

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K19928

研究課題名（和文）ポリエチレンテレフタレートに骨伝導性を付与する挑戦

研究課題名（英文）Fabrication of osteoconductive polyethylene terephthalate

研究代表者

石川 邦夫（Ishikawa, Kunio）

九州大学・歯学研究院・教授

研究者番号：90202952

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：ポリエチレンテレフタレートは人工腱や人工靭帯に使用されている。しかし、ポリエチレンテレフタレート自体に骨結合性がないため脱落等の問題が生じている。本研究ではポリエチレンテレフタレートを表面処理することでポリエチレンテレフタレートに骨結合性を発揮することに挑戦する。本研究では表面を加水分解してヒドロキシ基を有するポリエチレンテレフタレート、また、リン酸基を修飾したポリエチレンテレフタレートをそれぞれ調製した。未処理のポリエチレンテレフタレートと比較すると表面処理ポリエチレンテレフタレートは骨芽細胞を活性化することを見出し、動物実験においても骨結合性が向上することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ポリエチレンテレフタレート等の高分子材料は柔軟性や弾性などの優れた特徴を示すが、骨結合性がない。そのため、骨と結合させるためにはリン酸カルシウムなどの材料を混ぜる等されているが、力学特性の劣化等の問題がある。本研究で挑戦した表面処理によるポリエチレンテレフタレートの骨伝導性付与は材料そのものの力学特性を失うことなく骨結合性を示すものである。リン酸カルシウムに依存せずに骨結合性を示したことから、材料が骨結合性を発揮する機序の解明に貢献できると考えられる。また、本研究による挑戦は医療機器の発展に貢献するものであり、医学分野への貢献も特筆すべき社会的意義である。

研究成果の概要（英文）： Polyethylene terephthalate has been used as an artificial tendon and an artificial ligament. However, polyethylene terephthalate has no bone-bonding ability. In this study, we tried to give a function of bone bonding to polyethylene terephthalate to change the surface properties of polyethylene terephthalate.

In this study, we prepared two types of polyethylene terephthalate, surface hydrolyzed polyethylene terephthalate and phosphate modified polyethylene terephthalate. Compared with non-treated polyethylene terephthalate, surface treated polyethylene terephthalate improved the osteoblast activity and bone bonding ability in vivo experiment. Thus, we reveal that the surface treatment could give a bone bonding ability to polyethylene terephthalate.

研究分野：生体材料学

キーワード：ポリエチレンテレフタレート 骨伝導性 人工靭帯 人工腱

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

人工腱や人工靭帯の所用性質は柔軟性と弾性であることから、ポリエチレンテレフタレートのような高分子材料が使用されている。一般的にポリエチレンテレフタレート製の人工腱、人工靭帯はスクリューにより機械的に骨に固定されるが、応力集中による破断等の問題が生じている。そのため、人工腱、人工靭帯そのものに骨結合性が望まれている。しかし、高分子材料そのものには骨結合性がない。

我々はこれまでに人工脊椎やインプラント体で使用されているポリエーテルエーテルケトンの表面にリン酸基を修飾することで骨結合性を発揮することを見出している。本手法はポリエーテルエーテルケトン表面に還元剤やオゾン処理をすることでヒドロキシ基を暴露し、塩化ホスホリル処理することでリン酸基修飾ポリエーテルエーテルケトンを得ている。得られたリン酸基修飾ポリエーテルエーテルケトンは細胞レベルで骨芽細胞の活性化、実験動物レベルで骨結合性が向上し、インプラント体として使用されている滑面チタンよりも骨結合性が高くなることがわかっている。

### 2. 研究の目的

ポリエチレンテレフタレートには骨結合性がない一方で、エステル結合の分解により表面にヒドロキシ基を露出することは容易である。つまり、ポリエーテルエーテルケトンと同様にリン酸基修飾は容易であると考えられるため、リン酸基修飾ポリエチレンテレフタレートは骨結合性を発揮する可能性が高い。そこで、本研究ではポリエチレンテレフタレート表面にリン酸基を修飾することでポリエチレンテレフタレートに骨結合性を付与することを目的とした(図1)。

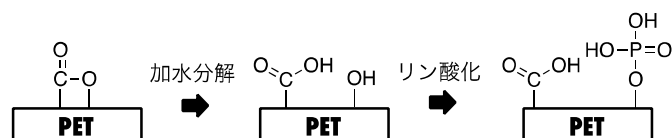


図1. PETの表面処理

### 3. 研究の方法

#### (1) リン酸基修飾ポリエチレンテレフタレートの骨芽細胞活性評価

ポリエーテルエーテルケトンはケトン基をNaBH<sub>4</sub>により還元することでヒドロキシ基を暴露することができたが、ポリエチレンテレフタレートはエステル結合により高分子鎖を形成するためNaBH<sub>4</sub>還元によるヒドロキシ基の暴露は不可能である。そこで、本研究ではポリ愛知レンテレフタレート表面を強塩基条件で加水分解してヒドロキシ基およびカルボキシ基を得ることとした。その後、塩化ホスホリル処理することでリン酸基修飾ポリエチレンテレフタレートを得た。

得られたリン酸基修飾ポリエチレンテレフタレートの骨芽細胞活性評価はラット由来間葉系幹細胞により行った。具体的には、リン酸基修飾ポリエチレンテレフタレート表面に細胞を播種して骨芽細胞分化培地により培養し、アルカリホスファターゼ活性、石灰化評価を行った。

#### (2) ヒドロキシ基、カルボキシ基を表面に有するポリエチレンテレフタレートの骨芽細胞活性評価

リン酸基修飾ポリエチレンテレフタレートを調製する過程で、リン酸基修飾の反応点となるヒドロキシ基を得るためにポリエチレンテレフタレート表面を強塩基水溶液により加水分解する。その際、ヒドロキシ基とカルボキシ基が得られるが、この反応はポリエチレンテレフタレート表面の親水性を向上し、かつ、リン酸基同様に酸性官能基であるカルボキシ基が表面に露出する。そこで本研究では、表面を加水分解したポリエチレンテレフタレートについても同様に骨芽細胞活性を評価することとした。

#### (3) 実験動物によるポリエチレンテレフタレートの骨結合性評価

うさぎ脛骨に厚さ1mm、長さ10mmの貫通欠損を作製し、表面修飾したポリエチレンテレフタレートを埋入した。埋入8週後に引き剥し試験を行うことで骨結合性を評価した。

### 4. 研究成果

#### (1) リン酸基修飾ポリエチレンテレフタレートの骨芽細胞活性評価

表面粗さを増加するためにポリエチレンテレフタレート表面にサンドブラスト処理を行い、強塩基水溶液中で加水分解した後に塩化ホスホリル処理を行い、得られたポリエチレンテレフタレート表面の化学組成をX線光電子分光法により評価した。P2pスペクトルに着目すると未処理、加水分解後のポリエチレンテレフタレート表面にはP由来のピークは検出されなかったが、塩化ホスホリル処理後のポリエチレンテレフタレート表面からはP由来のピークが検出された(図2)。得られたリン酸基修飾ポリエチレンテレフタレート表面のP含有率は0.61±0.08

atomic%であった。また、水接触角は未処理のポリエチレンテレフタレートが  $126.9 \pm 3.7^\circ$  であったのに対し、リン酸基修飾ポリエチレンテレフタレートは  $85.0 \pm 14.9^\circ$  とわずかに減少していた。細胞は水接触角が  $60^\circ$  付近の材料表面に接着しやすいと言われており、リン酸基修飾ポリエチレンテレフタレートは表面の親水性の観点からも骨結合性に寄与できると考えられる。

次に、リン酸基修飾ポリエチレンテレフタレートの骨芽細胞活性評価を行った。ラット骨髄細胞から回収した間葉系幹細胞をリン酸基修飾 PET に播種し、 $10 \text{ mmol/L } \beta$ -グリセロリン酸ナトリウム、 $100 \text{ nmol/L}$  デキサメタゾン、 $50 \text{ } \mu\text{g/mL}$  アスコルビン酸リン酸ナトリウム共存下で培養し、培養 14 日後のアルカリホスファターゼ活性を評価した。その結果、リン酸基修飾によりアルカリホスファターゼ活性が約 2 倍に上昇した (図 3)。次に、培養 28 日後の石灰化評価をアリザリンレッド染色により評価したが、石灰化は限定的であった。

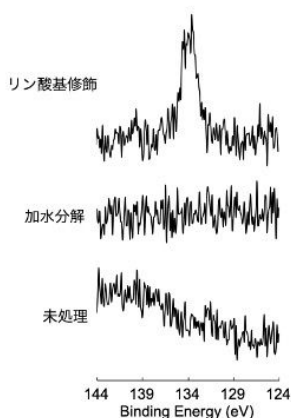


図 2. 表面処理後の P2p スペクトル

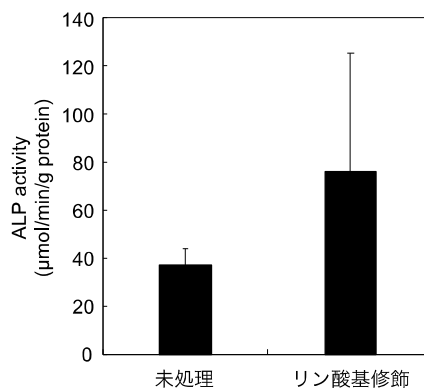


図 3. リン酸基修飾 PET のアルカリホスファターゼ活性

### (2) ヒドロキシ基、カルボキシ基を表面に有するポリエチレンテレフタレートの骨芽細胞活性評価

当初の目標であったリン酸基修飾ポリエチレンテレフタレートは未処理のポリエチレンテレフタレートと比較すると骨芽細胞の活性化は達成できたが、その効果は限定的であった。表面に修飾したリン酸基は骨芽細胞活性に寄与したと考えられるが、一方で、X線光電子分光法によりその含有量は 0.61% と非常に低いことがわかる。また、表面の水接触角は  $85^\circ$  と疎水性は未だ高く、細胞接着には不利となっている可能性が高い。一方で、リン酸基修飾前の加水分解したポリエチレンテレフタレートは水接触角が  $60^\circ$  程度と親水性が高い。また、加水分解後のポリエチレンテレフタレートは表面にカルボキシ基を有するため、リン酸基の代用となり得ると考えられる。そこで、加水分解ポリエチレンテレフタレートの骨芽細胞活性化評価を行った。

リン酸基修飾ポリエチレンテレフタレートと同様にラット骨髄から採取した間葉系幹細胞をポリエチレンテレフタレート表面上で培養し、培養 14 日後のアルカリホスファターゼ活性を評価した。その結果、未処理のポリエチレンテレフタレートの約 6 倍、リン酸基修飾ポリエチレンテレフタレートの約 3 倍アルカリホスファターゼ活性が向上した (図 4)。また、石灰化評価においてもリン酸基修飾ポリエチレンテレフタレートよりも石灰化面積が増大したことが判明した。

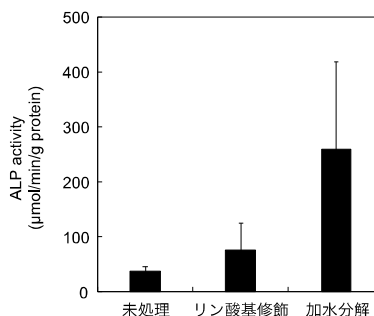


図 4. 表面修飾 PET のアルカリホスファターゼ活性

### (3) 実験動物によるポリエチレンテレフタレートの骨結合性評価

うさぎ脛骨に  $10 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$  の貫通欠損を作製して表面を加水分解したポリエチレンテレフタレートを埋入した。埋入 8 週後のマイクロ CT 結果は材料表面に骨が形成していることを確認した。また、引き剥し強度試験を行ったところ、未処理のポリエチレンテレフタレートと比較して 1.5 倍程度引き剥し強度が向上した (図 5)。これらの結果より、ポリエチレンテレフタレートの表面を加水分解することでポリエチレンテレフタレートの骨結合性が向上したことが示唆された。

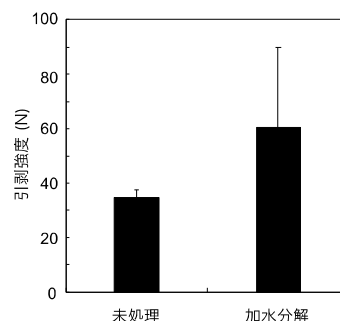


図 5. 表面修飾 PET の骨結合強度

本研究により骨結合性を有さないポリエチレンテレフタレートへの骨結合性付与を達成できた。本研究結果を基盤として骨結合性発揮メカニズムの詳細な解析、医療材料への応用が望まれる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 土谷享、岸田良、林幸彦朗、石川邦夫
2. 発表標題 ポリエチレンテレフタレートの表面処理によるオッセオインテグレーション
3. 学会等名 第44回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------