

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15723

研究課題名(和文)機能性ナノパーティクルを用いた新規生体組織接着技術の開発

研究課題名(英文)Development of functional nano-particle based bioadhesive

研究代表者

松本 卓也(Matsumoto, Takuya)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：40324793

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では合成した様々な形状を有するナノアパタイトを基盤材料にした新しい生体組織接着剤を開発し、その可能性を示した。この接着について材料学的な評価を行うとともに、組織学的観点からのメカニズム検討を行った。その結果、アパタイト孔部へのコラーゲン線維の取り込みと濃縮を認め、接着メカニズムとしての水移動の可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we developed a novel biological tissue adhesive based on nanoapatite synthesized in various shapes as base materials. Here we showed their possibility for bioadhesives. Mechanical properties of this adhesion was carried out, and the mechanism from a histological point of view was also investigated. As a result, uptake of concentrated collagen fibers into the apatite pores was observed, and the possibility of water transfer as an adhesion mechanism was also suggested.

研究分野：生体材料学

キーワード：生体材料 組織接着 無機パーティクル

## 1. 研究開始当初の背景

生体組織用接着剤は外科的処置において一般的に使用されている。現在使用されている接着剤としてはシアノアクリレート系接着剤やフィブリン糊がよく知られている。ここでシアノアクリレート系接着剤は高い接着力を有するものの生体にとっては為害性が高いことが知られている。また、フィブリン糊は生体親和性は高いものの、接着性が低いことが知られている。このようなことから、生体親和性が高く、かつ接着性の高い生体組織用接着剤の開発が望まれている。最近、無機粘土系ナノパーティクル、具体的には $\text{SiO}_2$ シリカ系パーティクルが生体組織用接着剤として有効であることが示された。しかし、このパーティクルは生体非吸収性であり、生体内に使用した場合、永久的に残留することが懸念される。これに対し、リン酸カルシウム系材料であるハイドロキシアパタイトは骨や歯の主要無機成分であり、生体親和性が高いだけでなく、アパタイトの結晶度や結晶サイズは制御することで生体吸収性の性質を付与することも可能である。

## 2. 研究の目的

そこで本研究の大目標は生体親和性が高く、かつ接着性の高い生体組織用接着剤の開発である。特に本研究期間内における研究目標は生体安全性の高い無機アパタイトを基盤とした生体組織用接着剤を開発することである。

## 3. 研究の方法

研究で使用するハイドロキシアパタイトは湿式合成により作製した。具体的には、42 mmol/l 硝酸カルシウム水溶液をpH 10、温度60 に設定した100 mmol/lリン酸二水素アンモニウム水溶液中に攪拌しながら滴下した。この際、使用するカルシウムとリンの濃度をハイドロキシアパタイトの化学量論比である10:7に設定している。得られた沈殿物をろ過、水洗後乾燥しアパタイト結晶を獲得した。また、アパタイト結晶サイズ制御のため、種々のpH環境を設定した。具体的に獲得したアパタイト結晶形状はロングロッド、ショートロッド、スフェリカルの3種類である。

作製したアパタイトは粉末としての使用、ならびに水に分散したスラリー状でモールドに流し込み、薄膜状アパタイトを作製した。また、この薄膜状アパタイトを焼結することでアパタイトプレートも作製した。

得られたアパタイト材料の生体組織に対する接着性を検討するため、生体組織を模倣したハイドロゲルを使用した。このハイドロゲルはPMDAゲルである。ポリメチルジメタクリレートを過酸化ベンゾイル存在下でモールドに流し込み、ハイドロゲルを作製する。その後、ゲルを5 x 25 mmに成形し実験に使用した。

また、実際の生体組織接着実験として、ICRマウスから取り出した皮膚、腎臓、肝臓、骨格筋などの組織を適当なサイズにカットし、

接着実験に用いた。本実験のプロトコールは岡山大学動物実験委員会により精査され承認を得たものである（OKU-2015540）

接着後の試料について、引張り試験を用いて接着強度を計測した。また、接着メカニズムの理解のため、作製したアパタイト材料の微細な表面構造を走査型電子顕微鏡（SEM）を用いて観察した。さらに、接着後試料の薄切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色により組織観察を行った。

#### 4.研究成果

合成したナノアパタイト粉末に関して、生体組織に見立てたハイドロゲルの接着性改善が認められたが、ナノアパタイト形状による接着力の違いはあまり認められなかった。そこで、次の検討としてこれらアパタイトを原料に成形加工し、より大きなスケールでの接着について検討を行った。ここにおいて、ナノアパタイトを原料にプレート状のアパタイトを作製し、生体組織を模倣したゲルの接着性を評価した。その結果、アパタイト粉末で行った接着と比較して約4倍程度接着力が向上することがわかった。

このナノパーティクル分散液を用いて実際の生体組織接着を試みた。用いた生体組織はマウス皮膚組織である。接着実験の結果、このアパタイトパーティクル分散液がゲルの場合と同様、生体組織に対しても高い接着特性を有することが示された。この際、接着力としては、ロングロッドのナノパーティクルにお

いて最も高い接着特性を示した。また、この接着を行った際のナノパーティクルの凝集状態について、電子顕微鏡を用いて観察したところ、パーティクルの形状に依存して、接着界面におけるナノパーティクルの分散状態が異なること、また、凝集塊形状が異なることが明らかとなった。これらのことから凝集破壊が起こる割合を抑えるための適正なパーティクル塗布量があることが示唆された。次に同様の方法で合成したナノパーティクルを原料に成形、加工したアパタイトプレートを用い、マウス皮膚組織の接着を行った。微小メカニカルテスターを用いてこの接着力について定量評価した結果、現行のフィブリンゲルと比較して約2.4倍高い接着力示すことが明らかとなった。

このアパタイトプレートと生体組織との接着メカニズムについて、より詳細な検討を行った。具体的には、アパタイトプレートと生体組織との接着後、接着物そのものをレジン包埋したうえで組織切片を作製した。約10 $\mu$ mで組織切片を作製したうえで、プレパレート上にマウントし、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色により染色した。その結果、アパタイト表面に存在する微細孔部にまでコラーゲンが侵入していること、アパタイト表面にはコラーゲンの濃縮層が形成されていることが明らかとなった。SEM観察結果からもアパタイト表面における高いコラーゲン線維の濃縮を確認している。このことから水を含む生体組織から含水量の少ないアパタイト孔部への毛細管現象的な迅速な水の移動の結果、周囲の生体組織も同時に孔部に移動すること

が考えられた。この水の移動を確認するため、生体皮膚組織を模倣した高い水分含有量のポリマー(PDMA)ゲルを準備し、このゲルと接した際のアパタイトプレートへの水の移動について定量した。その結果、水の移動は初期のわずか10秒で約250 μm移動し、この移動は移動速度は下がるものの600秒、つまり10分程度持続すること、浸透距離は2500 μmに及ぶことが明らかとなった。

以上のことから、本研究ではナノアパタイトを基盤材料にした新しい生体組織接着剤開発の可能性を示した。また、その接着について組織学的観点からの検討を行い、アパタイト孔部へのコラーゲン線維の取り込みと濃縮を認め、そのメカニズムとして水の移動の可能性を示した。

#### 5. 主な発表論文など

[雑誌論文] (計4件)

1. Okada M, Hiramatsu D, Okihara T, Matsumoto T. Adsorption and desorption behaviors of cetylpyridinium chloride on hydroxyapatite nanoparticles with different morphologies. *Dent Mater J*. 2016, 35, 651-658. (査読あり)
2. Okada M, Matsumoto T. Fabrication Methods of Hydroxyapatite Nanocomposites. *Nano Biomed*. 2016, 8, 15-26. (査読あり)
3. Okada M, Nakai A, Hara ES, Taguchi T, Nakano T, Matsumoto T. Biocompatible nanostructured solid adhesives for biological soft tissues. *Acta Biomaterialia*. 2017, 57, 404-413. (査読あり)

4. Tanaka YK, Yajima N, Okada M, Matsumoto T, Higuchi Y, Miyazaki S, Yamato H, Hirata T. The effect of Mg and Sr on the crystallinity of bones evaluated through Raman spectroscopy and laser ablation-ICPMS analysis. *Analyst*, 2017, 142, 4265-4278. (査読あり)

[学会発表] (計4件)

1. 中井輝、岡田正弘、松本卓也、ハイドロキシアパタイトを用いた生体組織用接着剤の開発、2017年1月18日、第4回日本バイオマテリアル学会中四国シンポジウム、徳島市
2. 松本卓也、もの作りの観点で骨発生をみなおす、2016年12月19日、IBBセミナー、東京医科歯科大学、東京都(招待講演)
3. 小林大介、岡田正弘、松本卓也。異なるイオンを置換したアパタイトの水和状態に関する検討。2017年4月15日、日本歯科理工学会、東京都
4. 岡田正弘、田中賢、松本卓也、置換イオン含有量の異なるアパタイトの水和構造の評価、2017年11月20日、日本バイオマテリアル学会、東京都

[産業財産権]

出願状況(1件)

名称: 生体組織接着剤

発明者: 松本卓也、岡田正弘

権利者: 岡山大学

種類: 特許

番号: 特願2017-188999

出願年月日:平成29年9月28日

国内外の別: 国内

[その他] (3件)

新聞報道

朝日新聞 2017年5月26日 岡山版

日本経済新聞 2017年5月29日

科学新聞 2017年6月1日

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者: 岡山大学大学院医歯薬学  
総合研究科・教授・松本卓也 (Matsumoto  
Takuya), 研究者番号 40324793

(2) 研究分担者: 岡山大学大学院医歯薬学  
総合研究科・准教授・岡田正弘 (Okada  
Masahiro), 研究者番号 70416220