

研究課題別評価

1 研究課題名:無機ナノ粒子・有機・細胞三元複合体による生体活性材料の開発

2 研究者氏名:古園 勉

3 研究の狙い:

ハイドロキシアパタイト(HAp)は、骨や歯のような硬組織だけではなく、軟組織に対しても高い親和性があることが知られてきた。この特性を用いて体外から体内へと貫通する経皮デバイスの細菌感染防止具として応用されたが、セラミックスが有する硬い脆いという性質から、臨床で有効ではなかった。これらの経緯から、真に長期に生体と接合し外部からの細菌感染を防止する経皮デバイスが強く望まれている。本研究では基材となる高分子の機械的特性を保持したまま、HApセラミックスの生体活性を発現し、さらに再生医療技術を導入した新しい材料・デバイスの開発を目指した。

4 研究成果:

(1) 二元複合体の創出

まず無機・有機複合材料(二元複合体)を創出するために、次の二つの基盤技術を開発した；
基盤技術：ナノスケールHAp単結晶の粒径および形態制御技術、
基盤技術：界面共有結合導入による無機・有機複合化技術。

マイクロエマルジョン法を独自に改良することによって、HAp単結晶の粒径および形態制御が可能であることを見いだした。複合化に用いたHApナノ粒子は長径100-200nmで板状～ロッド状構造をなし、構造中にカーボネートを含むことから高い生体活性を有することが推察された。HAp焼結体表面に存在する水酸基と共有結合で結合する反応性基としてアルコキシシリル基が知られている。それらの官能基を末端に有するモノマーを高分子基材(シルク繊維)上にグラフト重合し、そのグラフト鎖を足場としてHApナノ粒子を固定化した。このナノHAp粒子と繊維上にグラフトポリマーの官能基を介して共有結合させ二元複合体を創出した。得られた繊維の機械的特性は未処理繊維とほぼ同一でありながら、その表面はセラミックスの特性を示した。

(2) 経皮デバイスへの加工

調製したHAp化繊維を繊維長約100 μ mに切断し、シリコンラバーで成型加工したボタン状基板に複合繊維を植毛法にて三次元的にコートして、ボタン状構造体を製造した。ボタン状構造体の中心部に空けた孔を通してカテーテル本体を挿入することにより、経皮デバイス試作品を製造した(図1)。経皮ボタンの大きさ、角度、孔径等は、動物実験を繰り返すことにより最適化した。現在進行している動物インプラント試験では半年以上の有効な生体接着性が得られている。

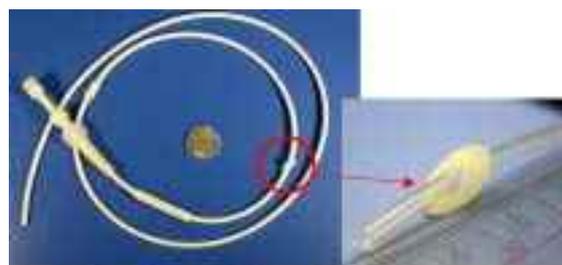


図1: 経皮ボタンを装着した中心静脈カテーテル試作品

(3) 三元複合体(細胞ハイブリッド化無機・有機複合体)の創出

上記の二元複合体からなるボタン状構造体に細胞機能を付与するために、動物同腹仔の歯根膜線維芽細胞、骨髄細胞および自家皮膚細胞を複合化させた。短期動物インプラント試験において、術後三日目で繊維性細胞外マトリックスの形成が確認できた。対照サンプル(二元複合体)に比較して早期の創傷治癒効果が認められた。これは移植前に細胞が生着することにより新鮮なコ

ラーゲン等の接着性タンパク質を放出し、細胞外マトリックスを形成したことによる効果と考えられ、外来細胞が生体代謝系に準じて長期に生着することにより、長期に安定した生体接着性が得られる可能性が期待された。

(4) 派生成果

1. 水系溶媒中におけるアルコキシシリル基含有グラフト重合法の確立

アルコキシシリル基を有する物質は水と激しく反応し、当該官能基が分解するため、一般に禁水系溶媒で用いられている。今回、生体に対する安全性およびコスト面の有利性から、水中でアルコキシシリル基の反応性を保ったまま試用できる技術を開発した。

2. ナノ粒子球状自己集合体の創出

当該研究にて用いたナノHAp微粒子を特定の溶媒中で超音波処理を施すことにより、微粒子が自己集合化することを見いだした。この粒径分布は、市販の最も粒度分布が狭いとされる製品に比較して著しく狭いことが明らかとなった。一般的な球状粒子製造法(プラズマスプレー法)に比較して、製造法が単純であり大きな設備を必要としないことから、工業的に有利であることが見いだされた。

3. 高分散性 HAp ナノ粒子の創出

これまで、HAp 焼結体を製造する場合に、焼結時に粒成長および粒凝集が生じ二次粒子が生成されるため、分散媒中で HAp 粒子を分散させることは非常に困難であった。粒子焼結前にカルシウム塩過飽和溶液と混合することにより、HAp ナノ粒子を分散媒中でほぼ単分散で分散できる HAp 製造法を開発した。

5 自己評価:

当該研究では、新規なナノ無機粒子・有機・細胞三元複合体を創出し、得られた複合体より細菌感染防止能を有する経皮デバイスの製造技術を確立した。さらに、平成17年4月1日より、さきがけで得られた研究成果を新規助成事業(研究成果活用プラザ大阪:事業化のための育成研究課題名「細菌感染防止を実現する界面融和型経皮デバイスの開発」)へ展開させ、臨床応用および事業化を目指す。以上のことから、さきがけにおける当初の研究計画は十分に達成されたと考えている。

6 研究総括の見解:

患者の体外から体内へ貫通する経皮デバイスには(ア)機械的強度、(イ)安定性、および(ハ)生体との親和性、が求められるが、実用化されているものは未だ性能が不十分である。この困難を克服するため、本研究では新しい方法で無機ナノ粒子・有機材料および生体細胞の複合体を形成することを試みた。開発した基盤技術は(a)ハイドロキシアパタイト(Hap)微結晶の粒径制御、(b)界面共有結合による絹繊維と Hap との複合化、(c)複合体と細胞の複合化、である。これにより経皮デバイスを試作し、動物インプラント実験を行ったところ、6 月以上の有効な生体接着性が得られている。これらの研究結果は5篇の原著論文、9件の特許出願、にまとめられ、また学会での招待講演は4件に及ぶ。先端的な材料技術を発展させて、医用デバイスの分野で革新的な試作品開発までを行い、関係方面へのインパクトが大きい。その発展研究はJST成果活用プラザ大阪のプログラムに採択されており、今後の展開が期待される。全体として当初計画を超えた成果が挙げられていると判断します。

7 主な論文等:

“さきがけの成果を発表した論文、特許、受賞、招待講演等のうち主要なもののみをそれぞれ分けて(論文、特許、受賞、招待講演等に分類して)記載してください。”

【原著論文】

- 1) T.Furuzono, J. Tanaka and A. Kishida, Nano-scaled hydroxyapatite/polymer composite I. Coating of sintered hydroxyapatite particles on poly(-methacryloxypropyl trimethoxysilane)-grafted silk fibroin fibers through chemical bonding, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **15**, 19-23 (2004).
- 2) A. Korematsu, T.Furuzono, S. Yasuda, J. Tanaka and A. Kishida, Nano-scaled hydroxyapatite/polymer composite II. Coating of sintered hydroxyapatite particles on poly(2-(o-[1'-methyl-propylideneamino] carboxyamino) ethyl methacrylate)- grafted silk fibroin fibers through covalent linkage, *J. Mater. Sci.* **39**, 3221-3225 (2004)
- 3) A. Korematsu, T. Furuzono, S. Yasuda, J. Tanaka and A. Kishida ,Nano-scaled hydroxyapatite/ polymer composite III. Coating of sintered hydroxyapatite particles on poly(2-(4-methacryloyloxy-ethyl trimellitate anhydride)-grafted silk fibroin fibers, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* in press.
- 4) T. Furuzono, S. Yasuda, T. Kimura, S. Kyotani, J. Tanaka and A. Kishida, Nano-Scaled Hydroxyapatite/Polymer Composite IV.Fabrication and Cell Adhesion of a 3D Scaffold Made of Composite Material with a Silk Fibroin Substrate to Develop a Percutaneous Device, *J. Artif. Organs*, **7**. 137-144 (2004)
- 5) T. Furuzono, S. Yasuda, J. Tanaka and A. Kishida, A unique preparation method of self-assembled spherical particles consisting of hydroxyapatite nanocrystals modified by amino groups, *J. Mater. Sci. Lett.* in press

【特許】

(2)特許出願

・研究期間累積件数:国内 8 件、国外 3 件

・出願リスト

1)

発 明 者:古菌 勉、岸田晶夫、田中順三、松田 篤

発明の名称:ハイドロキシアパタイト複合体およびその製造法、ならびに、それを用いた医療用材料

出 願 人:科学技術振興機構、国立循環器病センター総長、独立行政法人物質・材料研究機構

優先権主張公開番号(公開日):特開 2004-51952(平成 16 年 2 月 19 日)

優先権主張出願番号(出願日):特願 2003-122961(平成 15 年 4 月 25 日)

優先権基礎番号(出願日):特願 2002-158278(平成 14 年 5 月 30 日)

PCT 公開番号(公開日):WO 03/102059 A1(2003 年 12 月 11 日)

USP、EP、カナダ への移行完了

2)

発 明 者:古菌 勉、岸田晶夫

発明の名称:リン酸カルシウム複合体およびその製造法、ならびにそれを用いた医療用材料

出 願 人:科学技術振興機構、国立循環器病センター総長

公開番号(公開日):特開 2004-331723(平成 16 年 11 月 25 日)

出願番号(出願日):特願 2003-125958

他に出願中 6 件

【受賞】

無し

【招待講演】

- 1) 古園 勉, 無機・有機複合体からなる組織接着性バイオインターフェイスの開発, 液晶学会リोटロピックフォーラム第6回講演会, 2002年10月18日, 産業技術総合研究所, 東京・臨海副都心, 招待講演
- 2) 古園 勉, 医療現場からのベンチャー創出: 無機ナノ粒子・高分子複合材料から医療用デバイスの開発を目指して, JST 大学発ベンチャー創出事業推進インテリジェント微粒子創製プロジェクト第3回学術講演会, 2004年8月27日, 招待講演
- 3) 古園 勉, 岡田正弘, 安田昌司, 田中順三, 岸田晶夫, ナノセラミックス複合化によるボタン型経皮デバイスの開発, 第42回日本人工臓器学会大会, 2004年10月5日~7日, 予稿集P.S-29 東京新宿 京王プラザホテル, シンポジウム招待講演
- 4) T. Furuzono, Development of Bioactive Material of an inorganic Nanoparticle-Organic Composite for Soft Tissue, 日仏ナノテクワークショップ, 2005年2月23-24日, 東京ビッグサイト, 招待講演