

これまで生体材料表面と細胞・生体分子との相互作用を評価する指標として表面の「ぬれ性」が多く用いられている。ただ、一部の表面において「ぬれ性」は材料表面の生体適合性の評価の指標とならないことが強く示唆されている。なぜなら生体材料の生体反応性を決める因子は、表面の官能基の比率、相分離、可動性、粗さなど複数あり、それぞれの因子ごとに細胞・生体分子との反応性が変化するが、ぬれ性とはこれらの因子を総合した結果のみを示すからに他ならない。そのため、生体材料と生体との相互作用を調べる上では、上述の因子に基づいて材料表面特性をナノレベルで詳細に検討することが肝要である。

本研究では、表面官能基の比率を調整・制御した自己組織化単分子膜SAM (Self-Assembled Monolayer) を作成し(図3)、表面組成と水接触角との関係並びに、表面組成が細胞接着に与える影響について検討を始めたのでその概要について報告する。

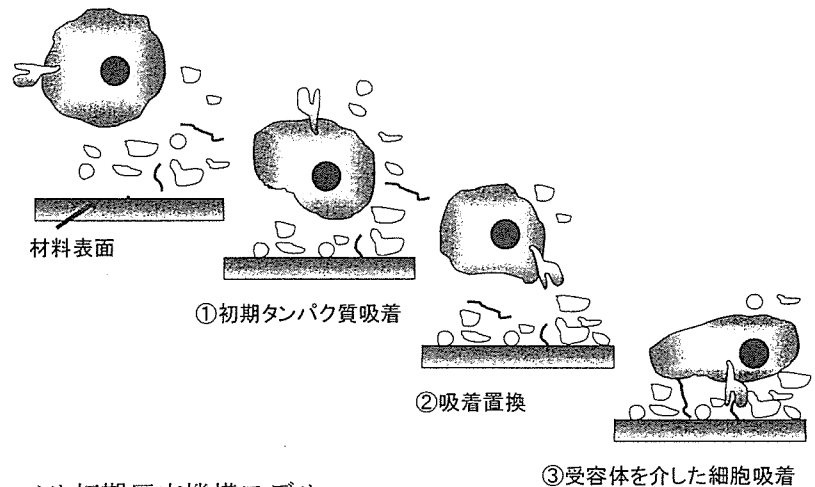


図2. 材料表面と生体とのナノレベル初期反応機構モデル

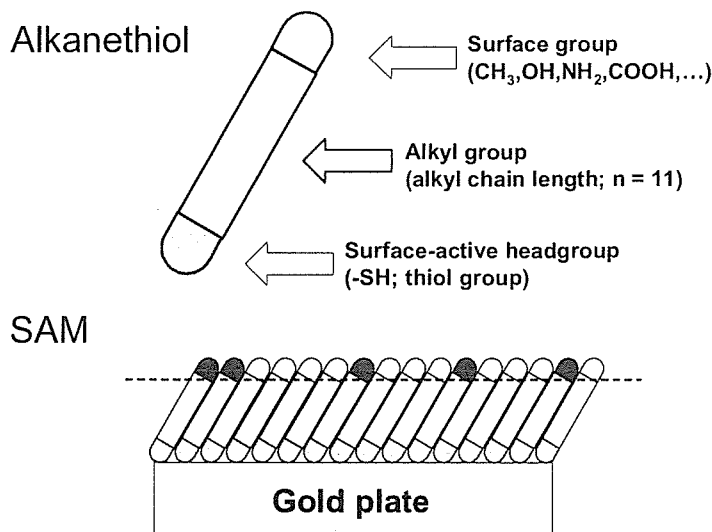


図3. 自己組織化単分子膜(SAMs)

生体材料としてのカーボンナノチューブ-アルミナ複合材料の開発

東北大学大学院工学研究科

○大森守、山本剛、横溝健児、橋田俊之

東北大学金属材料研究所

木村久道、大久保昭

1. 緒言

カーボンナノチューブ(CNT)とセラミックスとからの複合材料合成に関する研究は、その実用化を目的にして世界中で展開されている。しかし、CNTの複合化によって性能の優れた複合材料の開発は達成されず、製品として流通するまでにはなっていない。その大きな理由は、カーボンナノチューブが凝集しやすく、セラミックス粉と混合するとカーボンナノチューブが塊となって分散する傾向が一因である。さらに、凝集を解かれたカーボンナノチューブが一本ずつ分散すると、分散したCNTとマトリックスとの間の熱膨張差による残留応力の発生が問題となり、強度と靱性の大きな複合材料とするのが困難である。

本研究では、カーボンナノチューブとセラミックスとを混合するのに、セラミックス粉の代わりに、加熱によりセラミックスを生成する前駆体を使用する試みを行ってきた。CNTとしては多層カーボンナノチューブ(MWNT)を用い、ハイドロキシアパタイト粉の代わりに、 $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ と $\text{Ca}(\text{OH})_2$ との前駆体を使用した。その結果、100nm以下のハイドロキシアパタイト結晶と多層カーボンナノチューブとが絡み合ったナノ複合体が形成され、それがハイドロキシアパタイトマトリックス中に分散して複合材料の靱性を向上できることを見つけた。しかし、ハイドロキシアパタイトの強度と靱性が極端に小さいため、複合化によるこれらの性能改善にも限度があり、実用材料として用いるのには大きな制限がある。

本研究では、実用材料として使われているアルミナにカーボンナノチューブを加えた複合材料合成し、摩擦係数を小さくし、生体材料として使うことを目指している。生体材料への応用としては、低摩擦係数を利用した人工股関節のインサート材である。このインサート材には超高密度ポリエチレンが使われているが、消耗速度が0.2~0.5mm/yearと大きく使用年数の制限と、生成する磨耗粉の生体への影響とが問題になっている。アルミナは生体中で安定であり、硬くて磨耗量が少ないため適合すると考えられるが、摩擦係数が大きいため使うことは不可能である。本研究は、アルミナにカーボンナノチューブを複合させ、摩擦係数を小さくし、磨耗量を小さくすることで長時間の使用に耐え、摩擦粉生成の減少による生体への悪影響を低減できる材料の開発に関するものである。

2. 実験方法

実験に使用したCNTは価格の低い多層カーボンナノチューブ(MWNT) (ナノラボ社、直径20-40nm)である。アルミナの前駆体としては水酸化アルミニウム($\text{Al}(\text{OH})_3$)を使用した。これらと水とからスラリーを作り、自転・公転スーパーミキサー((株)シンキー製、AR-100)を使って1時間混合した。このスラリーを乾燥後、放電プラズマ焼結機(住友石炭製、SPS-1050)を使って、真空中において20MPaの加圧下もと1500℃で焼結して複合材料を得た。比較のためにアルミナ粉(大明化学製、TM-5D、平均粒径0.2μm)を用い、上記と同

じ条件で複合材料を作製した。

焼結した複合材料について、X線回折装置（マックスサイエンス製、M21X）を用いてアルミナの生成を調べた。透過電子顕微鏡(TEM)（日本電子製、JT-007）にて微細組織を観察した。水を使ったアルキメデス法にてかさ密度を測定した。2x3x25mm³の試料について、万能試験機（インストロン製、5582）を用い、スパン 20mm で3点曲げ試験を行った。微小硬度計（島津製作所製、HMV-21）を用い 9.8N の荷重下で硬度を測定した。複合材料の破壊靱性値は、ノッチドビーム法を用い 3点曲げ試験を行い求めた。破断面を走査型電子顕微鏡(SEM)（日立製作所製、FE-SEM S-4700）を用いて観察した。

3. 結果および考察

本研究の方法でアルミナの前駆体を用いる方法との比較のために、アルミナ粉と MWNT を混合し、焼結して得られた複合材料について、その破断面の SEM 写真を図 1 に示す。この図に示されるように、複合材料中には MWNT が塊で分散し、それが抜け落ちた穴が観察される。MWNT は塊となる傾向があるため、一本ずつで分散するよりは塊となって複合材料中に分散している。さらに、MWNT とアルミナとの間に化学結合が生成しないため、分散した MWNT の固まりは容易に抜け落ちてしまい、破断面には穴しか残らなくなっている。このような分散では、カーボンナノチューブの塊は大きな穴という欠陥を作ることになり、複合材料はアルミナの多孔体と同じ構造となって、強度と靱性の向上を期待することは不可能である。

水酸化アルミニウムと MWNT とから得られた複合材料の破断面の写真を図 2 に示す。MWNT は塊で存在しているが、マトリックスから抜け落ちることなく、引き抜きの効果が観察される。水熱合成

反応で、MWNT とジルコニアとの複合化を行った結果では、MWNT の欠陥からジルコニアの核が形成され、そのままの状態では結晶成長は阻害されるが、核が MWNT から離れると

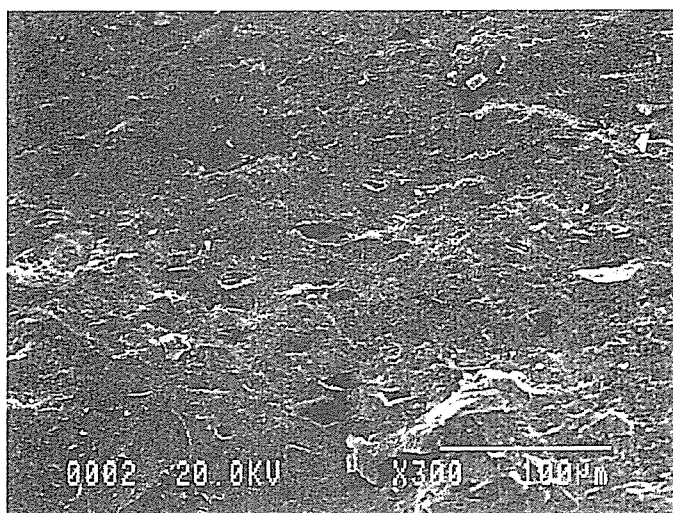


図 1 Al₂O₃-2wt%MWNT 複合材料の破断面の SEM 写真

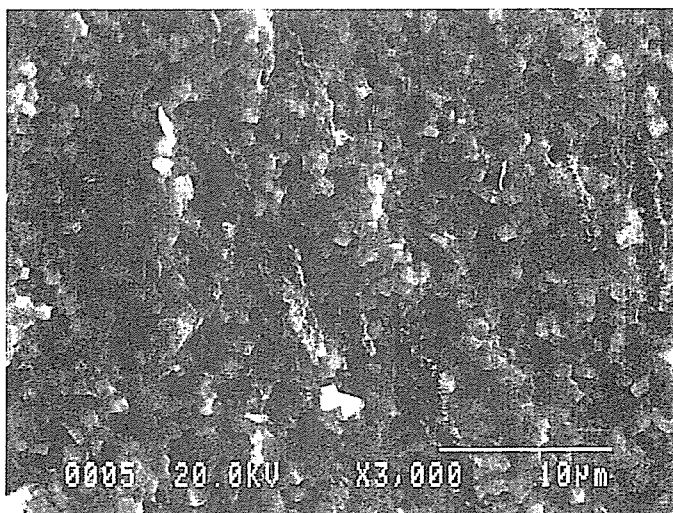


図 2 前駆体-2wt%MWNT 複合材料の破断面の SEM 写真

大きく成長することが報告されている[1]。MWNT は塊で安定化するが、水酸化アルミニウムは、アルミナ粉より水とのなじみが良いためこの塊の中に浸入し複合組織を形成することが出来る。この複合組織を 600℃以上に加熱すると、アルミナ核が生成するが、それはジルコニアの例から MWNT の欠陥に生成しナノ結晶まで成長する。MWNT は相互にこのナノ結晶により結合され、ナノ複合体を生成する。このナノ複合体全体もナノ結晶によりアルミナマトリックスに結合される。この結果、ナノ複合体が破壊されるときにはカーボンナノチューブの引き抜き効果により、複合材料の靱性を向上することが出来る。一方、アルミナ粉は大きく、さらに水とのなじみが小さいため、MWNT の塊の中に進入することは不可能で、先に示したようにこの塊とマトリックスとの間には結合がなく、容易に抜け落ちてしまう。

最近、ようやく図 2 に示される組織の複合材料の合成に成功している。これに類似の組織はハイドロキシアパタイト-MWNT 複合材料に関しては容易に得られている。しかし、アルミナ系ではこの組織を得る条件が厳しく、これまでなかなか得られなかった。複合材料の製造条件を制御することで目的を達成しつつある。今後はより製造条件を厳密に管理することで、性能の良い複合材料を合成し、強度、靱性、摩擦係数の測定を行い、さらに人工股関節のインサート材への適応の可能性を検討する。

参考文献

1. F. Lupo, R. Kamalakaran, C. Scheu, N. Grobert and M. Ruhle, "Microstructural Investigations on Zirconium Oxide-Carbon Nanotube Composites Synthesized by Hydrothermal Crystallization", Carbon 42, 1995-1999 (2004).

ナノアパタイト粒子の象牙質再生療法への応用

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野

吉山 昌宏

1. 緒言

再生医学が21世紀医療の可能性を拓くものとして脚光を浴びている現在、保存修復学においても象牙質再生医療法の開発が急務である。この象牙質再生法には、う蝕によって脱灰された歯質をできるだけ切削せず再石灰化させ可及的保存を図る脱灰象牙質再石灰化療法とバイオ技術を応用した生物学的覆髄療法の二つの概念が存在するが、両者を同時に可能にする治療法は見い出されていない。申請者らは、う蝕変性象牙質へのレジン接着性の研究を世界に先駆けて行っており、接着性レジンを用いて残留する可能性のあるう蝕細菌を封鎖し、感染脱灰象牙質の可及的保存を図るモディファイアード・シールド・レストレーション (MSR法)を提唱している (J Dent Res, 81, 2002)。

また申請者らはバイオ技術を応用してコラーゲンを固定化した親水性モノマーであるエチレン・ビニルアルコール共重合体 (EVA) 微粒子 (EVA+C) のヒト歯髄細胞培養を検討し、極めて良好な親和性を確かめるとともに、EVA+C配合培養システムや創傷被覆材 (アルギン酸ゲル) を用いてサルやビーグル犬の露髄面に充填し、歯髄のみならず欠損窩洞内側にも修復象牙質が再生してくるのを見い出している (再生歯誌, 2, 2004; J Oral Tissue Eng, 4, 2006)。さらに、ナノ技術を応用して単分散性ハイドロオキシ・アパタイトナノ粒子 (HAPナノ粒子、粒径30~90nm) 配合象牙質管封鎖材を開発し、新規象牙質知覚過敏治療材として既に特許申請している (科学技術振興機構整理番号, A121 P304)。このHAPナノ粒子は生体内分解速度を制御することも可能であり、ヒト歯髄細胞への極めて高い親和性と象牙質細胞分可能を有することを確かめている (J Dent Res, in press)。

2. 目的

本研究では、脱灰象牙質再石灰可能と修復象牙質再生能を併せ持つ象牙質再生療法を開発することを目的として、ナノバイオ技術を応用して、EVA+C微粒子やHAPナノ粒子を配合したボンディング材 (ナノバイオ接着システム)を調製し、ナノバイオ接着システムの設計・試作を行うとともに、そのう蝕象牙質や人工脱灰象牙質への接着性、浸透性や再石灰化能およびヒト歯髄培養細胞への影響を *in vitro* で検討する。さらに、サルを応用した *in vivo* 動物実験において、人工脱灰象牙質窩洞および露髄窩洞に最適なナノバイオ接着システムを応用し、長期経過観察後に接着界面の長期安定性や再石灰化の様相、さらには露髄面での修復象牙質の形成状態を微細形態学的に解析する。また接着界面の劣化に深く関与するとして注目されているマトリックスメタルプロテアーゼ (MMP) の酸素活性についても検討する。

3. 研究ストラテジー

MSR法による修復を実現するためには、従来の健全象牙質のみを対象とした接着性レジンシステムを変革し、脱灰象牙質にも深く浸透し強固に接着するとともに再石灰化させることが可能な接着システムの開発が不可欠である。

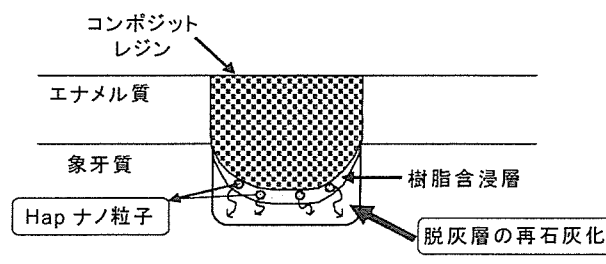


図1. HAPナノ粒子による脱灰象牙質再石灰化

現在、健全象牙質では30MPa以上の接着強さを開発できる最新の市販システムでも、う蝕影響象牙質では20MPa前後、う蝕感染象牙質では20MPa前後の接着強さしか発揮できないことが申請者らのマイクロテンスイル法を用いた一連の研究で明らかとなっている (Am J Dent, 2003)。

またフッ素徐放性ボンディング材も開発市販されているが、その脱灰象牙質に対する再石灰化可能層はinhibition layer がわずかに形成されるものの極めて限局的であり、また徐放されるフッ素量がわずかで長期間持続しないことが指摘されている (J Dent, 33, 2005)。プライマーやボンディング材にHAPナノ粒子を配合することにより、接着界面の空隙や脱灰象牙質の再石灰化を促進させ、より長期の歯質保存を可能とするナノバイオ接着システムの開発は21世紀前半の保存修復学の変革に極めて有意義である (図1)。

さらにEVA+C微粒子を接着システムに配合することにより、歯髄面において歯髄側での修復 (第3) 象牙質 (Internal tertiary Dentin) (ITD) の形成のみならず欠損窩洞側での修復 (第3) 象牙質 (External tertiary dentin) (EDT) の形成を可能にする試みは申請者らが世界に先駆けて展開しており、極めて独創的なものである (図2)。

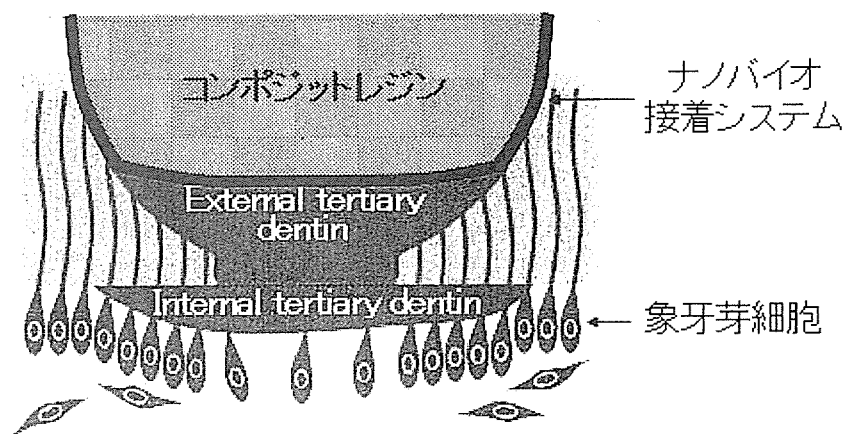


図2. ナノバイオ接着システムによる象牙質再生のコンセプト

最近象牙質接着界面の劣化に象牙質基質に存在するマトリックスメタルプロテアーゼ (MMP) が注目されている。すなわちう蝕進行時あるいは接着治療時に界面においてMMPが活性化されることによって周辺の象牙質コラーゲンが加水分解され、接着界面の劣化が生じることが知られている。申請者らは、既にこのMMP活性がセルフエッチングプライマー処理によって上昇することを報告している (Nishitani *et al*, Eur J Oral Sci, 114, 2006)。しかしながら長期的な観点から接着界面におけるMMP活性の検討は全くなされておらず、その点からも本研究が国内外を通じてはじめてであり、特に創造的な点である。

4. 結果および考察

本研究により、脱灰象牙質再石灰化と修復象牙質形成を同時に可能とするナノバイオ接着システムが実現できれば、現在わが国の一般歯科医療において多数行われている抜髄処置は大きく減少することが予想され、失活歯の破折や二次う蝕による抜歯を大幅に減少することが可能となる。

歯科の再生医療の代表としてインプラント治療が急速に普及しているが、その一方で戦略的抜歯の名のもとに保存可能な多くの歯が容易に抜歯されているのも事実である。現在の接着修復手法にHAPナノ技術やEVA+Cバイオ技術を導入した象牙質再生療法の実現は、ミニマム・インターベンション (MI) と再生を2大コンセプトとする新時代の保存修復学の確立に極めて有意義である。さらに、世界に類をみない超高齢化社会に突入したわが国において近年急速に増加している根面う蝕や象牙質知覚過敏症の決定的な治療法につながる可能性を有しており、国民のQOLを高める上でも極めて意義が大きい。

イメージング質量分析を用いた生体組織評価 (2)

東北大学大学院環境科学研究科

○佐藤 義倫・田路 和幸

ブルカー・ダルトニクス株式会社

斐澤 崇

イメージング質量分析を用いたフラーレンの体内動態可視化

フラーレンは非常に安定な構造 (sp^2 混成軌道) を有することが知られており、また化学修飾を行うことにより水溶化も可能であることから、抗がん剤、バクテリ、また C_{60} の生体代謝機能などの基礎的研究が行われている。特に近年のナノ材料の生体内代謝分布は非常に重要な研究である。XSAM、SEM-EDX、EPMA などの測定装置では、炭素で構成されているフラーレン (C_{60}) を有機化合物である生体内で検出することは不可能である。一方、 C_{60} に放射性元素をラベルリングすることで、生体内代謝分布が調べられているが、放射性元素を扱うには設備が必要であり、容易な実験ではない。そこで、我々は C_{60} 誘導体の修飾部位である sp^3 結合にエネルギーを与えると、 C_{60} と誘導体に容易に解離することに注目した。このようなフラーレン誘導体は以下のようなイメージング分子として使用できると考える；目的のマーカースに選択的に結合するような水溶化フラーレン

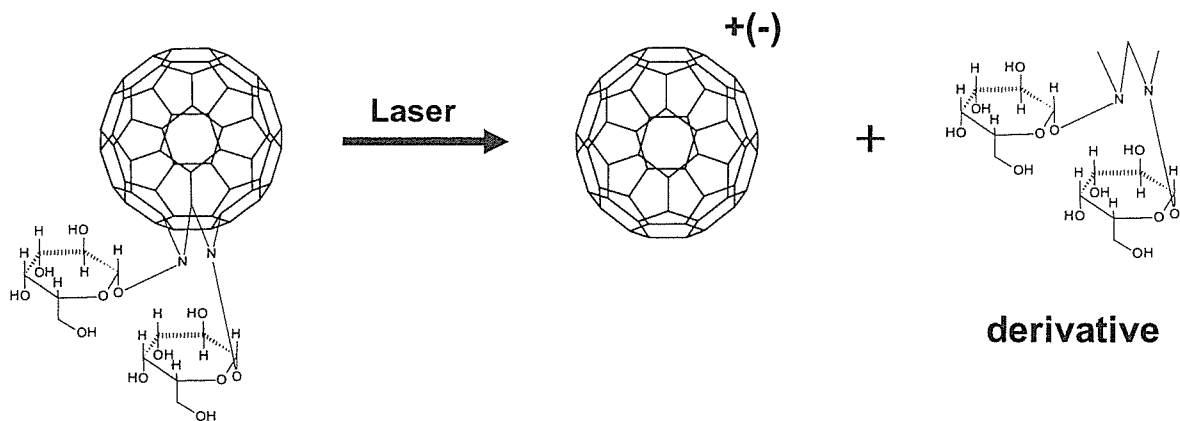


図1 水溶化フラーレンの解離モデル

を設計して生体組織に導入し、マーカ一部分にフラーレン誘導体を結合させる。その部分を含む組織を切片化し、イメージング質量分析を行う。TOF-MS のレーザーによるエネルギーでマーカが存在した部分のみからイオン化が起り、解離イオンであるフラーレンを測定することにより、生体内のどの部位に C_{60} 誘導体が濃縮しているのかイメージング像を撮ることができる (図 1)。今回は、ガラクトースを 2 つ導入した C_{60} サンプル ($Gal_2-C_{60}-(OH)_n$) をラットの肝臓に注入し、その切片をイメージング質量分析することにより、肝臓内で $Gal_2-C_{60}-(OH)_n$ がどのように分布しているか測定を行った。詳しい結果は、当日報告する予定である。