

令和元年9月6日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20505

研究課題名(和文)止血・骨再建を一挙に可能にする炭酸アパタイト系骨セメントの創製

研究課題名(英文) Fabrication of Carbonate Apatite-type Bone Cement which enables both Bone Reconstruction and Hemostasis

研究代表者

杉浦 悠紀 (Sugiura, Yuki)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・研究員

研究者番号：70755040

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：生体骨と同じ成分であるC03Apは優れた材料であるが、顆粒を骨欠損部に埋入する場合、血流による顆粒の流出が課題となる。骨補填材として使用する場合、術中の出血をコントロールする手法を併用し、硬化性を付与する必要がある。本研究では、課題となっている術中の出血及び、顆粒の流出を防止し、生体埋入後は骨置換性の高いC03Ap連通多孔体となる機構を付与する試みを行った。生体親和性ポリマーゲルと練和することで、操作性に優れた骨補填材練和体の調製に成功した。本成果は、動物を用い、更に有用性を検証していく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

病気や怪我で欠損した骨欠損部に埋入し、機能を回復させる材料の開発は、超高齢化社会を迎えるにあたり、その必要性が増々増大している。生体骨と同じ成分であるC03Apが主成分の骨補填材は、広く臨床応用されている水酸アパタイトと異なり、骨芽細胞の分化を促進、破骨細胞に吸収される、圧倒的に優れる骨伝導性を示すこと、そして生体骨に置換されることが報告されている。しかし、出血などにより術野より流出してしまうことが課題である。このため、硬化性、止血性を付与することで、C03Apの本来の機能を発揮させる試みは非常に重要である。

研究成果の概要(英文)：Although carbonate apatite (C03Ap) granule, an analogue of inorganic component of biological bone, is an attractive material as bone substitute, the serious drawback of its is describing as flowing out by bleeding from implanted bone defect during operation. For suitable operating of C03Ap granules as a bone substitute, it is essentially necessary to attach controlling bleeding and self-setting ability for C03Ap granules. In this study, we investigated how control the bleeding, an essential matter of granules flowing out from implanted bone defects. In addition, we also tried to attach interconnected porous structure formation ability after implantation. Mixing with biocompatible polymers enabled C03Ap to attach such bleeding controlling ability and increase its operability. Further in vivo studies will indicate the utility of this mechanism.

研究分野：生体材料学

キーワード：炭酸アパタイト 骨補填材 セメント 連通多孔体 生体親和性

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

病気や怪我で欠損した骨欠損部に埋入し、機能を回復させる材料の開発は、超高齢化社会を迎えるにあたり、その必要性が増々増大している。生体骨と同じ成分である CO3Ap が主成分の骨補填材は、広く臨床応用されている水酸アパタイトと異なり、骨芽細胞の分化を促進、破骨細胞に吸収される、圧倒的に優れる骨伝導性を示すこと、そして生体骨に置換されることが報告されている。本 CO3Ap 顆粒は新規歯科インプラント用骨補填材として、薬事承認された。

本 CO3Ap は優れた材料であるが、顆粒を骨欠損部に埋入する場合、血流による顆粒の流出が課題となる。骨補填材として使用する場合、術中における出血をコントロールする手法を併用することが不可欠であるだけでなく、硬化性を付与する必要もある。

### 2. 研究の目的

本研究では、生体親和性が高く、カルシウムと反応して硬化する性質を持つペクチンベース(炭酸とリン酸を含む)のゲルと、Ca 溶液内包カプセル、そして CO3Ap 顆粒を組み合わせたセメントの創製を試みた。Ca イオンとペクチンが迅速に反応してゲル化することで、まず課題となっている術中の出血及び、顆粒の流出を防止する。本原理は、牛乳と反応しゲル化する菓子と同様であり、手法は確立されている。ペクチンベースのゲルは、pH 低下により硬化性を消失する。そこで、形成時に H<sup>+</sup>を大量に放出する反応である、溶液中での CO3Ap 形成反応を、ゲル形成より遅れてゲル内で引き起こす。これにより、ゲルを速やかに除去し、生体埋入後は骨置換性の高い CO3Ap 連通多孔体となる機構を付与する試みを行った。

### 3. 研究の方法

本研究では、材料科学的実験及び、動物を用いた有用性の in vivo 評価の2つを行った。ペクチンと Ca の反応による硬化反応によりゲルを形成し、術中の止血、顆粒流出の防止のため、CO3Ap 顆粒間の空隙を充填及び、顆粒同士の硬化。同時に、Ca-P04-C03 系の反応による CO3Ap 前駆体のアモルファス相のゲル中での形成。アモルファス相から CO3Ap 形成反応に伴って放出する H<sup>+</sup>による、ペクチンベースゲルを消失。生体埋入後の CO3Ap 連通多孔体形成機構の付与について行った。

### 4. 研究成果

まず基材となる CO3Ap 顆粒の最適化を行った。炭酸アパタイト顆粒は、ある程度のサイズを持った前駆体である易溶性のカルシウムを含むセラミックスを、リン酸及び、炭酸溶液に浸漬して作製する。前駆体として、酸性リン酸カルシウムである DCPD 及び、MCPM を使用した。これらを、炭酸溶液下で水熱処理することにより、炭酸アパタイトを作製することを試みた。高濃度の炭酸溶液下にて、DCPD 及び、MCPM を処理すると、炭酸アパタイトが形成することを確認した。さらに、形成した炭酸アパタイトは、前駆体である DCPD 及び、MCPM の結晶形態を維持したままであることが分かった。形成した炭酸アパタイトは、数十ナノメートルサイズの炭酸アパタイト結晶が、緻密に集積した構造をしていることも分かった。前駆体を様々に変化させることにより、機械的強度を増大させることにも成功し、最終的には骨補填材として十分な実用強度を持つ CO3Ap 顆粒の最適化に成功した。

これと並行して、生体に埋入時に粘着性を示し、止血性が期待できるゲルについて、検討を行った。ゲルには、予め炭酸アパタイトを練和し、生体親和性、剛性を高めることを試みた。PLLA など、すでに細胞遮断膜として実用化されているポリマーは、生体親和性があり、さらに生体吸収性であるが、一方で、剛性を示し、また、水に溶けにくいいため、使用が困難である。そこで、アルギン酸ナトリウム、PEG などのより柔軟性に富むポリマーを利用することを検討した。混練機で、混練することで、ポリマーと炭酸アパタイトを均一に混練することが出来た。また、調製したゲルと CO3Ap 顆粒の硬化性について評価した。硬化開始時間を 5 - 10 分に、硬化完了時間を 30 分程度にするべく、ゲル組成の最適化を行った。ゲル中のポリアクリル酸の比率を変動させることにより、硬化時間を変化させることに成功した。これにより、埋入に適したゲル-CO3Ap 顆粒の複合体を調製することが出来た。しかし、一度形成した後、崩壊するプロセスについては、当初予期していた結果を得ることは出来なかった。

### 5. 主な発表論文等

1. Sugiura Y.\*, Tsuru K., Ishikawa K., Fabrication of Carbonate Apatite Pseudomorph from Highly Soluble Acidic Calcium Phosphate Salts through Carbonation. J. Cera. Soc. Jpn., 124, 827-832, 2016.
2. Sugiura Y.\*, Tsuru K., Ishikawa K., Fabrication of carbonate apatite foam based on the setting reaction of  $\alpha$ -tricalcium phosphate foam granules. Cera. Int, 42, 204-210, 2016.
3. Sugiura Y.\*, Onuma K., Yamazaki A., Enhancement of HPO<sub>4</sub>-OH layered structure in octacalcium phosphate and its morphological evolution by acetic acid. J. Cera. Soc. Jpn., 124, 1178-1184, 2016.
4. Sugiura Y.\*, Tsuru K., Ishikawa K., Fabrication of arbitrarily shaped carbonate apatite foam based on the interlocking process of dicalcium hydrogen phosphate dihydrate. J. Mater. Sci: Mater. Med., 28, 122-128, 2017

5. Tsuru K.\*, Yoshimoto A., Kanazawa M., Sugiura Y., Nakashima Y., Ishikawa K., Fabrication of Carbonate Apatite Block through a Dissolution–Precipitation Reaction Using Calcium Hydrogen Phosphate Dihydrate Block as a Precursor. *Materials*, 10, 374-383, 2017.
6. Sugiura Y.\*, Munar ML., Ishikawa K., Fabrication of octacalcium phosphate foam through phase conversion and its histological evaluation. *Mater. Lett.*, 212, 28-31, 2018.
7. Sugiura Y.\*, Ishikawa K., Effect of Calcium and Phosphate on Compositional Conversion from Dicalcium Hydrogen Phosphate Dihydrate Blocks to Octacalcium Phosphate Blocks. *Crystals*, 8, 222-229, 2018.
8. Sugiura Y.\*, Ishikawa K., Fabrication of carbonate apatite blocks from octacalcium phosphate blocks through different phase conversion mode depending on carbonate concentration. *J. Solid State Chem.*, 267, 85-91, 2018.
9. Sugiura Y.\*, Makita Y., Sodium Induces Octacalcium Phosphate Formation and Enhances its Layer Structure by Affecting to Hydrated Layer Phosphate. *Cryst. Growth Des.*, 18, 6165-6171, 2018.
10. Sugiura Y.\*, Makita Y., Ammonium Substitutional Solid Solution of Octacalcium Phosphate (OCP). *Chem. Lett.*, 47, 1371-1374, 2018.
11. Sugiura Y.\*, Munar ML., Ishikawa K., Fabrication of octacalcium phosphate block through a dissolution-precipitation reaction using a calcium sulphate hemihydrate block as a precursor. *J. Mater. Sci: Mater. Med.*, 29, 151-158, 2018. \*(Selected as the cover issue)
12. Tripathi G., Sugiura Y.\*, Kareiva A., Garskaite E., Tsuru K., Ishikawa K., Feasibility evaluation of low-crystallinity  $\beta$ -tricalcium phosphate blocks as a bone substitute fabricated by a dissolution–precipitation reaction from  $\alpha$ -tricalcium phosphate blocks. *J. Biomater. Appl.*, 33, 259-270, 2018.
13. Tripathi G.\*, Sugiura Y.\*, Tsuru K., Ishikawa K., In Vivo stability evaluation of Mg substituted low crystallinity  $\beta$ -tricalcium phosphate blocks fabricated through dissolution–precipitation reaction for fast bone regeneration. *Biomed. Mater.*, in press.
14. Shi R., Sugiura Y.\*, Tsuru K., Ishikawa K., Fabrication of calcite-coated rough-surface titanium using calcium nitrate. *Surf. Coat. Tech.*, 356, 72-79, 2018.
15. Sugiura Y.\*, Makita Y., Sodium inhibits the formation of ammonium-substituted solid solutions of octacalcium phosphate formation by filling its substitution site. *Dalton Trans.*, 48, 1386-1391, 2019.

〔雑誌論文〕（計 15 件）

〔学会発表〕（計 件）

〔図書〕（計 件）

〔産業財産権〕

出願状況（計 1 件）

名称：リン酸八カルシウム成型体及び、製造方法

発明者：杉浦悠紀、石川邦夫

権利者：九州大学

種類：特許

番号：PCT/JP2018/022823

出願年：2017 年 6 月 16 日

国内外の別： 国際

取得状況（計 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

(1) 研究分担者 なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：石川 邦夫

ローマ字氏名：Ishikawa Kunio

研究協力者氏名：都留 寛治

ローマ字氏名：Tsuru Kanji

研究協力者氏名：土谷 享

ローマ字氏名：Tsuchiya Akira

研究協力者氏名：ムナル メルビン

ローマ字氏名：Munar L. Melvin

研究協力者氏名：槇田 洋二

ローマ字氏名：Maki ta Yoji

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、研究者個人に帰属されます。