

# 生体骨と同等の弾性率を有する高生体活性骨修復材料の開発

## Development of highly bioactive bone repair material with elastic modulus nearly equal to that of living bone

京都大学大学院エネルギー科学研究科エネルギー基礎科学専攻 助教 藪塚 武史

Department of Fundamental Energy Science, Graduate School of Energy Science,

Kyoto University, Takeshi Yabutsuka

### 要旨

細孔を形成した基材をヒトの血漿とほぼ等しい無機イオン濃度を有する擬似体液 (SBF) に浸漬し、pH や温度等の因子を制御すると、均一核形成によりアモルファスリン酸カルシウム微粒子 (アパタイト核) が基材の細孔内に析出する。本研究ではこの知見を応用して、皮質骨に匹敵した弾性率を有する繊維強化ポリアミド (GFR-PA) の表面に細孔を形成し、アパタイト核を細孔内に形成することで、GFR-PA にアパタイト形成能を付与する手法を開発した。GFR-PA に硫酸処理を施し、基材表面に細孔を形成した。その後グロー放電により酸素プラズマを基材に照射した。グロー放電処理後、アパタイト核を GFR-PA 表面の細孔内に形成し、基材に生体活性を付与した。得られた生体活性 GFR-PA を SBF に浸漬したところ、細孔内に形成したアパタイト核が SBF 中で 1 日以内にアパタイト形成を誘起したことが示唆された。また、形成したアパタイト層は基材に対し高い接着強度を示した。

### 1. はじめに

#### 1.1 背景

高齢社会を迎えた今日、骨折、骨粗鬆症、骨腫瘍などの骨疾患により生じた骨欠損部を補填する目的で、安全性や骨結合性を兼ね備えた骨補填材料の需要が、整形外科を中心とした領域で益々高まっている。現在、最も一般的な骨欠損の治療法は自家骨移植であるが、自家骨を患者から採取できる分量が著しく制限されるだけでなく、患者の正常な部位を傷つけることによる患者への苦痛や負担が懸念される。このような理由から、人工の骨補填材料を使用するケースが多くなっている。例えば  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$  系のガラス Bioglass<sup>®</sup>[1]、焼結水酸アパタイト

( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) [2]、アパタイトとウォラストナイトの結晶化ガラス Cerabone<sup>®</sup> A/W [3]等は、骨と直接結合する性質 (生体活性) を持つセラミックスとして既に人工脊椎骨、椎間板、腸骨スパーサーなどのインプラント材料として実用化されている。これらの生体活性セラミックスを骨欠損部に埋入すると、材料表面に自発的に生体由来のアパタイト層を形成し、この層を介して骨と直接結合することができる。生体内におけるこのアパタイト形成反応は、ヒトの血漿とほぼ等しい無機イオン濃度を有する擬似体液 (SBF) に材料を浸漬することで再現することができる [4]。つまり、SBF 中で表面にアパタイトを自発的に形成する大部分の材料は、生体内においてもアパ

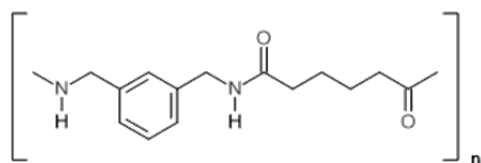
イト層を形成し、骨と結合することが予測され、実際に多くの研究で実証されている [4]。

上記の生体活性セラミックスは優れた臨床成績を治め、既に実用化されているが、骨と結合するこのような材料はごく少数である上、セラミックス材料は単独では破壊靱性が低いため、物性の観点から使用可能部位に限界がある。

また、大腿骨や脛骨など、大荷重のかかる部位には、ステンレス鋼、チタン、チタン合金、コバルトクロム合金などの金属材料が主に使用されている。しかし、金属材料は一般に骨より高い弾性率を持つため、周囲の骨に荷重が加わるのを妨げる結果、長期的に骨の吸収を招く恐れがあり、骨の長期固定性の点での課題がある [5]。そのため、骨組織と同等の物性をもった骨修復材料の開発が望まれる。

## 1.2 本研究の目的

ポリアミド MXD6 は、メタキシリレンジアミン (MXDA) とアジピン酸から得られる結晶性の熱可塑性ポリマーであり、式 1 に示す構造を有する。機械的強度や弾性率が高く、吸水性が低いなどの特長を有している。ポリアミド MXD6 樹脂に 50 wt % のガラス繊維を添加したガラス繊維強化ポリアミド (GFR-PA) は比強度が最も高く、弾性率が約 20 GPa と皮質骨とほぼ等しい弾性率となっている。このことから GFR-PA は生体金属材料に代わる次世代の骨修復材料として期待できる。



式 1 ポリアミド MXD6 の構造

ヒトの血漿とほぼ等しい無機イオン濃度を有する擬似体液 (SBF) の pH を上昇させると、均一核形成によりアモルファスリン酸カルシウムの微粒子が析出する。八尾らはこの微粒子が高活性にアパタイト形成を誘起することを見出し、この微粒子を「アパタイト核」と名付けた [6]。報告者らはこの手法を応用し、SBF にトリス緩衝剤を溶解して pH を上昇させ、細孔を有した材料を浸漬し温度を上昇させることで、基材の細孔内にアパタイト核が形成し、基材に高いアパタイト形成能を付与する手法を開発した [7]。

本研究では、硫酸処理により細孔を形成した GFR-PA に上記の手法を適用することで、皮質骨と同等の弾性率を有する GFR-PA に高い生体活性を付与することを試みた。

## 2. 実験方法

### 2.1 試料の作成

GFR-PA 基材表面に微細孔を形成するために、室温にて基材の濃硫酸処理を行った。試料に親水性を付与するために、プラズマ発生装置を用い、酸素雰囲気中にて 200 W のグロー放電処理を 2 分間行った。

表 1 に示すイオン組成の SBF にトリスヒドロキシメチルアミノメタンを加え、25.0 °C で pH を 8.4 に調整した。グロー放電処理後の試料をこの SBF に浸漬し、70 °C の恒温槽に 24 時間保持した。恒温槽から取り出した後、蒸留水中で洗浄し、室温で乾燥させた。

### 2.2 生体活性試験

試験片の生体活性を評価するために、ISO 規格 [8] に従い、36.5 °C、pH 7.40 に調整した SBF に生体活性 GFR-PA を浸漬した。SBF 浸漬後の試料を蒸留水ですすぎ、室温にて乾燥させた。得られた試料の表面形態の変化を走査型

表 1 SBF 及びヒトの血漿の無機イオン濃度

イオン	無機イオン濃度 / mM	
	SBF	ヒトの血漿
Na <sup>+</sup>	142.0	142.0
K <sup>+</sup>	5.0	5.0
Mg <sup>2+</sup>	2.5	2.5
Ca <sup>2+</sup>	1.5	1.5
Cl <sup>-</sup>	147.8	103.0
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	4.2	27.0
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1.0	1.0
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.5	0.5

電子顕微鏡 (SEM) 観察、エネルギー分散型 X 線 (EDX) 分析、薄膜 X 線回折 (TF-XRD) 測定にて評価した。

### 2.3 生体活性 GFR-PA 表面に形成されたアパタイト層の接着強度評価

ASTM 規格に準拠した方法 [9,10]により、SBF 中で生体活性 GFR-PA 表面に形成したアパタイト層の接着強度を測定した。

生体活性 GFR-PA を複数枚作製し、SBF に 14 日間浸漬した。その後、試験片の両面をエポキシ系接着剤 Araldite<sup>®</sup>で 10 mm 角のステンレス治具に接着させた。その後、万能材料試験機を用いて、室温、大気雰囲気中で引張試験を行った。形成されたアパタイト層の接着強度は、クロスヘッドスピード 1 mm min<sup>-1</sup>で上下に応力を印加したときの最大点応力とした。

### 3. 実験結果

図 1 に未処理の GFR-PA 表面の SEM 写真を示す。未処理の試料表面に細孔は無く、平滑な面が観察された。EDX 分析では、C と O に加えて、Ca、Si、Al のピークが検出された。

これはガラス繊維に由来するものだと考えられる。

図 2 に硫酸処理後の GFR-PA 表面の SEM 写真を示す。硫酸処理によって網目状の微細孔が形成されている様子が観察された。EDX 分析の結果は未処理の GFR-PA の結果から変化はなかった。

図 3 に本研究で作製した生体活性 GFR-PA の表面の SEM 写真を示す。表面全体にアパタイト核に特有の球状粒子が観察された。EDX 分析では GFR-PA 由来のピークに加えて、アパタイト核の成分である P のピークが検出された。

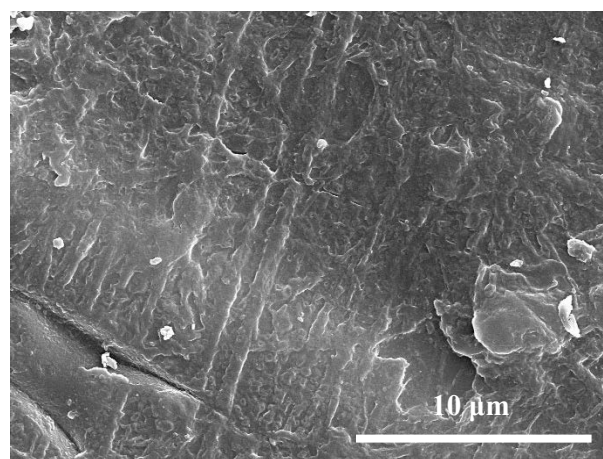


図 1 未処理の GFR-PA 表面の SEM 写真

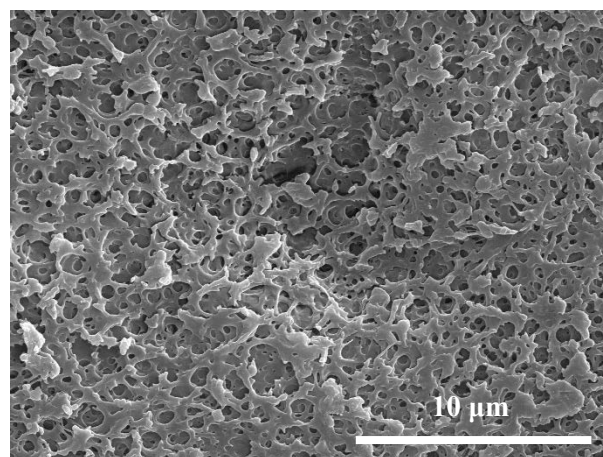


図 2 硫酸処理後の GFR-PA 表面の SEM 写真



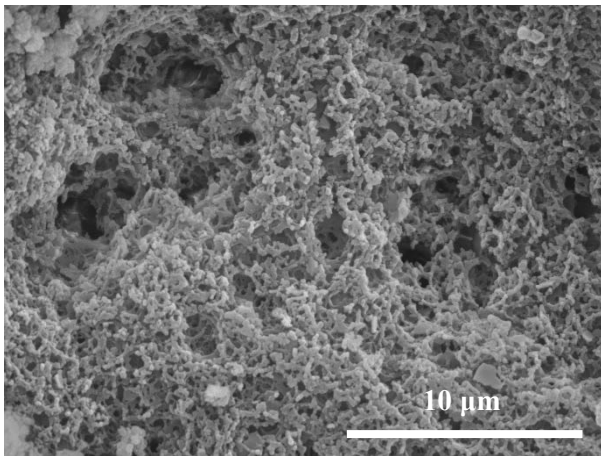


図3 生体活性 GFR-PA 表面の SEM 写真

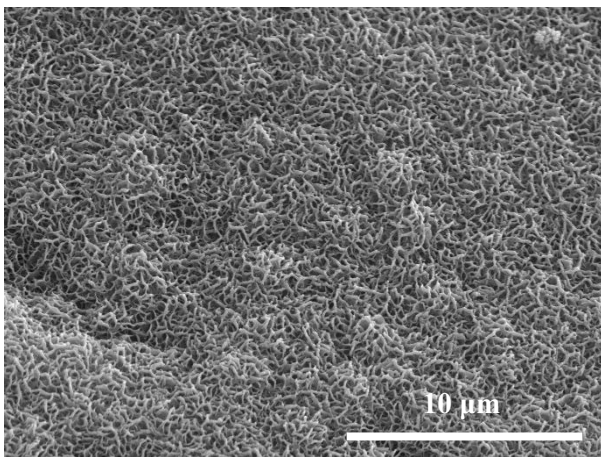


図4 SBF 浸漬 1 日後の生体活性 GFR-PA 表面の SEM 写真

図 4 に SBF 浸漬 1 日後における生体活性 GFR-PA 表面の SEM 写真を示す。試料表面全体が骨類似アパタイトに特有の鱗片状結晶で被覆されていた。EDX 分析では、アパタイトの主成分である P と Ca のピークが強く検出され、GFR-PA に由来する C のピークの強度が小さくなっていった。また、SBF 浸漬後 7 日の試料では骨類似アパタイトの鱗片状結晶がさらに成長していた。

図 5 に SBF 浸漬前後における生体活性 GFR-PA 表面の TF-XRD パターンを示す。硫酸処理、グロー放電処理、アパタイト核処理に

よる回折ピークの変化はなく、SBF 浸漬後 1 日でアパタイトの回折ピークが検出された。またアパタイトの回折ピークは、SBF 浸漬期間が 7 日の試料においてピーク強度と強度とピーク数が増大した。この結果から、細孔内に形成されたアパタイト核が SBF 中でアパタイト形成を 1 日以内に誘起し、高い生体活性を発現したことがわかった。

形成されたアパタイト層と GFR-PA 基材間の接着強度は、 $5.0 \pm 0.8$  MPa (試験片数 5) であった。細孔内に形成したアパタイトと GFR-PA 基材との間に生じるインターロッキング効果により、高い接着強度を示した。この値は、既に人工耳小骨として実用化されているポリエチレン-アパタイト系複合材料の HAPEX™ における接着強度は  $2.8 \pm 0.5$  MPa と報告されており [10]、臨床的に十分に高い値といえる。

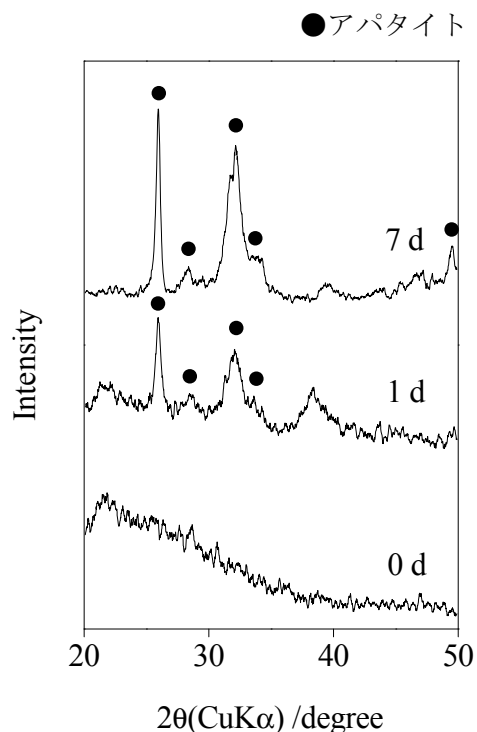


図5 SBF 浸漬前後における生体活性 GFR-PA 表面の TF-XRD パターン

#### 4. まとめ

本研究では、硫酸処理により GFR-PA 表面に網目状の微細孔を形成し、グロー放電処理により GFR-PA に親水性を付与し、さらにアパタイト核を形成することで、皮質骨と同等の弾性率を有する GFR-PA に生体活性を付与した。作製した生体活性 GFR-PA は、SBF 中で1日以内にアパタイト形成を誘起し、高い生体活性を示した。さらに、形成されたアパタイト層は基材に対し高い接着強度を示した。

本材料は、皮質骨と同等の弾性率と高い生体活性を併せ持つ次世代の骨修復材料として、患者への負担を最大限軽減することが可能な低侵襲性インプラント材料としてのさらなる発展が期待される。

#### 謝辞

本研究は、公益財団法人京都技術科学センターのご支援により遂行いたしました。深く感謝申し上げます。

#### 参考文献

- [1] L.L. Hench, R.J. Splinter, W.C. Allen, T.K. Greenlee Jr., *J. Biomed. Mater. Res. Symp.* **2** (1972) 117-141.
- [2] M. Jarcho, J.L. Kay, R.H. Gumaer, H.P. Drobeck, *J. Bioeng.* **1** (1977) 79-92.
- [3] T. Kokubo, M. Shigematsu, Y. Nagashima, M. Tashiro, T. Yamamuro, S. Higashi, *Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ.*, **60** (1982) 260-268.

[4] T. Kokubo, H. Takadama, *Biomaterials* **27** (2006) 2907-2915.

[5] M. Niinomi, *Materia Japan* **52** (2013) 219-228.

[6] T. Yao, M. Hibino, S. Yamaguchi, H. Okada, *U.S. Patent* (2012) 8178066, *Japanese Patent* (2013) 5261712.

[7] T. Yao, M. Hibino, T. Yabutsuka, *U.S. Patent* (2013) 8512732, *Japanese Patent* (2013) 5252399.

[8] ISO 23317, Implants for surgery, International Organization for Standardization (2014).

[9] W.R. Lacefield, in: L.L. Hench, J. Wilson (Eds.), *An Introduction to Bioceramics*, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore, 1993, pp. 223-238.

[10] J.A. Juhasz, S.M. Best, M. Kawashita, N. Miyata, T. Kokubo, T. Nakamura, W. Bonfield, *J. Biomed. Mater. Res. A* **67** (2003) 952-959.

#### 成果発表

[1] Takeshi Yabutsuka, Keito Fukushima, Yasutaka Kidokoro, Takahiko Matsunaga, Shigeomi Takai, Takeshi Yao, *28th Annual Meeting and Symposium of International Society for Ceramics in Medicine* (2016) P4.2.

[2] Takeshi Yabutsuka, Keito Fukushima, Shigeomi Takai, Takeshi Yao, *Bioceramics* **28** (2017) 241-245.

[3] 藪塚武史、福島啓斗、昼田智子、高井茂臣、八尾 健、日本セラミックス協会 2017 年年会 (2017) 1G17.