

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：13903

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01621

研究課題名（和文）傾斜組織構造を有した生体活性ゾルゲルガラス繊維の創製と組織再生促進効果の評価

研究課題名（英文）Preparation of sol-gel bioactive glass fibres with graded structure and evaluation of their cell compatibility

研究代表者

小幡 亜希子 (obata, akiko)

名古屋工業大学・工学（系）研究科（研究院）・准教授

研究者番号：40402656

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 9,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、生体組織の再生を促す機能を持つ生体活性ガラス繊維の作製に取り組んだ。ガラスの合成には液相法の一つであるゾル-ゲル法を用い、繊維化にはエレクトロスピンニング法を用いた。任意の無機イオンをガラス繊維から溶出させ、これにより細胞を活性化させて組織の再生を促すことを目指し、コアシェル構造を持つ繊維の作製を目指した。また、理想的なイオン供給挙動を実現すべくガラスの組成をデザインした。さらに、細胞培養試験により、免疫系細胞を介した組織再生プロセスにおいてある種のイオンが促進効果を発現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

超高齢社会に突入している日本において、健康寿命を延ばすための高機能な生体材料が求められている。特に骨疾患治療用の材料は需要が高いと見込まれる。従来の材料は硬く脆いものが多かったが、本研究では綿のような柔軟性のある繊維をガラス単体で作製することに成功した。また、細胞を活性化させる機能を有するため、骨などの組織の再生を促進することが期待される。将来的には、綿状ガラスという新しい生体材料を提供するだけでなく、生体以外の分野へも展開できると考える。

研究成果の概要（英文）：In this study, we attempted to develop bioactive glass fibers that have the function of promoting the regeneration of biological tissue. The glass was synthesized using the sol-gel method, which is a liquid phase method, and the electrospinning method was used to fabricate the fibers. We tried to create fibers with a core-shell structure, aiming to elute any inorganic ion from the glass fibers, thereby activating cells and promoting tissue regeneration. We also designed the composition of the glass to achieve ideal ion supply behavior. Furthermore, cell culture tests revealed that certain ions exhibit a promoting effect in the tissue regeneration process mediated by immune system cells.

研究分野：生体材料

キーワード：生体材料 ガラス 細胞 繊維

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

健康寿命を延ばすための高機能な生体材料が求められており、特に骨疾患治療用の材料は需要が高いと見込まれる。セラミックス・ガラス系材料は、骨などの硬組織の再生に対し優れた有用性が実証されている。この要因の一つとして材料から溶出されるイオンが注目されており、その種類や量によって細胞に対し様々な効果を及ぼすことが近年数多く報告されている。

研究代表者らは、複数種のイオンの組み合わせが促進効果の発現に有用であること、細胞による組織再生のプロセスの各段階によって活性化に適したイオン種が異なること、などを見出している。一方で、Imperial College London や University of Birmingham との共同研究により、ゾル-ゲル法とエレクトロスピンニング法(ES法)を組み合わせることで、不織布のような二次元繊維構造や綿(わた)のような三次元繊維構造をもつガラスの作製にも成功している(図1参照)。本手法では、ゾルを含む溶液をES法にてワンステップで繊維化し加熱処理によってガラスを得る。得られる繊維は、溶融法をベースに得られるガラス繊維と比較し繊維径はより小さくかつ均一性が優れる。それゆえ強つきの無い優れた柔軟性を示す。さらに、生体内に存在する細胞外マトリックスの構造と非常に似ていることから、細胞との融合性が優れることが期待される。

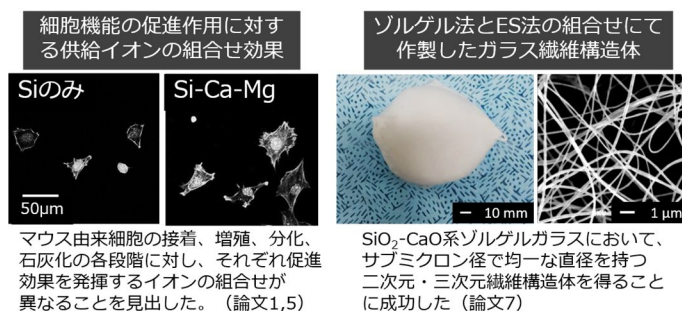


図1. 当グループがこれまでに得た知見.

以上をふまえ、我々はゾル-ゲル法とES法を用いることで、従来法では合成が困難であった多成分系・傾斜構造を有する新規生体活性ガラス繊維を開発することに着想した。ガラスはイオン効果を積極的に活用するのに最適な材料である。細胞の機能発現に必須のカルシウム(Ca)など、細胞に有益な作用を及ぼすイオン源には網目修飾酸化物もある。これらイオンを多量に含むガラスや複数種含む多成分系ガラスは、組織再生に対し非常に有用である一方で、一般的なガラス合成法での作製には限界がある。例えば、ゾル-ゲル法にて上記のような材料を合成すると、重合度の低下によりゲル化が阻害されガラスを得るのが難しい。これに対し、ゾル-ゲル法とES法を組合せた合成方法は有用と考える。一般的なゲル化工程が不要なため、従来のゾル-ゲル法では困難であったガラス組成や傾斜組織をも実現できると考える。さらに、得られる繊維構造体は上述したように生体材料として有効であり、本法の適用は形状設計の観点からも最適である。

2. 研究の目的

本研究課題の目的は、ゾル-ゲル法とES法を組み合わせた手法による新規高機能性生体活性ガラスの作製とした。細胞の活性化に有効な複数種のイオンを供給する機能を有するだけでなく、供給プロセスをも設計可能なガラス組織を構築する。その特異な供給プロセスと細胞による組織新生の関係性について細胞培養試験より検討することで、従来にない高機能性生体活性ガラスの達成へ導く。一般にガラスは組成における自由度が高く、特にゾル-ゲルガラスは比表面積が大きいことから本研究にて見据える「イオン効果を積極的に活用した生体材料」として最適である。

しかし課題もいくつかある。その一つに、Ca等を多量に含有したゾル-ゲルガラスでは、水溶液中でのイオンの溶出挙動にて初期バースト現象が広く認められており、これに付随して周囲のpHの急激な上昇を引き起こす。このpH上昇によって周辺の細胞や自家組織がダメージを受け、理想的な組織再生が進まないといった課題がある。この解決策の一つとして、ガラス粒子を有機ポリマーと複合させた材料などが広く開発研究されているが、有機ポリマーは初期バーストの抑制と柔軟性を提供しつつも、組織再生の促進および細胞の活性化に対する寄与は小さい。

以上をふまえ、ガラス単体にて初期バーストの制御が可能であり、任意のイオンの供給機能と柔軟性を兼ね揃える材料の作製に取り組んだ。これにより、高効率な作用を示しつつ安価な生体材料を実現できると考えた。これを実現すべく、ガラス繊維内部の組織設計の観点から同軸異径スピナレットを用いた多成分系ガラスの傾斜構造設計と、ガラスの組成設計の観点からイオン溶出制御を見据えた第三成分の活用を着想し、本研究にて検討した。

3. 研究の方法

実験1：同軸異径スピナレットを用いたガラス繊維の作製

各種ゾルまたは細胞の活性化に有効な Ca, Mg 等を含む溶液に、ポリビニルブチラール等の有機高分子の溶液を混合し同軸異径スピナレットにて繊維化した。繊維化後、焼成してサンプルを得た。得られた繊維の内部組織を STEM・EDS 等で解析し、Tris-HCl 緩衝溶液 (pH7.4) を用いた浸漬実験と ICP-AES 測定により、イオン溶出挙動の経時変化を見ることで傾斜構造を評価した。

実験2：第三成分によるゾルゲルガラスのイオン溶出挙動の制御

ケイ酸塩ゾルゲルガラスをベースに検討を進めた。第三成分となるある種の酸化物の添加によるガラスの構造変化を、²⁹Si MAS NMR、Raman 分光法等から調査した。また、表面微細構造をガス吸着法から調査した。さらに緩衝溶液を用いた浸漬実験からイオン溶出挙動を調査し、添加によるガラス構造の変化とイオン溶出挙動の関係を調査した。

実験3：任意のイオン供給能を有するガラスの細胞活性化機能の評価

各種イオンの供給による細胞への作用について、細胞培養試験より評価した。種々のイオンが間葉系幹細胞、骨芽細胞、そして免疫系細胞に対し、どのような作用を与えるか調査した。また、細胞による組織の再生プロセスの各段階において、それを促進させるイオン種が異なるかどうか検討した。形態観察およびタンパク質やミネラル産生量等の測定で調査した。

4. 研究成果

同軸スピナレットを用いたエレクトロスピンニングによる多成分系・傾斜構造繊維の作製においては、まず、申請者らの過去の知見をもとに、ゾル溶液に有機ポリマーとしてポリビニルブチラールを主に用いて検討を進めた。コア相にケイ酸カルシウム組成のゾルを、シェル相にケイ酸単一組成のゾルを用いて同軸スピナレットでのスピニングを試みたところ、諸条件を調整することで繊維化に成功した。得られたサンプルは直径が数百 nm の繊維が堆積した繊維構造体であり、湿度条件を最適化することでわたの様な立体的な構造体の作製にも成功した (図2)。

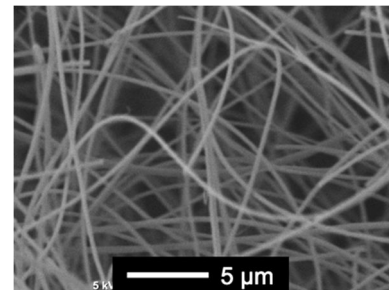


図2. 作製したガラス繊維.

コアシェル構造を構築するにあたり、有機バインダーの種類や溶媒、そしてそれらの組み合わせ条件について検討した。コアシェル構造および立体的な繊維構造体を得るには、有機バインダーの組み合わせ条件が重要であることを導いた。ガラスのみからなるコアシェル構造繊維材料という、新しい材料を設計するための指針を示した。

ケイ酸カルシウム系ゾルゲルガラスからのイオンの溶出挙動における、ある種の酸化物の添加効果について検討した。まずは、イオン溶出挙動に影響を及ぼす因子の一つであるガラスの比表面積について、酸化物の添加の有無による影響を調査した。その結果、溶出挙動と比表面積の変化の間に相関が認められなかった。よって、酸化物の添加によるガラス構造の変化が、溶出挙動へ影響を及ぼしていることがわかった。

ガラス構造について ²⁹Si MAS NMR や Raman 分光法を用いて解析したところ、酸化物の添加によってガラス内のカチオン (カルシウムイオン) の位置や状態に変化が生じることが示唆された。これらの変化が、ガラス全体からのイオン溶出挙動に影響を及ぼしたと考えている。

得られたガラスのイオン溶出挙動を調査したところ、ある種の酸化物を添加することで、いわゆる初期バーストと言われる爆発的なイオン溶出は抑えられ、さらに、より長期間にわたって各種イオンが供給可能であることがわかった。以上のことから、第三成分となる酸化物を活用することで、ケイ酸カルシウム系ゾルゲルガラスのイオン供給機能を制御することを可能とし、その要因についてもガラス構造解析の結果から示すことができた。

ガラスから溶出することが想定される種々の無機イオンについて、細胞培養試験により細胞の各種機能への影響を検討した。単一イオン種を供給した場合と複数種を供給した場合にて、細胞の応答性に変化が生じた。これらの結果より、段階的に複数種のイオンを供給する場合と同時供給する場合で、細胞への作用が異なることが示唆された。

さらに、免疫系細胞による作用についても考慮した実験系を組み、この作用に対するイオンの効果を検討した。具体的には、イオンによって刺激を受けた免疫系細胞の産生物を間葉系幹細胞に供給し、幹細胞の機能変化について調査した。その結果、イオンの種類に依存して間葉系幹細胞

胞の機能を変化させることを導いた。これらの結果は、免疫系細胞の応答を操作し、免疫系を介した組織再生を促進させるのにある種のイオンが有効であることを示唆した。

以上のことから、本研究では、ゾルゲル法と ES 法を活用することで、コアシェル構造を持つガラス繊維構造体の作製に成功した。ガラス組成をデザインすることで、これまでのゾルゲルガラスで課題となっていたイオンのバースト現象を解決し、これにより生体にさらに優しい材料を達成できた。このガラスから溶出するイオンは、その種類によって組織再生に有効な作用を及ぼすことを細胞実験から導いた。

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Daisuke Ishihara, Anthony L.B. Macon, Elizabeth Norris, Julian R. Jones, Akiko Obata, Toshihiro Kasuga	4. 巻 -
2. 論文標題 Borosilicate sol-gel bioactive glasses and the effect of borate content on structure-property relationships	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Sol-Gel Science and Technology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10971-023-06075-0	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 該当する

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 3件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Akiko Obata, Tomohito Takagi, Chiaki Yanase, Toshihiro Kasuga
2. 発表標題 Preparation of Calcium Borate-based Glasses by Sol-Gel Method
3. 学会等名 The 37th International Kore-Japan Seminar on Ceramics（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Akiko Obata, Hiroki Hatakeyama, Tomohito Takagi, Shota Suda, Toshihiro Kasuga
2. 発表標題 Boron-containing sol-gel glasses for tissue regeneration
3. 学会等名 International Workshop on Advanced Ceramics 09 (IWAC09)（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小幡亜希子, 高木智人, 築瀬千明, 春日敏宏
2. 発表標題 ゾルゲル法による生体用ホウ酸カルシウム系ガラスの作製
3. 学会等名 第45回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小幡亜希子、春日敏宏
2. 発表標題 治療イオンを徐放する生体活性ゾルゲルガラスの開発
3. 学会等名 日本セラミックス協会第36回秋季シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 築瀬千明、小幡亜希子、春日敏宏
2. 発表標題 組成傾斜構造を有するゾル-ゲルガラス繊維の作製
3. 学会等名 日本セラミックス協会2024年年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 池戸一将、須田祥太、小幡亜希子、春日敏宏、五十嵐正安
2. 発表標題 構造の異なるケイ素化合物による細胞活性効果の調査
3. 学会等名 2023年度日本セラミックス協会東海支部学術研究発表会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 橋見拓人、小幡亜希子、春日敏宏
2. 発表標題 生体用SiO ₂ -CaO-Ga ₂ O ₃ ゾルゲルガラスの合成
3. 学会等名 第25回生体関連セラミックス討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 橋見拓人、小幡亜希子、春日敏宏
2. 発表標題 SiO ₂ -CaOゾルゲルガラスへのGa導入が構造及び溶解性に与える影響
3. 学会等名 日本セラミックス協会第36回秋季シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 橋見拓人、小幡亜希子、春日敏宏
2. 発表標題 SiO ₂ ゾルゲルガラスへのGaおよびAl導入が構造及び溶解性に与える影響
3. 学会等名 第64回東海若手セラミスト懇話会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 築瀬千明、小幡亜希子、春日敏宏
2. 発表標題 ケイ酸カルシウム系ゾルゲルガラスコアシェル繊維の作製
3. 学会等名 第64回東海若手セラミスト懇話会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高木智人、小幡亜希子、春日敏宏
2. 発表標題 生体用ホウ酸カルシウム系ゾルゲルガラスの作製
3. 学会等名 2022年度日本セラミックス協会東海支部学術研究発表会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 橋見拓人、犬塚匡哉、小幡亜希子、Julian R Jones、矢澤宏次、春日敏宏
2. 発表標題 SiO ₂ -CaOゾルゲルガラスへのガリウムの導入効果
3. 学会等名 第62回東海若手セラミスト懇話会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 築瀬千明、小幡亜希子、春日敏宏
2. 発表標題 コアシェル構造を有するゾルゲルガラス繊維の作製
3. 学会等名 粉体粉末冶金協会2022年度春季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Chiaki Yanase, Gowsihan Poologasundarampillai, Akiko Obata, and Toshihiro Kasuga
2. 発表標題 Preparation of bioactive glass fibers with core-shell structure
3. 学会等名 21th Asian BioCeramics Symposium (ABC2022) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 橋見拓人、犬塚匡哉、Julian R Jones、矢澤宏次、小幡亜希子、春日敏宏
2. 発表標題 SiO ₂ -CaOゾルゲルガラスのイオン溶出能に対するガリウム導入の影響
3. 学会等名 日本金属学会2021年(第171回)秋期講演大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 橋見拓人、犬塚匡哉、小幡亜希子、春日敏宏
2. 発表標題 SiO ₂ -CaOゾルゲルガラスにおけるガリウムの導入効果
3. 学会等名 2021年度日本セラミックス協会東海支部学術研究発表会
4. 発表年 2021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
研究協力者	プーロガスンダラムピライ ガウシ ハン (Poologasundarampillai Gowsihan)	バーミンガム大学	
研究協力者	ジョーンズ ジュリアン (Jones Julian)	インペリアルカレッジロンドン	

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
---------	---------