

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：17104

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24550234

研究課題名(和文)無機-有機ハイブリッド型生体用セメントの創成と硬化機構の解明

研究課題名(英文)Preparation of cement biomaterials of organic-inorganic hybrid and investigation of setting mechanism

研究代表者

宮崎 敏樹 (Miyazaki, Toshiki)

九州工業大学・生命体工学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：20324973

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：リン酸カルシウム系セメントが骨欠損修復用に用いられているが、硬化体のヤング率が天然骨より高いため、周囲の骨の脆化をもたらす恐れがある。本研究では骨親和性に優れる成分を添加した有機-無機ハイブリッド型骨セメントを作製し、硬化挙動や機械的特性、骨融合性に及ぼす影響の解明を目的とした。歯科用グラスアイオノマーセメントにポリグルタミン酸を添加すると、生体環境で炭酸カルシウムを形成する良好な骨親和性セメントが得られた。またポリメチルメタクリレート系セメントに適切な量のリン酸系化合物及びカルシウム塩を添加すると、生体環境下でアパタイトを早期に形成し十分な機械的特性を併せ示す骨融合性セメントが得られた。

研究成果の概要(英文)：Calcium phosphate cements are clinically used for bone reconstruction. However, the set cement has higher Young's modulus than natural bone. Therefore bone reabsorption is liable to occur due to stress shielding. The present study aimed at preparation organically modified bone cements and investigation of the effect of the modification on setting properties, mechanical properties and bone affinity. It was found that dental glass ionomer cement can be developed by addition of polyglutamic acid, and that ability of bone integration of PMMA bone cement can be improved by modification with phosphate-containing organic compounds without significant deterioration of mechanical properties.

研究分野：無機生体材料学

キーワード：骨セメント 骨親和性 擬似体液 硬化挙動 機械的特性 有機-無機ハイブリッド

1. 研究開始当初の背景

運動機能を支持する骨組織の欠損は、生活の質(QOL)の大幅な低下をもたらすので、短期間でその機能を回復できる医療技術が不可欠である。現在、骨欠損の修復に金属やセラミックスが使用されている。しかし、それらを埋入するために周囲の骨をインプラント材料に合わせて切削する必要があり、患者への負担が増大する。そこで複雑な形状の骨欠損を簡便に修復できる素材が得られれば望ましい。臨床現場において、この種の素材には以下の特性が必要と考えられている。

- (1) 骨と同等の力学的特性を示すこと。
- (2) 骨と直接結合できる高い生物学的親和性(生体活性)を示すこと。
- (3) 手術室で患部に応じて自由に成形できること。

現在このような目的で、リン酸カルシウム系粉末と硬化液からなる自己硬化性の注入型ペーストが市販されている。ただし、硬化体のヤング率が天然骨より高いため、周囲の骨への荷重伝達を妨げ骨の脆化をもたらす恐れがある。天然骨は有機高分子のコラーゲンと無機の水酸アパタイトがナノメートルレベルから巧みに構築された無機-有機ハイブリッド構造を取る。そこで力学的にも高機能な骨修復用素材として無機-有機ハイブリッドが有望と考えられる。さらにこの種の素材を基本として生体吸収性の制御により骨再生能を付与しておけば、骨粗鬆症により骨密度の低くなった箇所を低侵襲で修復できる新素材としての応用も期待できる。

2. 研究の目的

以上の背景を踏まえ、本研究課題では骨セメントに骨親和性に優れる官能基を持つ有機成分を添加した有機-無機ハイブリッド型の自己硬化性骨修復材料を作製し、硬化挙動や機械的特性、骨融合性にいかなる変化を及ぼすかを明らかにすることを目的とした。骨セメントとしては、人工関節固定に用いられるポリメチルメタクリレート(PMMA)系セメント、ならびに歯の欠損修復に用いられるガラスアイオノマーセメントを用いた。

3. 研究の方法

(1) ガラスアイオノマーセメントの骨融合性

本項目では、体液環境下でのアパタイト形成に優れ、骨融合性に富むポリグルタミン酸を、通常ガラスアイオノマーセメントの硬化液成分であるポリアクリル酸に代えて用いた。

ガラスフィラーとしてシリカ、アルミナ及び酸化カルシウムを成分とするガラスをゾル-ゲル法により作製した。一方、種々の濃度のポリグルタミン酸(PGA)を酒石酸水溶液に溶解して硬化液を得た。粉液比 1 から 2 までの範囲でガラス粉末と硬化液を混合し、アクリル

樹脂製モールドに入れ相対湿度 98% のデンケーター中で硬化させた。硬化体の機械的特性を円環引張強度測定により調べるとともに、生体環境下での反応について、無機イオン濃度をヒト血漿濃度とほぼ等しくした擬似体液中において調べた。

(2) リン酸化合物を添加による PMMA セメントへの骨融合性付与

PMMA 粉末、酢酸カルシウム、過酸化ベンゾイルを混合してセメント粉末とした。一方、メチルメタクリレート、2-ヒドロキシエチルメタクリレートリン酸エステル(Pa2hme)をビス[2-(メタクリロイルオキシ)エチル] (BisP)、N,N-ジメチル-p-トルイジン(NTD)を混合して硬化液とした。Pa2hme 及び BisP を加えたのは、両者が、生体環境下でアパタイト形成を誘起することが知られているリン酸基を含むためである。セメント粉末中の酢酸カルシウムの量、ならびに硬化液中の Pa2hme 及び BisP の量を 50% までの範囲で種々変化させた。セメントの粉液比は 2 とした。混合後のペーストをアクリル樹脂製モールドに入れ、23℃、相対湿度 50 ± 10% の条件で硬化させた。

硬化時間をピカー針試験により評価した。また、機械的特性は擬似体液中に 7 日間浸漬した後の試料について圧縮試験により評価した。生体環境下でのアパタイト形成について前項と同様に擬似体液を用いて評価した。

4. 研究成果

(1) ガラスアイオノマーセメントの骨融合性

まずガラス成分の違いが効果挙動に及ぼす影響について調べた。アルミナとシリカを 50% ずつ含むガラスを用いたセメントでは、イオン架橋の形成が認められ良好に硬化することが明らかとなった。しかし、上記の系に酸化カルシウムを添加したガラスを用いた場合は硬化が認められなかった。これは、カルシウムイオンが周囲の液中に多量に溶出してアルカリ性になり、硬化に必要なカルシウムあるいはアルミニウムイオンとの塩が生成し難かったためと考えられる。そのため、以後の実験ではアルミナとシリカを 50% ずつ含むガラスを用いた。

引き続きポリグルタミン酸添加量あるいは粉液比がセメントの機械的特性に及ぼす影響について調べた。その結果を図 1 に示す。PGA 濃度の増加あるいはセメントの粉液比の減少に伴い、間接引張強度が増加する傾向にあった。PGA 濃度を増大させた場合には、セメント中の高分子の架橋度が増大し、セメント中にアルミニウムイオンとポリマーからなる塩が多く生成したためと考えられる。一方、粉液比が高くなると、ガラス粉末と硬化液が均一に混合されがなくなり、粉末どうしが接触する箇所が増大したために、強度が低下したものと考えられる。PGA 濃度を 30%、粉液比を 1 とした試料が最大 12 MPa 程度の強度を示した。

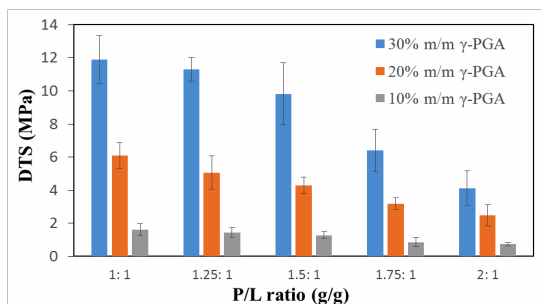


図1 得られたグラスアイオノマーセメントの圧縮強度。

得られたセメントを擬似体液中に浸漬すると、図2に示すようにいずれの組成の試料についても表面に炭酸カルシウムが形成された。骨の主成分であるリン酸カルシウムとは組成において異なるものの、炭酸カルシウムもまた骨融合性を示すことが報告されているので、本研究で得られたセメントも骨融合性を発現することが期待できる。

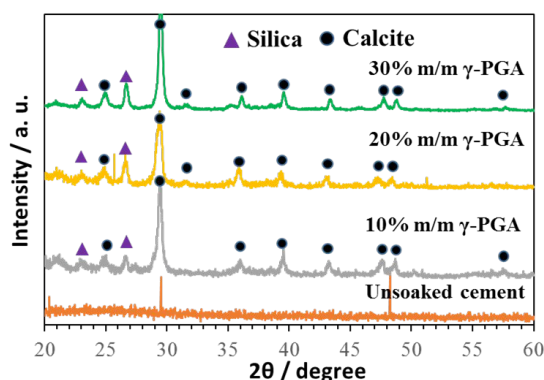


図2 擬似体液に7日間浸漬後のグラスアイオノマーセメントの薄膜X線回折パターン。

(2)リン酸化合物を添加によるPMMAセメントへの骨融合性付与

リン酸基含有化合物及び酢酸カルシウムを添加したセメントは、無添加に比べて硬化時間を大幅に短縮させた。Pa2hme及びBisPの量の増加はセメントの硬化時間を増大させる傾向にあった。また、酢酸カルシウムについては、35%までの添加は硬化時間を減少させる傾向にあったものの、それ以上では大きな変化は認められなかった。Pa2hme及びBisPにPMMAセメントではMMAのラジカル重合により硬化が進行するが、本研究で用いたセメントでは、これに加えて、Pa2hme及びBisPに含まれるリン酸基と、酢酸カルシウム中のカルシウムイオンがイオン架橋を形成し、硬化時間を短縮させたものと考えられる。なお、Pa2hme及びBisPのみを加え、酢酸カルシウムを加えなかったセメントは硬化しなかった。リン酸含有ビニル化合物は酸性度が高いと重合しにくくなることが知

られている。酢酸カルシウムを添加することにより酸性モノマーであるPa2hme及びBisPが中和され、重合しやすくなったものと考えられる。このように、セメント中でのイオン架橋の形成はラジカル重合を安定に進める上でも重要であることが分かった。

圧縮強度については、セメントへの添加物の量が増大するにつれ、低下する傾向を示した(図3)。酢酸カルシウム添加量が同じ場合を比較するとBisPを用いた方がPa2hmeに比べて圧縮強度に優れることが分かった。BisPではリン酸基に2つの有機官能基が結合しているのに対し、Pa2hmeでは1つから3つとばらつきがある。有機官能基の結合が少ない部分では、親水性が増し水との反応性が増大したため、Pa2hmeを加えたセメントでは圧縮強度が比較的低かったものと考えられる。酢酸カルシウム添加量を20%としたものについては、硬化しなかったPa2hmeを除いて擬似体液中での圧縮強度がISO5833基準で規定されている70MPaを上回っていた。

リン酸基含有化合物及び酢酸カルシウムを添加したセメントは、擬似体液中でアパタイトを最短で1日以内に形成することが分かった(図4)。但し、酢酸カルシウム添加量を増加させるにつれ、アパタイト形成は促進されるものの、Pa2hmeを硬化液に50%添加すると、アパタイトを形成しなくなった。これは、周辺のpH環境が著しく酸性化したためと考えられる。

以上の結果より、PMMAセメントに適切な量のリン酸基含有化合物及びカルシウム塩を添加することにより、生体環境下でアパタイトを早期に形成する骨融合性に優れたセメント型骨修復材料が得られ、その機械的特性は添加物の化学構造により大きく変化することが分かった。

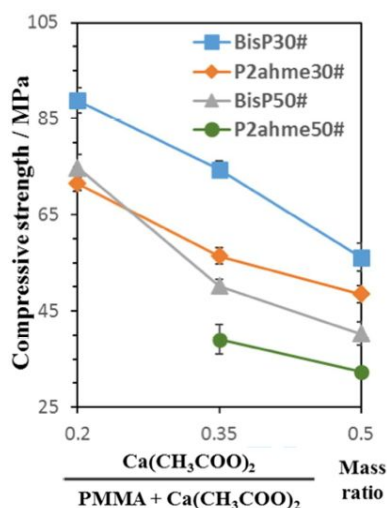


図3 BisP, P2ahme及び酢酸カルシウム種々の量添加したセメントの擬似体液7日浸漬後の圧縮強度。BisP(P2ahme) x#はこれらをx%添加していることを意味する。

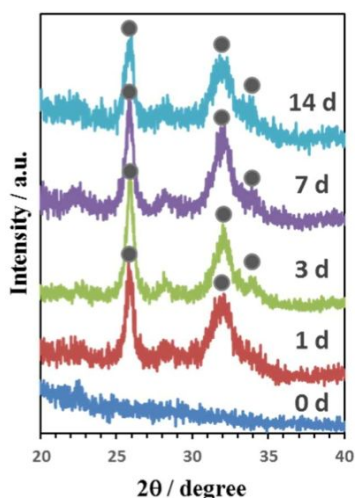


図4 BisPを30%、酢酸カルシウムを50%添加したセメントの擬似体液浸漬後のX線回折パターン。

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)

〔雑誌論文〕(計5件)

J. Liu, Y. Shirosaki and T. Miyazaki, "Bioactive PMMA bone cement modified with combinations of phosphate group-containing monomers and calcium acetate", *J. Biomater. Appl.* (査読有), **29**, 1296-1303 (2015).

J. Liu, Y. Kuwahara, Y. Shirosaki and T. Miyazaki, "The investigation of bioactivity and mechanical properties of glass ionomer cements prepared from Al_2O_3 - SiO_2 glass and poly(γ -glutamic acid)", *J. Nanomater.* (査読有), Article ID 168409, 6 pages (2013).

T. Miyazaki, K. Ishikawa, Y. Shirosaki and C. Ohtsuki, "Organic-inorganic composites designed for biomedical applications", *Biol. Pharm. Bull.* (査読有), **36**, 1670-1675 (2013).

T. Miyazaki, "Design of bone-integrating organic-inorganic composite suitable for bone repair", *Front. Biosci. (Elite Ed.)* (査読有), **5**, 333-405 (2013).

宮崎敏樹, "骨融合型有機-無機ハイブリッド材料の創成", *J. Soc. Inorg. Mater. Japan (セッコウ・石灰・セメント・地球環境の科学)* (査読無), **19**, 430-435 (2012).

〔学会発表〕(計9件)

T. Miyazaki, "Design of Organic-inorganic Hybrids Supporting Bone Tissue Regeneration", 7th World Congress of Preventive and Regenerative Medicine (WCPRM 2014), Taipei, 2014.11.4-7.

J. Liu, T. Miyazaki, Y. Shirosaki, "Formation of bioactive surface on PMMA bone cement via modification with calcium acetate and phosphate group-containing monomers", 14th Asian BioCeramics Symposium (ABC2014), Shanghai, China, 2014.10.28-30.

R. Hamai, Y. Shirosaki, T. Miyazaki, "Effect of Polymerization Accelerator on Apatite-forming Ability of Vinylphosphonic acid-based Copolymer in Simulated Body Environment", 14th Asian BioCeramics Symposium (ABC2014), Shanghai, China, 2014.10.28-30.

濱井瞭, 城崎由紀, 宮崎敏樹, "リン酸基含有有機-無機ハイブリッドの作製と擬似体液環境下におけるアパタイト形成能評価: 重合促進剤の影響", 第27回日本セラミックス協会秋季シンポジウム, 鹿児島, 2014.9.9-11.

J. Liu, Y. Shirosaki and T. Miyazaki, "Bioactive PMMA Bone Cement Modified with Bis[2-(methacryloyloxy)ethyl] Phosphate and Calcium Acetate", IUMRS-ICA2014, Fukuoka, 2014.8.24.-29.

R. Hamai, Y. Shirosaki and T. Miyazaki, "Apatite-forming Ability of Organic Polymer Containing Phosphate Groups in Simulated Body Environment", IUMRS-ICA2014, Fukuoka, 2014.8.24.-29.

J. Liu, Y. Kuwahara, Y. Shirosaki and T. Miyazaki, "Bioactivity and mechanical properties of glass ionomer cements containing Al_2O_3 - SiO_2 glass and poly(γ -glutamic acid)", 13th Asian BioCeramics Symposium, Kyoto, 2013.12.4-6.

木下卓也, 宮崎敏樹, "リン酸基含有有機-無機ハイブリッド材料への生体活性の付与", 第16回生体関連セラミックス討論会, 千葉工業大学, 2012.11.30.

宮崎敏樹, "硬組織修復に向けた高分子および複合材料の最近の進歩", 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2012 サテライトシンポジウム, 東北大学, 2012.11.28.

〔図書〕(計3件)

T. Miyazaki and M. Kawashita, "Electrochemical Deposition of Hydroxyapatite and Its Biomedical Applications", *Hydroxyapatite Coatings for Biomedical Applications*, S. Zhang 編, CRC Press, pp. 31-53, 2013.

宮崎敏樹, "第3章第3節 天然系高分子材料の生体内分解吸収性技術," 体内埋め込み医療材料の開発とその理想的な性能・デザインの要件, 技術情報協会, pp. 284-285, 2013.

宮崎敏樹, "焼かずに作るエコフィッティングセラミックス", 九工大世界トップ技術 Vol. 3, 国立大学法人九州工業大学編, 西日本新聞社, pp. 90-97, 2012.

〔その他〕

宮崎研究室ホームページ

<http://www.life.kyutech.ac.jp/~tmiya>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

宮崎 敏樹 (MIYAZAKI, Toshiki)

九州工業大学・大学院生命体工学研究科・准教授

研究者番号：20324973