

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月20日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2012

課題番号：21592498

研究課題名（和文）有機-無機界面のインターフェイス制御による炭酸アパタイトフォームの高強度化

研究課題名（英文）Mechanical strength improvement of carbonate apatite foam by regulating organic-inorganic interface

研究代表者

都留寛治（TSURU KANJI）

九州大学・歯学研究院・准教授

研究者番号：50314654

研究成果の概要（和文）：

歯や骨の構造や無機組成を模倣した炭酸アパタイトフォームは新生骨に置換される骨補填材として臨床応用が期待される。しかし、力学的特性の改善が必要とされる。本研究では有機と無機のインターフェイスを制御することによって、炭酸アパタイトフォームの高強度化を行った。前駆体スラリーへの5wt%ポリビニルアルコールの添加は、前駆体粒子とポリウレタンフォームテンプレートの相互作用を高め、CO₃Apフォームの圧縮強度の向上化に有効であった。さらに、適量のCO₃Ap粒子を含むポリ乳酸のコーティングによって、形態や組成を変えずにCO₃Apフォームを補強することに成功した。

研究成果の概要（英文）：

Carbonate apatite (CO₃Ap) foam which mimics the structure and inorganic composition of teeth and bone is expected for medical use as a bone substitute which can be replaced to new bone. However a mechanical strength improvement of CO₃Ap is necessary. In this study, therefore, the mechanical strength improvement of CO₃Ap was examined by regulating interface between organic and inorganic substances. Addition of 5wt% polyvinyl alcohol to precursor slurry enhanced interaction between precursor powders and polyurethane template and it affected to increase the compressive strength of obtained CO₃Ap foam. Besides, reinforcement of CO₃Ap foam was successfully achieved by coating with polylactic acid containing appropriate amount of CO₃Ap granules without changing its morphology and composition.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2009年度 | 700,000 | 210,000 | 910,000 |
| 2010年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |
| 2011年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯科医用工学・再生歯学

キーワード：インターフェイス、有機-無機、炭酸アパタイト、生体材料

1. 研究開始当初の背景

歯科インプラントの適用患者数は年々増加し、その社会的要求が高まっている。本治療においてはインプラントを支えるための骨量が十分でない場合が多く、インプラントの固定に先立って骨を増生する必要がある。現在、骨の増生には主に自家骨が用いられているが、健全部位への侵襲、採取可能な骨量の限界、採取部位への感染リスク、治療コストなど様々な問題を抱えている。これらの問題を解決するために、研究代表者らは自家骨を代替しうる骨置換材の創製に取り組み、歯や骨の無機組成や連通気孔構造を模倣した炭酸アパタイト(CO₃Ap)フォームを創製した。このCO₃Apフォームは自家骨と同様に破骨細胞に吸収され、骨に置換される画期的な骨補填材であるが、充填圧を必要とする術例においては、強度が不十分でその形態を保てない。このCO₃Apフォームを高強度化し、耐用強度を向上させることができれば、インプラント適用症例の拡大や固定までの期間短縮など患者のQOL向上に大きく貢献することが期待される。

2. 研究の目的

炭酸アパタイト(CO₃Ap)を創製する際に用いる有機成分と無機成分との界面に着目し、これらのインターフェイスを制御することによってCO₃Apフォームの強度を高めることを本研究の目的とした。

本研究では大きく二つの取り組みを行った。一つは、CO₃Apフォームを作製する際に用いるポリウレタンフォームテンプレート(有機成分)と前駆体粒子(無機成分)との相互作用を高めることによってCO₃Apフォームの高強度化を試みた。もう一つは、CO₃Apフォーム(無機成分)にポリ乳酸(有機成分)を複合化することによって、CO₃Apフォームの高強度化を試みた。

3. 研究の方法

3-1. ポリウレタン(PU)フォームと前駆体粒子界面のインターフェイス制御によるCO₃Apフォームの高強度化

(1) 親水化PUフォームを用いたCO₃Apフォームの創製

CO₃Apフォームを作製する際に、オゾン処理によって表面を親水化したPUフォームをテンプレートとして用いた。オゾン発生器(ED-OG-R4, Eco Design Co.)を用いて、酸素ガスから生成したオゾンガスを蒸留水にバブリングして溶存オゾン水(25°C)を作製した。この中にPUフォームを浸漬して表面の親水化を行った。一方、界面活性剤(ジーシーシュールキャスト)を塗布して親水化したPUフォームも準備し

た。

これら二種類の親水化PUテンプレートをを用いて、従来の方法*に従って、CO₃Apフォームを作製した。その方法を簡単に説明すると、まず、PUテンプレートの表面にα型リン酸三カルシウム(α-TCP)前駆体粒子を付着させた後、1500°CでPUテンプレートの焼却とα-TCP粒子の焼成を行いα-TCPフォームを作製した。その後、このフォームを4 mol・L⁻¹の炭酸アンモニウム溶液に浸漬し、150°Cで水熱処理することによってCO₃Apフォームへと組成変換させた。

CO₃Ap生成の確認はX線回折法、フーリエ変換赤外分光法およびCHN分析によって行った。得られたCO₃Apフォームの気孔率を算出すると共に、圧縮強度を測定した。

(2) ポリビニルアルコール(PVA)添加前駆体スラリーを用いたCO₃Apフォームの創製

分子量2000のPVAを用いて、PVA濃度(0, 1, 5, 10, 20%)の異なる前駆体スラリー

(P/L=0.8)を作製した。スラリーの粘度は粘度測定器(SV-10)を用いて測定した。これらのスラリーを用いて、前述の方法*に従ってCO₃Apフォームを作製した。CO₃Ap生成の確認はX線回折法、フーリエ変換赤外分光法およびCHN分析によって行った。得られたフォームの気孔率を算出すると共に、圧縮強度を測定した。

(3) CO₃Apフォームの強度に及ぼす溶媒の種類および原料粒子サイズの影響

水の代わりにメタノール、エタノール、プロパノールを用いて前駆体スラリーを調製し、これらを用いて前述の方法*でCO₃Apフォームを作製した。一方、ボールミルによって原料粒子を細かくした前駆体で調製したスラリーを用いてCO₃Apフォームを作製した。得られた試料のキャラクタリゼーションは前述と同様の方法で行った。

3-2. CO₃Apフォームとポリ乳酸の複合化による高強度化

CO₃Apフォームは前述の方法*を用いて調製した。複合化する有機成分としては生体内吸収性を有するポリ-L乳酸

(PLLA)を用いた。CO₃ApフォームがPLLAで覆われると骨伝導性が低下するので、CO₃Ap粒子を分散させたPLLA溶液を用いた。CO₃Ap粒子の配合量の異なる(0, 5, 20, 60, 100 mg/ml) PLLA溶液を液体窒素で凍結し、その上にCO₃Apフォームを静置し、減圧により脱ガスを行っ

た。PLLA 溶液の溶解と共に徐々に CO_3Ap フォームが沈む、即ちインフィルトレーション法によって CO_3Ap フォームと PLLA の複合体を作製した。それぞれの試料の圧縮強度を測定するとともに、電子顕微鏡を用いて複合化の状況を観察した。

(参考文献)

* H. Wakae, A. Takeuchi, K. Udoh, S. Matsuya, M. L. Munar, R. Z. LeGeros, A. Nakasima and K. Ishikawa, *J Biomed Mater Res*, 2008, **87A**, 957.

4. 研究成果

4-1. PU フォームと前駆体粒子界面のインターフェイス制御による CO_3Ap フォームの高強度化

(1) 親水化 PU フォームを用いた CO_3Ap フォームの創製

溶存オゾン濃度はバブリング時間と共に増加し、17 ppm 付近で一定になった。この溶存オゾン中に PU フォームを 10 分間浸漬したところ、十分な親水化が認められたため、この親水化 PU フォームをテンプレートとして試料の作製に用いた。X 線回折法、フーリエ変換赤外分光法および CHN 分析により、得られたフォームの組成が CO_3Ap であることを確認した。 CO_3Ap フォームの圧縮強度を測定した結果、未処理の PU フォームを用いて作製した CO_3Ap フォームに比べてわずかに強度の向上が認められた。一方、界面活性剤の塗布によって親水化した PU フォームを用いて作製した CO_3Ap フォームについても同様の傾向が観察された。以上の結果から、PU フォームと前駆体粒子との相互作用を高めても CO_3Ap フォームの強度向上に大きく寄与しないと結論付けた。

(2) ポリビニルアルコール (PVA) 添加前駆体スラリーを用いた CO_3Ap フォームの創製

種々の PVA 濃度 (0, 1, 5, 10, 20wt%) になるように調製した前駆体スラリーを調製した。これらのスラリーの粘度を測定したところ、1wt%は 2.80 mPa·s (26.0°C), 5wt%は 70.8 mPa·s (26.2°C), 10wt%は 78.9 mPa·s (24.4°C) となり、20wt%は高粘度のため測定不可能であった。図 1 に異なる PVA 濃度のスラリーを用いて調製した CO_3Ap フォームの圧縮強度値を示す。スラリー中の PVA 濃度が高くなるにつれて、圧縮強度が増加する傾向が見られた。10wt% PVA を含むスラリーで調製した CO_3Ap フォームの圧縮強度は 5wt% PVA を含むスラリーで調製した CO_3Ap フォームの圧縮強度とほぼ同定の値を有したが、大きな標準偏差値を有していた。電子顕微鏡を用いて

CO_3Ap フォームの断面観察を行ったところ、10wt% PVA を含むスラリーで調製した CO_3Ap フォームの骨梁太さが場所によって大幅に異なる様子が散見された。これは、スラリーの粘度が高くなるにつれて PU フォームに対するスラリー付着量が場所により不均一になるために生じたと考えられる。

以上の結果から、スラリーへの PVA の添加は、 CO_3Ap フォームの圧縮強度の向上化に有効で、P/L=0.8 の場合、その濃度は 5wt% が最適であると結論付けた。

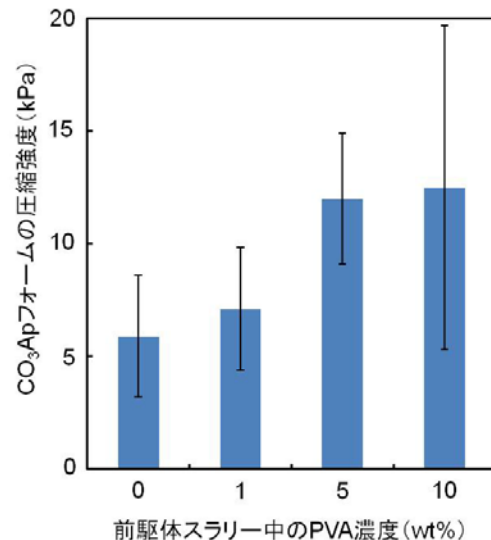


図 1 異なる PVA 濃度のスラリーを用いて調製した CO_3Ap フォームの圧縮強度

(3) CO_3Ap フォームの強度に及ぼす溶媒の種類および原料粒子サイズの影響

CO_3Ap フォームの強度に及ぼす溶媒の種類の影響を調査するために、水、メタノール、エタノール、プロパノールを用いて調製したスラリー (P/L=0.8, PVA: 5wt%) を作製した。これらの異なる溶媒を用いて CO_3Ap フォームを作製したが、得られたフォームの強度にほとんど差は認められなかった。

ボールミルを用いて原料粒子を細かくした前駆体で調製したスラリーを用いて CO_3Ap フォームを作製すると、わずかに強度の向上が確認された。元々、前駆体として用いた α -TCP の平均粒径は数ミクロンであり、これ以上の細粒化は α -TCP 前駆体フォームの焼結性にほとんど影響を及ぼさないと結論付けた。

4-2. CO_3Ap フォームと PLLA の複合化による高強度化

PLLA の複合化により CO_3Ap フォームの圧縮強度は 0.04 MPa から 0.1-0.3 MPa と格段に向上した。 CO_3Ap 粒子の配合量の異

なる (0, 5, 20, 60, 100 mg/ml) PLLA 溶液を用いて複合化した CO₃Ap フォームの圧縮強度を図 2 に示す。PLLA への CO₃Ap 粒子の添加は圧縮強度を増加させた(0.1 MPa to 0.3 MPa)。しかし、複合化後の CO₃Ap フォームの圧縮強度は CO₃Ap 粒子の添加量に依存しなかった。電子顕微鏡観察によると PLLA 複合化後も三次元連通気孔構造を維持しており、いずれの試料も約 85%の気孔率を有していた。CO₃Ap 粒子の配合量が 60 mg/ml より低い場合は PLLA コーティング層の中に粒子が埋没している様子が観察されたが、60 mg/ml 以上では粒子が PLLA 層の表面に露出している様子が観察された。代表例として 100 mg/ml の CO₃Ap 粒子を配合した PLLA 溶液を用いて複合化した CO₃Ap フォームの断面の電子顕微鏡写真を図 3 に示す。適量の CO₃Ap 粒子を含む PLLA を複合化させることによって CO₃Ap フォームを補強できることが明らかになった。従って、この材料は骨置換材料として有望であると結論付けた。

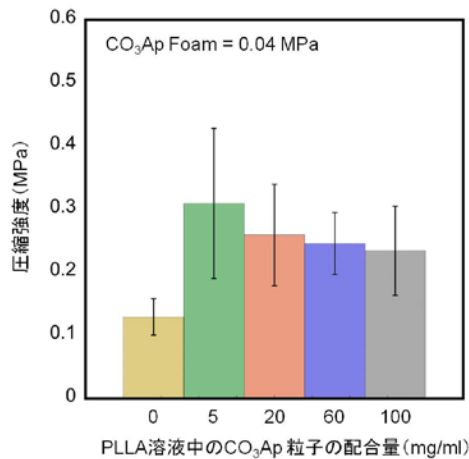


図 2 CO₃Ap 粒子の配合量の異なる PLLA 溶液を用いて複合化した CO₃Ap フォームの圧縮強度

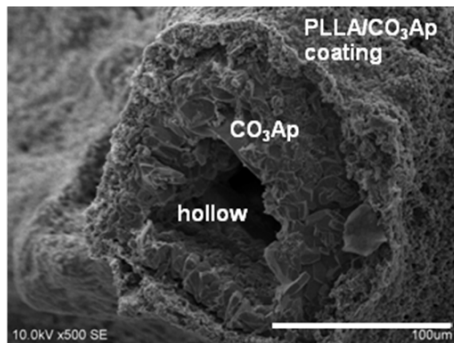


図 3 100 mg/ml の CO₃Ap 粒子を配合した PLLA 溶液を用いて複合化した CO₃Ap フォームの断面の電子顕微鏡写真

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学術論文] (計 1 件)

Kanako Matsumoto, Kanji Tsuru, Giichiro Kawachi, Michito Maruta, Shigeki Matsuya, Ichiro Takahashi, Kunio Ishikawa: Reinforcement of carbonate apatite bone substitutes with carbonate apatite by Ca salt introduction. *Journal of the Ceramics Society of Japan*, **118**(6): 521-524, 2010.

[学会発表] (計 2 件)

- (1) Kanji Tsuru, Akihiro Otsu, Michito Maruta, Alireza Valanezhad, Giichiro Kawachi, Akari Takeuchi, Shigeki Matsuya, Kunio Ishikawa. Calcite Bone Substitute Prepared from Calcium Hydroxide Compact Using Heat-treatment under Carbon Dioxide Atmosphere. The 23rd Symposium and Annual Meeting of International Society for Ceramics in Medicine (Bioceramics 23). Istanbul, Turkey. 2011.11.06-09 (11.07).
- (2) Kanji Tsuru, Girlie M. Munar, Melvin L. Munar, Michito Maruta, Shigeki Matsuya, Kunio Ishikawa, Reinforcement of carbonate apatite foam by coating with poly-L-lactic acid containing carbonate apatite granules. 9th World Biomaterials Congress. Chengdu, China, 2012.6.1-5 (6.4).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

都留 寛治 (TSURU KANJI)
九州大学・歯学研究院・准教授
研究者番号：50314654

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

石川 邦夫 (ISHIKAWA KUNIO)
九州大学・歯学研究院・教授
研究者番号：90202952