

200400524A

厚生労働科学研究費補助金

循環器疾患等総合研究事業

内シャント狭窄治療を目的としたナノセラミックス複合化
ステントグラフトの開発

平成16年度 総括研究報告書

主任研究者 古菌 勉

平成17年(2005年)4月

別添1

厚生労働科学研究費補助金
循環器疾患等総合研究事業

内シャント狭窄治療を目的としたナノセラミックス複合化
ステントグラフトの開発

平成16年度 総括研究報告書

主任研究者 古菌 勉

平成17(2005)年 4月

別添2

目 次

I. 総括研究報告	
内シャント狭窄治療を目的としたナノセラミックス複合化 ステントグラフトの開発	1
古菌 勉	
II. 分担研究報告	
1. 材料合成・複合化： 複合化のための高分散性ナノアパタイト創出	7
古菌 勉	
2. システム設計： 無機・有機複合体の設計及び合成	19
宮武 邦夫	
3. ステントグラフト設計： コバルトクロム及びニッケルチタン製ステントの設計・加工	27
稲永 隆	
4. 細胞培養評価： ナノアパタイト複合化グラフトの細胞培養評価	43
田中 良一	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	49
IV. 研究成果の刊行物・別刷	51

総括研究報告書

研究課題 内シャント狭窄治療を目的としたナノセラミックス複合化ステントグラフトの開発
 課題番号 H16-循環器（生習）-015

主任研究者 古菌 勉（国立循環器病センター研究所生体工学部・室長）

研究要旨

シャント不全の治療に用いるステントグラフトにナノアパタイトセラミックス複合化法を適用することで、自己血管内シャントを長期維持可能とする新規なナノセラミックス複合化ステントグラフトを開発する。新規ステントグラフトの臨床応用により、再狭窄防止システムの構築の実現、および長期透析患者の安定した血液透析の実現と QOL の向上が期待できる。本年度の検討では、高分散性ナノアパタイト微粒子製造法の創出、新規ナノアパタイト複合化グラフトの創出、およびステント設計・加工・試作品製造を行った。

A. 研究組織

研究分担者	所属施設・役職
宮武 邦夫	国立循環器病センター・副院長
稲永 隆	日本海員掖済会門司病院内科腎センター・内科部長
田中 良一	国立循環器病センター放射線診療部・医員

B. 研究目的

日本透析医学会による 2001 年末による統計調査によると、我が国の透析人口は 219,183 人であり、1983 年から増加の一途をたどっている。透析導入時のブラッドアクセスと生命予後との関係から、長期生存のためには自己血管内シャントの保持が非常に重要であることが分かるが、再狭窄・再閉塞を来す症例が多い。

当該研究課題は、内シャント不全の治療に用

いるステントグラフト表面に、生体活性の高いナノスケールのハイドロキシアパタイトセラミックスを強固に結合させた新規なナノセラミックス（アパタイト）複合化ステントグラフトの開発を目的とする。その効能はステントグラフト内外にコートされたナノアパタイトによる短期間での血管内皮細胞の被覆およびステント内側に内膜増殖抑制物質を担持させた再狭窄防止システムを主とする。新規ステントグラフトの臨床応用により、再狭窄防止システムの構築の実現、および長期透析患者の安定した血液透析の実現と QOL の向上が期待できる。

本年度の検討では、媒体中で高い分散性を示すナノアパタイトの製造技術、およびナノアパタイト複合化グラフト（合成繊維製人工血管）の製造法の確立を目指し、さらに、研究計画の前倒しとしてステント設計・加工・試作品製造を行った。

C. 研究方法および研究結果

研究成果（一）材料合成・複合化：複合化のための高分散性ナノアパタイト創出（古菌）

ナノスケールのアパタイト微粒子は製造過程において凝集した二次粒子化することが知られており、分散媒体中で単分散することは困難とされてきた。本研究において、新規に溶融防止剤を開発し、これを製造工程に添加することにより、世界で初めて分散媒体中で単分散するナノアパタイト微粒子の製造技術を確立した（Nature Materials 投稿中、特許国内優先権出張準備中及び PCT 出願準備中）。ここで、ナノセラミックス微粒子が分散媒体（エタノール）中で一次粒子（粒径~50nm）にて単分散していることが動的光散乱法(DLS)で証明されており、アパタイト結晶相への影響が無いことが確認されている。現在、大手セラミックス製造メーカーへ当該新技術のライセンス契約に向けて調整中である。

研究成果（二）システム設計：無機・有機複合体の設計及び合成（宮武）

グラフトの血管内での早期内皮細胞被覆を目的として、ナノアパタイトコーティングを行った。ここで、市販のグラフト（合成繊維製人工血管）には組織親和性を高めるためコラーゲン/ゼラチンがコートされているが、近年、牛海綿状脳症（BSE）の発生により生物由来タンパク質の使用が懸念されていることから人工物のみでの新規グラフト創出は、生物学的安全性確保の上で大きな意味がある。言い換えれば生物学的安全性に優れた新規グラフト（人工血管）として高い価値がある。グラフト基材（ポリエステル）へのアルコキシシリル基含有ポリマーの最適導入条件を確立した後、研究成果（一）にて製造

した高分散性ナノアパタイト微粒子を共有結合を介して強固に結合コーティングしたナノアパタイト複合化グラフトを創出した。ナノアパタイトはポリエステル繊維上にほぼ単分散で結合していることが走査型電子顕微鏡観察で確認された。（J. Mater. Sci. Mater. Med. 投稿中、特許申請準備中）

研究成果（三）ステントグラフト設計：コバルトクロム及びニッケルチタン製ステントの設計・加工（稲永）

第二年目に計画されているステント金属素材へのナノアパタイトコーティング技術を早期に実現するために、ステント設計・加工の検討を前倒しで行っている。（株）日本ステントテクノロジーと委託契約を行い、同社独自のステント形状設計ソフトに基づき内シャントステントに最適な物性を探索している。一部試作品が供給され表面加工の初期検討を行っている。

研究成果（四）細胞培養評価：ナノアパタイト複合化グラフトの細胞培養評価（田中）

上記研究成果（二）で得られた高分散性ナノアパタイトを複合化したグラフト基材の毒性試験および細胞接着性試験を *in vitro* で行った。ヒト血管内皮細胞を用いて検討を行った結果、本アパタイト複合化グラフトは、細胞に対して毒性を示さず、さらに未処理グラフト基材と比較して有意に接着・増殖が確認された。現在、動物を用いてその有効性の確認を急いでいる。

（倫理面への配慮）

動物に対する動物的愛護上の配慮は国立循環器病センター動物管理規則に則り、十分に注意を

払う。動物実験は麻酔および清潔下にて外科的
操作を行う。術後は鎮静剤を投与し、毎日経過
観察を行い、観察記録簿をつける。使用数が最
小限になるように計画を立案する。臨床応用は
当該研究期間中に含まれず、研究終了後に検討
する予定である。

D. 考察

長期透析を良好に継続するためには自己血管内
シャントの開存維持が不可欠である。これまで
シャント不全に対して様々な治療法が試みられ
ているが、再狭窄・再閉塞を来す症例が多く、
最終的に人工血管、カテーテルおよび外シャン
トの留置、さらには腹膜透析へ移行される例も
少なくない。

従来技術によるステントは円筒形で側面がメ
ッシュ状またはコイル状で一定ピッチのものか
らなり、血管内狭窄部の開存を得るための機械
的支持のみを目的としていた。そのピッチを調
整して血流速度の抑制、壁すり速度を制御する
ことにより細胞過増殖を抑制する技術があるが、
形態からのみのアプローチでは効果に限界があ
る。また、タクロリムスなどの免疫抑制剤をス
テントにコートし、薬剤を徐放することによっ
て内膜増殖を押さえる方法があるが、薬剤徐放
速度の制御に問題がある。さらに、細胞増殖抑
制因子を担持したステント(遺伝子治療)も開発
されているものの、現在研究開発段階であり社
会的・倫理的な検討が不十分である。

当該研究課題は、アパタイトセラミックスを
ステントグラフト表面にコーティングした新規
なナノセラミックス複合化ステントグラフトの
開発を行うものである。当該研究課題で用いる
ハイドロキシアパタイトセラミックスは生体活

性が高く、良好な接着性タンパク質の吸着およ
び細胞の単層接着が実現できる(Furuzono et al., J.
Biomed. Mater. Res. Part B, Appl. Biomater., 65B,
217(2003))。このため、グラフト内部へのナノ
セラミックスコートによって、短期間で血管内
皮細胞が被覆され、長期血管開存の発現が可能
である。さらに、ステントへのアパタイトコー
ティングにより DDS システムを付加することで、
内膜増殖抑制物質を担持させた再狭窄防止シス
テムを構築する。ここで、当該研究課題で用い
るハイドロキシアパタイトセラミックスは焼結
体であるため生体内で溶解しにくく、また、人
工物であるため副作用の心配がない。このよう
に、アパタイトコーティング技術を適応するこ
とで、留置早期における内皮細胞単層被覆と平
滑筋細胞過増殖の抑制を兼ね備えたステントグ
ラフトが構築できる。

当該研究課題の達成によって、さらに以下の
成果が期待される。(1) 本デバイスは人工物の
みから構築されているため、現在用いられてい
る牛由来コラーゲンのような異種タンパク質を
用いる必要がなく、生物学的に安全である。(2)
シャント不全およびシャント作成に伴う合併症
の低減。(3) 在宅化および社会復帰による透析
患者の QOL の向上と医療費削減。(4) 他の循環
器病疾患にも応用可能。(5) 当該課題に用いる
手法は国立循環器病センターにて開発され、特
許化されたものである。当該課題が達成される
ことにより、厚生労働省から国内さらに国外に
向けて発信される産業活性化のモデルとなり得
る。

E. 結論

本年度の検討では、高分散性ナノアパタイト微

粒子製造法の創出、新規ナノアパタイト複合化グラフトの創出および実験計画前倒しとしてステント設計・加工・試作品製造を行った。平成17年度においてはナノセラミックス複合化ステントの開発を重点的に行い、また平成18年度では、新規ステントグラフトの *in vivo* 試験によりその効能を実証する予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 田中良一、東 将浩、荻野 均、栗林幸夫、高宮 誠 “大動脈ステントグラフトの現状と問題点” Vol.49(13), p.1807-1812, 2004年

2) 田中良一 “I. 閉塞性動脈硬化症とは？<3> どう治療するか？④カテーテルによる治療” やさしい閉塞性動脈硬化症の自己管理（編集：松尾 汎、医薬ジャーナル社）、p.59-62, 2004年

3) M. Okada and T. Furuzono, “Fabrication of high-dispersibility nanocrystals of calcined hydroxyapatite”, Nature Materials, in contribution

4) M. Masuda, M. Okada, S. Yasuda, H. Kadono, R. Tanaka, K. Miyatake and T. Furuzono, “Improvement of cell adhesiveness of poly(ethylene terephthalate) by surface modification with hydroxyapatite nanocrystals through covalent bonding” Journal of Materials Science Materials in Medicine, in contribution

2. 学会発表

1) 田中良一、東 将浩、木村晃二、内藤博昭、西上和宏、林 富貴雄、荻野 均「末梢動脈疾患における血管内治療の適応と問題点」第10回目

本血管内治療学会総会 2004年6月29日

2) 田中良一「血管ステントのその後- 中長期経過観察・再狭窄・トピックス」腸骨動脈ステントの長期成績 日本血管造影・INTERVENTIONAL RADIOLOGY 学会第16回関西地方会（奈良）、2004年9月11日

3) 岡田正弘、古菌勉、芹澤 武、安田昌司、田中順三、岸田晶夫「経皮デバイスを目指したナノサイズアパタイト粒子の高分子基板上への吸着・結合挙動」第53回高分子討論会（北海道大学 高等教育機能開発総合センター）2004年9月15日～17日

4) 古菌 勉「内シャント狭窄治療を目的としたナノセラミックス複合化ステントグラフトの開発」第一回国循ステントグラフト研究会、2004年11月2日

5) 岡田正弘、古菌 勉「高分散性アパタイト粒子の開発」第一回国循ステントグラフト研究会、2004年11月2日

6) 益田美和、古菌 勉「グラフト表面のハイドロキシアパタイト加工法の検討」第一回国循ステントグラフト研究会、2004年11月2日

7) 古菌 勉「内シャント狭窄治療を目的としたナノセラミックス複合化ステントグラフトの開発」第二回国循ステントグラフト研究会、2004年11月15日

8) 岡田 正弘、芹澤 武、安田 昌司、田中 順三、岸田 晶夫、古菌 勉「基板上でのナノアパタイト単結晶を用いた界面複合法の精密制御」日本バイオマテリアル学会シンポジウム2004（つくば国際会議場）・2004年11月15日～16日

9) 岡田正弘、古菌 勉「一次粒子で分散可能なハイドロキシアパタイト焼結体粒子の作製」第

8 回生体関連セラミックス討論会（明治大学アカデミーコモン）2004年12月2日～3日

10) 古菌 勉「第一年目実験計画「ナノアパタイト複合化グラフト製造法の確立」について」第三回国循ステントグラフト研究会、2005年2月7日

11) 岡田正弘、古菌 勉「高分散性ナノアパタイト微粒子の創出」第三回国循ステントグラフト研究会、2005年2月7日

12) 益田美和、古菌 勉「ナノアパタイト複合化グラフトの製造法と in vivo 評価」第三回国循ステントグラフト研究会、2005年2月7日

13) 角野弘幸、古菌 勉「実験動物によるグラフト機能評価：手術法の検討を中心に」第三回国循ステントグラフト研究会、2005年2月7日

14) 山下修蔵「ステント製造法と進捗状況」第三回国循ステントグラフト研究会、2005年2月7日

15) 岡田正弘、古菌 勉「融着防止剤を用いた仮焼プロセスによる高分散性ナノアパタイト単結晶粒子の創出」日本セラミックス協会 2005年年会（岡山大学）2005年3月22日～24日

16) 益田美和、安田昌司、岡田正弘、田中良一、稲永 隆、宮武邦夫、古菌 勉「過酸化水素処理によるポリエステル繊維への焼成アパタイト複合化と細胞接着性の検討」第54回高分子学会年次大会（パシフィコ横浜）2005年5月25日～27日

17) 岡田正弘、古菌 勉「ポリアクリル酸を融着防止剤として用いたナノアパタイト仮焼体の作製」第54回高分子学会年次大会（パシフィコ横浜）2005年5月25日～27日

18) Masahiro Okada, Tsutomu Furuzono
“Calcination of hydroxyapatite nanoparticles with

poly(acrylic acid, calcium salt) as an anti-sintering agent surrounding the particles” The 8th International Polymer Conference (IPC2005)、(福岡国際会議場) 2005年7月26～29日

19) M. Masuda, M. Okada, S. Yasuda, H. Kadono, R. Tanaka, K. Miyatake and T. Furuzono,
“Improvement of cell adhesion property of poly(ethylene terephthalate) by surface modification with nano-sized hydroxyapatite crystals through covalent bonding” The 8th International Polymer Conference (IPC2005)、(福岡国際会議場) 2005年7月26～29日

20) M. Okada, T. Furuzono “Preparation of Nano-Sized Hydroxyapatite Single-Crystal Particles by Calcined with an Anti-Sintering Agent Interposed among the Particles” European Society for Biomaterials 19th European Conference on Biomaterials, University of Naples “Federico II” (Naples, Italy), 2005年9月11～15日

21) S. Yasuda, M. Okada, J. Tanaka, T. Furuzono
“A Novel Percutaneous Device Having Soft-Tissue Compatibility and Flexibility Fabricated from a Nano-Scaled Hydroxyapatite Crystals/Polymer Composite” European Society for Biomaterials 19th European Conference on Biomaterials, University of Naples “Federico II” (Naples, Italy), 2005年9月11～15日

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

1) (発明者) 古菌 勉、岡田正弘 (発明の名称) セラミック粒子群およびその製造法、並びにその利用、特願 2004-267404

2) 上記特許国内優先権主張：(発明者) 古菌 勉、

岡田正弘（発明の名称）セラミック粒子群およびその製造法、並びにその利用、特願 2005-041348

3) 上記国内優先権主張による PTC 出願準備中

4) (発明者) 古菌 勉、田中順三、岡田正弘、安田昌司（発明の名称）官能基導入無機化合物およびその製造法、複合体およびその製造方法、医療材料、特願 2004-274148

5) (発明人) 古菌 勉、宮武邦夫、田中良一、安田昌司、益田美和（発明の名称）「アパタイト複合化人工血管」、出願準備中

材料合成・複合化：複合化のための高分散性ナノアパタイト創出

主任研究者 古菌 勉（国立循環器病センター研究所生体工学部・室長）

研究要旨

ナノスケールのハイドロキシアパタイト結晶は製造過程において融着し、二次粒子化することが知られており、分散媒体中で単分散することは困難とされてきた。本研究において新規に溶融防止剤を開発し、これを製造工程に添加することによって分散媒体中で単分散するナノアパタイト結晶の製造技術を確立した。溶融防止剤がハイドロキシアパタイト結晶組成に影響しないことを確認している。ここで開発したハイドロキシアパタイト結晶は分散性に優れることから、内シャント不全の治療に用いるステントグラフト表面へのコーティングに非常に有効である。

A. 研究目的

当該研究課題は、内シャント不全の治療に用いるステントグラフト表面に、生体活性の高いハイドロキシアパタイト（HAp）結晶をナノオーダーで強固にコーティングした新規なナノ HAp 複合化ステントグラフトの開発を最終目的としている。

HAp は骨や歯の主成分であり、硬組織への親和性が高いことが知られてきたが、最近では、軟組織に対しても親和性があることが明らかされている。この軟組織親和性の全容は明らかにはなっていないが、生体内へのインプラント初期に接着性タンパク質や成長因子などが HAp 表面に強く吸着することが要因であることは容易に推察される。そのような生体親和性の高い HAp をステントグラフトへ修飾する方法として、生体模倣反応や交互浸漬法などが考えられる。しかしながら、これらの方法により得られる HAp はアモルファスなものであり、生体中で容易に

分解・吸収されることが予想される。生体内での HAp の分解・吸収性を低減させるために HAp を高温で仮焼し、熱的安定性を付与した HAp 結晶を作製する必要があるが、従来の仮焼法では HAp 結晶同士が融着（二次粒子化）してしまい、分散媒体中で単分散することは困難とされてきた。当該研究課題で用いるナノ HAp コーティング法は、分散媒体中における HAp 結晶の被コーティング基板への吸着挙動が第一段階となっており、その吸着挙動を制御するために分散媒体中における HAp 結晶自体の分散性を高める必要がある。

以上の背景のもとに本研究においては、分散媒体中で単分散するナノ HAp 結晶の開発を目的として検討を行った。具体的には、新規に融着防止剤を開発し、これを製造工程に添加することによって分散媒体中で単分散するナノ HAp 結晶の製造技術の確立を試みた。

B. 研究方法

1. 試薬

HAp の出発原料および融着防止剤として用いた水酸化カルシウムは炭酸カルシウムの加水消化法により作製した。炭酸カルシウムおよびリン酸二水素カリウム、オイル相として用いたドデカン、非イオン性界面活性剤として用いたペンタエチレングリコールモノドデシルエーテルはナカライテスク株式会社から購入した試薬特級品を使用した。融着防止剤として用いたポリアクリル酸 (PAA) はシグマ・アルドリッチ社製の重量平均分子量 12,000 のものを使用した。

2. HAp 粒子の調製

HAp 粒子は独自に改良を行ったエマルション法にて調製した。連続オイル相としてドデカン、非イオン性界面活性剤としてペンタエチレングリコールドデシルエーテルを用いた。室温で上記の界面活性剤 0.5 g を含有した連続オイル相 40 mL を調製した後、10 mL の $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 水懸濁液 (2.5 M) を添加した。十分に攪拌後、水/オイル (W/O) 溶液に 1.5 M の KH_2PO_4 水溶液を 10 mL 添加し、室温にて 24 時間反応させた。得られた反応物を遠心分離により分離・洗浄することにより、HAp 粒子を得た。

3. 仮焼による HAp の結晶化

$\text{Ca}(\text{OH})_2$ を 1.0 g 含む $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 飽和水溶液 600 mL を調製した。その $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 飽和水溶液中に上記の方法で調製した HAp 粒子 1.0 g を分散させ、減圧条件下 40°C にて乾燥後、 800°C にて 1 時間仮焼を行った。この際の昇温速度は $10^\circ\text{C}/\text{min}$ とした。仮焼後に得られたサンプルを純水中に添加し、pH が中性付近になるまで蒸留水で遠心洗

浄を行い、 60°C において乾燥を行った。比較として、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を添加せずに同条件で仮焼を行った。

また、HAp 粒子と $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を混合する際に、融着防止剤として PAA を添加した場合を以下に記す。2 で作製した HAp 粒子 1.0 g を含む懸濁水中に 35% PAA 水溶液 (pH, 10) 2.9 g を加え、超音波 (20 kHz; 35W) を照射することで HAp 粒子を単分散させた。その HAp 分散水中に、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を約 1.0 g 含む $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 飽和水溶液 600 mL を添加し、得られた沈殿物を濾過により回収、 60°C において乾燥した。その後、 800°C にて 1 時間仮焼を行った。この際の昇温速度は $10^\circ\text{C}/\text{min}$ とした。仮焼後に得られたサンプルを 10 mM 硝酸アンモニウム水溶液中に添加し、pH が中性付近になるまで蒸留水で遠心洗浄を行い、 60°C において乾燥を行った。

4. HAp 結晶の分析

X 線回折測定 (XRD; Rigaku 製 RAD-X) およびフーリエ変換赤外吸収分光測定 (FT-IR; パーキン・エルマー社製 Spectrum One) を行い、作製した HAp の構造解析を行った。粒子の形態を走査型電子顕微鏡 (SEM; 日本電子株式会社製 JSM-6301F) および透過型電子顕微鏡 (TEM; 日本電子株式会社製 JEM-2000 EXII) を用いて観察した。エタノール中における HAp 結晶の粒子径分布を大塚電子株式会社製ダイナミック光散乱光度計 DLS-8000 を用い、室温、10 ppm の粒子濃度、散乱角 90° にて測定した。

C. 研究結果および考察

まず、融着防止剤として用いた $\text{Ca}(\text{OH})_2$ が仮焼後の HAp の結晶組成に対してどのように影響を

与えるかを検討するために、XRD および FT-IR 測定を行った。図 1 に融着防止剤を加えて仮焼した HAp と、比較例として融着防止剤を加えずに仮焼した HAp の XRD 測定結果を示す。どちらのサンプルも結晶性の高い HAp を示しており、HAp 以外のリン酸カルシウム相の存在は観察されなかった。次に、FT-IR 測定を行った (図 2)。融着防止剤を加えて仮焼したサンプル (図 2b) にはヒドロキシアパタイト中のリン酸、水酸基および炭酸に起因するピークが観察された。また、融着防止剤として用いた $\text{Ca}(\text{OH})_2$ のピークはまったく観察されず、仮焼後の洗浄により完全に除去されていることが確認できた。また、 3544 cm^{-1} 付近にカルシウムリッチアパタイト相中の水酸基に起因する新しいピークが観察された。ここで、作製した HAp 結晶全体のカルシウムイオンとリン酸イオンの比は 1.58 であり、化学量論組成の HAp に比べてカルシウムイオンが欠損している構造であった。このことから、融着防止剤として $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を用いて仮焼することで、粒子表面付近においてカルシウムリッチなアパタイト相が形成されていることが推察される。このようなカルシウムリッチなアパタイト相は化学量論組成の HAp に比べて生体活性に優れることが Gibson ら (*J. Biomed. Mater. Res.*, 59, 697) により報告されており、今回融着防止剤を加えて作製した HAp も同様に生体活性に優れることが期待される。

次に作製した HAp の形態観察を行った。図 3 には融着防止剤を加えて仮焼した HAp の TEM 写真とその粒子の電子線回折像を示した。上記の XRD 測定結果と同様に、電子線回折像からは HAp 以外のリン酸カルシウム相の存在は認められず、一つの結晶が一つの粒子を構成した単

結晶粒子であることが確認できる。図 4 には融着防止剤を加えて仮焼した HAp 結晶と、比較例として融着防止剤を加えずに同様に仮焼した HAp 結晶の SEM 写真を示した。融着防止剤の添加の有無に関わらず、単結晶のサイズは 30–80 nm であった。

次に、作製した HAp 結晶の媒体中における分散性を評価するために、エタノール中に分散させた場合の粒子径測定を行った (図 5)。比較例である融着防止剤を添加せずに仮焼したものは平均粒子径 800 nm であり、上記の SEM 観察から測定された結晶サイズ (30–80 nm) に比べて著しく粒子径が増加しており、このことから複数個の結晶が融着した状態でエタノール中に分散していることが確認できた。一方、融着防止剤を添加して仮焼を行った HAp 結晶では 80–130 nm の粒子径として測定され、融着防止効果が確認できた。しかし、上記の SEM 観察から測定された結晶サイズ (30–80 nm) と比較するとエタノール中での粒子径は若干増加していた。このことは、HAp 自体がプラスの電荷を帯びた面とマイナスの電荷を帯びた面の両方の結晶面を有するため、仮焼前に融着防止剤と混合する過程において HAp 粒子同士が集合したことに起因すると考えられる。

そこで次に、融着防止剤と混合する過程での HAp 粒子同士の集合を抑制するために、側鎖にカルボキシル基を有する水溶性高分子である PAA を分散安定剤として添加する改良法を考案した。PAA 中のカルボキシル基は HAp 表面のカルシウムイオンに対して静電的な相互作用で吸着することから、HAp の分散安定剤として PAA が利用できる。さらに、HAp 表面に吸着した PAA に対してカルシウムイオンを追添加することで、

HAp 表面にポリアクリル酸カルシウム塩 (PAA-Ca) が析出・沈殿することが予想され、その PAA-Ca が仮焼前の HAp 粒子同士の接触を防ぐことが期待できる。また、仮焼中に PAA-Ca の有機成分が熱分解することで酸化カルシウム (CaO) が生成し、この CaO が焼結中における HAp 粒子間の接触を防止することで融着防止効果が発揮できると期待できる。

図 6 および図 7 には、融着防止剤として PAA-Ca を用いて仮焼した HAp の XRD 測定結果および FT-IR 測定を示した。XRD 測定および FT-IR 測定の結果から、図 1 および 2 に示した融着防止剤として $\text{Ca}(\text{OH})_2$ のみを用いた場合と同様に、カーボネート含有 HAp 結晶が生成していることが確認された。

図 8 および図 9 には融着防止剤として PAA-Ca を用いて仮焼した HAp 結晶の SEM 写真およびエタノール中に分散させた場合の粒子径分布を示した。エタノール分散状態における粒子径は 40~70 nm であり SEM 観察から求めた粒子径 (30~80 nm) とほぼ完全に一致した。このことから融着防止剤として PAA-Ca を加えた状態で仮焼を行うことにより、媒体中において単結晶状態で単分散する HAp 微粒子の製造に成功した。

D. 結論

以上の結果から、新規に溶融防止剤を開発し、これを製造工程に添加することにより、分散媒体中で単分散するナノアパタイト微粒子の製造技術を確認した。溶融防止剤がハイドロキシアパタイト結晶組成に影響しないことが確認され、さらに、ナノセラミックス微粒子が分散媒体中で一次粒子にて単分散可能であった。ここで開発した HAp 微粒子は分散性に優れることからナノ

HAp コーティング法に非常に有効であることが期待できる。

E. 研究発表

1. 論文発表

1) M. Okada and T. Furuzono,

“Fabrication of high-dispersibility nanocrystals of calcined hydroxyapatite”、

Nature Materials, in contribution

2. 学会発表

1) 岡田正弘, 古菌勉, 芹澤 武, 安田昌司, 田中順三, 岸田晶夫

“経皮デバイスを目指したナノサイズアパタイト粒子の高分子基板上への吸着・結合挙動”

第 53 回高分子学会討論会、北海道大学高等教育機能開発総合センター (北海道、札幌)、2004 年 9 月 15~17 日

2) 古菌 勉, 岡田正弘, 安田昌司, 田中順三, 岸田晶夫

“ナノセラミック複合化によるボタン型経皮デバイスの開発”

第 42 回人工臓器学会、京王プラザホテル (東京、新宿)、2004 年 10 月 5~7 日

3) 岡田 正弘, 芹澤 武, 安田 昌司, 田中 順三, 岸田 晶夫, 古菌 勉

“基板上でのナノアパタイト単結晶を用いた界面複合化法の精密制御”

日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004、つくば国際会議場 (つくば)、2004 年 11 月 15~16 日

4) 岡田 正弘, 古菌 勉

“一次粒子で分散可能なハイドロキシアパタイト焼結体粒子の作製”

第 8 回生体関連セラミックス討論会、明治大学

アカデミーコモン、2004年12月2～3日

5) 岡田正弘、古菌 勉

“融着防止剤を用いた仮焼プロセスによる高分散性ナノアパタイト単結晶粒子の創出”

日本セラミックス協会 2005 年年会、岡山大学(岡山県岡山市)、2005年3月22～24日

6) 岡田正弘、古菌 勉

“ポリアクリル酸を融着防止助剤として用いたナノアパタイト仮焼体の作製”

第54回高分子学会年次大会、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)、2005年5月25～27日

7) Calcination of hydroxyapatite nanoparticles with poly(acrylic acid, calcium salt) as an anti-sintering agent surrounding the particles

Masahiro Okada, Tsutomu Furuzono

The 8th International Polymer Conference (IPC2005)、(福岡国際会議場) 2005年7月26～29日

8) Preparation of Nano-Sized Hydroxyapatite Single-Crystal Particles by Calcined with an Anti-Sintering Agent Interposed among the Particles

M. Okada, T. Furuzono

European Society for Biomaterials 19th European Conference on Biomaterials, University of Naples "Federico II" (Naples, Italy), 2005年9月11～15日

9) M. Okada, T. Furuzono

“Preparation of Nano-Sized Hydroxyapatite Single-Crystal Particles by Calcined with an Anti-Sintering Agent Interposed among the Particles”

European Society for Biomaterials 19th European Conference on Biomaterials, University of Naples "Federico II" (Naples, Italy), 2005年9月11～15日

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

1) (出願人) 国立循環器病センター総長、独立行政法人科学技術振興機構(発明者) 古菌 勉、岡田正弘(発明の名称) セラミック粒子群およびその製造法、並びにその利用、特願 2004-267404

2) 上記特許国内優先権主張:(出願人) 国立循環器病センター総長、科学技術振興機構(発明者) 古菌 勉、岡田正弘(発明の名称) セラミック粒子群およびその製造法、並びにその利用、特願 2005-041348

3) 上記国内優先権主張による PTC 出願準備中

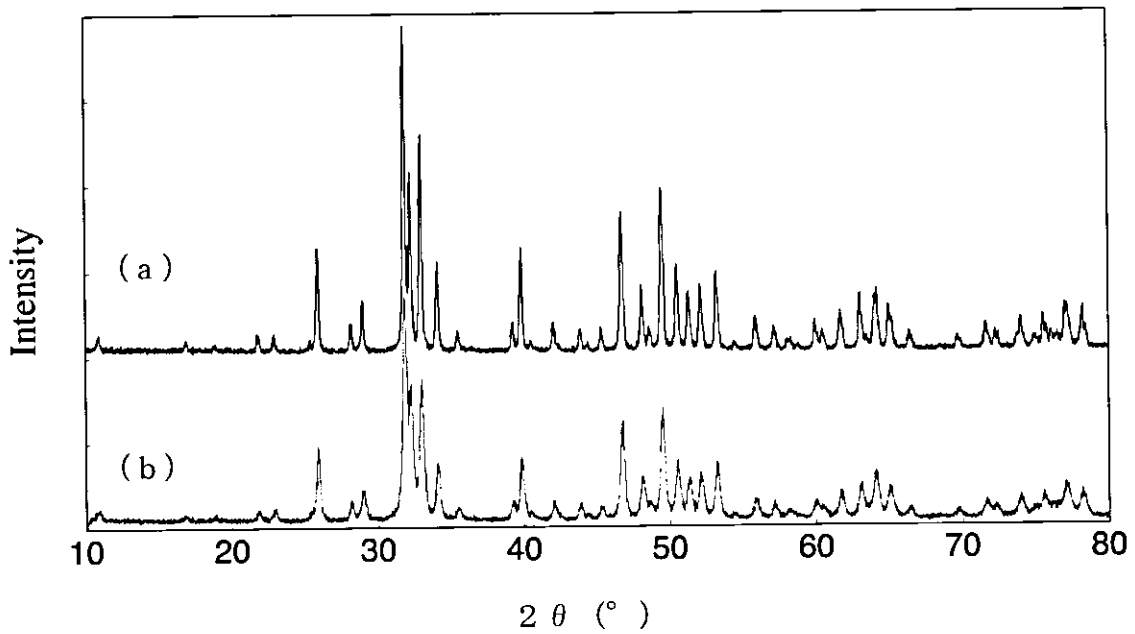


図 1 . 融着防止剤を添加せずに仮焼した HAp 粒子 (a) と融着防止剤として $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を添加して仮焼した HAp 粒子 (b) の X 線回折パターン

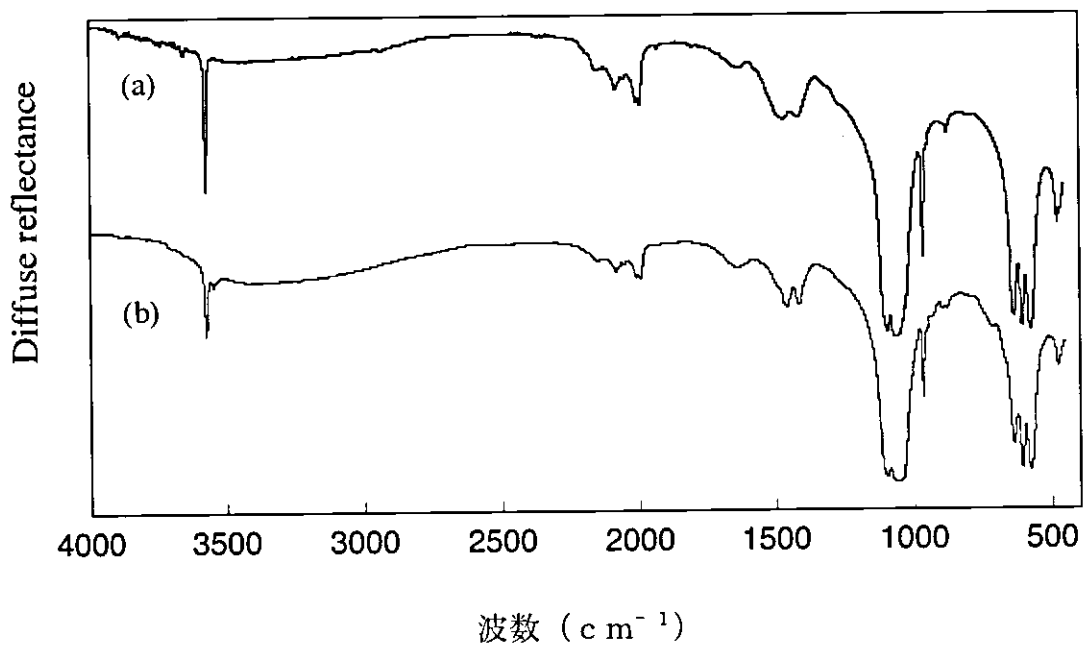


図 2 . 融着防止剤を添加せずに仮焼した HAp 粒子 (a) と融着防止剤として $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を添加して仮焼した HAp 粒子 (b) のフーリエ変換赤外吸収測定結果

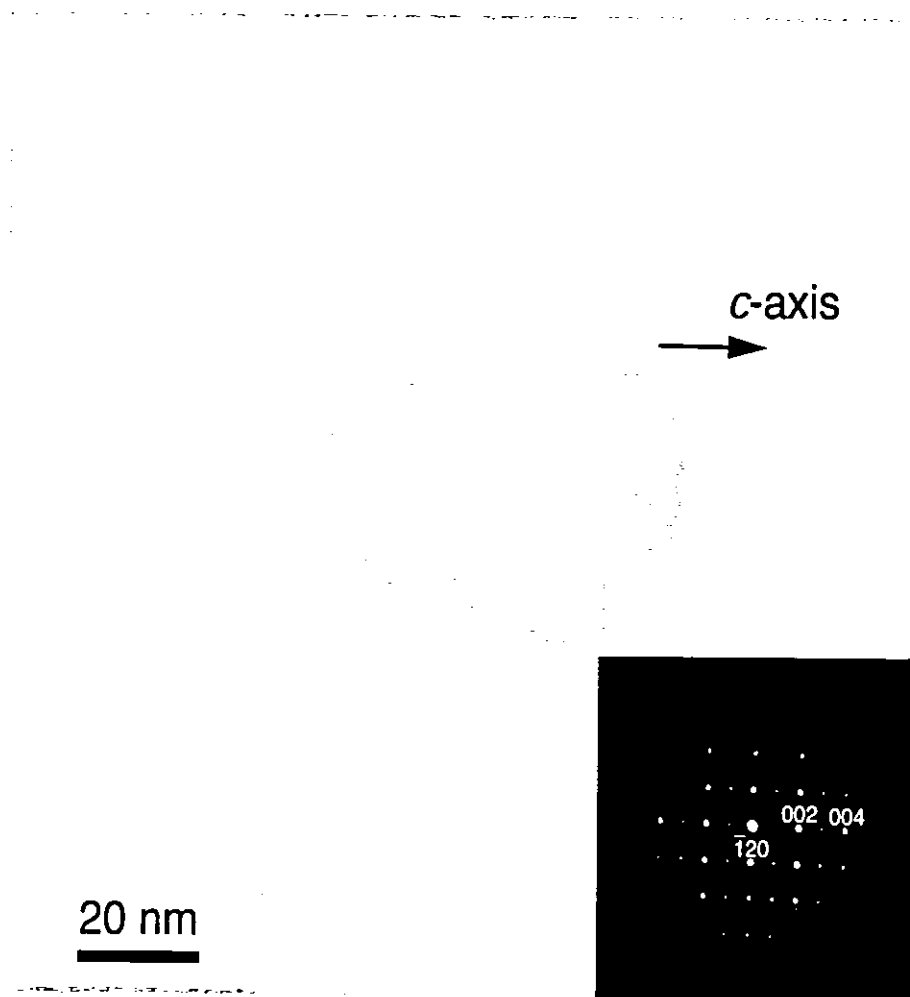


図3. 融着防止剤として $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を添加して仮焼した HAp 粒子の透過型電子顕微鏡写真とその電子線回折像

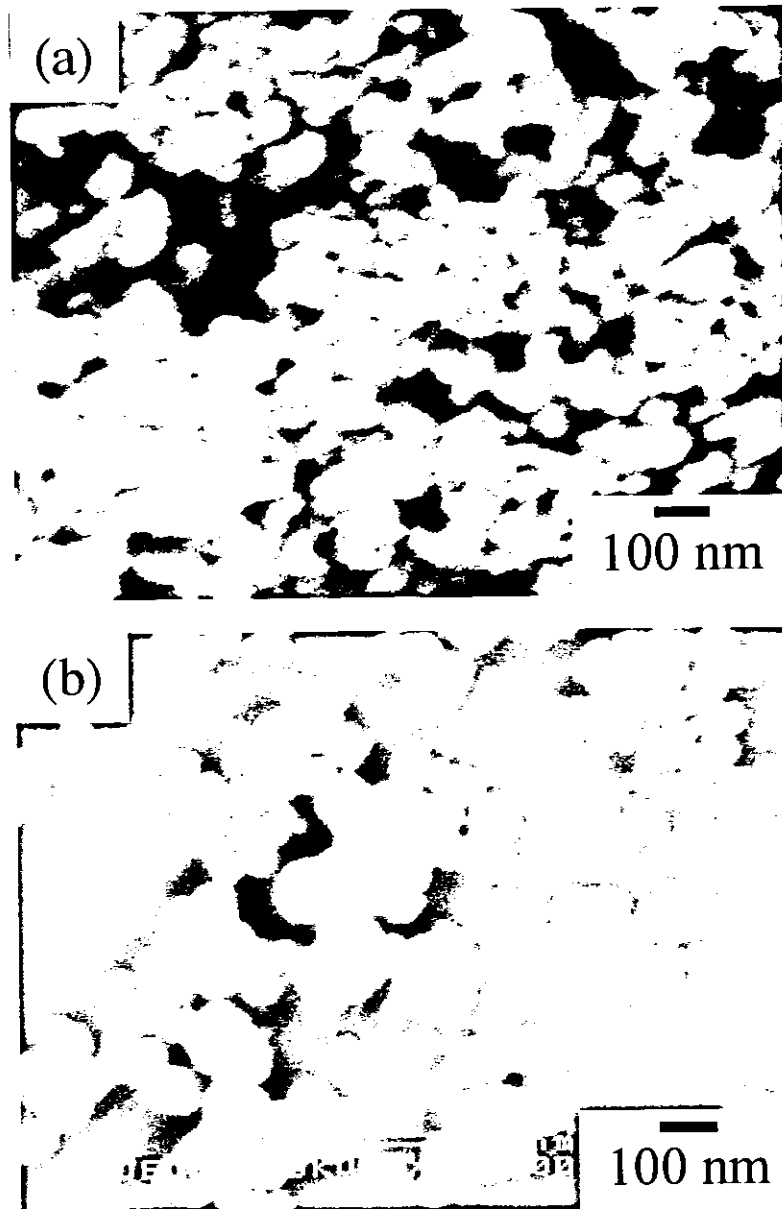


図4. 融着防止剤を添加せずに仮焼した HAp 粒子 (a) と融着防止剤として $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を添加して仮焼した HAp 粒子 (b) の走査型電子顕微鏡写真

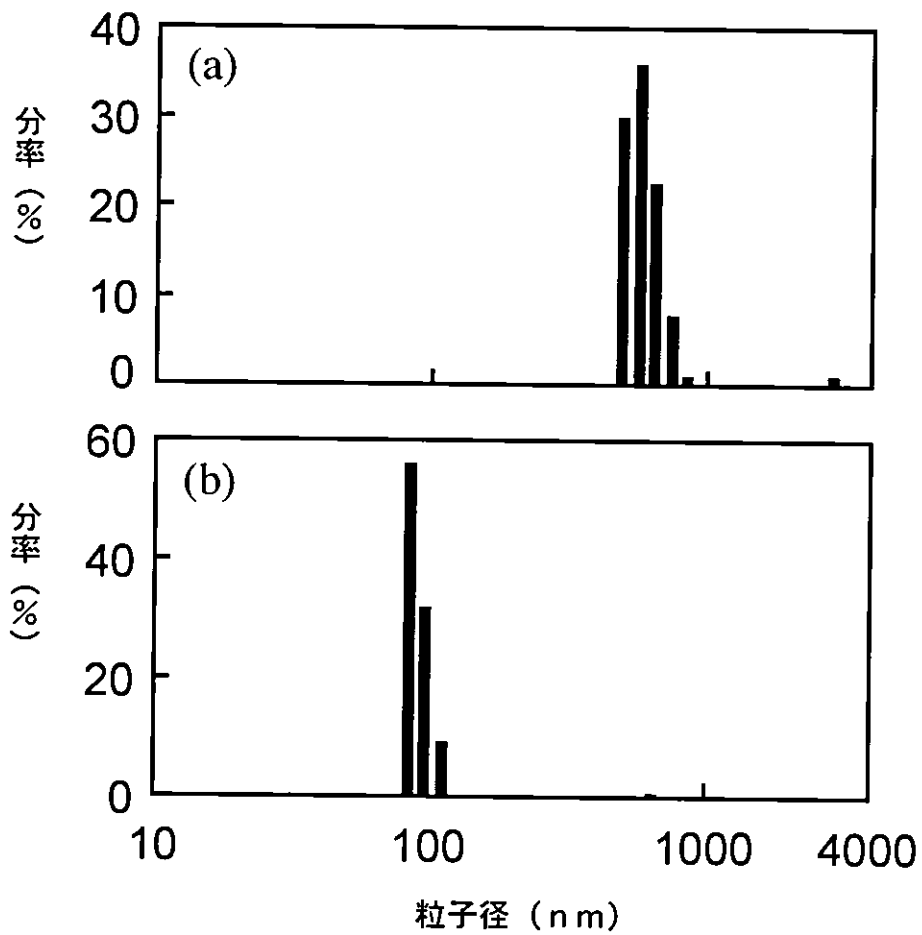


図5. 融着防止剤を添加せずに仮焼した HAp 粒子 (a) と融着防止剤として Ca(OH)_2 を添加して仮焼した HAp 粒子 (b) のエタノール中における粒子径分布

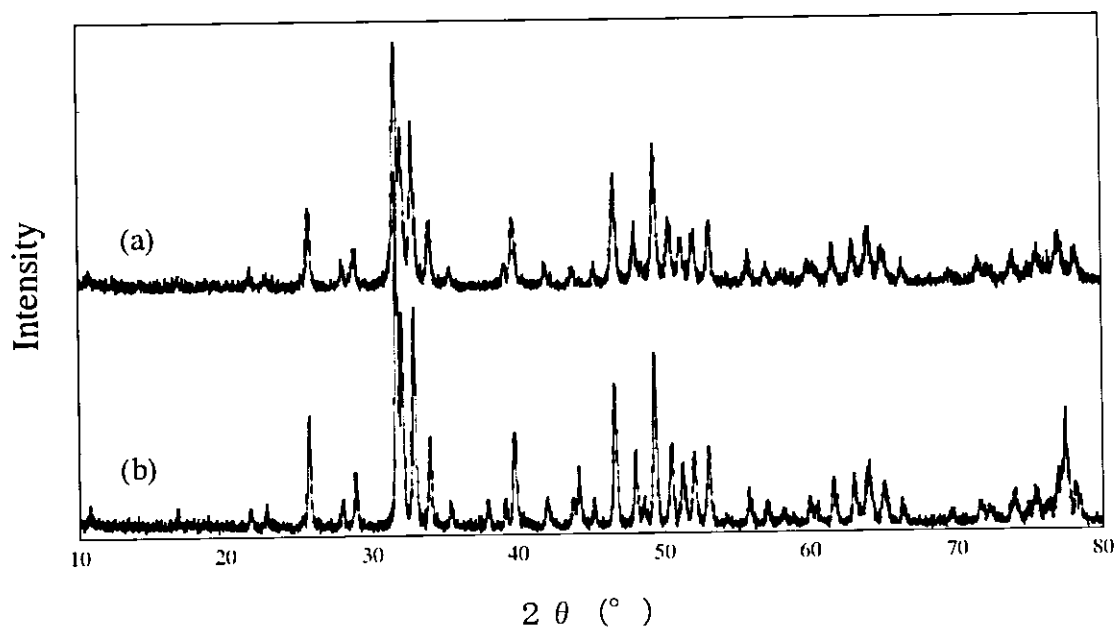


図6. 融着防止剤を添加せずに仮焼した HAp 粒子 (a) と融着防止剤としてポリ
 アクリル酸カルシウム塩を添加して仮焼した HAp 粒子 (b) の X 線回折パターン

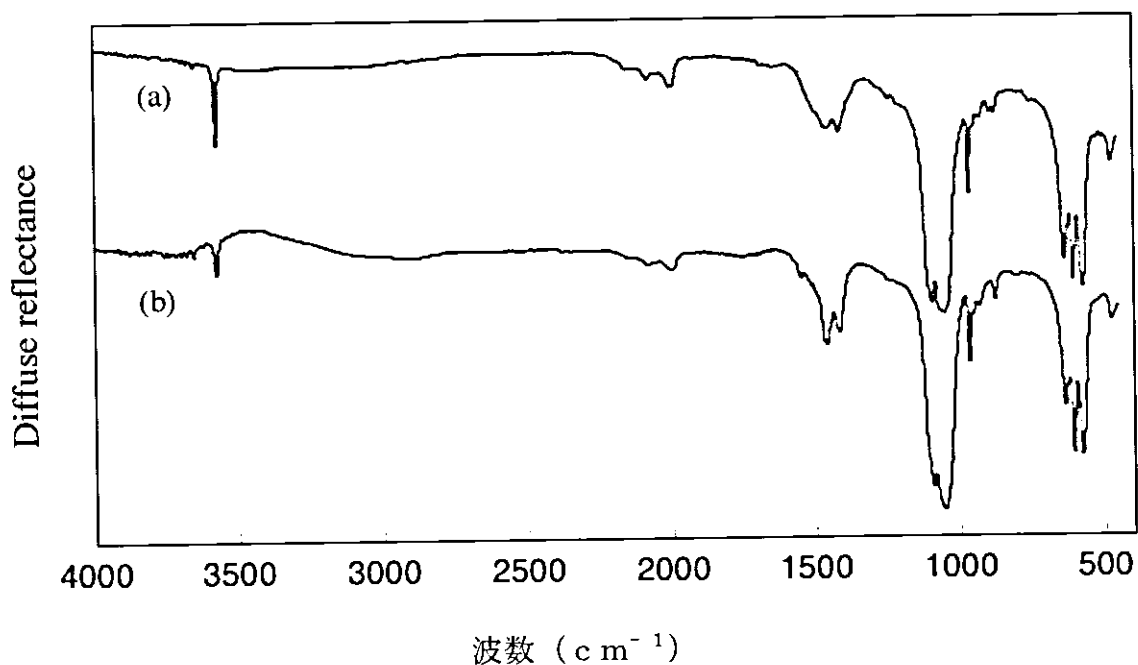


図7. 融着防止剤を添加せずに仮焼した HAp 粒子 (a) と融着防止剤としてポリ
 アクリル酸カルシウム塩を添加して仮焼した HAp 粒子 (b) のフーリエ変換赤外
 吸収測定結果

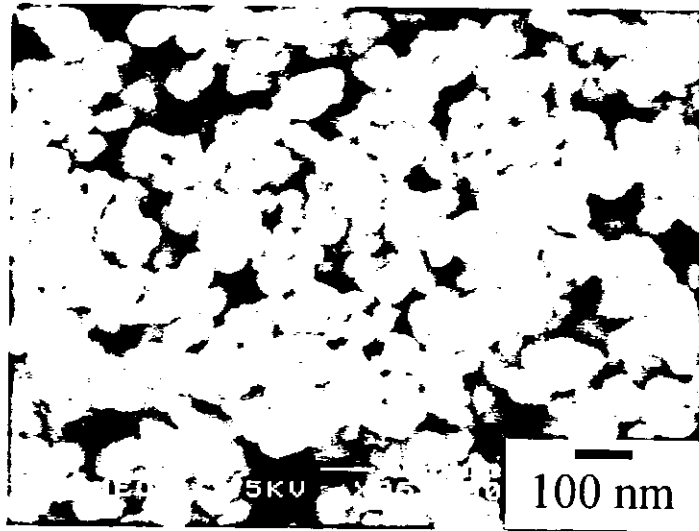


図7. 融着防止剤としてポリアクリル酸カルシウム塩を添加して仮焼した HAp 粒子の走査型電子顕微鏡写真

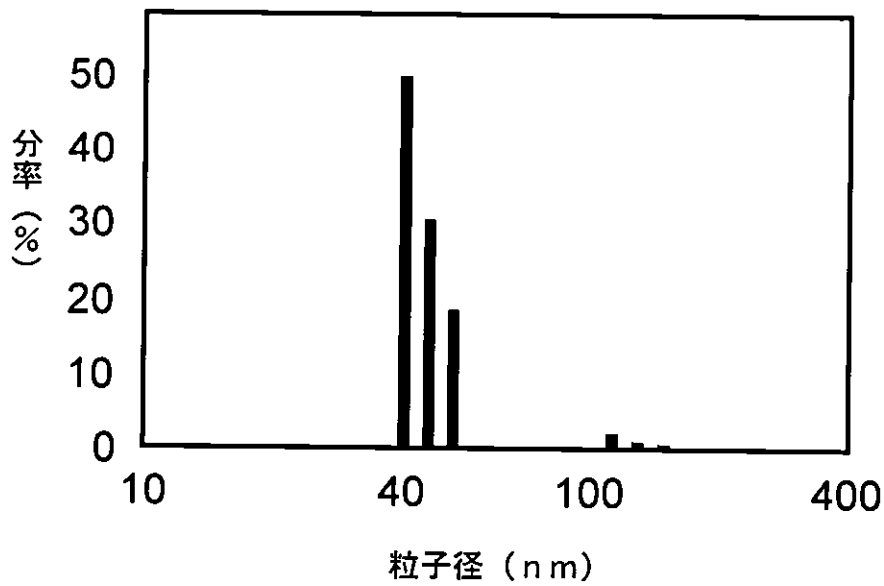


図8. 融着防止剤としてポリアクリル酸カルシウム塩を添加して仮焼した HAp 粒子のエタノール中における粒子径分布