

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：17104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350526

研究課題名(和文) 分解性を制御した接骨用接着剤の開発

研究課題名(英文) Investifation of Bio-adhesives with thier degradability for bone-joints

研究代表者

金子 大作 (KANEKO, DAISAKU)

九州工業大学・若手研究者フロンティア研究アカデミー・准教授

研究者番号：90467126

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、天然物を材料として非常に高い接着性能を持つバイオ接着剤を創製してきた。本研究では、このバイオ接着剤を接骨用の接着剤として用いるために、耐水性の強化を試みた。また、使用勝手の向上を目的とし、溶媒の中でも低毒性のエタノールに可溶性バイオ接着剤も新たに創製した。これらのバイオ接着剤は、十分な接着強度を持ち、耐水性が強化され、更に生体内で安全に使用できる事が確認できた。

研究成果の概要(英文)：We have investigated bio-based adhesives having high water resistance. We have also succeeded to synthesise novel bio-adhesive which can be soluble in ethanol. We have confirmed that these adhesives have strong adhesive ability, high water resistance and high biological compatibility.

研究分野：高分子界面科学

キーワード：バイオ接着剤 耐水性制御

1. 研究開始当初の背景

普段我々は接着剤の恩恵を受けているということを意識する事は少ない。しかしながら、接着剤は日用品に留まらず、建築分野、自動車工業分野、医療分野、エレクトロニクス分野など多岐に渡る活躍を見せている。少し大げさに言えば、接着剤無しでは我々の便利な生活は成り立たないと言える。接着剤の種類は、用途に応じて種々多様である。言い換えると、我々は被材料に適した接着剤を選択しなければならず、万能な接着剤は無い。一方、申請者らが注目している接着法は、ムール貝、フジツボ、牡蠣等の貝類が行っているものであり、無機材料である岩盤や、有機ペンを塗布された船底、クジラの表面等水中でさえも接着可能な万能な接着機構である。この接着には、ドーパと呼ばれる水酸基を2個有するカテコール性アミノ酸分子が関与している事を Waite らが見出した事により始まる(Science, 212, 1038-1040, 1981)。

Messersmith らは、AFM を用いてカテコール基とガラスの単分子相互作用力を測定し、数百ピコニュートンを示す事を明らかにし、通常の水素結合の10倍も強く相互作用する事を突き止めた(PNAS, 103, 12999-13003, 2006)。同時に、ドーパはペプチド結合(タンパク質)を形成して高分子化し、共同的に強固な接着を示す事も明らかとした。

申請者らは、接着性官能基であるカテコール基はドーパに限らず植物にも多く含まれ、例えばシナモンに含まれる3,4-dihydroxyhydrocinamic acid (DHHCA)とベリリー類から抽出される3-(3-Hydroxyphenyl)propionic acid (3HPPA)などの桂皮酸類を共重合すると、様々な基板で工業用最強の接着剤と言われるエポキシ樹脂を凌駕する接着強度を持つ植物由来接着剤が創製できる事、且つ歯髄細胞を用いた毒性試験では無害である研究結果を得ている。本申請研究で新たに開発される接着剤は、この接着剤を骨接骨用途へ応用展開させる。

2. 研究の目的

本研究課題では、合成スキームから抜本的に改良を加え、例えば触媒をアパタイト(骨の主成分)とし、ワンポット・ツーステップの非常にシンプルな方法を採用する。そして材料・プロセス・目的物質など全てに於いて環境・人体への優しさに拘る。骨をこのような技術で得られた接着剤で接合することが可能になれば、世界初となる革新的技術となり、現在の医療技術に対し大きな技術改革となると同時に、医療費や骨折をした場合の治療に要する時間を大幅に減らすことができ、その経済効果も見込める。接着剤での骨の接合に関して、近い将来、骨を瞬間的に接着することが可能になることも夢ではない。

以上のように本申請課題は、バイオマスから生体親和性が極めて高く、その体内分解性の制御までもが可能になるという世界初の試

みであり、非常に学術的意義が高いと言える。

3. 研究の方法

既に得られている接着剤は、様々な工業用材質、牛歯などに高強度で接着可能で、且つ極めて生体親和性が高い事が確認されている。例えば、歯髄細胞を用いた、MTT assay 試験結果の結果は、歯髄細胞培養用の培地に現在主流の歯科用接着剤を添加した場合、わずか24時間で歯髄細胞が死滅したのに対し、我々の接着剤を添加したものは、72時間後も歯髄細胞のミトコンドリアの活性が全く落ちず、何も添加しなかった培地と同等の高い活性を示し、我々の接着剤が極めて高い生体親和性がある事を意味している。

そこで、本申請研究では本接着剤を接骨用として応用展開するために、下記に示す研究項目を設定した。

1. 本接着剤の加水分解性を制御する：

接骨用の場合、例えば頭蓋骨を欠損した場合、欠損部位を補う人工骨と骨の長期間の接合が要求される。この場合は高い耐水性が要求される。一方、単純骨折の場合、体内での速やかな代謝が要求される。このため、本接着剤の分解性の制御を行う。

2. 本接着剤を最も毒性の低い溶媒であるエタノールへ可溶とする：

体内で接着剤を使用する場合、近隣細胞の壊死を防止するために、最も毒性の低い溶媒で用いられる事が期待される。そこで、本接着剤にアミノ基などの極性基を導入し、エタノールへ可溶となる様な接着剤を創製する。

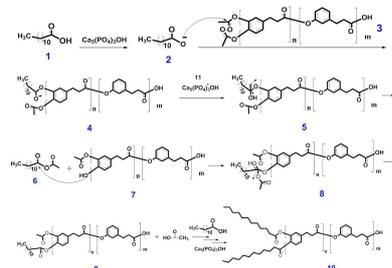
3. 上記で新たに創製された接着剤を実際の骨の接骨用途に使用する：

上記で新たに創製される、耐水性を制御し、且つエタノールに可溶性接着剤の細胞毒性試験を行い、良好な結果が得られた接着剤を用いて、実際に *in vitro*, *in vivo* で骨接合試験を行う。

4. 研究成果

4-1. 加水分解性の向上

まず、耐水性の強化(耐水性の向上)研究を行った。分子構造を考えると3HPPAのみが閉環反応を行っても、分子間隙が1.6nm程であると推察できる。この間隙を疎水性の長鎖アルキル基で埋める事で耐水性が強化されると考えた。この間隙長さに相当する長鎖アルキル基を持つラウリン酸を分子鎖へ導入するスキームをScheme 1に示す。



Scheme 1. ラウリン酸の導入スキーム

また、同様に図 1 に示す不飽和脂肪酸鎖の長さを変えたものを化学就職し、加水分解率違いを検討した。

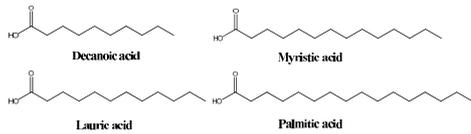


図 1 . 化学修飾に用いた界面活性剤

これらをバイオ接着剤に 13wt.% 導入し、ガラス同誌を接着させた。そのサンプルを 37 °C の水中に 72 時間浸漬させ、空气中放置 72 時間後の試料の接着強度を 100%とした場合の水中浸漬 72 時間後の接着強度を図 2 に示した。

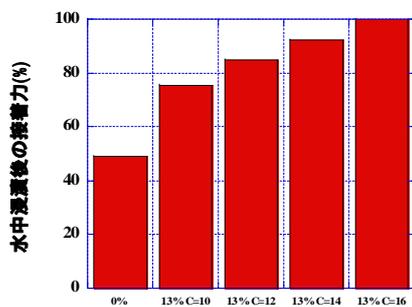
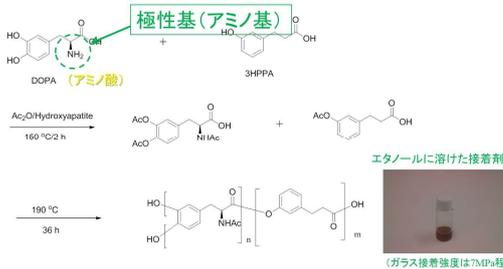


図 2 . 空气中放置 72 時間後のサンプルの接着強度を 100%とした場合の水中浸漬 72 時間後の接着強度

本結果では、C16 のパルミチン酸が最大 13wt.% 導入可能で、耐水性が最も良いという結果が得られた。

4-2. エタノール可溶性

バイオ接着剤を溶媒接着法で使用すると非常に使用勝手が向上する。しかしながら、種々の溶媒に於いて、人体への毒性が異なる。本研究では、その中でも最も毒性が低いエタノールに可溶性なバイオ接着剤の合成に成功した。具体的にはエタノールは極性の高い溶媒であるため、Scheme.2 に示した方法で、バイオ接着剤の高分子構造に極性基（アミノ基）を導入し、極性を高めエタノールに可溶性なバイオ接着剤を得た。



Scheme2. エタノールに可溶性なバイオ接着剤の合成方法

この様に、接着性分子モノマーとして DOPA やチロシンなどのアミノ酸をモノマーとして使用し、アミド結合を形成させずに、カルボキシル基と水酸基をエステル結合させ接着性高分子樹脂を得た。この新規物質は、ガラス同誌（表面粗さが 1nm 程度）の接着強度が 7MPa 程度であった。また、この技術は非常に有用性が高いと考え、特許出願を行った。

4-3. 接骨用途での使用

In vitro 細胞毒性については、ヒト線維芽細胞を使用し、「MATREX LDM(三次元組織モデル)」(東洋紡社製)の毒性試験を行った。MATREX LDM は、コラーゲン内にヒト線維芽細胞を包埋し、三次元的に培養したヒト皮膚真皮モデルで、組織内の線維芽細胞は単層培養時とは異なり、生体内と類似した二極化した紡錘形状を保っている。これを用いて、細胞毒性試験が可能で、得られた試験結果は高い再現性を示し、*in vivo* 試験と良い相関を示したとの報告がある。

実験群は以下とした。

Control: 組織の上に試料なし

BA1: 組織の上に Poly(DHCA-co-3HPPA)を接触

BA2: 組織の上に白色接着材を接触

Resin: 組織の上にアクリル樹脂系義歯用レジン素材を接触

BA1 は義歯用レジン同様毒性が出ているが、BA2 は Control 同様の毒性の低さであったアクリル樹脂系は未反応のモノマー溶出が懸念され、細胞毒性が現れたと考えられる。BA1 と BA2 の細胞毒性の差は今回の実験のみでは不明であった。使用した細胞キットは、ヒト皮膚線維芽細胞をコラーゲンゲルに三次元的に組み込んだモデルで、細胞は組織細胞としての形態的・生化学的性質保持し、試料が直接細胞に接触するものである。BA1 と BA2 の溶出物のみならず、接触面形態の差に起因する可能性も示唆された。

次にウェットな生体骨での接合試験を行った。比較として医療用アロンアルファを用いた。医療用のアロンアルファは安定して約 10 N の強度を示したが、バイオ接着剤は 3-14N とばらつきが目立った。この原因については現在考察中であるが、メルト時のハンドリングの悪さがばらつく結果に繋がった可能性があると考えられる。バイオ接着剤の最大値は 14N と医療用のアロンアルファよりも高いので、ポテンシャルは高いものだと考えている。今後はメルトガンを用いるなどして操作性を改善し、ばらつきの少ない安定したデータを取得してゆく。

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 7 件)

1. Hojoon Shin, Siqian Wang, Seiji Tateyama, Daisaku Kaneko, Tatsuo Kaneko, "Preparation of Ductile Biopolyimide Film by Copolymerization", *I&EC Res*, Vol.55, 8761-8766, (2016), 査読有.
2. Shogo Kinugawa, Siqian Wang, Shu Taira, Akihiko Tsuge, Daisaku Kaneko*, "Single-molecule interaction force measurements of catechol analog monomers and synthesis of adhesive polymer using the results", *Polymer Journal*, Vol.48, 715-721, (2016), 査読有.
3. Noriko Hiraishi, Daisaku Kaneko*, Shu Taira, Siqian Wang, Masayuki Ohtsuki, Junji Tagami, "Mussel-Mimetic Bioadhesive Polymers from Plant-Derived Materials", *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, 6(1), 57-61, (2015), 査読有.
4. Kai Kan, Hiroyuki Yamamoto, Daisaku Kaneko, Seiji Tateyama, Tatsuo Kaneko "Novel p-conjugated bio-based polymer, poly(3-amino-4-hydroxybenzoic acid), and its solvatochromism", *Pure and Applied Chemistry*, 86, 685-690, (2014), 査読有.
5. Siqian Wang, Daisaku Kaneko, Tatsuo Kaneko, "Photo-Responsive Shape-Memory and Shape-Changing Polymers", *Journal of Polymer Bulletin*, 12, 89-98, (2014), 査読有.
6. Shu Taira, Kouhei Uematsu, Daisaku Kaneko, "Food analysis by Mass spectrometry imaging", (Review) *Analytical Science*, 30, 197-103, (2014), 査読有.
7. Shu Taira, Daisaku Kaneko, Yasuko Kawamura-Konishi, Yuko Ichiyangi, "Application of functionalized nanoparticle for mass spectrometry", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 14, 3155-3162, (2014), 査読有.

[学会発表](計 8 件)

1. 第 3 回東京バイオマーカイノベーションアワード受賞者講演, 「接骨用途を目指したバイオ接着剤」, 金子大作, 2015 年 2 月 2 日, ソラシティカンファレンスホール(東京都・千代田区)(受賞者講演)
2. S & T セミナー, 「バイオ接着剤の特性・構造・メカニズムと医療・歯科材料への展開」, 金子大作, 2014 年 10 月

29 日開催, キュリアン(東京都・品川区)(招待講演)

3. 高分子学会 接着と塗装研究会, 「超強力植物由来カテコール性接着剤」, 金子大作, 2014 年 9 月 19 日開催, 東京理科大学(東京都・新宿区)(招待講演)
4. 「バイオ接着剤 - 構造と物性の相関による分子設計から応用展開まで」, 金子大作, 第 85 回高分子材料セミナー, 日本材料科学会 2014 年 6 月 18 日開催, 日本材料科学会会議室(京都府・京都市), (招待講演)
5. 「生体融合性接着剤の創製と実用化」, 金子大作, 分子ナノテクノロジー第 174 委員会, 日本学術振興会, 2014 年 6 月 4 日開催, 京都大学東京オフィス(東京都・品川区), (招待講演)
6. 「生体融合性接着剤」, 金子大作, 第 1 回九経連合産学ネットワーク連携会議, 2014 年 4 月 21 日開催, 九経連合本部(福岡県・福岡市), (特別講演)
7. Hiroki Kawabata, Yuka Kitamura, Daisaku Kaneko, Koji Araki and Akihiko Tsuge, "Bio-adhesives Controlled thier Water-Resistance", 35th Australasian POLYMER SYMPOSIUM, QT Hotel(Gold Coast, Australia), 12-15th, July, 2015.
8. Siqian Wang, Shougo Kinugawa, Kazuma Kuroda, Daisaku Kaneko, Noriko Hiraishi, Akihiko Tsuge, Tatsuo Kaneko, "Nano apatite-composited hyperbranching polyesters combining strong adhesive, biodegradable and controlled drug delivery release", Japan-Taiwan Joint Workshop, Nanospace Materials, Kyushu Institute of Technology (Fukuoka, Japan), 11-12th, March, 2014.

[図書](計 8 件)

1. 「医療用接着剤」, 金子大作, 「オレオサイエンス」日本油化学会, Vol.16, No.11, p.519-524, 2016 年 11 月 1 日
2. 「カフェ酸・パラクマル酸など植物由来接着剤 ~ 低 VOC, 車体軽量化へ貢献 ~」, 金子大作, 「自動車・航空機用樹脂」技術情報機構, 第 5 節, p.319-327, 2016 年 2 月 29 日
3. 「若きサイエンスの萌芽 - 接骨用途を目指したバイオ接着剤」, 金子大作, 「実験医学-9 月号」羊土社, Vol.33, No.14, p.2258, 2015 年 9 月.
4. 「シナモン抽出成分による医療用接着剤」, 金子大作, 「歯科再生・修復医療と材料」シーエムシー出版, p.218-227, 2015 年 8 月 25 日
5. 「天然物を原料とした医療用接着剤」, 金子大作, 「月刊金属」アグネ技術センター, Vol.85, No.6, p.11-16, 2015 年 6 月 1 日.

6. “貝類接着機構を模倣したバイオ接着剤”, 金子大作, 絹川翔悟, 月刊「フラインケミカル」シーエムシー出版, Vol.44, No.4, p.55-62, 2015年4月.
7. “植物由来接着剤の医療分野への応用”, 金子大作, 「粘着剤・接着剤の最適設計と適用技術」技術情報協会, 第11章, 第7節, p.734-739, 2014年6月.
8. “アパタイトを用いた植物由来接着剤の開発と医療材料への応用”, 金子大作, 「生体適合材料・医療用プラスチック」情報機構, 第2節, p.74-83, 2014年4月.

〔産業財産権〕

○出願状況(計 2件)

名称: 薬物徐放用担体
発明者: 金子 大作, 王 思乾
権利者: 九州工業大学
種類: 特願
番号: 2014-100044
出願年月日: 2014年5月14日
国内外の別: 国内

名称: 接着剤原料モノマー
発明者: 金子 大作, 王 思乾
権利者: 九州工業大学
種類: 特願
番号: 2014-100044
出願年月日: 2014年5月14日
国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.phy.che.kyutech.ac.jp>

6. 研究組織

(1)研究代表者

金子 大作 (KANEKO, Daisaku)
九州工業大学・若手研究者フロンティア
研究アカデミー・准教授
研究者番号: 90467126