

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19760498
 研究課題名（和文）
 プラズマ・イオンプロセスによる生体親和性材料の開発
 研究課題名（英文）
 Development of biomaterials using plasma and ion processes
 研究代表者
 小林 知洋 (Kobayashi Tomohiro)
 独立行政法人理化学研究所・山崎原子物理研究室・専任研究員
 研究者番号：40282496

研究成果の概要（和文）：

高分子の弾力性、化学的安定性を保持したまま、表面改質により生体適合性を向上させる手法として、プラズマイオン注入(Plasma Based Ion Implantation, PBII)法に着目した。シリコーンに対して PBII を施し、表面組成および形状の変化、細胞接着率の変化について調べた。表面は照射電圧の上昇に伴い本来の構造が減少し、アモルファス炭素となった。イオン照射により細胞接着率と細胞増殖率は顕著に向上し、本手法の有効性が示された。一方、高電圧側では改質効果が減少した。細胞接着率と増殖率の双方から判断すると最適処理電圧は 2.5～5kV の間であった。

研究成果の概要（英文）：

In this study the surfaces of Silicones (polydimethylsiloxane) were irradiated with ions by a plasma based ion implantation (PBII) method and changes in their composition, structure, morphology and biocompatibility were investigated. Due to the morphological and the structural changes, the cell attachment percentage and growth rate were improved. The optimal irradiation voltage was between 2.5 and 5 kV. The Raman spectra showed a destruction of siloxane bonds and formation of amorphous carbon structures.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,400,000	0	1,400,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
2009 年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	2,900,000	450,000	3,350,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：材料工学・構造・機能材料

キーワード：プラズマイオン注入、細胞接着、生体適合性、シリコーン、炭素化、PBII、PTFE

1. 研究開始当初の背景

透析などのため長期に渡ってカテーテル

を留置すると、人体組織との接着性が悪いために界面に雑菌が侵入し、最悪の場合それが原因で死

に至る。そのためかなりの割合で再手術が必要となり、大きな患者の負担となっている。申請者がこのような問題を認識したのは、本研究室のホームページを閲覧した医師から、「高分子の表面改質を行っているらしいが、シリコーン（ポリジメチルシロキサン）の表面に生体組織が強固に接着するようにすることは出来ないか」という質問が寄せられたためである。連続携行式腹膜灌流は糖尿病患者が腹膜を介して体内の不要な老廃物や水分を透析液中へ取り除き、血液を浄化するという比較的新しい透析法である。患者自身で透析液の管理が可能であり、通常の透析に比べて通院の頻度が低い。入浴はもちろん、旅行も可能であり患者のQOL(Quality of Life)向上が見込める手法であるため実施例は着実に増加している。問題点としては、カテーテルにはシリコーンやポリウレタンなどの生体に無害であるが、接着もしにくい材料が使われているため腹部にカテーテルを長期間留置すると、出口部の化膿やトンネル感染（雑菌の侵入）が生じやすいという問題が挙げられる。通常の手術では留置時に数週間で吸収される生分解性の接着剤を用いて組織と接着させることが試みられているが、カテーテルに用いられる高分子は撥水性であることから水溶性の接着剤をはじいてしまうため効果は小さい。同様な問題は水頭症患者の脳髄液を排出するためのカテーテル（脳室ドレナージ）においても発生しており、カテーテルの改良は急を要する問題である。

高分子の表面に電子線照射によりラジカルを生成し、その後の化学処理によって官能基を付与するという放射線グラフト法については既に20年以上も研究がなされ、高機能繊維などの開発が行われている。生体材料への応用についても研究がなされているが、経年劣化の問題など克服すべき問題点が存在する。一方、高分子に数十から数百 keV に加速したイオンビームを照射すると細胞接着性が向上するという事実は1992年に理化学研究所の鈴木らが発表している。既に実用化されている例としては、生体不活性な延伸テフロン表面に希ガスイオンを照射して脱フッ素化させることにより、一方の面のみ組織が接着するように改質したものが挙げられる。この材料は動脈瘤が破裂するのを防ぐラッピングシートや脳腫瘍手術後に髄液漏れが起こるのを防ぐシール材として使用されている。

加速器を用いたイオンビーム照射の問題点は、装置が高価であること、照射面積が限定されること、立体形状物への照射に時間と手間が掛かること等が挙げられる。これらは全てがコストに反映され実用化の障害となる。プラズマイオン注入法(Plasma Based Ion Implantation, PBII)は、高周波によりイオンを照射対象の周りに発生させ、負のバル

ス電位で引き付けることを繰り返して照射を行う手法であるイオン源やビーム輸送ライン、偏向系を持たないために装置が簡便である。正および負のパルスをわずかな時間差で印加しイオンソース形状を制御して改質効果を向上させることが可能である。本手法の特徴は試料自体に電圧を印加するため、立体形状物に対しても照射可能であるという点である。これは円柱状をしているカテーテルを念頭に置いた場合、試料の回転機構が不要となるため非常に有利である。本手法は原料ガスに炭化水素を用いた場合、表面にアモルファス炭素（ダイヤモンドライクカーボンとも呼ばれる）を製膜することが可能で、現在申請者はPBII法により金属などをドーピングしたアモルファス炭素を作製し、硬度、密着性、化学結合などを調べている。

高分子膜に対するPBII処理の研究例としては、照射による表面の緻密化または膜堆積によるガス透過防止能向上が盛んに研究されているが、生体組織との適合性に関してはほとんど行われていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究ではシリコーンに代表される生体不活性高分子材料に対し、PBIIを施すことにより表面の組織適合性を向上させることを目的とする。さらに、組成、官能基、モルフォロジー、親水性などの基礎的表面物性を測定・観察することにより、これらの各要素が組織適合性に与える影響を明らかにし、最適な改質条件を探索する。

3. 研究の方法

初年度はPBII装置を用いてシリコーンに希ガスを照射することにより表面改質を行い評価を子なった。実験は試料作製→細胞培養試験および生分解性接着剤付着力試験→表面物性測定のサイクルを繰り返すことにより行った。

対象試料：シリコーン（シート、チューブ）、シリコン基板、ガラス
導入ガス（照射イオン）：希ガス（He、Ar）、炭化水素、フッ化炭化水素
照射エネルギー：0～5kV

（測定項目）

◆細胞培養試験

本研究の主たる目的は生体組織との親和性が高い表面の構築である。照射試料上で細胞培養を行い、その増殖率、接着率をカウントすることにより、組織親和性を評価する。用いる細胞は当研究室で実績のある繊維芽細胞(L929)である。接着状態が良好な一部の試料については外部に断面試料作製を依頼する。

観察方法：光学顕微鏡・走査型電子顕微鏡（SEM）

◆生分解性接着剤付着力試験

生分解性接着剤は生体組織が材料に接着するまでの繋ぎの役目をするため、出来るだけ強固に接着

することが望ましい。本研究では臨床にも用いられているヒト血清由来の接着剤（商品名：ボルヒール）を用い、照射面同士を接着させた後、水平方向に引っ張り、剥離時の力を測定する。

測定方法：引っ張り試験機

◆表面モルフォロジー

PBIIにて照射されて高分子試料表面は、温度上昇や脱ガス、スパッタリングにより表面モルフォロジーが大きく変化すると考えられ、組織（細胞）の接着性に大きく影響を与えると考えられる。

観察方法：走査型電子顕微鏡（SEM）および原子間力顕微鏡（AFM）

◆炭素の結合情報

脱ガスにより、試料表面は炭素の割合が増大し、炭素-炭素結合が増加すると考えられる。グラファイト成分およびアモルファス成分の割合を調べ、組織適合性との関連を検討する。

測定方法：RAMAN 分光分析

◆官能基情報

イオン照射により、既存の官能基は破壊される。またラジカルと残留ガスや大気成分と結合して新たな官能基が生成すると考えられる。親水性と組織適合性に影響を与えると考えられる。

測定方法：フーリエ変換赤外分光分析（FT-IR）

◆表面組成深さ方向分布

照射イオン種やエネルギーにより試料表面の元素分布が異なるはずである。応用を考えた場合、表面が摩耗して新たな面が露出することが予想され、改質層の厚さを評価しておくことは重要である。

測定方法：ラザフォード広報散乱分析（RBS）および弾性散乱検出分析（ERDA）

◆親水性

親水性は接着剤付着力、組織適合性を左右する重要なファクターである。表面形状や官能基によってどのように変化するのか詳細に調べる。

測定方法：接触角計

研究を進行させる中で、組織適合性と相関の無いと思われる表面物性については、適宜実験サイクルから外した。

以降は、照射イオン種を酸素、炭化水素に切り替え、表面官能基を積極的に制御することを念頭に置く。また、照射後ラジカルが消失しないうちに水や有機溶媒に浸漬することにより、親水性の制御を行う。これらの試料

に対して引き続き細胞培養試験および生分解性接着剤付着力試験を行うとともに表面物性測定を並行して行い、相関関係を検討した。

4. 研究成果

シリコン（ポリジメチルシロキサン）は、無毒性である、生体反応性が低い、血液凝固性が低いといった生体適合性に加え、耐熱性、耐寒性、気体透過性に優れているという特長から医療用材料の幅広い用途で使用されている。しかし、その生体反応性の低さにより生体内で周辺組織と癒着せず、様々な医療用途の中でも特にカテーテルとして用いられる際に、周辺組織との間に隙間を生じやすく、これによる外界からの雑菌侵入が問題となる場合がある。これに対し、プラズマイオン注入法（PBII）によりシリコン表面を炭素化し、生体組織との接着性を向上させることを目的とした研究を行った。プラズマイオン注入法は従来のイオンビーム照射法に比べ、低コスト、短時間、三次元の試料に対し照射可能であることが特長として挙げられ、大量生産に非常に適しているといえる。本研究ではまず希ガスイオンで改質を行い、表面形状解析、表面組織解析、細胞接着試験を行った。その結果、印加負電圧（イオンエネルギー）が高いほど試料表面の炭素化が進行し表面粗さが増大することが明らかになった。炭素化は主に水素、酸素の脱離に起因し、表面粗さの増大は、結晶部分とアモルファス部分のエッチング速度の違いに起因すると考えられる。一方、細胞接着性は -2.5kV ～ -5kV で最大値（約85%）を示すことが明らかになった。高電圧側で細胞接着性が低下する理由は表面粗さが増大し、細胞との接着面積が減少するためと考えられた。本結果より、この時点では表面粗さの増大を抑制する照射方法を考案する必要があると思われた。

次に、導入ガスとしてトルエン、トリフロロベンゼン、ヘキサフロロベンゼンを選択し、基材表面にダイヤモンドライクカーボン（DLC）およびフッ素化ダイヤモンドライクカーボン（F-DLC）を生成する実験を行った。炭素に対するフッ素ドーパ量は成膜電圧と原料ガスの選択により5～60%の間でコントロール可能であった。水接触角はDLCの 74° に対し、F-DLCは 80° 以上の値を示した。ヘキサフロロベンゼンを用いて成膜したF-DLCの高度及びヤング率はDLCの5分の1以下を示した。非常に軟らかい膜であるため耐摩耗性には劣るものの、基材に対する追従性は良く剥離しにくいと考えられ、生体内における使用に関しては好都合であることが明らかになった。また、F-DLC表面には酸素原子が存在しており、成膜時に生成したダングリングボンドが空気中の酸素または水によって終端されることが明らかになった。このことを用いて、放射線や薬品を用いずに所望の官能基をDLC表面にグラフトすることが可能である。

次に、PBII処理した材料表面の細胞接着が照射量の増大とともに向上した後、過剰照射では低下することに着目し、複数のイオン種において最適な照射量を確定させた。この試料を依頼試験によ

りウサギ皮下に埋入し、3週間後に取り出して観察したところ、未処理試料は組織との癒着が見られなかったのに対し、照射後は完全に癒着していることを確認した。最適照射量は照射するイオンのエネルギーが一定の場合、イオンの質量の増大に伴って低下することが明らかになった。これは単位深さあたりに与えるエネルギー（線エネルギー付与）から説明出来る。過剰な照射によって細胞接着低下していく要因として、表面組成の変化と粗さの増大が考えられたため、比較対象としてイオン照射で表面に微細突起が生成するPTFE（ポリテトラフルオロエチレン）を選定し細胞接着性を調査したところ、細胞は突起先端を跨ぎながら照射済シリコンよりもはるかに粗い表面でも接着することが明らかになった。このことより、高照射量において細胞接着を抑制する原因として組成変化（炭素化、表面官能基の多様性の減少）が最も可能性が高いことが明らかになった。

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5件）

①小林知洋, 鈴木嘉昭 “イオン照射による高分子材料の組織適合性向上” 材料の科学と工学Vol. 46, No. 4, 169-173, 2009. (査読無)

②小林知洋, 鈴木嘉昭 “体親和性材料の開発” 放射線と産業, No. 123, 23-27, 2009. (査読無)

③T. Kobayashi, “Cell attachment on surface carbonized polymers by ion irradiation”
Proceedings of international conference of carbon 2009 (CD-ROM) (査読有)

④T. Kobayashi, R. Katou, T. Yokota, Y. Suzuki, M. Iwaki, T. Terai, “Surface modification of silicone sheets and tubes using plasma-based ion implantation”
Surface and Coatings Technology, Vol. 201, Issues 19-20, 8039-8042, 2007 (査読有)

⑤T. Kobayashi, T. Yokota, R. Kato, Y. Suzuki, M. Iwaki, T. Terai, N. Takahashi, T. Miyasato, H. Ujiie, “Surface modification of silicone medical materials by plasma-based ion implantation”, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B, Vol. 257, Issues 1-2, 128-131, 2007 (査読有)

〔学会発表〕（計8件）

①T. Kobayashi, ” Bioaffinity of

carbonized polymers by plasma ion irradiation”
1st German - Japanese Joint Symposium Development and Technology of Carbon Materials, Meitingen, Germany, (2009年6月22日)

②T. Kobayashi, ” Cell attachment on surface carbonized polymers by ion irradiation”
International conference of carbon 2009, Biarritz, France, (2009年6月17日)

③T. Kobayashi, “Surface modification of polymers by plasma based ion implantation”
IUMRS-ICA2008 (2008年12月11日)

④H. Hirakata and T. Kobayashi, ” Composition Control of Doped DLCs Fabricated by PBIID and their Structural Change at High Temperature”
IUMRS-ICA2008 (2008年12月10日)

⑤平方史生, 小林知洋 “ハロゲン・金属をドーブしたDLCの高温酸化挙動”
第65回炭素材料学会年会 (2008年12月5日)

⑥平方史生, 小林知洋 “異種元素ドーブDLCの組成制御および高温下における構造変化”
第69回応用物理学会学術講演会 (2008年9月2日)

⑦T. Kobayashi, “Surface modification of polymers by plasma based ion implantation”,
Ion beam modification of materials 2008, Dresden, Germany (2008年9月2日)

⑧河合雄毅, 小林知洋 “プラズマイオン注入法による医療高分子の表面改質”
第64回炭素材料学会年会 (2007年11月30日)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.riken.jp/ap/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 知洋 (Kobayashi Tomohiro)

独立行政法人理化学研究所・山崎原子物理研究室・専任研究員

研究者番号：40282496