

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006～2008

課題番号：18560666

研究課題名 (和文) インプラント術後骨形成促進を指向するヒドロキシアパタイト壁
マイクロカプセルの調製研究課題名 (英文) Preparation of microcapsules with hydroxyapatite wall for
promoting bone generation after implantation

研究代表者

氏 名：木村 勇雄 (Kimura Isao)

所 属：新潟大学・自然科学系・准教授

研究者番号：00169921

研究成果の概要：複合エマルジョンを利用する界面反応法によりヒドロキシアパタイト・ナノ粒子から構成されるマイクロサイズの中空ミクロスフィアを調製し、内部に抗菌剤を含浸させてマイクロカプセルとして活用することを試みた。インプラント術から数日間抗菌剤を徐放させることによって感染症を防止し、骨形成の阻害を防ぐことを目的とした。チタンねじ表面にミクロスフィアを付着させ、生分解性ポリマーで被覆したモデルインプラントを作製し、その有効性を検討した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,900,000	0	1,900,000
2007 年度	900,000	270,000	1,170,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	480,000	3,980,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：材料工学・複合材料・物性

キーワード：生体材料・化学工学・歯学・セラミックス

1. 研究開始当初の背景

ヒドロキシアパタイト (HAp) は優れた生体親和性を有しており、欠損部補修用バイオセラミックスとして利用されている。歯科補綴分野においても、人工歯根の定着性向上を目的として、その表面を HAp コーティングすることが試みられてきている。ところが、この発想は一見理にかなっているにもかかわらず、現実には成功率が低いと理解されている。

骨補填材としての HAp は一度人体に吸収された後に再生されて骨の一部となる。速

やかな骨形成に必要な条件としては、(1)吸収性の向上のために HAp の結晶性が低いこと、(2)コラーゲンの発達のために多孔質であること、および(3)骨形成タンパク質 (BMP) やビタミン D などの骨形成に有用な有機物が共存すること、の 3 項目が挙げられる。

下顎骨に形成するインプラント埋入穴表面には数 100 マイクロメートルオーダーの起伏がある。人工歯根表面にもわずかに起伏があり、両者は完全には密着しない。HAp コーティングを施した人工歯根は同様に密着することはなく、吸収性に乏しい分だけ定着性

が劣る。HAp 壁マイクロカプセルを用いれば、両者の間隙を効率よく充填することができる。HAp の吸収に伴ってカプセル壁が崩壊し、順次有用有機物が供給される。さらには、マイクロカプセルを用いる一般的利点としての混合均一性が施術前後の長期間にわたって確保できることも期待される。

2. 研究の目的

本研究の最終的な目標は、歯科インプラント術におけるチタン製人工歯根の下顎骨への定着性向上である。その基礎研究として本研究課題では、下顎骨と人工歯根との間隙に充填する HAp 壁マイクロカプセルの調製を目的とした。

まず、複合エマルジョンを利用する界面反応法により HAp 中空マイクロスフィアを調製する条件を確立する。次に、得られた HAp 中空マイクロスフィアのチタン表面への接着条件を確立する。インプラント術において临床上最も注意しなければならないことは感染症の防止である。歯科医師との議論により、マイクロカプセル内部に含有させる芯物質としては、当初予定した有用有機物に代えて、抗菌剤を用いることにした。術後から歯肉の閉塞までの感染症を防止することにより、骨形成の阻害を防止することを優先することにした。さらに生分解性ポリマーであるポリ乳酸 (PLA) による被覆を試み、抗菌剤の放出特性への影響を検討した。

3. 研究の方法

リン酸水素二カリウム (K_2HPO_4) 水溶液の pH を水酸化カリウム (KOH) によって調整し、内水相とした。シクロヘキサンに分散安定剤として Span80 を溶解して油相とした。硝酸カルシウム ($Ca(NO_3)_2$) 水溶液に懸濁安定剤として Tween20 を溶解し、外水相とした。油相に内水相を加え、ホモジナイザで高速攪拌して W/O 分散系を調製した。これを外水相に投入し、ディスクタービン翼で攪拌して W/O/W 分散系を調製した。洗浄、分離した後、凍結乾燥して HAp 中空マイクロスフィアを得た。走査型電子顕微鏡 (SEM) および透過型電子顕微鏡 (TEM) による形態の観察、X 線回折 (XRD) による相の同定、格子定数および結晶子径の測定、赤外分光法 (FTIR) による微量含有相の同定などの評価を行い、調製条件との関係を検討した。

化学ポテンシャル計算に基づいて K_2HPO_4 - $Ca(NO_3)_2$ -KOH 系の相図を描画し、調製条件の妥当性を検証した。

研磨した純チタン板をフッ化水素酸 (HF) によってエッチングした。HAp 中空マイクロスフィアをハックス溶液 (HBSS) に懸濁させ、チタン板で挟み、付着状況を電子線プローブマイクロアナライザ (EPMA) によって定量

的に評価した。

純チタン (JIS 2 種) 製ねじ表面に HAp 中空マイクロスフィア付着層を形成させた。ここに抗菌剤としてのアンピシリンナトリウム (Amp) 水溶液を含浸させ、PLA 被覆層を形成させて、モデルインプラントとした。モデルインプラントを HBSS に浸漬し、Amp の放出特性を評価した。

4. 研究成果

(1) HAp 中空マイクロスフィアの調製

得られた相図を図 1 に示す。本研究で用いた系においては、外水相から内水相界面への Ca^{2+} の拡散によって HAp が生成するものと考えられる。内水相界面における原料成分の濃度変化は図中の矢印によって表現でき、点 D に到達したとき HAp の生成が始まる。本研究の実験条件は点 E に設定しており、採用した実験条件が HAp の生成に対して適性であることが検証できた。

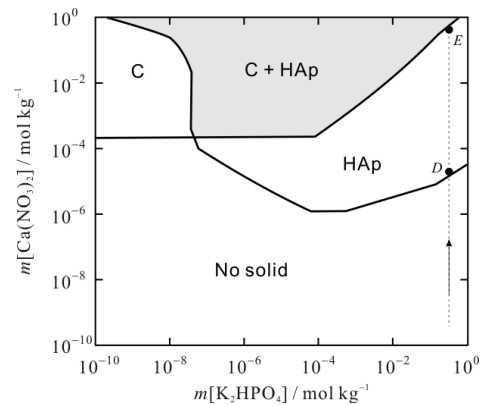


図 1 $Ca(NO_3)_2$ - K_2HPO_4 - H_2O 系における主たる固体生成物を表す相図
C: $Ca(OH)_2$

図 2 に HAp 中空マイクロスフィアの SEM 写真を示す。表面が起伏に富むマイクロスフィアであることが確認される。油相媒体は本来化学反応には関与しないものと考えられるが、その種類によって形態が変化することを見出した。これは原料化学種の油相中における

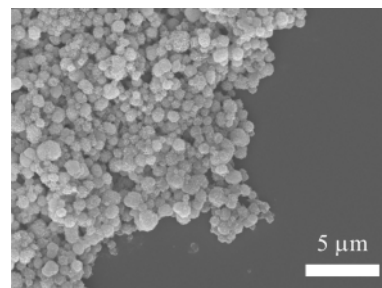


図 2 HAp 中空マイクロスフィアの SEM 写真

輸送速度が結晶成長速度に影響を及ぼすことによるものと考えている。今後、輸送中の物質移動に関して、モデル系を構築して定量的な検討を進める予定である。

図3にHAp中空ミクロスフィアのTEM写真を示す。シート状ナノ粒子が集合した構造を有することが分かる。中央部は電子線の透過が観察され、中空状であることが確認される。

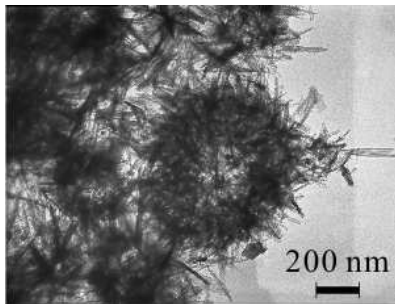


図3 HAp中空ミクロスフィアのTEM写真

XRDの結果、得られたミクロスフィアの結晶相は低結晶性のカルシウム欠損型HApであることを確認した。水中およびHBSS中における溶解挙動を調査し、市販HApよりも溶解性に優れることを確認した。

原料溶液中にマグネシウムイオンや炭酸イオンを含めることにより、生成ミクロスフィアの組成や結晶形態を制御できることを見出した。今後、高い骨形成能を実現するために、微量成分を制御することにより自然骨に近い組成と溶解性を付与させることに取り組む予定である。

(2) HAp中空ミクロスフィアのチタン表面への付着

チタン表面のHAp中空ミクロスフィアによる被覆率はHF濃度によって変化し、最適濃度が存在することを見出した。この結果は

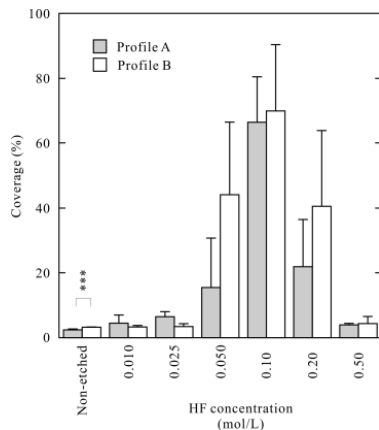


図4 チタン表面のHAp中空ミクロスフィアによる被覆率に及ぼすHF濃度の効果

エッチングによって形成されるヒロックの寸法がHAp中空ミクロスフィアのそれに匹敵することによるものと推察した。

(3) HAp壁マイクロカプセル被覆モデルインプラントの作製

図5に示すAmpの放出挙動から、HApによってAmpを保持する空間を確保し、PLAによって徐放性を付与できることが示された。

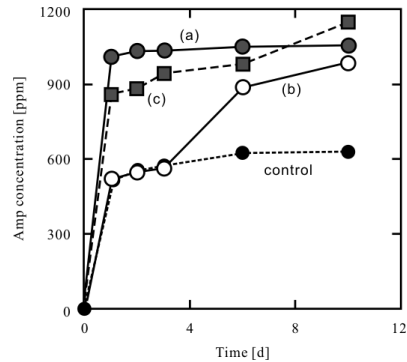


図5 Ampの放出特性
(a) HApのみ, (b) PLAのみ,
(c) HAp+PLA

(4) まとめ

中空ミクロスフィア内部に抗菌剤を含有させ、生分解性ポリマーで被覆することにより徐放特性を制御した。このような構造のモデルインプラントは、HAp壁マイクロカプセルとしての最も有効な応用の形態であると判断される。

上述の成果のほか、将来的な臨床応用を念頭に置いて、患者個人ごとに最適化されたオーダーメイドインプラントを作製するための基礎研究として、チタンの精密鋳造や診療室内での加工工程に関して歯科補綴学および歯科技工学的見地からの検討を行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計2件)

[1] [Kimura I](#), Honma T, Riman RE, "Preparation of hydroxyapatite microspheres by interfacial reaction in a multiple emulsion", Journal of the Ceramic Society of Japan, 査読有, 115巻, 2007年, 888-893.

[2] [Kimura I](#), "Synthesis of hydroxyapatite by interfacial reaction in a multiple emulsion", Research Letters in Materials Science, 査読有, 2007巻, 2007年, doi:10.1155/2007/71284.

〔学会発表〕 (計19件)

[1] [Kanatani M](#), "Feasibility of titanium casting using hBN ceramic with high thermal conductivity", 4th International Congress of Dental Technology, 2008年11月21日, 大阪.

- [2] 金谷 貢, 飛田 滋, 岡田直人, 若杉順一, 田之口克規, "歯科技工の重要ポイントの共有化 -石膏模型の製作-", 第4回国際歯科技工学術大会, 2008年11月21日, 大阪.
- [3] Kimura I, Kawaguchi T, Tanaka T, Taniguchi M, Kanatani M, "Titanium implant coated with hydroxyapatite microcapsules and poly(L-lactic acid) releasing an antimicrobial agent", American Institute of Chemical Engineers 2008 Annual Meeting, 2008年11月19日, フィラデルフィア (米国).
- [4] 宮村健司, 木村勇雄, "界面反応法より調製したヒドロキシアパタイトミクロスフィアの溶解性", 日本セラミックス協会東北北海道支部研究発表会, 2008年11月6日, 米沢.
- [5] 金谷 貢, 大川成剛, 渡辺孝一, 堀田憲康, 木村勇雄, 小林正義, "金属微粒子の到達高さを傍証として用いた歯科診療室内における粉塵の挙動", 第52回日本歯科理工学会学術講演会, 2008年9月20日, 豊中.
- [6] Kanatani M, Okawa S, Watanabe K, Nakano S, Hotta N, Kobayashi M, "Feasibility of Titanium casting using ceramic mold with high thermal conductivity --Case of high-temperature mold using hBN plate--", International Dental Materials Congress 2007, 2007年11月29日, バンコク (タイ).
- [7] 木村勇雄, 本間達郎, "界面反応法により調製するヒドロキシアパタイト・ミクロスフィアの形態に及ぼす油相媒体種の影響", 第17回無機リン化学討論会, 2007年10月2日, 札幌.
- [8] 木村勇雄, 佐藤悠正, "W/O/W分散系を利用したりん酸-カルシウム-マグネシウム系球状粒子の調製", 日本セラミックス協会第21回秋季シンポジウム, 2008年9月17日, 北九州.
- [9] 川口峻範, 木村勇雄, 柄崎和彦, 高橋真記, 田中孝明, 谷口正之, 金谷 貢, "抗菌剤含有ヒドロキシアパタイト中空球状粒子被覆チタンインプラントの作製", 化学工学会新潟大会, 2008年8月21日, 新潟.
- [10] 宮村健司, 木村勇雄, "ヒドロキシアパタイトミクロスフィアの擬似体液中での溶解挙動", 化学工学会新潟大会, 2008年8月21日, 新潟.
- [11] 佐藤悠正, 木村勇雄, "界面反応法によるマグネシウム含有ヒドロキシアパタイト中空球状粒子の調製", 化学工学会新潟大会, 2008年8月21日, 新潟.
- [12] Honma T, Kimura I, "Effects of oil phase media on the preparation of hydroxyapatite microspheres in a multiple dispersion", The 4th International Symposium on Advanced Materials in Asia-Pacific Rim, 2007年7月14日, 新潟.
- [13] Kimura I, Kanatani M, Okawa S, Watanabe K, Miyakawa O, "Adhesion of hollow

hydroxyapatite microspheres onto titanium", The 6th International Symposium on Titanium in Dentistry, 2007年6月5日, 京都.

[14] Kanatani M, Okawa S, Watanabe K, Miyakawa O, Nakano S, Hotta N, Kobayashi M, "Feasibility of titanium casting using ceramic mold with high thermal conductivity", The 6th International Symposium on Titanium in Dentistry, 2007年6月5日, 京都.

[15] 金谷 貢, 熊倉喜久夫, 野村章子, "細かいワイヤーを用いた隣接面鉤の維持力 -上顎中切歯用可撤性部分床義歯の場合-", 第116回日本補綴歯科学会学術大会・第5回アジア補綴歯科学会, 2007年5月19日, 神戸.

[16] Kimura I, Honma T, Riman RE, "Preparation of microspherical hydroxyapatite scaffolds", The US-Japan Joint Topical Conference on Medical Engineering, Drug Delivery Systems and Therapeutic Systems, American Institute of Chemical Engineers 2006 Annual Meeting, 2006年11月15日, サンフランシスコ (米国).

[17] 金谷 貢, 熊倉喜久夫, 野村章子, 中野周二, 大川成剛, 渡辺孝一, 宮川 修, "0.7 mm²以下のCo-Cr合金線を使用したスーパラバルジ型隣接面鉤の維持力 -上顎中切歯用可撤性部分床義歯の場合-", 第48回日本歯科理工学会学術講演会, 2006年10月29日, 名古屋.

[18] 木村勇雄, 本間達郎, "界面反応法によるヒドロキシアパタイト・ナノ中空粒子の調製", 日本セラミックス協会第19回秋季シンポジウム, 2006年9月19日, 甲府.

[19] 本間達郎, 木村勇雄, "界面反応法により調製したヒドロキシアパタイト粒子の形態", 化学工学会室蘭大会, 2006年8月25日, 室蘭.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木村 勇雄 (Kimura Isao)

所属 新潟大学・自然科学系・准教授

研究者番号: 00169921

(2) 研究分担者

金谷 貢 (Kanatani Mitsugu)

所属 新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号: 40177499