

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：13901

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22107007

研究課題名（和文）バイオミネラルの無機組織構造に学ぶ融合マテリアルの構築

研究課題名（英文）Creative Development of Fusion Materials from Organized Structures of Inorganic Components in Biominerals

研究代表者

大槻 主税（OHTSUKI, Chikara）

名古屋大学・工学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：00243048

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 50,600,000円

研究成果の概要（和文）：骨や歯といったバイオミネラルは、巧みな無機/有機複合構造を持つ材料である。本研究課題ではバイオミネラルが持つ構造や、それらが形成される過程を規範にして、無機成分と有機成分が精緻に複合化された融合マテリアルを構築するプロセスの開拓を目的とした。生体を模倣した環境で、有機高分子とリン酸カルシウム系セラミックスなどを複合化する条件を明らかにした。また、多糖を用いて温度応答性と骨結合性を併せ示す材料を得る方法を見出した。さらに、生体模倣環境で酸化チタンや酸化鉄にリン酸カルシウムを複合化する条件を明らかにし、低環境負荷なプロセスでの複合構造構築を可能にする指針を得た。

研究成果の概要（英文）：Biomimerals, such as bone and tooth, are inorganic-organic composites having well-organized structures. In this study, fundamental factors that influence composite formation were investigated to develop well-organized inorganic-organic fusion materials through the methods inspired by formation and structure of biominerals. Composites of organic polymer and calcium phosphates with various microstructures were fabricated through the biomimetic processing. Temperature-responsive material with bone-bonding ability was developed from a polysaccharide by the addition of inorganic salts. Titanium oxides and iron oxides, with appropriate surface characteristics, were found to be useful as substrates that form composites with hydroxyapatite using a type of aqueous solution mimicking body fluid. These findings lead to fabrication of composite materials with designed morphology as well as functionality through an environment-friendly process based on the optimized inorganic-organic interactions.

研究分野：工学

キーワード：融合マテリアル ハイブリッド材料 セラミックス 生体材料 バイオミメティックス ヒドロキシアパタイト 擬似体液

1. 研究開始当初の背景

骨や歯、貝殻は、生体が無機物質を主成分にして作り出しているバイオミネラルである。これらのバイオミネラルは、巧みに階層化した構造を持つ無機/有機複合体である。この構造が、しなやかで高強度な機械的特性を与えている。しかも、バイオミネラルは、環境に応答した形態に生成する。また骨の組織では、分解と形成が繰り返されており、代謝活動にも組み入れられる機能も有している。生体はこのような高機能材料を温和な条件で合成している。したがって骨や歯の構造や機能、それらが構築されるプロセスに倣う“バイオメテリック材料合成”は、低環境負荷で高機能な材料を創製するための優れた概念となる。

骨や歯のような硬組織が生成する環境を模倣した温和なプロセスで、種々の基板表面に無機化合物の水酸アパタイト(HAp, ヒドロキシアパタイトとも呼ぶ)を被覆するプロセスは提案されている。しかし、従来のプロセスでは、三次元階層構造の構築や、材料に特徴的な機能を付与するには未だ至っていない。

2. 研究の目的

本研究課題では、無機/有機複合構造のバイオメテリック構築を目指し、有機高分子と無機固体を低環境負荷な条件で複合化するプロセスの開拓に取り組んだ。このプロセスの開拓によって構築される融合材料は、従来の材料では達成できていない機械的特性を持つ生体材料(バイオマテリアル)や環境に応答する動的機能を持つ環境応答性材料といった高機能材料に繋がるものとなる。

3. 研究の方法

本研究課題では、無機物質と有機物質の複合構造構築のプロセスをモデル化し、生体模倣環境での無機結晶の形成挙動に及ぼす有機テンプレートや無機基材、有機分子共存の効果調べた。無機/有機構造を構築するための制御因子を、(1) 骨格材料となる無機固体(セラミックス)、(2) 結晶生成のテンプレートとなる有機高分子、(3) 結晶成長に利用される無機イオン、(4) 結晶の形態を制御する有機分子、に分類して反応過程の解明と合成プロセスの開拓を進めた。有機分子としてセルロースナノファイバーや温度応答性ポリマーを用い、リン酸カルシウム系材料の構築プロセスを探索した。さらに、無機成分として酸化チタンや酸化鉄を用いて、材料合成法の拡張を検討した。

研究代表者は、ヒトの体液を模倣した水溶液である擬似体液(SBF)やそのイオン濃度を高めた水溶液(1.5SBF)を用いて、セラミ

ックス、金属、有機高分子といった種々の基板の表面に HAp を被覆するプロセスを開発してきた。しかし、従来のバイオメテリックプロセスでは、三次元階層構造や環境応答性を示す材料の構築は、未だ十分には達成されていない。本研究課題では、無機結晶と有機高分子を階層的に複合化する構造構築のプロセスをモデル化し、無機結晶の形成挙動に及ぼす有機テンプレートや有機分子共存の効果調べた。有機高分子としてセルロースナノファイバーや環境応答性ポリマーを用いるとともに、三次元構造を制御するマトリックスとして水和ゲルを用いた。これらの有機高分子に対して、無機結晶としてリン酸カルシウム化合物を主体に構造構築の条件を探索した。さらに無機成分として酸化チタンや酸化鉄についても検討した。構造構築の反応をモデル化した概念図を図 1 に示す。この概念に基づいて、基板材料となるセラミックスの精密な合成、生体模倣環境での無機結晶の形成挙動と有機分子共存の影響調べた。

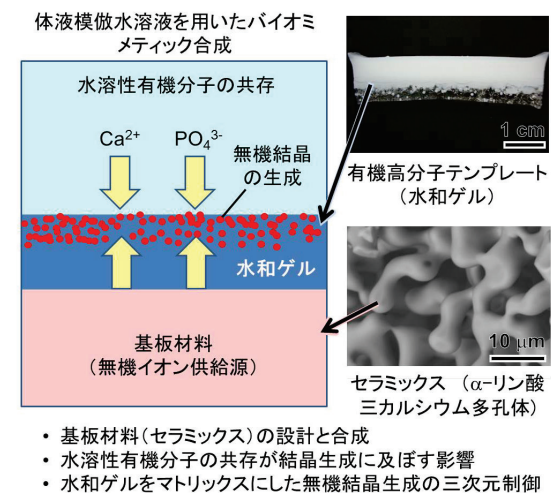


図 1. 生体模倣環境での材料合成のモデル化。

4. 研究成果

(1) 新規リン酸カルシウム系基材の合成

リン酸カルシウムの多孔体を基板に用いる場合、多孔体を構成する無機結晶の組成と形態は、複合構造の構築を支配する重要な因子となる。組成と形態を制御した HAp 多孔体を合成する手法として、水熱処理法を利用して、炭酸含有ヒドロキシアパタイト (CHAp) の合成に取り組んだ。その結果、β型リン酸三カルシウム (β-TCP) とリン酸水素カルシウム二水和物 (DCPD) の混合粉末の成形体を、尿素溶液を用いて水熱合成するプロセスにより CHAp が得られる条件を明らかにした。さらに、HAp に類似した結晶構造を持つ物質としてリン酸八カルシウム (OCP) を有機修

飾する条件を検討し、ジカルボン酸を導入した OCP を得るための条件を明らかにした。

(2) セルロースナノファイバーへの HAp 形成能の付与

無機結晶が析出する基板として、セルロースナノファイバーを選び、体液模倣環境で HAp の不均一核形成を誘導するための条件を探索した。セルロースナノファイバーを種々の度合い（グルコース単位あたりで0～27%）で酸化した。得られたセルロースナノファイバーのシートを1.5SBF に浸漬し、HAp 形成を対比した。その結果、酸化しないセルロースナノファイバーに比べて9.9%の酸化までは、HAp の形成が促進され、9.9%よりも酸化度合いが大きくなると HAp が形成しにくくなることが明らかになった。すなわち HAp の不均一核形成には、官能基の濃度に至適域があることが示された。この知見は基板への官能基導入が無機結晶の生成抑制にも関与することを明らかにしており、バイオミメティックプロセスによる無機/有機融合マテリアルの設計に重要な方針を与えた。

(3) 温度応答性をもつ多糖ヒドロゲル表面でのリン酸カルシウム形成

無機結晶が析出する基板に刺激応答性を与えれば、周囲の環境に応答した複合化のプロセスが構築できる。κ-カラギーナンは、体温付近においてゲル化する多糖である。40℃以上では流動性を有し、40℃以下ではゲル化した状態を獲得するとともに、SBF 中で表面に骨の無機質に類似した HAp が生成する機能を持つ材料の合成条件を探索した。塩化カリウムと塩化カルシウムの添加により、60℃では流動性を示し、42～40℃の範囲で流動性が低下し固形物となる基板が得られた。この基板は SBF 中で1日以内に HAp の形成が認められ、温度応答型の生体活性骨修復材料の基材になることが確かめられた（図2）。

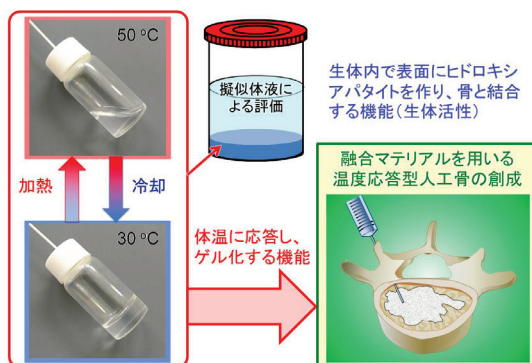


図2. 多糖由来ヒドロゲルを利用した温度応答型骨修復材料。

(4) リン酸カルシウム生成反応に及ぼす水溶性有機分子共存の効果

生体内におけるリン酸カルシウムのミネラル化を模倣するための溶液として、擬似体液（SBF）を用いた。SBF に2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸（AMPS）を添加し、カルシウムイオンを含有するポリアクリルアミドゲル表面でのリン酸カルシウムの生成を調べた。その結果、AMPS 濃度の上昇に伴って生成するリン酸カルシウムの粒子数が減少し、粒子径は大きくなること明らかになった。AMPS 濃度が7.5 mol m⁻³ (mM) 以上の場合、析出物は観察されなかった。AMPS 添加によってリン酸カルシウムの形態を制御できることが見出された。さらに水和ゲルを構成する分子に AMPS を導入することで、ゲル内部でのリン酸カルシウム生成が起こり得ることが明らかになった。

(5) 水和ゲルと繊維状リン酸カルシウムの複合構造構築

リン酸カルシウム結晶を水和ゲルマトリックス中で形成する際に、適当な条件を与えることで、析出する結晶の組成や形態を制御できることを見出した。それらの知見に立脚して、繊維状の HAp 結晶の集合体の合成に成功した。反応場となる水和ゲルの両端からカルシウムイオンとリン酸イオンをそれぞれ拡散させるプロセスで、水和ゲル中に配向した繊維状 HAp が形成されることを明らかにした（図3）。生成する HAp は、配向性の高い HAp であり、繊維状無機結晶と高分子ゲルの複合体が温和な条件で in situ 合成できることを明らかにした。

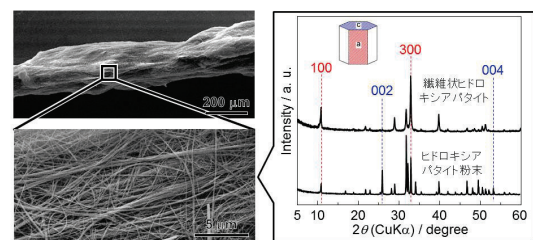


図3. 水和ゲル中で生成した繊維状ヒドロキシアパタイトの形態と X 線回折図（ヒドロキシアパタイト粉末との対比）。

(6) 酸化チタン系基材へのリン酸カルシウムの複合化

チタン系材料の表面を適当な条件で化学処理すると、SBF 環境において HAp の不均一核形成を誘起する機能を持つ酸化チタンの表面が得られる。しかし、酸化チタンの表面に HAp を複合化するための条件には不明な点が多い。そこで、酸化チタンの HAp 形成能を、添加物を導入して材料の表面の性状と

HAp 形成能を関連づけることにより調べた。ゾルーゲル法でアナターゼを主な相とする試料を合成した。アナターゼの試料は、SBF 中で HAp を形成した。しかし Ti に対して、Al や Si を導入した場合、1 mol% であっても HAp の形成を抑制した。Fe の場合は 5 mol%、Mn の場合 10 mol% を導入しても HAp を形成した。特定の微量添加物で変わる初期の表面性状に加えて、水溶液プロセスで起こる表面反応により、HAp の形成が支配されることが分かった。

(7) 酸化鉄系基材へのリン酸カルシウムの複合化

鉄化合物の表面が、SBF 中で HAp の不均一核形成を誘起できれば、磁気特性と生体組織親和性を有する新規な複合材料のバイオミメティックな合成が可能となる。そこで種々の鉄系化合物の SBF 中における HAp 形成能を調べた。その結果、ゾルーゲル法で合成した α -Fe₂O₃ 薄膜では、熱処理温度が低い 600°C 以下の場合に、HAp 形成能が得られることが明らかになった (図 4)。さらに Fe₃O₄ 粉末でも SBF 中で HAp を形成することも明らかになった。これらの知見は、バイオミメティックプロセスで、酸化鉄系化合物の機能と HAp の生体機能を融合するための技術に結びつくと期待される。

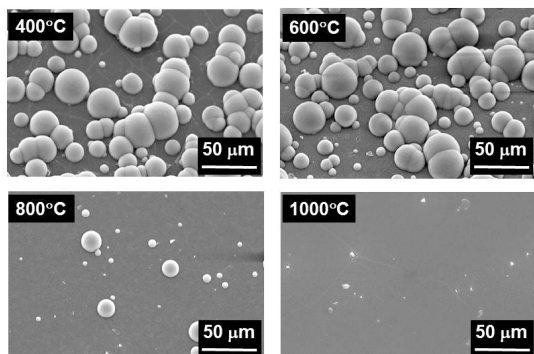


図 4. 種々の熱処理温度で合成した α -Fe₂O₃ を 7 日間 SBF に浸漬した試料表面の SEM 像。400°C と 600°C の熱処理で、多数の HAp が生成した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 1 件)

- ① *Euisup Shin, Ill Yong Kim, Sung Baek Cho and Chikara Ohtsuki, “Hydroxyapatite Formation on Titania-Based Materials in a Solution Mimicking Body Fluid: Effects of Manganese and Iron Addition in Anatase”, *Mater. Sci. Eng.: C*, **48**, 279-286 (2015). (査読有)

読有)

- ② Yasuyuki Kato, *Taishi Yokoi, Euisup Shin, Ill Yong Kim, Masakazu Kawashita, Koichi Kikuta and Chikara Ohtsuki, “Calcium Phosphate-Forming Ability of Magnetite and Related Materials in a Solution Mimicking in Vivo Conditions”, *J. Asian Ceram. Soc.*, **3**, 44-49 (2015). (査読有)
- ③ Seira Morimune-Moriya, Sakina Kondo, Ayae Sugawara-Narutaki, Tatsuya Nishimura, Takashi Kato and *Chikara Ohtsuki, “Hydroxyapatite Formation on Oxidized Cellulose Nanofibers in a Solution Mimicking Body Fluid”, *Polym. J.*, **47**, 158-163 (2015). (査読有)
- ④ *Ill Yong Kim, Koichi Kikuta and Chikara Ohtsuki, “Hydroxyapatite Formation through Dissolution-Precipitation Reaction: Effects of Solubility of Starting Materials”, *Ceram. Int.*, **40**, 14385-14390 (2014). (査読有)
- ⑤ *Taishi Yokoi, Masakazu Kawashita and Chikara Ohtsuki, “Effects of Polymer Concentration on the Morphology of Calcium Phosphate Crystals Formed in Polyacrylamide Hydrogels”, *J. Cryst. Growth*, **383**, 166-171 (2013). (査読有)
- ⑥ *Chikara Ohtsuki, “Development of Highly Functionalized Ceramic Biomaterials”, *J. Ceram. Soc. Japan*, **121**, 129-134 (2013). (査読有)
- ⑦ Hiroyuki Shibata, *Taishi Yokoi, Tomoyo Goto, Ill Yong Kim, Masakazu Kawashita, Koichi Kikuta and Chikara Ohtsuki, “Behavior of Hydroxyapatite Crystals in a Simulated Body Fluid: Effects of Crystal Face”, *J. Ceram. Soc. Japan*, **121**, 807-812 (2013). (査読有)
- ⑧ *Toshiki Miyazaki, Juntarou Mukai, Eiichi Ishida and Chikara Ohtsuki, “Apatite Mineralization Behavior on Polyglutamic Acid Hydrogels in Aqueous Condition: Effects of Molecular Weight”, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **23**, 339-347 (2013). (査読有)
- ⑨ *Taishi Yokoi, Masakazu Kawashita and Chikara Ohtsuki, “Biomimetic Mineralization of Calcium Phosphates in Polymeric Hydrogels Containing Carboxyl Groups”, *J. Asian Ceram. Soc.*, **1**, 155-162 (2013). (査読有)
- ⑩ Wensi Wang, Yuya Oakia, Chikara Ohtsuki, Takayoshi Nakano and *Hiroaki Imai, “Formation of c-Axis-Oriented Columnar Structures through Controlled Epitaxial Growth of Hydroxyapatite”, *J. Asian Ceram. Soc.*, **1**, 143-148 (2013). (査読有)
- ⑪ *Tomoyo Goto, Ill Yong Kim, Koichi Kikuta and Chikara Ohtsuki, “Comparative Study of

Hydroxyapatite Formation from α - and β -Tricalcium Phosphates under Hydrothermal Conditions”, J. Ceram. Soc. Japan, **120**, 131-137 (2012). (査読有)

- ⑫ Ill Yong Kim, Ryota Iwatsuki, Koichi Kikuta, Yumi Morita, Toshiki Miyazaki and Chikara Ohtsuki, “Thermoreversible Behavior of κ -Carrageenan and Its Apatite-Forming Ability in Simulated Body Fluid”, Mater. Sci. Eng.: C, **31**, 1472-1476 (2011). (査読有)

[学会発表] (計 1 3 3 件)

- ① Chikara Ohtsuki, “Development of Osteoconductive Materials with Novel Functions for Bone Substitutes”, The 15th IUMRS-International Conference in Asia (IUMRS-ICA2014), Fukuoka University, Fukuoka, Aug. 24-30, 2014.
- ② Ill Yong Kim and Chikara Ohtsuki, “Osteoconductive Composites Consisting of PEEK and CaO-SiO₂ Microspheres”, 2013 年度韓国材料学会春季学術大会, MVL ホテル麗水, 韓国, 2013 年 5 月 23-24 日.
- ③ 大槻主税, “体液模倣環境を利用する無機-有機融合マテリアルの構築”, 日本化学会第 93 春季年会, 立命館大学 びわこ・くさつキャンパス, 滋賀, 2013 年 3 月 22-25 日.
- ④ 大槻主税, “セラミックスの生体機能を利用する骨組織修復材料の創製”, 平成 24 年度日本セラミックス協会東海支部学術研究発表会, 名古屋大学, 名古屋, 2012 年 12 月 1 日.
- ⑤ 大槻主税, “新しい人工骨の創成を目指した有機-無機融合構造のバイオミメティック構築”, 公益社団法人日本セラミックス協会第 25 回秋季シンポジウム, 名古屋大学, 名古屋, 2012 年 9 月 19-21 日.
- ⑥ Chikara Ohtsuki, Masakazu Kawashita, Ill Yong Kim and Taishi Yokoi, “Morphological Observation on Formation of Calcium Phosphates in Polyacrylamide Hydrogel”, 10th International Symposium on Ceramic Materials and Components for Energy and Environmental Applications (10th CMCEE), Dresden, Germany, May 20-23, 2012.
- ⑦ 大槻主税, “(平成 23 年度学術賞受賞講演) 高機能セラミックバイオマテリアルの創成”, 公益法人日本セラミックス協会 2012 年年会, 京都大学, 2012 年 3 月 19-21 日.
- ⑧ Chikara Ohtsuki, Taishi Yokoi, Ill Yong Kim and Masakazu Kawashita, “Morphology of Calcium Phosphate Formed in Hydrogels with Various Polymer Concentrations”, 12th International Symposium on Biomimetic Materials Processing (BMMP-12), Nagoya University, Japan, January 24-27, 2012.

- ⑨ 大槻主税, “有機-無機ハイブリッドによる骨修復用バイオマテリアルの開発”, 産総研コンソーシアム名古屋工業技術協会平成 23 年度第 2 回研究会「高齢化社会を見据えた次世代医療関連技術研究会」, 名古屋駅前イノベーションハブ, 2011 年 12 月 22 日.
- ⑩ 大槻主税, “骨再建のためのセラミックス系バイオマテリアル”, 日本材料学会, 第 34 回材料講習会「バイオマテリアルと再生医工学」, 京都大学再生医科学研究所, 2011 年 12 月 2 日.
- ⑪ Chikara Ohtsuki, Taishi Yokoi, Ill Yong Kim and Masakazu Kawashita, “Controlled Formation of Calcium Phosphates in Hydrogels”, Composites at Lake Louise 2011, Canada, October 30 - November 4, 2011.
- ⑫ Chikara Ohtsuki, Taishi Yokoi, Ill Yong Kim, Koichi Kikuta and Masakazu Kawashita, “Morphology of Octacalcium Phosphate Formed in Hydrogel Matrices”, Eleventh International Symposium on Biomimetic Materials Processing (BMMP-11), Nagoya University, Japan, January 25-28, 2011.
- ⑬ 大槻主税, “高生体吸収性セラミックスを用いた新材料の設計”, 第 32 回日本バイオマテリアル学会大会, グランドプリンスホテル広島, 広島, 2010 年 11 月 29-30 日.

[図書] (計 6 件)

- ① 大槻主税, コロナ社, “太陽エネルギー社会を築く材料テクノロジー (I) - 材料・デバイス編 -”, 2013, pp. 171-191. (共著)
- ② 大槻主税, 金日龍, 一粒書房, “最先端メディカルエンジニアリング”, 2013, pp. 41-46. (共著)
- ③ Masakazu Kawashita, Toshiki Miyazaki and Chikara Ohtsuki, John Wiley & Sons, Inc., Publication, “Ceramic Integration and Joining Technologies”, 2011, pp. 777-802. (共著)

[その他]

ホームページ等

<http://www.fusion-materials.org/>

http://profs.provost.nagoya-u.ac.jp/view/html/100003664_ja.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大槻 主税 (OHTSUKI, Chikara)

名古屋大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号: 0 0 2 4 3 0 4 8

(2) 連携研究者

金 日龍 (KIM, Ill Yong)

名古屋大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号: 1 0 5 2 9 0 4 3