

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19081

研究課題名(和文) 変色しない銀 リン酸カルシウム系抗菌裏層材の創製

研究課題名(英文) Fabrication of aesthetic antibacterial silver-calcium phosphate root base materials

研究代表者

杉浦 悠紀 (Sugiura, Yuki)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・研究員

研究者番号：70755040

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)：Agを担持したリン酸八カルシウムの調製・生物科学的評価に取り組んだ。本Ag担持リン酸八カルシウムは、優れた抗菌性を示した。また、培地中へのAgの溶出はほとんど見られなかった。このことから、本Ag担持リン酸八カルシウムの抗菌機構としては、結晶表面に結晶構造に起因して露出しているAgイオンが菌と接触することによる、接触抗菌性であることが示唆された。これにより、培地中でも溶出したAgイオンに起因する変色についてもほとんど見られなかった。さらに骨補填材として必須な、ブロック化についても取り組んだ。ブロック形状を持つOCP-Ag、Naブロックの調製に成功し、動物実験で有用性を検証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、抗菌材としてAgを用いるにもかかわらず、変色しないリン酸カルシウム材料の創製を最終目的とし、研究を行った。歯科・整形外科において、骨再建・再生時の術後感染は深刻なリスクである。特に、骨補填材由来の感染は、深刻化しやすい。抗菌元素であるAgを骨補填材に強固に含有させることで、術後感染を予防し、かつ高い骨再生能を発揮する材料の開発を目指したものである。

研究成果の概要(英文)：Since the introduction of biomaterials, infection has been a serious problem in clinical operations. Ag-substituted octacalcium phosphate (OCP) blocks exhibiting contact antibacterial ability were fabricated from precursor dicalcium dihydrate anhydrate blocks via immersion in both Ag⁺- and Na⁺ containing ammonium phosphate weak basic buffer solutions. Although the Ag contents of the Ag-substituted OCP blocks (0.17 ± 0.01 at%) were much lower than those of Ag-substituted OCP powders (1.72 ± 0.18 at%) prepared using Ag solutions with the same Ag concentration (20 mmol/L), the Ag-substituted OCP blocks exhibited excellent contact antibacterial activities toward various pathogens. In vivo implanting in bone defects evaluations indicated that the biocompatibility of the Ag-substituted OCP blocks was excellent and similar to that of the OCP blocks without Ag.

研究分野：バイオマテリアル

キーワード：骨補填材 銀 抗菌性 バイセラミックス

1. 研究開始当初の背景

外科領域の、とりわけ整形外科領域における歴史は、感染との闘いである。感染は、古来より普遍的に起きる最大かつ最悪のリスク要因であり、予後を左右する重要な因子であり、現代においても解決されていない要素である。ひとたび感染が起きてしまうと、たとえ単純な症例であっても、重篤化してしまう。特に、骨補填材を頻用する整形外科領域・口腔外科領域においては、術後長時間経過後の感染が大きな課題となっている。主にリン酸カルシウムからなる骨補填材自体は骨を再建・再生する優れた材料であるが、感染自体に関しては無力である。このため、一度埋入した骨補填材が感染すると、そこが感染巣となり、組織に密接に癒着、治癒の過程において、しているため、悲劇としか表現できない重篤な症状を呈し、組織形態の維持はもちろん、生命活動さえも危ぶまれる。

骨補填材の感染を防止する試みとして、骨補填材に抗菌剤を担持される試みが多くなされている。銀は歴史的に用いられてきた抗菌剤であり、幅広い抗菌スペクトルを持ち、既に一部が骨補填材として臨床応用されている。その一方で、遊離した銀イオン、銀ナノパーティクルや易溶性銀化合物からは、体液などに接触すると黒色化し、審美性に劣る、また、強い毒性を示すことから、徐放性が求められるような形での骨補填材としての利用は検討されてこなかった。さらに、骨補填材として利用するためには、ある程度簡便かつ、容易な調製法を検討する必要がある。

さて、菌は骨補填材に付着し、増殖することで、骨補填材を感染巣とする。我々は、銀をリン酸カルシウム結晶構造中に強固に担持させ、接触抗菌性を発揮するとともに、課題となっている銀イオンのリリースを防止し、細胞への毒性、変色の問題を解決した骨補填材材料の開発が出来ないかと考えた。

リン酸八カルシウム(OCP)は優れた生体親和性を持つことから、新規骨補填材の基板材料として注目されている。我々のこれまでの検討により、OCPをリン酸緩衝溶液中で調製する際に、Caイオンと比較的近いイオン半径を持ったカチオンがOCP結晶中の特定サイトに強固に取り込まれ、さらにOCPの形成を誘導することを見出した。さて、Agイオンのイオン半径はCaイオンの半径と同一半径を持つ。このため、この機構によりOCP結晶中に強固に取り込まれることが期待される。

2. 研究の目的

本研究では、上記抗菌性担持OCPの調製を目標に、本検討では、AgのOCP結晶中への担持検討及び、調製したAg担持OCPの抗菌性評価、変色性試験及び、骨芽細胞を用いた毒性試験について行い、さらに骨再生能を動物実験により検証することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は、主に材料科学的なOCPへのAg担持法の開発、細胞実験による毒性評価、術後感染起炎菌を用いた抗菌性評価、実験動物に作成した骨欠損部への埋入による有用性評価の4つからなる。

材料科学検討においては、OCPへのAgの効率よい担持法、及び担持原理の解明に特化して検討を行った。細胞実験では、ナノ粒子化したAg担持OCPを作用させた場合における各種細胞のバイアビリティ評価を行った。抗菌性評価においては、Ag担持OCP共存下での各種微生物の増殖性を評価し、Ag濃度と抗菌性の関係性を評価した。動物実験では、骨形成部に埋入したAg担持OCPの骨再生能を、周囲組織への有害性を病理組織学的に検索した。

4. 研究成果

DCPDをAg含有塩基性リン酸緩衝溶液で加水分解すると、OCP結晶構造中の特定サイトにAgを効率的に担持する手法を見出した。本検討で調製したOCP-Agは、優れた接触抗菌性を示す上に、培地に浸漬しても変色せず、また骨芽細胞への細胞毒性について軽減するだけでなく、ALP活性を増大させることに成功した。本検討は、すべて安価な試薬のみで調製可能であり、またワンポットで、難しい、高価な設備無しに調製可能である手法を開発した。さらに、この方法で担持したAgは非常に強固に結晶構造中に担持され、アパタイトに相転移後も殆ど維持されていることが分かった。

DCPAブロックからの溶解析出反応により、Agを担持したOCPブロックの調製法について提案した。粉末と異なり、ブロックの調製時には、OCP誘導因子であるNaイオンが共存すると、Ag含有OCPブロックが調製出来る。得られたOCP-Ag,Naブロックは、多くの病原菌への高い接触抗菌性を示し、さらに、高い骨伝導性、生体親和性を発揮した。従って、本OCP-Ag,Naブロックは、術後感染症対抗機構を付与した新規骨補填材としての利用が期待される。

これらの成果については、1件の国際特許出願を行っている他、5報の筆頭原著論文として国際誌に掲載済みである。また、複数の国内学会において本検討についての招待講演を行った。これに加え、ここで得られたAgの担持性の原理を応用し、シリカ、マンガ、トリスアミノメタンといった他の機能性分子についても、OCPへの含有方法を確立した。これらの成果について

も、複数の論文として発表済みである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計22件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 杉浦悠紀, 新津甲大, 斎藤靖子, 遠藤貴士, 堀江祐範	4. 巻 11
2. 論文標題 Inorganic process for wet silica-doping of calcium phosphate	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 12330-12335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 杉浦悠紀, 岡田正弘, 平野研, 松本卓也	4. 巻 2020
2. 論文標題 Bone mineral analogue ceramic block as an instant adhesive to biological soft tissue	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advanced Materials Interfaces (*Back cover)	6. 最初と最後の頁 202002032
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 杉浦悠紀, 小比賀秀樹, 堀江祐範, 新津甲大, 横田洋二	4. 巻 5
2. 論文標題 Aesthetic silver-doped octacalcium phosphate powders exhibiting both contact antibacterial ability and low cytotoxicity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 24434-24444
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 SUGIURA Yuki, OONO Asuka, MAKITA Yoji	4. 巻 128
2. 論文標題 Fabrication of octacalcium phosphate foams with suitable mechanical strength for use as a bone substitute based on the setting reaction of acidic calcium phosphate granules	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the Ceramic Society of Japan	6. 最初と最後の頁 962 ~ 969
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2109/jcersj2.20148	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 PUTRI Tansza Setiana, SUGIURA Yuki, TSURU Kanji, ISHIKAWA Kunio	4. 巻 128
2. 論文標題 Fabrication of an interconnected porous -tricalcium phosphate structure by polyacrylic acid-mediated setting reaction and sintering	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the Ceramic Society of Japan	6. 最初と最後の頁 555 ~ 559
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2109/jcersj2.20059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sonoda Akinari, Makita Yoji, Sugiura Yuki, Ogata Atsushi, Suh Changwon, Lee Jong-hoon, Ooi Kenta	4. 巻 249
2. 論文標題 Influence of coexisting calcium ions during on-column phosphate adsorption and desorption with granular ferric oxide	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Separation and Purification Technology	6. 最初と最後の頁 117143 ~ 117143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.seppur.2020.117143	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 -

1. 著者名 杉浦悠紀	4. 巻 47
2. 論文標題 緩衝溶液中の共存カチオン・アニオンとリン酸八カルシウム (OCP) 形成性	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本結晶成長学会誌	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 Bang, L.T, Shi, Rui, Bui Duc, Long, Ramesh, S, Shi, Xingling, Sugiura, Yuki, Ishikawa, Kunio	4. 巻 0
2. 論文標題 Biological responses of MC3T3-E1 on calcium carbonate coatings fabricated by hydrothermal reaction on titanium	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomed. Mater.	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 該当する

1. 著者名 杉浦 悠紀, 斎藤 靖子, 遠藤 貴士, 横田 洋二	4. 巻 19
2. 論文標題 Effect of the Ionic Radius of Alkali Metal Ions on Octacalcium Phosphate Formation via Different Substitution Modes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Crystal Growth & Design	6. 最初と最後の頁 4162-4171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 Yukari Ihara, Toru Takeshita, Shinya Kageyama, Rie Matsumi, Mikari Asakawa, Yukie Shibata, Yuki Sugiura, Kunio Ishikawa, Ichiro Takahashi, Yoshihisa Yamashita	4. 巻 4
2. 論文標題 Identification of initial colonizing bacteria in dental plaques from young adults using full-length 16S rRNA gene sequencing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 mSystems	6. 最初と最後の頁 e00360
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 杉浦 悠紀, 横田 洋二	4. 巻 279
2. 論文標題 Ammonium Inhibition of the Intercalation of Dicarboxylic Acid Molecules into Octacalcium Phosphate Layer by Substitution	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Solid State Chem	6. 最初と最後の頁 12923
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 杉浦 悠紀, 横田 洋二	4. 巻 48
2. 論文標題 Tris(hydroxymethyl)aminomethane substitution into octacalcium phosphate	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1304-1307
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 杉浦 悠紀, 石川 邦夫, 小沼 一雄, 横田 洋二	4. 巻 104
2. 論文標題 P04 adsorption on the calcite surface modulates calcite formation and crystal size	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 American Mineralogist	6. 最初と最後の頁 1381-1388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 SUGIURA Yuki	4. 巻 50
2. 論文標題 Crystal growth aspects of calcium carbonate polymorphism controlled by P04	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Magazine of Mineralogical and Petrological Sciences	6. 最初と最後の頁 15 ~ 22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2465/gkk.201216	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Sugiura Yuki, Horie Masanori	4. 巻 4
2. 論文標題 Prediction of Sodium Substitution Sites in Octacalcium Phosphate: The Relationships of Ionic Pair Ratios in Reacting Solutions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ceramics	6. 最初と最後の頁 240-248
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ceramics4020018	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sugiura Yuki, Horie Masanori	4. 巻 47
2. 論文標題 Fabrication of silver-doped apatite powders from silver-substituted octacalcium phosphate powders via solid-solid phase-conversion process	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ceramics International	6. 最初と最後の頁 25614 ~ 25621
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ceramint.2021.05.287	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Sugiura Yuki, Makita Yoji, Horie Masanori	4. 巻 11
2. 論文標題 Ammonium-to-sodium ion-exchange process at the interlayer of octacalcium phosphate	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 39503 ~ 39507
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1ra07939e	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sugiura Yuki, Ono Fumiko, Nohara Masakatsu, Horino Reina, Kutara Kenji, Kanda Teppei, Oowada Kazuo, Horie Masanori, Makita Yoji	4. 巻 30
2. 論文標題 Ag-substituted octacalcium phosphate blocks that exhibit high osteoconductivity and high antibacterial activity toward various pathogens	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Materials Today Communications	6. 最初と最後の頁 103130 ~ 103130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mtcomm.2022.103130	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Sugiura Yuki, Makita Yoji	4. 巻 583
2. 論文標題 Intercalated molecule releasing process of thiomalate substituted octacalcium phosphate crystals during phase conversion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Crystal Growth	6. 最初と最後の頁 126545 ~ 126545
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcrysgro.2022.126545	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Sugiura Yuki, Horie Masanori, Tsuchiya Akira, Makita Yoji	4. 巻 107
2. 論文標題 Specific roles of sodium for the formation process of manganese-substituted octacalcium phosphate	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Mineralogist	6. 最初と最後の頁 896 ~ 903
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2138/am-2021-7901	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Sugiura Yuki, Horie Masanori	4. 巻 33
2. 論文標題 Fabrication of interconnected porous Ag substituted octacalcium phosphate blocks based on a dissolution-precipitation reaction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Materials Science: Materials in Medicine	6. 最初と最後の頁 48-48
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10856-022-06672-5	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sugiura Yuki, Horie Masanori	4. 巻 130
2. 論文標題 Sodium and silver ionic competition for conjugated octacalcium phosphate sites in weak basic solutions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the Ceramic Society of Japan	6. 最初と最後の頁 363 ~ 369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2109/jcersj2.22005	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計5件

産業財産権の名称 銀系抗菌リン酸八カルシウム及び、これの製造法	発明者 杉浦悠紀、横田洋二	権利者 産業技術総合研究所
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-017459	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 シリカを担持したリン酸カルシウム結晶	発明者 杉浦悠紀、横田洋二、齋藤靖子、遠藤貴土	権利者 産業技術総合研究所
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-191183	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 マンガンを担持したリン酸八カルシウム結晶	発明者 杉浦悠紀、横田洋二	権利者 産業技術総合研究所
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-126865	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 尿路結石を模擬したシュウ酸カルシウム成形体及びその製造方法	発明者 杉浦悠紀	権利者 産業技術総合研究所
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-171756	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 リン酸八カルシウムの結晶、粉末、ブロック材、多孔体、骨補填材及び口腔用骨補填材並びにリン酸八カルシウム結晶の製造方法、ブロック材の製造方法及び多孔体の製造方法	発明者 杉浦悠紀、横田洋二	権利者 産業技術総合研究所
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/004149	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------