

令和 4 年 5 月 19 日現在

機関番号：37114

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09648

研究課題名（和文）テンプレート積層法による低結晶性 β -TCP海綿骨様構造の創生研究課題名（英文）Fabrication of low crystalline β -TCP cancellous bone-like structure by template laminating method

研究代表者

丸田 道人 (Maruta, Michito)

福岡歯科大学・口腔歯学部・准教授

研究者番号：40507802

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）：歯科で使われる半水石膏を出発材料にして、連通気孔構造を持つ多孔体の調整法を明らかにした。通常、石膏を水熱処理するとハイドロキシアパタイトになることが知られているが、本研究では、添加剤を使用することにより準安定相であるベータ型リン酸三カルシウムの析出を安定的にできる手法を確立した。

マグネシウムを添加した石膏多孔体は、マグネシウムの添加量と水熱処理温度を調整することによりベータ型リン酸カルシウムへ相変換された。3Dプリンターでテンプレートを作り、石膏の硬化反応を利用して気孔率を調整できる多孔体の開発が可能になった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ベータ型リン酸三カルシウムは1050℃以上になるとアルファ型リン酸三カルシウムへと相転移（ $\beta \rightarrow \alpha$ 転移）を開始してしまいます。そのため、1050℃より低い温度で焼結させなければならず、焼結密度が低く、強度も小さくなってしまいます。つまり、高温焼結によるベータ型リン酸三カルシウム合成法では内部気孔率（または気孔径）を下げることでしか圧縮強度を向上させることはできません。本研究では低い結晶性を有する完全連通気孔構造を持つ新規ベータ型リン酸三カルシウムの調製法を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Semi-hydrated gypsum in dentistry was used as a starting material. This study established how to prepare a porous body with a three-dimensional interconnecting porous structure. Typically, it is known that hydroxyapatite is formed when gypsum is hydrothermally treated, but in this study, a method that can stabilize the precipitation of beta-tricalcium phosphate is a semi-stable phase by using an additive.

The porous gypsum body to which magnesium was added was phase-converted to beta-type calcium phosphate by adjusting the amount of magnesium added and the hydrothermal treatment temperature. It has become possible to develop a porous body that can adjust the porosity by creating a template with a 3D printer and using the curing reaction of gypsum.

研究分野：歯科理工学

キーワード：骨補填材 多孔体 溶解析出反応

1. 研究開始当初の背景

形態付与性と溶解性を制御したベータ型リン酸三カルシウムの調製法の確立が求められている。整形外科や口腔外科などの硬組織再建を伴う現場では、自家骨、他家骨、異種骨などとともに、リン酸カルシウム骨補填材としてハイドロキシアパタイトが多用されている。

しかし、自家骨に比べ他家骨、異種骨などは異種免疫や使用できる骨量の問題があり大規模な硬組織欠損には応用できない問題がある。一方で、ハイドロキシアパタイトは大規模な骨欠損にも適応可能であるが、その溶解性は低く埋入後の感染が懸念されている。

一般的に市販されている骨補填材は焼結体型、粉碎顆粒型、セメント型に大別されるが、セメント型を除いては基本的に高温で焼き固める焼結法が用いられている。しかし、本実験で研究したベータ型リン酸三カルシウムは高温での焼結により、容易にアルファ型リン酸三カルシウムに相転移するため、従来の焼結法を用いて内部と外部が連続した微細構造体の調製が困難であった。その理由は、ベータ型リン酸三カルシウムは、高温焼結による体積収縮と相転移が生じるために焼結法では体積収縮による崩壊で形態の制御が困難であり、高温焼結により結晶構造の維持が困難であることが知られている。また、ベータ型リン酸三カルシウムは生体内で吸収される骨補填材であるが、埋入部位によって溶解速度の改善が必要とされている。一方で、ベータ型リン酸三カルシウムにマグネシウムを添加することで、高温焼結でも相転移を生じずにベータ型リン酸三カルシウムの結晶構造を安定化できることが知られていた。

2. 研究の目的

本研究では、積層ピッチ最小 30 ミクロンの解像度を持つ 3D 樹脂プリンタをしようして石膏の薄膜鋳型を作成し、そのシートで作られた石膏薄膜を積層することにより海綿骨のように十分な気孔径と微細構造を有する骨補填材の調製法を確立することを目的としている。

ベータ型リン酸三カルシウムは高温での焼結により容易にアルファ型リン酸三カルシウムに相転移するため、従来の焼結法を用いて内部と外部が連続した微細構造体の調製が困難である問題点があった。本研究では、海綿骨のように十分な気孔径と微細構造を有する骨補填材の調製法を確立することを目的としているため、自己硬化性を持つ材料の使用が必要であった。そこで、我々は、石膏が水との練和により容易に硬化し、リン酸水溶液を用いた水熱処理により容易にハイドロキシアパタイトへと相変換可能な材料であることに着目した。本研究では、焼き石膏が水と練和することにより自己硬化し、リン酸塩水溶液で水熱処理することによりハイドロキシアパタイトへと相転移することに着目した。焼き石膏を用いることで形態付与性を改善し、マグネシウムを添加して水熱処理することにより準安定相のベータ型リン酸三カルシウムを析出させることで従来の焼結法よりも低温でベータ型リン酸三カルシウムの水熱合成法を検討が有用であると考えた。積層ピッチ最小 30 ミクロンの解像度を持つ 3D 樹脂プリンタを使用して石膏の薄膜鋳型を作成し、そのシートで作られた石膏薄膜を積層することにより海綿骨のように十分な気孔径と微細構造を有する骨補填材の調製法の確率を試みた。これにより、ベータ型リン酸三カルシウム多孔体の抱える結晶性と微細構造という 2 つの問題を一度に解決する手法を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

半水石膏に対してマグネシウムの添加量を 0 から最大 20mol%まで添加した粉末を調製した。得られた粉末を各種粉液比でそれぞれ練和し、直径 6mm、厚さ 3mm のステンレスの割型にいれ 1 時間初期硬化させた。その後、3 種類の酸性リン酸溶液 (1MNaH₂PO₄-1MNa₂HPO₄-1MNa₃PO₄) で水熱処理を行い相変換させた。リン酸濃度と水熱処理温度、処理時間を変化させ検討を行った。得られたペレットを粉末エックス線回折にて物質の同定を行った。また、上記で調製したペレットのダイアメトラル引張試験を行い硬化体の反応前後での機械的性質を測定した。同時に SEM による形態観察も行った。また、気孔率の測定も行った。

生体吸収性骨補填材の体内での吸収は、破骨細胞により生じた酸性環境(pH4 程度)での物理化学的溶解が必須であるので、酸性環境下での溶解性の検討を行った。海綿骨石膏シートの積層条件の最適化を行った。具体的には、積層法による海綿骨様ベータ型リン酸三カルシウムの鋳型となる海綿骨石膏シートの調製法の最適化を行った。具体的には、3D プリンタで作成した鋳型となる薄膜テンプレートのモデルの設計と離型条件の検討を行った。3D プリンタ Project1200 (最小積層ピッチ 30 ミクロン) を用いて鋳型となる薄膜テンプレートを作成した。

その後、薄膜の鋳型の厚さを順次変化させ SEM による積層多孔体の構造観察を行い最適な積層ピッチを検討し、海綿骨の骨梁の大きさも順次変更することにより強度の最適化を目指した。また、得られた資料に対して、細胞生物学的検討として、初期細胞接着、細胞増殖試験を行った。マグネシウムとナトリウムの固溶により、得られた硬化体の溶解度の著しい低下が生じたため、最終的な骨組織内での吸収は、JIS T 0330-3 生体活性バイオセラミックス第 3 部：溶解速度試験方法に則って検討した。

4. 研究成果

石膏を積層するテンプレートのデザインは、一般的な結晶構造を模倣し、気孔率を調整可能なデザインを複数パターン作成して検討した。まず、一般的な結晶構造を模倣し、気孔率を調整可能なデザインを複数パターン作成して検討した。

具体的には図1に示すように、球体同士が接した形式から作成を試みた。このパターンを用いると球の重なり方を変化させることで、体心立方格子や面心立方格子型の結晶構造を作成可能であり、球の充填率が変化することで気孔率の調整が可能であると当初考えていた。3DCGのデザインには3DモデリングソフトウェアMetasequoiaとCAE解析が可能なFusion360を用いた。

最初に、図1に示した初期デザインテンプレートを作成した。球状の面が接するように上下に重ね合わせ、その間に石膏を充填し硬化させた。これにより、図1の凸の部分が機構部分になり、充填率や球の直径を変化させることで気孔率の調整を試みた。

図2（左がテンプレート、右が石膏硬化体）に示すように、球の接触部分では連通構造が維持され、気孔が連続した構造体を調整できた。球の直径を変化させたとこ2mm以上のマクロ連通気孔では比較的簡単に離型することができた。しかし、球の直径が小さくなるに連れて離型の際に梁の部分にチッピングが生じ直径1mmでも立体構造を維持するのが困難になることが明らかになった。(図2)

走査型電子顕微鏡を用いて、離型して得られた石膏硬化体の表面を検討したところ、2つの問題が明らかになった。1つは球同士が接触した梁になる部のチッピング、もう一方は重ね合わせによるテンプレートのズレの問題であった。後者のズレは重ね合わせの凹凸をテンプレートに設計することで解決したが、離型に関しては、応力解析によるデザインの変更含めた検討が必要であった。Fusion360を用いて石膏とテンプレートを重ね合わせ、コンピューター上でCAE解析を行い様々なデザインを検討したところ、図3に示すように半球の裾野の部分がなだらかにデザインされたラウンドベベルが最も梁に応力がかかりにくく、梁のチッピングが起こりにくいデザインであることが明らかになった。つまり、ベベルデザインにするまでは、梁の先端部分が直角で離型の際にチッピングが生じていた。このラウンドベベルデザインは正弦波を振幅方向に移動させ、移動させるまえの軸を回転軸として回転させることにより得られるため、気孔率の調整も可能である。(図3)

このラウンドベベルデザインでテンプレートを作成し、石膏を充填し硬化体を調製したところ、図4に示すように、チッピングも殆どなく、球同士が接触部分では連通気孔構造が維持されたドーム型の石膏テンプレートを作成することが可能になった。これを積層することにより多孔体を作成することが可能になった。これにより、テンプレートを積層させた石膏硬化体の調整が可能になった。

次に、焼き石膏に水酸化マグネシウム、炭酸マグネシウムをカルシウムに対して0~10 mol%になるように添加し、水熱処理することで準安定相であるベータ型リン酸三カルシウムの調製条件の検討を行った。マグネシウムの添加量によりいずれのマグネシウム源でもベータ型リン酸三カルシウムに相変換することが明らかになった。ここでは、水酸化マグネシウムのデータを中心に報告する。

得られた石膏粉末を混水比0.5にて蒸留水で30秒間練和した。得られた石膏スラリーをステンレス製のモールドに充填し、硝子板にてモールドを挟んだ。両側をクランプして初期硬化として1時間養生させ直径6mm、高さ3mmの円柱状試料を作成した。硬化したマグネシウム石膏ペレット(Mg-CaSO₄)は1 mol/Lのリン酸水素二ナトリウム水溶液(1M Na₂HPO₄)で100、150、200°Cで24、48時間水熱処理した。得られた試料は、走査型電子顕微鏡による表面観察、粉末エックス線回折による結晶構造の検討を行った。また、ダイヤモンド圧縮試験、気孔率等を評価した。

代表例として、水酸化マグネシウムを0-10 mol%添加したときのMg-CaSO₄の水熱処理後(150°C、24時間)の走査型電子顕微鏡写真を図5(低倍率)と図6(高倍率)に示す。マグネシウムの含有量に関わらず、石膏硬化体は水熱処理後に二水石膏に見られる典型的な針状結晶から結晶形態が大きく変化していることが観察された。低倍率では明らかな表面性状の違いが認められなかった。高倍率では0 mol%のマグネシウムを

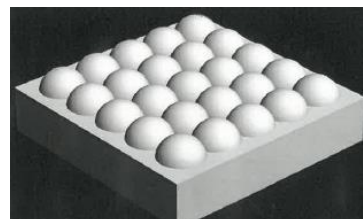


図 1. 初期デザイン

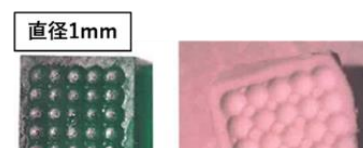


図 2. 直径と離型

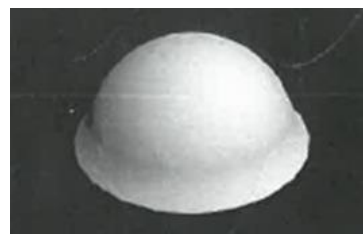


図 3. ラウンドベベル

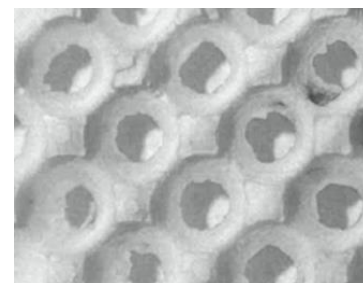


図 4. 石膏テンプレート

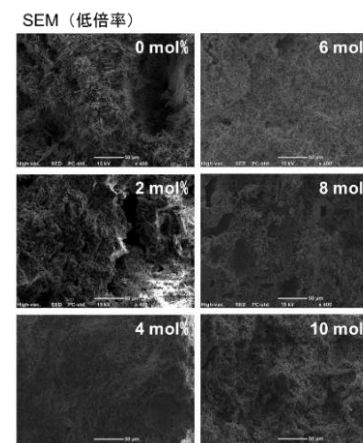


図 5. SEM (低倍率)

んでいない試料 (図6 0mol%) は、他の試料と析出した結晶形状が大きく異なることが観察された。

次に結晶層を同定するために、1M Na₂HPO₄ 水溶液を用いて 100°C、150°C、200°Cで Mg-CaSO₄ を 24 時間水熱処理した試料の粉末 X 線回折パターンを図 7 に示す。準安定相である β-TCP 以外に安定層のヒドロキシアパタイトや、その他のリン酸カルシウムナトリウム (レナナイト等) の相も析出していることが明らかになった。

100°Cの試料では、半水石膏のピークが多く残存していた。150°Cの試料では、2mol%以上のマグネシウムの添加でほとんどベータ型リン酸三カルシウムへ相変化していた。しかし、200°Cではベータ型リン酸三カルシウム以外にヒドロキシアパタイトも析出していた。

48 時間処理した試料の XRD 結果 (データ未掲載) では、100°Cの試料では、ベータ型リン酸三カルシウムのピークが現れるものの、半水石膏のピークが残存していた。150°Cの試料では、24 時間水熱処理試料と変化がなかった。しかし、200°Cでも 24 時間水熱処理試料と変化がなかった。

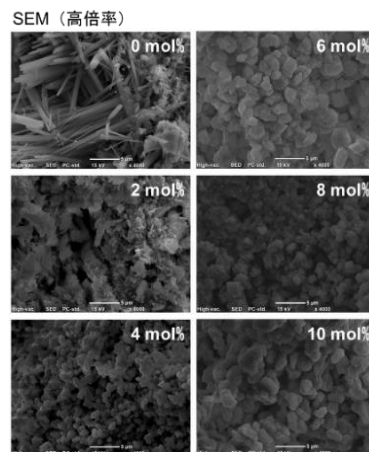


図 6. SEM (低倍率)

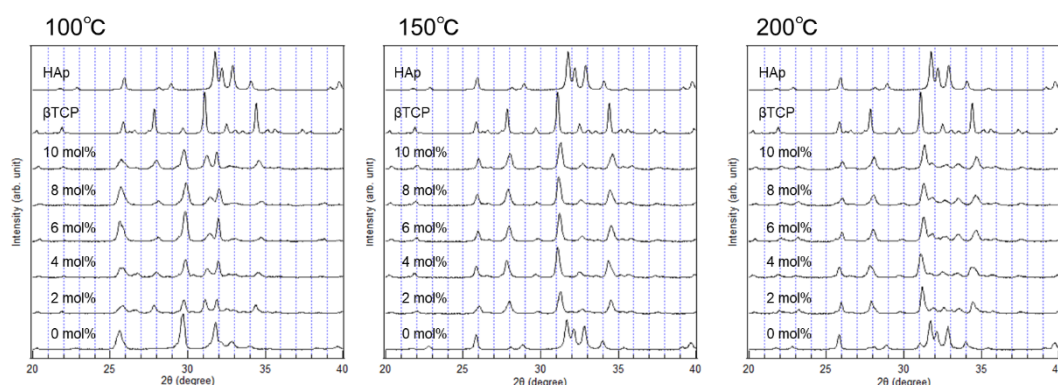


図 7. XRD

以上の結果より、石膏にマグネシウムを添加することにより準安定相であるベータ型リン酸三カルシウムを析出させる条件を明らかにした。マグネシウムの添加は HAp への相変換を抑制し、準安定相であるベータ型リン酸三カルシウムを析出させるのに有効である。しかし、高温で水熱処理を行うと準安定相を析出させることが困難になり、安定相である HAp が析出しやすくなる。高温下でも準安定相を析出させるためには、マグネシウムの添加量を増加させることが効果的であることも明らかにした。具体的には 48 時間 200°C処理でも 12mol%以上のマグネシウムを含有させることによりベータ型リン酸三カルシウムを析出させることが出来た。このようにマグネシウムを取り込みながら溶解析出反応で準安定相であるベータ型リン酸三カルシウムを析出させるためには、出発材料である石膏の溶解が十分に生じる反応温度以上でマグネシウムを添加することが有用である。代表例として、焼き石膏 CaSO₄ · 1/2H₂O に 0-10mol%の水酸化マグネシウムを添加し、1M の Na₂HPO₄ を用いて 150°C 24h 水熱処理したダイアメトラル圧縮試験 (DTS) を図に示す。混水比は 0.5 とした。

最も良い結果の得られた 150°C 24h 水熱処理試料で MC3T3-E1 を用いて、初期接着と細胞増殖試験を行ったところ、マグネシウム含有ベータ型リン酸三カルシウムは、初期接着に有意差はないが、マグネシウムの含有量が多いほど細胞増殖が良い結果が得られた。

骨組織内での吸収は、JIS T 0330-3 生体活性バイオセラミックス第 3 部：溶解速度試験方法に則って検討した。溶解度測定実験では、マグネシウムイオンが固溶するとカルシウムイオンの溶出率が低下するため、気孔率の大小にかかわらず溶解度はマグネシウムを含有しないものに比べて一汁しく低下した。本実験ではナトリウムイオンも同時に雇用しているために溶出率がさらに低下したものと考えられた。

以上により、焼き石膏に添加するマグネシウム量と水熱処理温度 を変化させることにより形態付与性を改善し、マグネシウムの添加により結晶構造を安定化させた β-TCP を 水熱処理により調製可能であることは示された。しかし、マグネシウムの添加により多孔体の溶解性は著しく下がる結果となった。

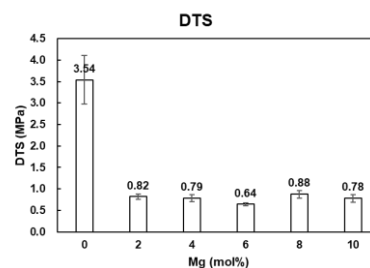


図 8. DTS

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 丸田道人
2. 発表標題 石膏を利用した ベータ 型リン酸三カルシウムの調
3. 学会等名 第75回 日本歯科理工学会 春期学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 丸田道人, 荒平高章, 梶本 昇, 都留寛治
2. 発表標題 形態付与性と溶解性を制御した b -TCP の調製
3. 学会等名 第72回 日本歯科理工学会秋期学術講演会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	荒平 高章 (Arahira Takaaki) (30706958)	福岡歯科大学・口腔歯学部・助教 (37114)	
研究分担者	泉 利雄 (Izumi Toshio) (40248547)	福岡歯科大学・口腔歯学部・准教授 (37114)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	梶本 昇 (Kajimoto Noboru) (30824213)	福岡歯科大学・口腔歯学部・助教 (37114)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関