The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	4. 有機ー無機ハイブリッド材料
Author(s)	松崎, 典弥; 明石, 満
Citation	
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/50286
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

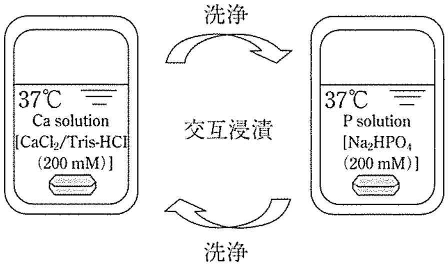
https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

4. 有機−無機ハイブリッド材料

アブストラクト

有機－無機ハイブリッド材料は単独の材料ではなしえなかった高機能性を達成できるため，注目を集めている複合材料である。筆者らの開発した交互浸漬法は，有機材料と無機結晶をナノレベルで均一にハイブリッド化することができる手法であり，さまざまな有機－無機ハイブリッド材料が調製可能である。



交互浸漬法

◉キーワード

ハイドロキシアパタイト(HAp)，ティッシュエンジニアリング，交互浸漬法，炭酸カルシウム，アガロース，骨再生，白金コイル，サイトカイン

4.1 有機－無機ハイブリッド材料の重要性

異種または同種材料のハイブリッド化は，単独の材料だけでは得られない高機能性を達成することが可能である。また工業的にも有用な手法であるため，近年注目を集めている分野の一つである。とくに有機材料と無機材料のハイブリッド化は，無機材料の優れた力学的特性と有機材料の化学的特性を併せもった機能性材料が得られるため，新規材料開発の有用な手法として期待されている。

有機－無機ハイブリッド材料の代表的な例として，われわれの生体内に存在する骨や歯または貝殻などがあげられる。これらはバイオミネラリゼーションにより形成され，その重量割合は無機結晶が70～80％を占めている。ところが興味深いことに，無機結晶の核形成や成長，結晶形態および配向は，ごくわずかに存在する有機成分により制御されている。例えば生体骨では，無機結晶のハイドロキシアパタイト(HAp)が重量比で約70％を占めている。このHApは有機高分子であるI型コラーゲン繊維の間に組み込まれており，結晶の大きさ(20～40 nm)や結晶配向がコラーゲン繊維により決定されている。その結果，生体骨は市販のセラミックスと比較して，低い弾性率(約30 GPa)と高い破壊靭性(約6.0 MPa $m^{1/2}$)を併せもつ高機能性を達成している。ここでI型コラーゲン繊維について説明すると，コラーゲンは動物の体内にもっとも多く含まれるタンパク質で，19種類のコラーゲンが見いだされている。骨を構成しているコラーゲンはI型のコラーゲンであり，骨成分全体の23％を占めている。

近年，再生医療(病気や事故などによって失われた体の細胞や組織，器官の再生や機能の回復を目的とした医療法)やティッシュエンジニアリングの分野において，有機高分子と無機結晶によるハイブリッド材料は，骨や軟骨など組織再生材料として期待されている。例えばポリ乳酸(とうもろこしのデンプンを発酵して得られる乳酸を重合したもので，循環型自然資源である生分解性高分子)やコラーゲンとHApの複合体[1),2)]，ε-カプロラクトンとシリカ[3)]，シルク繊維とHAp複合体[4)]などが報告されている。しかしながら，有機－無機ハイブリッド材料の調製は，有機高分子とHApなどの無機結晶をただ混ぜればよいというわけではない。単純に混合したようなマクロレベルの複合化では，有機層と無機層の間で層分離が起こりやすく，長期間のインプラントや強い力学的ストレスに耐えられない場合が多い。この問題を解決するためには，有機高分子と無機結晶をナノレベルで均一にハイブリッドさせることが，非常に重要である。均一な複合化を行う手法として，擬似体液(ヒトの血漿に含まれている無機イオンと同じ濃度に調製した水溶液)中に長期間浸漬する生体模倣反応[5)]や化学結合を用いる手法[6)]，ゾルーゲル法[7)]などが報告されている。

筆者らは有機材料と無機結晶をナノレベルで簡便にハイブリッド化する手法として「交互浸漬法」を提唱し，さまざまな材料を用いて検討を重ねてきた[8)~11)]。この交互浸漬法はどのような形態の三次元材料にでも応用することが可能である。また生体模倣反応と比較して，およそ100倍の早さ

で有機－無機ハイブリッド材料を形成することが可能である。この項では筆者らの交互浸漬法による，有機－無機ハイブリッド材料の調製とその応用について紹介する。

4.2　交互浸漬法による有機－無機ハイブリッド材料の調製方法とその特徴

交互浸漬法とは濃度を調整したカルシウムイオン溶液とリン酸イオン溶液に，有機材料を交互に浸漬する手法である。カルシウムイオン溶液－リン酸イオン溶液への浸漬を1サイクルとし，サイクル数を重ねるだけで無機結晶の形成量を制御することが可能である。

図1は交互浸漬法の模式図と，カルシウムイオン溶液($CaCl_2$/Tris-HCl, 200 mM)－リン酸イオン溶液(Na_2HPO_4, 200 mM)へ所定回数交互浸漬を繰り返したポリビニルアルコールゲル(PVAゲル)の写真である。サイクル数の増加にともないゲルが白くなる様子が分かる。これはサイクル数の増加とともに形成する，リン酸カルシウム塩の量が増加したためと考えられる。PVAゲルに形成したリン酸カルシウム塩の結晶形態は，X線回折測定により同定した。26°および32°付近にHApに特徴的なピークが観察されたことから，形成されたリン酸カルシウム塩はHApであることが確認された(**図2**)。また非常に興味深いことに，形成されたHApの結晶性は低く，炭酸イオンを含んでいることから，生体骨のHApと非常に近いことが示唆された[12]。次に走査型電子顕微鏡(SEM)観察により，交互浸漬法により調製した高分子－HApハイブリッド材料が，ナノレベルで均一に複合化されているかを検討した。アガロースゲルと，6サイクル交互浸漬を繰り返したアガロース－HApハイブリッド材料のSEM写真を図2に示した。アガロース－HApハイブリッド材料には粒径200～300 nmのHAp粒子が，均一に形成されていることが分かる。このように交互浸漬法により調製された高分子－HApハイブ

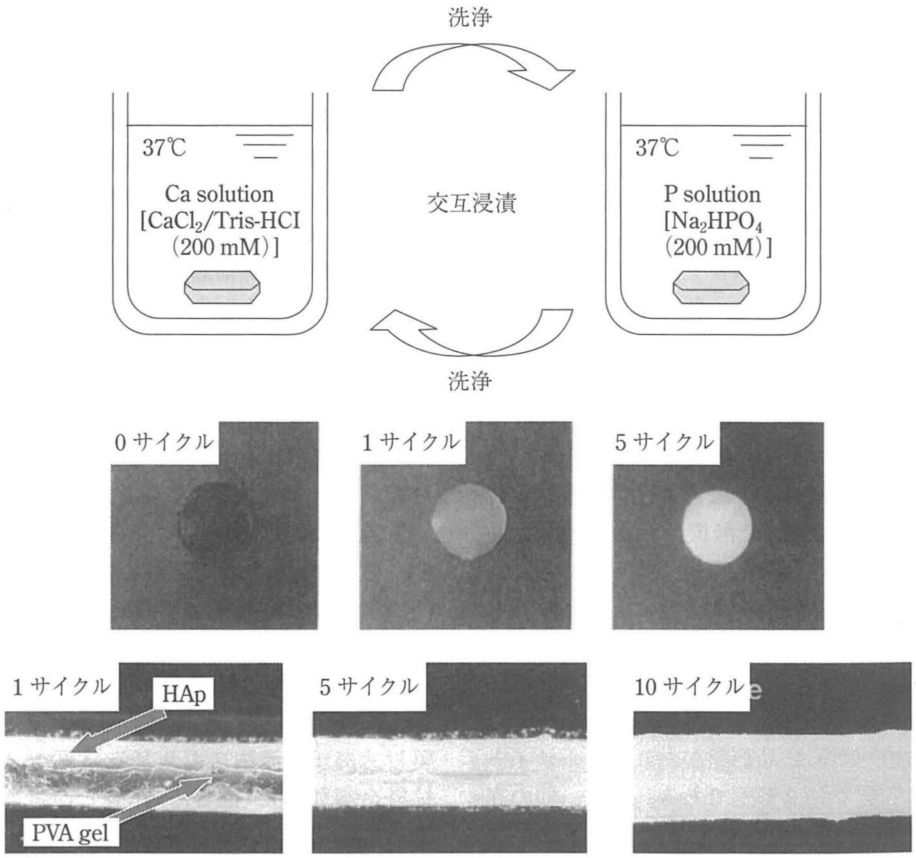
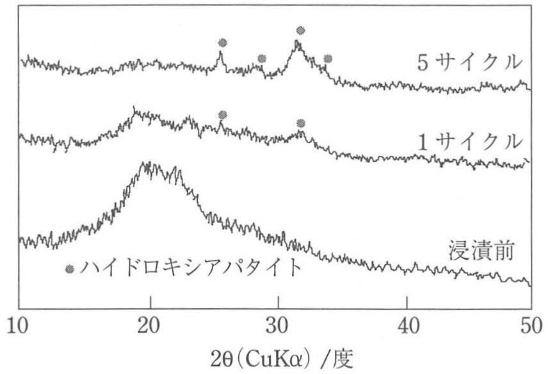


図1　交互浸漬法と所定回数交互浸漬を行ったPVAハイドロゲルの切断面



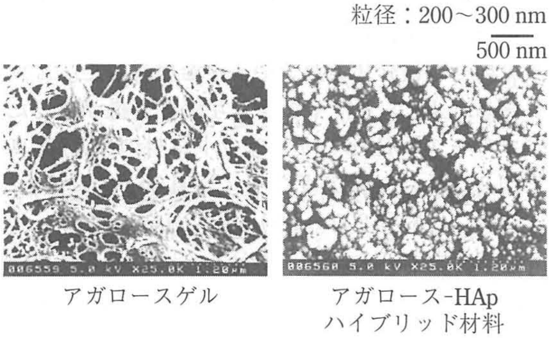


図2 PVAゲル－HApのX線回折パターンとアガロース-HApのSEM写真

リッド材料は，ナノレベルで均一に複合化されていることが示唆された。

さらに異なるイオン種においても，有機－無機ハイブリッド材料が調製可能であるか検討を試みた。ジメチルアミノプロピルアクリルアミドゲル(DMAPAAゲル)について，カルシウムイオン溶液($CaCl_2$/Tris-HCl, 200 mM)と炭酸ナトリウムイオン溶液(Na_2CO_3, 200 mM)を用いて交互浸漬を行った。HAp結晶の場合と同様に，交互浸漬回数の増加にともない，ハイドロゲルが白くなることが確認された。X線回折測定の結果，DMAPAAゲルに形成した無機結晶は，炭酸カルシウムの形態の一つであるカルサイトであることが確認された。またSEM観察においてもカルサイト特有の立方晶が確認された。ここで，カルサイトは炭酸カルシウムの結晶形態の一つである。炭酸カルシウムには，カルサイト，アラゴナイト，バテライトの三つの結晶形態があり，カルサイトはもっとも安定な結晶形態である。一方，他の高分子ゲルを用いて同様の交互浸漬を行ったところ，アクリルアミドゲル(AAmゲル)の場合は，DMAPAAゲルと同じくカルサイトの形成が確認された。だが，アクリル酸ゲル(AAcゲル)を用いた場合，カルサイトではなく，炭酸カルシウムの他の形態であるバテライトの形成が確認された。これは種々の高分子ゲルの官能基違いによる誘電率や水和構造の違いが，炭酸カルシウムの結晶形成に影響しているためであると考えられる。

以上の結果より，交互浸漬法を用いることで，HAp以外のイオン種を用いても，有機－無機ハイブリッド材料を調製できることが確認された。また有機高分子の種類を変えることで，無機結晶の結晶形態も制御可能であった。

4.3 交互浸漬法による有機－無機ハイブリッド材料の具体的な応用展開

4.3.1 アガロースゲル－HApハイブリッド材料の歯科材料への応用

近年,歯周病患者数は年々増加の傾向をたどり，厚生労働省の平成11年度の調査では，全国で46.37％の人がう歯保有者であることが報告されている。歯と歯肉の間の歯根膜や歯肉下の歯槽骨は自己再生能力がなく，歯周病による炎症で重度の損傷を受けると，人工のインプラント材料で充填，補強する必要がある。現在，歯科分野においてインプラント材料として用いられているのは，歯や骨の主成分であるHApの多孔質体がほとんどである。しかしながら，粒子径が大きく密に充填できないことや，多孔質部分の空孔が死腔となり，食べ物のかすが貯留することで炎症が起こりやすいことに加え，止血性に乏しいなどの諸問題を抱えている。そこで筆者らは交互浸漬法を用い，これらの問題点を解決する有機－無機ハイブリッド材料の調製を試みた。交互浸漬法により形成された無機結晶は，ナノオーダーで密に形成されるため，高充填率を達成できると期待される。

筆者らはアガロースゲル－HApハイブリッド材料を用いることを考案した[13]。アガロースは海藻に含まれている糖類で，寒天の主成分であり，高い生体適合性を有していることが知られている。また成形性，操作性にも優れた材料が期待できる。直径1 cmの円柱状のアガロースゲルを作製し，交互浸漬法によりHApとのハイブリッド材料を調製した(**図3**)。作製したアガロースゲル－HApハイブリッドは柔軟性にも優れており，注射器に充填して注入可能であった。このアガロース－HApの止血効果，充填性，骨再生能を検

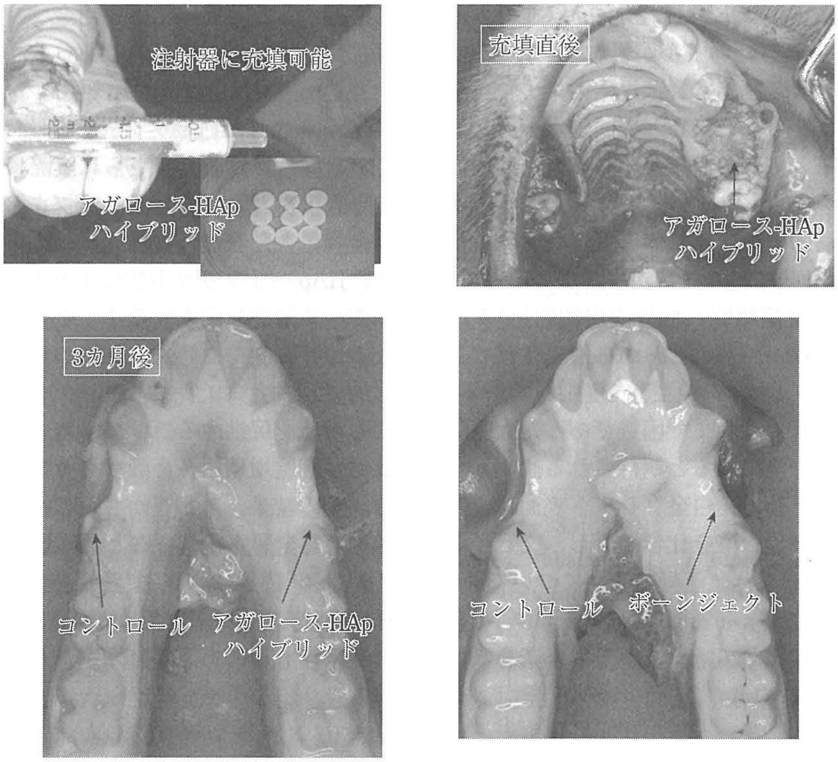


図3　アガロース-HApハイブリッドの充填直後および3ヵ月後の肉眼所見（口絵参照）

討するため，サルの歯を抜歯し，その抜歯孔に3カ月間充填後の肉眼所見と組織切片を評価した。抜歯孔に何も充填しない場合（コントロール）は，抜歯後約5分で止血した。一般的なインプラント材料であるボーンジェクト（高研㈱）を充填した場合，自然止血よりも遅く約10分後に止血が認められた。しかしながら，アガロース－HApハイブリッドを充填した場合，充填開始時から止血が始まり，約2分後には完全に止血した。充填から3カ月後の下顎の肉眼所見を図3に示した。コントロール（未充填）やボーンジェクトを充填した場合，骨組織の再生はあまり認められなかった。だが，アガロース－HApハイブリッドを充填した抜歯孔には，骨再生が顕著に認められた。3カ月後の組織切片所見の結果，ボーンジェクトを充填した場合は，遊離した顆粒状のボーンジェクトが多く観察され，新生骨も認められなかった。つまりボーンジェクトは生体内に吸収されず残存し，骨再生能力も低いことが分かる。一方，アガロース－HApハイブリッドを充填した抜歯孔では，新生骨が緻密に形成されており，アガロース－HApハイブリッドも生体内に吸収され，残存は確認されなかった。これはアガロースが生体適合性に優れていることや，交互浸漬法により調製されたHApがナノレベルで緻密に均一に，アガロースゲル内に形成されていることに起因すると考えられる。

以上の結果より，アガロース－HApハイブリッド材料は成形性や止血性，骨再生能力に優れているだけでなく，良好な生体内吸収性を有していることが確認された。

4.3.2　白金－HApハイブリッド材料の脳神経外科材料への応用

筆者らは交互浸漬法を用いた，白金コイル－HApハイブリッド材料の脳神経外科材料への応用についても検討した。

クモ膜下出血の原因である脳動脈瘤（脳の動脈の一部が膨れてできたコブ（瘤）を指す。血管の分岐点に形成する場合が多く，動脈瘤の破裂がクモ膜下出血の原因である）破裂に対する治療法として，大腿動脈から白金のコイルを挿入して，瘤に埋入する**白金コイル**埋入法がある。この手法は直接開頭する必要がないため負担が少なく，年々増

加の傾向にある。しかし，瘤径4 cm以上の大動脈瘤の場合，埋入したコイルが外れる危険性や，コイルが血流により圧縮され，再手術により再び埋入しなければならない，などの問題点を有している。そこで筆者らは，白金コイルを血液凝固活性を有しているHApとハイブリッド化させることで，大動脈瘤内での血液凝固を促進させる手法を考案した。大動脈瘤内で血液が凝固することで，繊維芽細胞や平滑筋細胞，血管内皮細胞（ヒトの血管は内膜，中膜，外膜の3層から構成されており，内膜を覆っているのが血管内皮細胞である）の浸入が促進され，これまで困難であった大動脈瘤の完全閉塞が可能になると期待される。

まず基礎実験として，白金プレート表面にβ-メルカプトプロピオン酸を化学結合し，交互浸漬法によるHApの形成と血液凝固活性について評価した[14]。白金プレート表面にβ-メルカプトプロピオン酸を固定化して，カルボキシル基を表面に濃縮することで，HApを白金プレート表面に強固に形成することが可能であった。また通常の白金プレートでは血液凝固性を示さないのに対して，HApを形成した白金プレートでは，非常に高い血液凝固性を示した。さらに実際に白金コイル－HApハイブリッドを形成し，ブタの大動脈に形成した擬似大動脈瘤への埋入試験を行った。その結果，HApハイブリッド化により大動脈瘤の閉塞率が，飛躍的に向上することを見いだした[15]。また繊維芽細胞や血管内皮細胞の侵入を促進させる目的で，白金コイル－HApハイブリッド表面に細胞増殖を促進する，**サイトカイン**である塩基性繊維芽細胞増殖因子を吸着させて埋入試験を行った。その結果，閉塞率がさらに向上し，およそ2週間で完全閉塞されることが確認された（**図4**）[16]。

以上の結果より，交互浸漬法による白金－HApハイブリッド材料が，脳神経外科材料として非常に有用であることが示された。

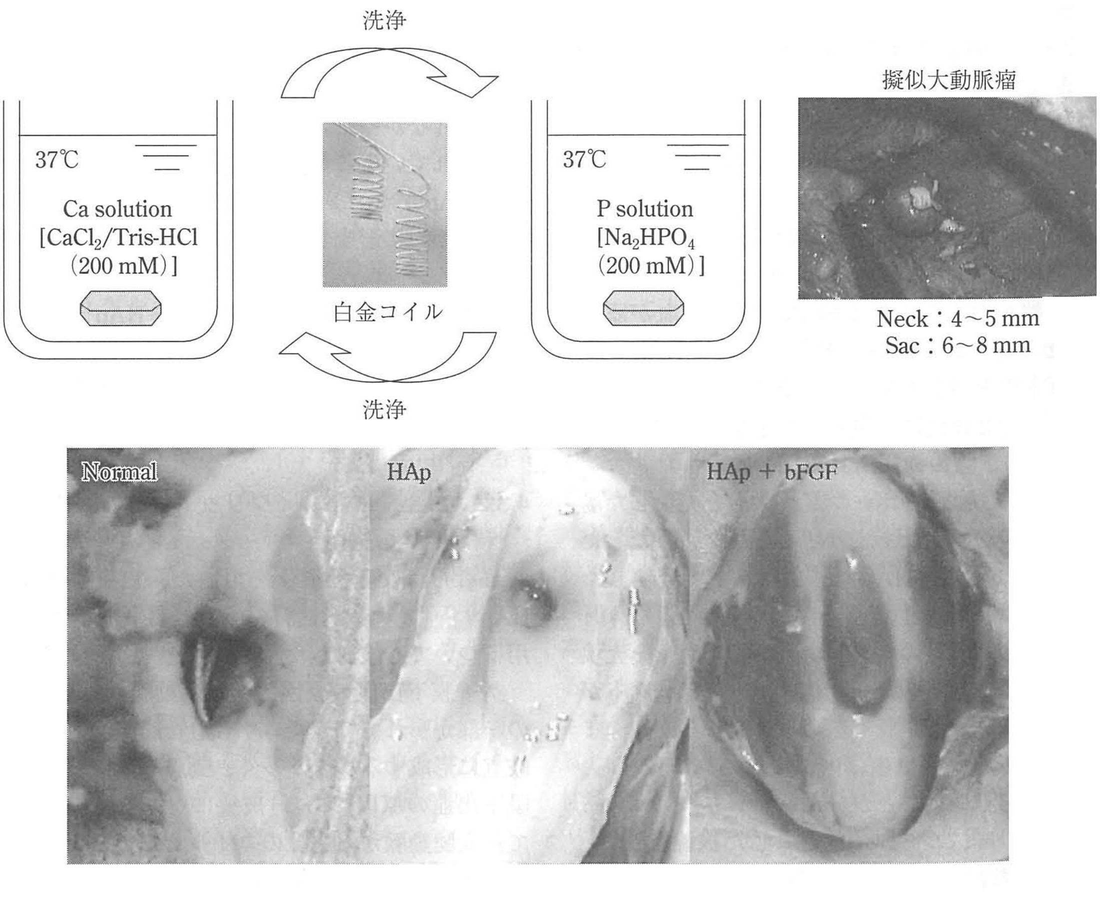


図4　白金コイル・HApハイブリッドによる大動脈瘤閉塞試験（2週間後）

4.4　今後の課題

有機－無機ハイブリッド材料の最近の研究として，筆者らの交互浸漬法を紹介してきた。交互浸漬法はどのような形態の三次元材料に対しても，簡便にナノレベルでハイブリッド材料を調製することが可能であり，工業的にも非常に有用な手法である。現在筆者らは，独立行政法人産業技術総合研究所セルエンジニアリング研究部門，大串始センター長らと共同で，交互浸漬法により調製した有機－無機ハイブリッド材料の，骨再生材料としての実用化を目指して研究に取り組んでいる。しかしながら，生体中の有機－無機ハイブリッド材料は，有機物質と無機物質のより巧みな複合化により，結晶形態や粒径，配向性が制御され，高機能性を達成している。筆者らも交互浸漬法をさらに改良し，有機材料が原子レベル（オングストロームレベル）で無機材料の形態・性状を制御した，高機能性の有機－無機ハイブリッド材料の開発に取り組んでいきたいと考えている。ちなみにオングストローム（Å）は10のマイナス10乗（1Å＝10^{-10}）を指す。原子間距離はオングストロームレベルである（例：炭素原子間距離＝1.5Åm）。

【参考・引用文献】

1）Peter X. Ma, et al.：*J. Biomed. Mater. Res.* **54**, 284-293 (2001).
2）D. Lickorish, et al.：*J. Biomed. Mater. Res.* **68A**, 19-27 (2004).
3）S-H. Rhee：*Biomaterials*, **25**, 1167-1175 (2004).
4）A. Takeuchi, et al.：*J. Biomed. Mater. Res.* **65A**, 283-289 (2003).
5）T. Kokubo, et al.：*J. Biomed. Mater. Res.* **24**, 721-734 (1990).
6）T. Furuzono, et al.：*J. Biomed. Mater. Res.* **56**, 9-16 (2001).
7）S-H. Rhee：*Biomaterials*, **23**, 4915-4921 (2002).
8）T. Taguchi, et al.：*Chem. Lett.* **8**, 711-712 (1999).
9）T. Taguchi, et al.：*J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **10**, 331-339 (1999).
10）T. Taguchi, et al.：*J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **10**, 795-804 (1999).
11）D. Ogomi, et al.：*J. Biomed. Mater. Res.* **67A**, 1360-1366 (2003).
12）T. Taguchi, et al.：*Koubunshi Ronbunshu*, **57**, 324-335 (2000).
13）M. Tabata, et al.：*J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* **67B**, 680-688 (2003).
14）M. Matsusaki, et al.：*J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* **66B**, 429-438 (2003).
15）T. Shimozuru, et al.：*Inter. Neuroradiology*, **7**, 105-110 (2001).
16）T. Shimozuru, et al.：*Inter. Neuroradiology*, **9**, 29-33 (2003).

【関連する Web site】

1）独立行政法人産業技術総合研究所セルエンジニアリング研究部門　http://unit.aist.go.jp/terc/index_jf.htm

＜松﨑　典弥／明石　　満＞