイトが臨床応用されるといった、新たなリン酸カルシウム系骨補填材が登場し、再びリン酸カルシウムが注目されている。

一方、リン酸カルシウム系骨補填材に用いられているヒドロキシアパタイトなどは、石膏を出発物質として作製することが可能である。石膏は水で練和することで硬化することが知られており、その性質から任意形態を付与することができるため、任意形状の骨補填材が作製できるとして、様々な研究がなされている。その形態は、骨欠損形状、円柱、球状、直方体状など多岐にわたる。

したがって、石膏の任意形態付与が可能であるという特性を活かし、新たなリン酸カルシウム系の骨補填材が開発できれば、非常に有用であると考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究では、石膏を出発物質として石膏硬化体に対しリン酸処理を行い、リン酸処理から得られたリン酸カルシウム系足場材について基礎的な評価を行い、骨補填材として有用であるか検討を行った。

### 3. 研究の方法

#### (1) 石膏硬化体の作製

出発物質として焼石膏(和光純薬)を使用した。焼石膏と水を混水比0.4で練和し、ステンレス製鋳型(6mm×3mm)に填入後、24時間硬化させた。硬化後の試料を石膏硬化体とする。

#### (2) 石膏硬化体のリン酸処理

石膏硬化体をリン酸ナトリウム水溶液中で水熱処理を最大72時間行った。この時、処理するリン酸ナトリウム水溶液のpHを7, 9, 11と変化させて水熱処理を行った。水熱処理後の試料は付着している塩を取り除くために80℃の水中に浸漬させた後、80℃の恒温乾燥機で24時間乾燥を行った。

#### (3) 材料特性・力学特性評価

乾燥試料に対して、粉末X線回折、間接引張強さ(DTS)、Weight loss、SEMによる構造観察を行った。また、水熱処理後のリン酸溶液のpHの測定も行った。

#### (4) 細胞増殖評価

細胞増殖試験用に、試料(9mm×1mm)を準備した。試料表面に $1 \times 10^4$ 個のMC3T3-E1細胞を播種し、培地( $\alpha$ -MEM, 10% FBS, 1% ペニシリン ストレプトマイシン)を添加し培養を行った。培養5時間後に、Cell Counting Kit-8(Wako)を用いて試料表面の細胞増殖について吸光度を測定した。

### 4. 研究成果

図1にリン酸処理溶液のpHを変化させて作製した試料のX線回折結果及び、リン酸処理溶液のpHの経時変化を示す。XRDの結果について、参考として練和前の石膏粉末、石膏硬化体、無水石膏、リン酸カルシウムとしてヒドロキシアパタイト、 $\beta$ -TCPのXRDも並べている。pHが7のリン酸溶液で処理した場合、最終生成物はヒドロキシアパタイトとなった。その際の処理溶液のpHもほとんど変化せずに推移していることが確認できた。pHが7近傍では、析出する物質としてはヒドロキシアパタイトが最安定相であることから、実験結果は妥当であると考えられる。次に、pH9とpH11の場合であるが、それぞれアルカリ領域であっても最終生成物が異なるという結果になった。pH11の場合は、レナナイトと言われる鉱物であり、pH9の場合は、レナナイトとは異なる物質であることが分かった。いずれの場合においても、単相生成物になるには24時間以上を要することがXRDの結果より明らかになった。次に図1(d)に示すリン酸処理溶液のpHの変化であるが、pH7及びpH11はほとんど初期リン酸溶液のpHと値は変わらず推移しているが、pH9の場合のみ、処理2日目までpHは酸性側に傾きその後一定の値をとるといった結果であった。このことから、同じアルカリ領域であっても、pHの値によって、リン酸処理後の生成物の安定相が異なり、その結果異なる生成物ができた可能性が示唆された。

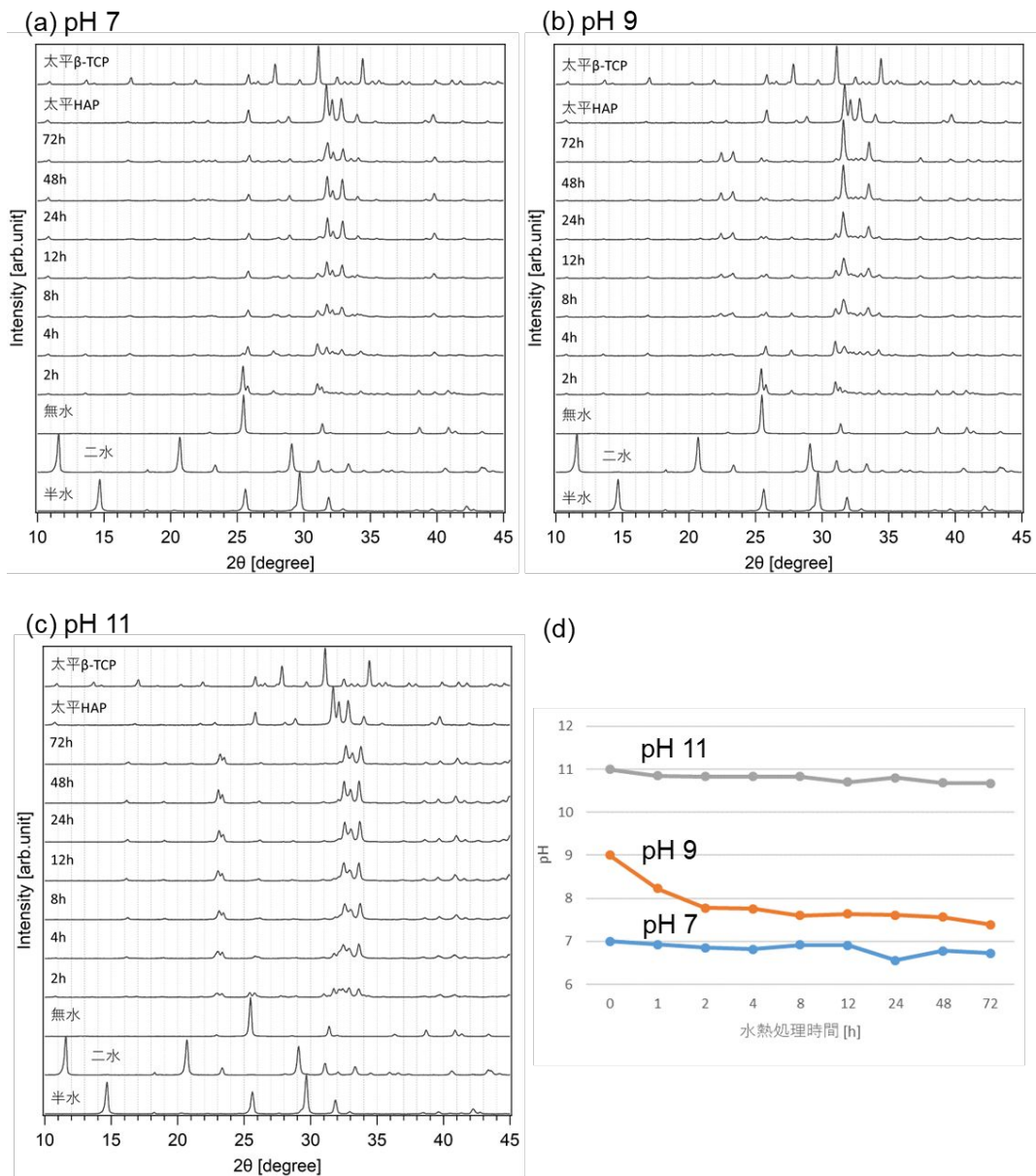


図1 リン酸処理後のXRD, リン酸溶液のpH

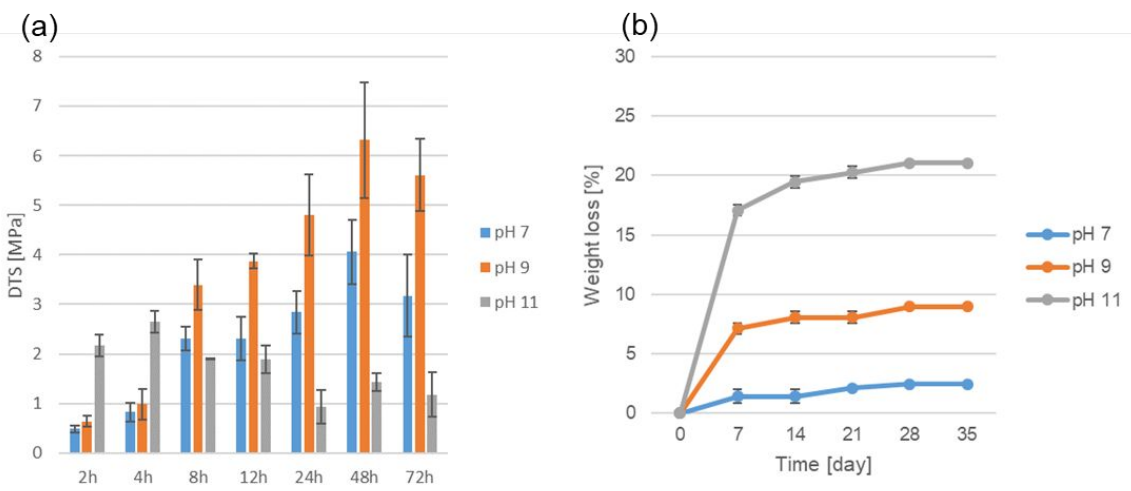


図2 DTS測定結果

次に、リン酸処理後の生成物に対して、間接引張強さ試験(DTS)を実施した結果を図 2(a)に示す。pH7, pH9 に関して、処理時間が 48 時間まではリン酸処理時間が経過するに伴い DTS は増加傾向を示した。その後、リン酸処理 72 時間でわずかな減少を示した。他方、pH11 に関して、リン酸処理 4 時間で最大値を取り、その後減少傾向を示した。図 2(b)に、一定期間溶液に浸漬させた後の試料の重量変化の結果を示す。pH7 の試料はほとんど重量変化を示さなかったが、pH9 及び pH11 は重量変化が減少傾向を示した。これらの結果を踏まえると、pH11 の場合、浸漬 7 日で他の pH 値のものに比べ大きな Weight loss 値を示していることから、DTS がリン酸処理初期の段階で減少傾向を示しているという結果と対応している。一方 pH7 の場合は、ほとんど Weight loss がなく、構造的にも変化していないと考えられるので、DTS が増加しているという結果と対応している。しかし、pH9 の場合はある程度 Weight loss が生じていても、DTS は増加しているという結果を踏まえると、何か構造の変化が DTS の増加に起因していると考えられる。そこで、図 3 にリン酸処理 72 時間後の試料における FE-SEM の構造観察結果を示す。pH11 の構造は他の構造と比較して空孔が大きいことが確認できる。このことから、リン酸処理によって構造が変化する際に空孔の存在などが起因して DTS が減少したことが示唆される。また、構造観察結果より、リン酸処理溶液の pH によって構造が異なる生成物が作製できることが明らかとなった。

図 4 に細胞増殖能の結果を示す。細胞増殖能は処理液の pH に関わらず、いずれも同様の細胞増殖能を示した。したがって、いずれの材料においても細胞に対する親和性は同等であり、特に pH7 で生成したハイドロキシアパタイトと同等であるという結果が得られ、pH9, pH11 のいずれの材料でも生体材料として使用できる可能性が示唆された。

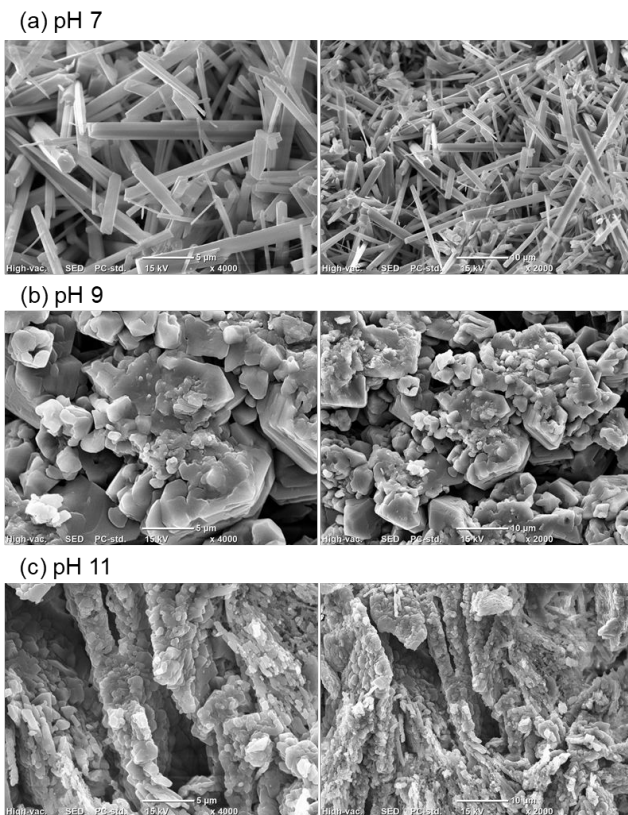


図3 SEM撮影結果

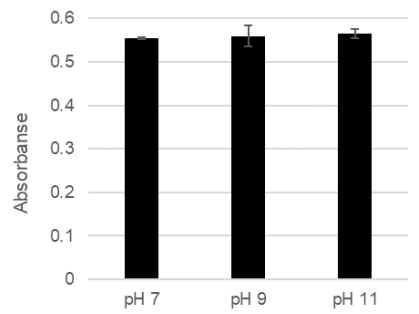


図4 細胞増殖能

以上の結果から、石膏硬化体を出発物質として pH の異なる 3 種類のリン酸溶液で水熱処理を施した結果、異なる 3 種類の化合物が生成することが明らかになった。また、どの材料も、生体材料として使用できる可能性が示唆された。これら 3 種類の化合物は構造や力学特性が異なるため、適用箇所などに応じて選択することで生体材料としての幅が広がると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takaaki Arahira, Mitsugu Todo	4. 巻 16
2. 論文標題 Development of novel collagen scaffolds with different bioceramic particles for bone tissue engineering	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Composites Communications	6. 最初と最後の頁 30-32
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.1016/j.coco.2019.08.012">https://doi.org/10.1016/j.coco.2019.08.012</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 荒平高章
2. 発表標題 リン酸処理によるリン酸カルシウム系足場材の作製と評価
3. 学会等名 第32回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考