

(V) バイオセラミックスの誕生とその展開: 5

京都大学名誉教授 中部大学名誉教授

小久保 正

連絡先 kokt1641@ares.eonet.ne.jp

先に開発された骨と結合するセラミックスは、天然骨に比べなおいくつかの改良されるべき問題点を持っていた。そのため、必要とされる骨補填材の中、人工材料が使われるのは40%を越えることができなかつた。改良されるべき問題点とは、操作性、柔軟性、破壊靱性、骨形成能などであった。従ってこれらの難点を克服する研究が、これ迄試みられてきた。それらの研究がどこまで進んだかを以下に紹介する。

15. 生体活性セメントの開発

骨欠損部は、しばしば複雑な形状をしている。どんな複雑な形状の骨欠損部にもぴったりはまり、骨と同等の力学的性質を示し、しかも短期間に周囲の骨と強く結合する材料が求められる。使用前には、粉末と液体からなり、使用直前に混ぜ合わせると、混合体は次第に粘性を増加させ、適当な粘度を示す段階で体内に注入されると、骨欠損部を隙間なく満たし、しばらくすると硬化し、さらにしばらくすると周囲の骨と自然に強く結合する生体活性セメントがあれば、この要求を満たす。

人工関節の分野では、金属製の関節部材を周囲の骨に固定するため、その隙間にポリメチルメタアクリレートのモノマーと高分子粉末を混ぜ合わせた混合体を詰め、体内で硬化させる骨セメントが用いられてきたが、このセメントは、周囲に線維性被膜を作るので、骨と結合しない。

門間らは、1976年に $\alpha\text{-}3\text{CaO}\cdot\text{P}_2\text{O}_5$ 粉末を60~100°Cの水と混ぜると、アパタイトを形成して固まることを見出した[1]。この混合物は、固まるのに長時間を要したが、その後BrownとChowが1986年に $4\text{CaO}\cdot\text{P}_2\text{O}_5$ と CaHPO_4 の混合粉末を水と混ぜると、体温で30~60分以内にアパタイトを析出して固まることを明らかにし、上記の目的に用いる生体活性セメントが現実的となった[2]。その後、リン酸カルシウムの組み合わせをいくらか変化させ、それに微量成分を添加し、また液相に種々の酸をいくらか加えるなどの工夫が加えられ、いくつかのリン酸カルシウムセメントが実用化された。日本でも、HOYAからバイオペックスが、日本特殊陶業からセラペーストが商品化されている。ただし、これらの圧縮強度は、最大で60MPa程度で高くない[3]。

筆者らは、 $\text{CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ ガラス粉末をリン酸水素二アンモニウムとリン酸二水素アンモニウムの混合水溶液に混ぜると、4分以内に硬化し、擬似体液あるいは体内でアパタイトを析出して3日後には80MPaの圧縮強度を示し、骨と自然に結合するセメントが得られることを明らかにした[4]。しかし、このセメントは、アパタイト析出時にアンモニウムイオンを体内に溶出するので、実用化されなかつた。

また、結晶化ガラスA-Wの粉末をビスフェノール-a・グリシジルメタクリレート(Bis-GMA)とトリエチレングリコールジメタクリレート(TEG-DMA)の混合モノマーと混ぜると、混合体は体内で数分以内に固ま

り、高い靱性を示し、表面にアパタイト層を作ってそれを介して骨と結合するセメントが得られることを明らかにした[5]。しかし、このセメントは、体内で表面から TEG-DMA モノマーを溶出する問題点があり、実用化されなかった。

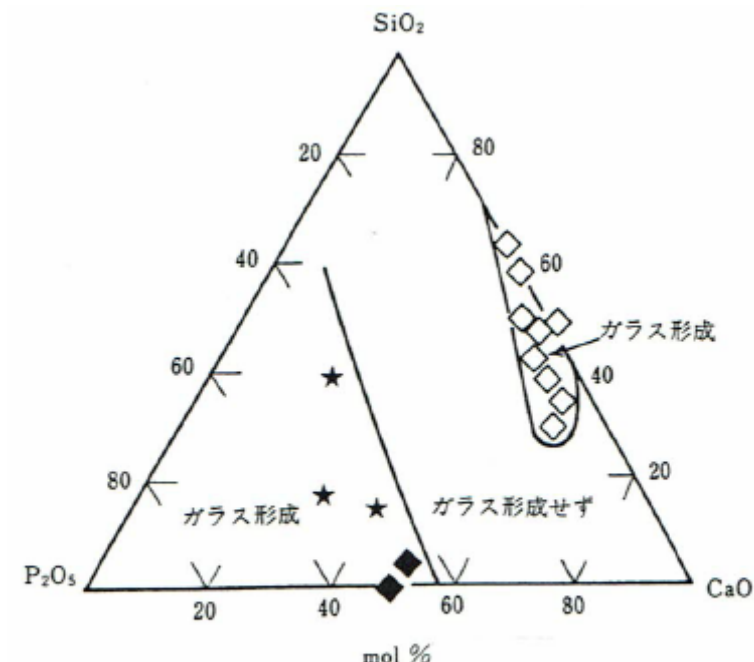
16. 生体活性評価法の提案

様々な力学的性質を示す生体活性材料を開発するには、生体活性を示すためには、どんな条件が必要かが明らかにされていると、便利である。従来暗黙の裡に、生体活性を示す材料は、リン酸カルシウムを主成分としていなければならないと考えられていた。しかしもしリン酸カルシウムを含まない材料でも、生体活性を示し得るとすれば、生体活性を示す材料の力学的性質の幅は大きく広がる。

そもそも材料の生体活性、すなわち骨結合性は、材料を動物の骨欠損部に埋入し、しばらくして取出してみなければ判定できないのであろうか。

そんな疑問の下で、筆者らは、Bioglass[®]、結晶化ガラス A-W、焼結水酸アパタイトなど骨と結合するセラミックスは、すべて生体内で材料表面に骨類似アパタイトの薄層を作り、それを介して骨と結合することを見出し、さらにこれら材料は、イオン濃度だけをヒトの血漿のそれにほぼ等しくした、たん白も、細胞も含まない擬似体液 (SBF) 中でもその表面にアパタイト層を作ることを見出した。その結果から、1991年に、ある材料が骨と結合するかどうかは、SBF 中でその表面に短期間にアパタイト層を作るかどうかを調べれば、動物実験をしなくても、知ることができると提案した。以後、多くの研究者が新しい材料の骨結合性を評価するために SBF を使うようになり、2006年に“SBFは骨結合性を評価するためにいかに有効か”と題する論文[6]を発表すると、この論文は、2006～2010年に材料分野の論文で世界で最も頻繁に引用された論文となった。さらにこの SBF は、2007年には ISO 23317として国際標準規格に登録された。

大槻らは、SBF を使って、CaO-SiO₂-P₂O₅系ガラス表面でのアパタイト形成能を調べ、図1に示すように、CaO-SiO₂ガラスはアパタイトを作るが、CaO-P₂O₅ガラスはアパタイトを作らないことを明らかにした[7]。



◇：ヒドロキシアパタイト形成、◆：ヒドロキシアパタイト形成せず、★：溶解

図1. CaO-SiO₂-P₂O₅系ガラス表面でのアパタイト形成の組成依存性 (SBF 浸 28 日後) (文献7)

この結果は、リン酸カルシウムは、生体活性材料の必須成分でないことを示している。一方、Liらは、ゾ

ゾルーゲル法で作った金属酸化物ゲルのアパタイト形成能を SBF 中で調べ、図 2 に示すように、 SiO_2 , TiO_2 , Nb_2O_5 , Ta_2O_5 などのリンもカルシウムも含まない金属酸化物ゲルもアパタイトを形成することを示した[8]。材料がアパタイトの核形成を誘起しさえすれば、その核は、体液中のリンとカルシウムを取り込んで自然に成長し得るからである。

この結果は、どんな組成のセラミックスも、金属も、有機高分子もアパタイトの核形成を誘起しさえすれば、アパタイトを形成し、それを介して骨と結合し得ることを示している。

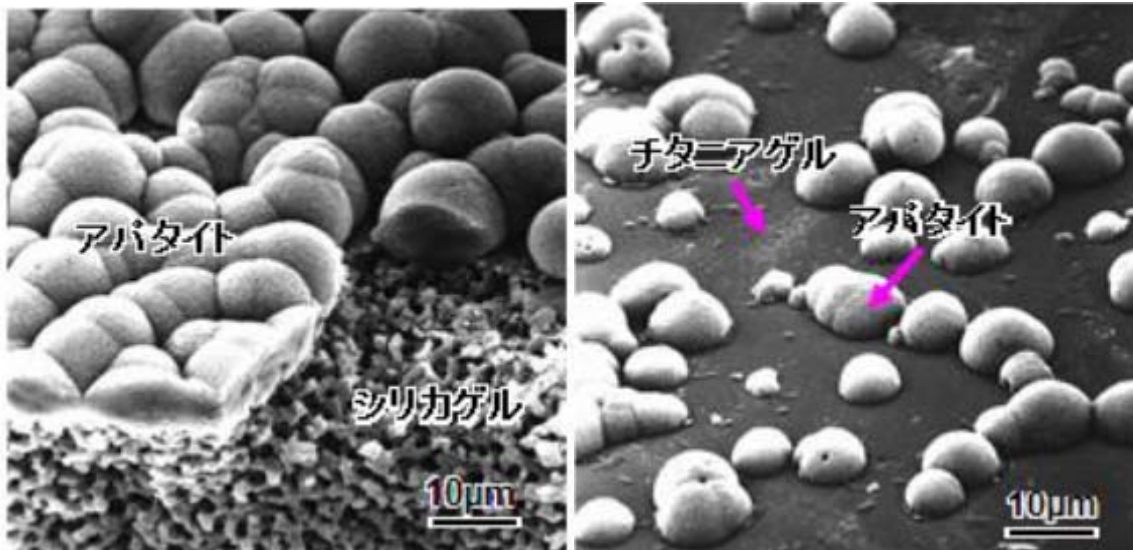


図 2. SBF 中でシリカゲルおよびチタニアゲル上に形成されたアパタイト (文献 8)

17. 生体活性無機—有機ハイブリッド材料の開発

ゾルーゲル法によれば、 CaO-SiO_2 [9]や $\text{CaO-SiO}_2\text{-TiO}_2$ [10]などの無機成分をポリメチルシロキサン ($\text{PDMS:HO-[Si(CH}_3)_2\text{-O]}_n\text{-H}$) などの有機成分と分子レベルで結合させた無機—有機ハイブリッドを作ることができる。同ハイブリッドは、柔軟性を示すと共に、SBF 中でアパタイトを形成するので、柔軟性を示す骨結合性人工骨として有用ではないかと考えられる。ただし、同ハイブリッドは、体液環境下で機械的強度を低下させる難点を有する[11]。

18. アパタイト—有機高分子繊維複合体の開発

骨は、ナノサイズのアパタイト粒子とコラーゲン線維からなる 3 次元複合体である。天然骨のコラーゲン線維と同様の三次元構造体を合成高分子繊維で作成し、その繊維の表面にアパタイトの核形成を誘起する官能基を付けた後、SBF に漬けると、個々の繊維の表面にナノサイズの骨類似アパタイト粒子が析出し、天然骨と同様の力学的性質と骨結合性を示すアパタイト/有機高分子繊維複合体が得られると期待される。例えば、二次元に織ったエチレン—ビニルアルコール (EVOH) 共重合体の表面にカルシウムシリケート層をゾルーゲル法により形成させ、SBF に漬けると、図 3 に示すように 2 日以内に個々の繊維表面にナノサイズのアパタイトが均一に析出する[12]。ただし、この方法で、3 次元構造体を作成することは容易でない。

19. 生体活性有機高分子の開発

ポリエチレンテレフタレート (PET) とポリエーテルエーテルケトン (PEEK) は、その低い弾性係数と比較的高い機械的強度、化学的安定性を生かして、それぞれ人工靭帯や人工椎体などとして用いられている。しかし、これらの有機高分子は骨と結合しないので、これらを周囲の骨に固定させるため自家骨移植を必

要とする。これらを骨と結合させるため、水酸アパタイトの薄層をスパッタ法などによりコーティングする方法が提案されているが、その層の基板への固定は安定でない。

筆者らは、これら基板を紫外線照射や酸素プラズマ処理した後、あるいは酸化チタン微粒子でプラスト処理した後、その表面にチタニアゾルをコートすると、チタニゲル薄層が基板に強固に結合するようになり、さらに塩酸処理を施すと、図4に示すように、同チタニゲル層はSBF中で表面にアパタイトを作るようになることを見出した[13,14]。これら高分子基板は、骨欠損部に埋入されると、周囲の骨と強固に結合することが確かめられた [15,16]。

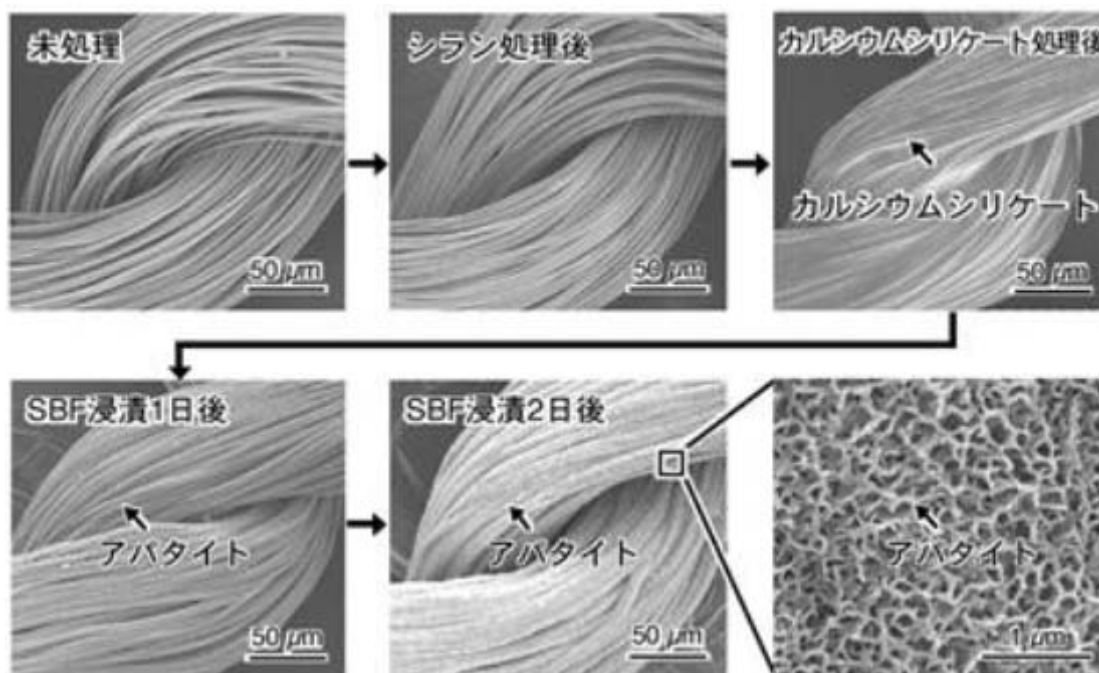


図3. 二次元に織ったEVOH繊維にシランカップリング処理を行った後、カルシウムシリケート層をゾルゲルコーティングし、SBFに漬けた時、表面に析出したナノサイズのアパタイト（文献12）

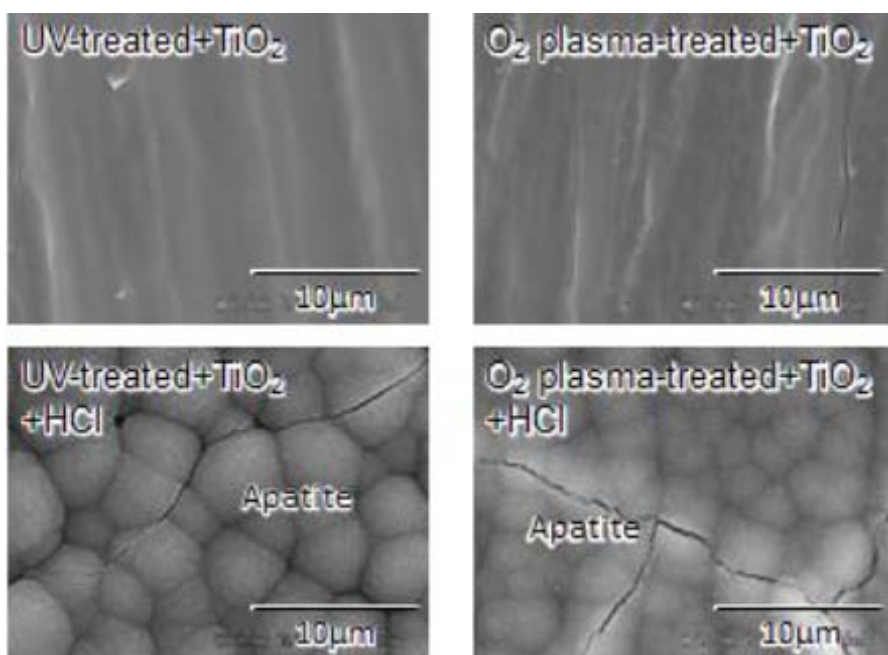


図4. UV照射あるいは酸素プラズマ処理後、チタニアゲルをコーティングしたPEEK基板を塩酸処理後SBFに漬けると、アパタイトが析出する（文献14）

20. 生体活性金属の開発

人工関節などの大きな荷重の加わる部分には、ステンレス鋼や、Co-Cr-Mo 合金、チタンとその合金などの金属材料が用いられる。しかし、これら金属は骨と結合しないので、長期の間には、固定が緩む恐れがある。これら金属材料の中、最も生体親和性に優れているのは、チタンとその合金であるが、これらも骨と結合しない。そこで、これら金属材料表面に水酸アパタイトなどの層をプラズマ溶射などの方法でコーティングする試みが行われてきたが、それらコーティング層は、体内で長期間安定でない。

そこで、これら金属に生体内でアパタイトを形成する能力を与える表面処理法が、イオン注入法、電気化学的処理法、温水処理法などにより試みられてきた。しかし、これらは特別な装置を必要とするばかりでなく、大型の複雑形状の医療機器に適用し難い。

筆者らは、簡単な化学処理と加熱処理だけで、チタン金属およびその合金に生体内でアパタイトを形成する能力と骨結合能力を付与し得ることを明らかにしてきた。

例えば、チタン金属を 5 M の NaOH 水溶液に 60 °C で 24 時間浸漬し、600°C で 1 時間加熱処理すると、表面の厚さ 1 μ m の層にチタン酸ナトリウムが形成され、このチタンを SBF に浸漬するとアパタイト層を形成し[17]、骨欠損部に埋入された時もアパタイト層を形成し、それを介して骨と強く結合する[18]。この時界面に垂直に引っ張り応力を加えると、破壊が界面ではなく、骨の中で生じる。この生体活性チタンは、2007 年に我が国で、図 5 に示すように人工股関節に実用化され、すでに 20,000 人以上の人に使用され、良い評価を得ている[19]。

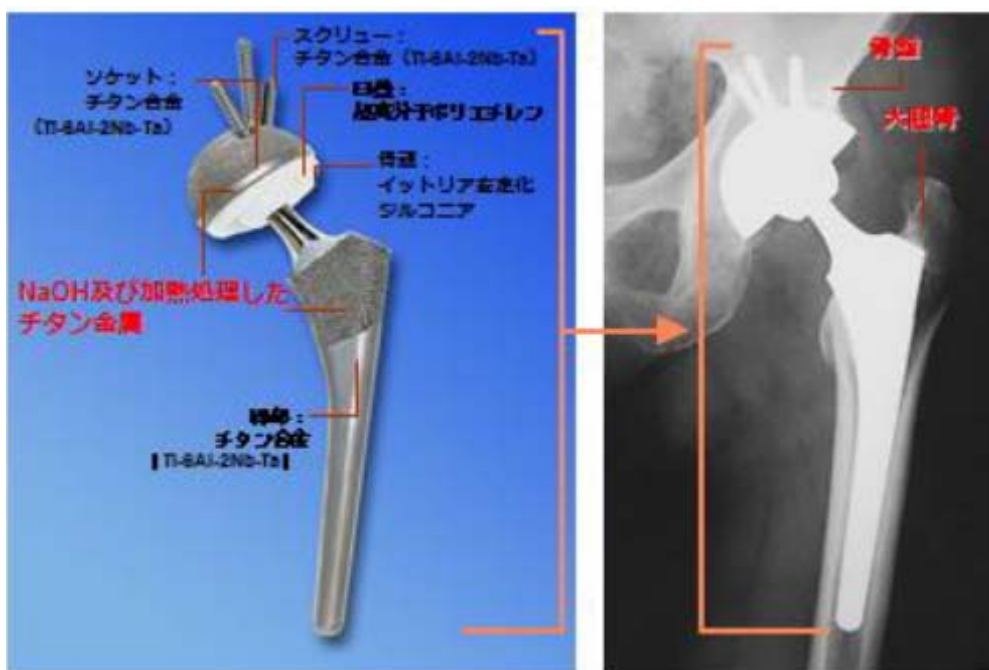


図 5. NaOH 及び加熱処理を施した生体活性チタンを用いた人工股関節(文献 19)

金属を、同様に NaOH 処理した後、CaCl₂ 水溶液に浸漬し、同様に 600°C で加熱処理した後、さらに温水処理に付すと、表面の厚さ 1 μ m の層にカルシウム欠損型チタン酸カルシウムが形成され、チタン金属だけでなく、種々のチタン合金も SBF 中でアパタイトを形成し[20]、骨欠損部に埋入された時、骨と強く結合するようになる[21]。この処理の際、CaCl₂ 水溶液に、Mg や Sr, Zn などの骨形成促進成分を加えておく

と、それらイオンが金属表面に入り、体内で徐々に溶出し、骨形成を助ける効果を示す[22]。最後の温水に AgNO_3 を加えておくと、 Ag イオンが金属表面に入り、体内で徐放し、抗菌性を示すようになる[23]。

チタン金属を、 NaOH 水溶液に代えて、 $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HCl}$ 混酸水溶液に浸漬し、同じ 600°C で加熱処理すると、ルチル型の酸化チタンが表面に析出し、SBF 中でアパタイトを作り[24]、骨欠損部に埋入されると、骨と強く結合するようになる[25]。この処理を連通孔のある多孔質チタンに適用すると、同チタンは腹部の筋肉内でも骨を作る、骨誘導能を示すようになる[26]。この種の生体活性多孔体は、図6に示すように、骨移植なしで固定される人工椎体として実用化するため、臨床テストが進められている[27]。



図6. 生体活性多孔質チタンの人工椎体 (文献 27)

チタン金属を、 pH を系統的に変化させた水溶液に浸漬した後、 600°C で加熱処理すると、同金属は図7に示すように、強酸あるいは強アルカリ溶液に晒された後加熱処理された場合には、SBF 中でアパタイト形成能を示すようになり[28]、骨と結合するようになる。これは、強酸あるいは強アルカリ溶液に晒された後加熱処理されたチタン金属は、表面を、図7に示すように正または負に帯電し、リンあるいはカルシウムイオンを選択的に吸着し、アパタイト形成を誘起するためである。酸処理もアルカリ水溶液処理もしない、チタン金属は、中性の電荷しか示さないで、アパタイト形成能も骨結合能も示さない。

チタン金属以外では、タンタル金属も簡単なアルカリ処理と加熱処理で、アパタイトを作り、骨結合性を示すようになる[29]。

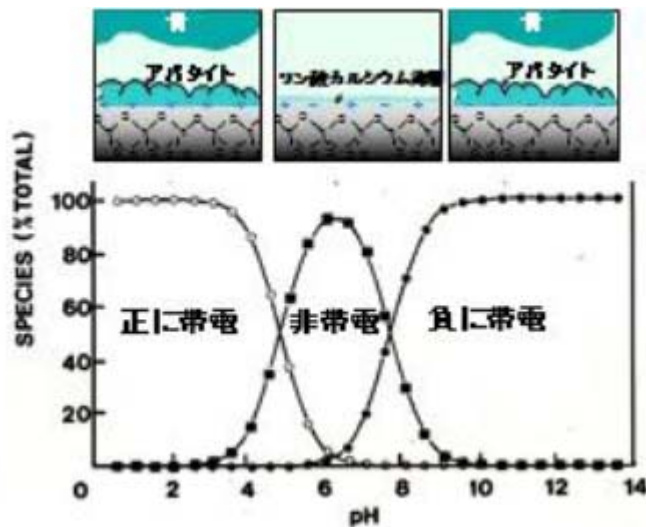


図7. 溶液-加熱処理チタンの SBF 中におけるアパタイト形成能の溶液の pH 依存性 (文献 28)

21. おわりに

1970 年の Bioglass[®] の発明から始まった医用セラミックスの研究は、様々な骨と結合する材料を生み出し、癌治療に有効な材料まで生み出し、医療に大きく貢献してきた。この間、世界の多くの国の大学や研究所にセラミックスバイオマテリアル関連の研究室が作られ、医用セラミックスの国際会議も毎年開かれるようになった。しかし、今やこの分野の最初期の開拓者のほとんどが舞台を下りる時代を迎えている。アメリカの Hench と LeGeros、日本の大西氏はすでに世を去られた。イギリスの Bonfield、フランスの Sedel、ドイツの Gross、オランダの de Groot、日本の山室隆夫先生もすでに第一線を退いておられる。Bioceramics の科学と技術は、最初の 50 年を走り終え、次の 50 年の飛躍への跳躍台に立っている。

参考文献

- [1] H. Monma, T. Kanazawa “The hydration of α -tricalcium phosphate”, *Yogyo-Kyokai-Shi*, **84**, 209-213 (1976),.
- [2] W.E. Brown, L.C. Chow “A new calcium phosphate, water-setting cement”, in Brown P W. *Cement Research Progress*, Westerville, American Ceramic Society, 1986, 351-379.
- [3] K. Ishikawa, “Calcium phosphate cement” in *Bioceramics and their clinical applicaitons*, ed. by T. Kokubo, Woodhead Publishing, Cambridge, 2008, pp. 438-463.
- [4] T. KoKubo, S. Yoshihara, N. Nishimura, T. Yamamuro, T. Nakamura, “Bioactive Bone Cement Based on $\text{CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ Glass”, *J. Amer. Ceram. Soc.*, **74**, 1739-1741 (1991).
- [5] K. Kawanabe, J. Tamura, T. Yamamuro, T. Nakamura, T. Kokubo and Yoshihara, ”A New Bioactive Bone Cement Consisting of BIS-GMA Resin and Bioactive Glass Powder”, *J. Appl., Biomater*, **4**, 135-141 (1993).
- [6] T. Kokubo, H. Takadama, “How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?”, *Biomaterials*, **15**, 2907-2915 (2006).
- [7] C. Ohtsuki, T. Kokubo, T. Yamamuro, “Mechanism of Apatite Formation on $\text{CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ Glasses in a Simulated Body Fluid”, *J. Non-Cryst. Solids*, **143**, 84-92 (1992).
- [8] P. Li, C. Ohtsuki, T. Kokubo, K. Nakanishi, N. Soga, K. de Groot, “The Role of Hydrated Silica, Titania, and Alumina in Inducing Apatite on Implants,” *J. Biomed. Mater. Res.*, **28**, 7-15

(1994).

- [9] K. Tsuru, C. Ohtsuki, A. Osaka, T. Iwamoto, J.D. Mackenzie, "Bioactivity of sol-gel derived organically modified silicates, Part I: *In vitro* examination", *J. Mater. Sci: Mater. Med*, **8**, 157-161, (1997)..
- [10] Q. Chen, F. Miyaji, T. Kokubo and T. Nakamura, "Apatite Formation on PDMS-Modified CaO-SiO₂-TiO₂ Hybrids Prepared by Sol-Gel process", *Biomaterials*, **20**, 1127-1132 (1999).
- [11] C. Ohtsuki, "Ceramic-polymer composites" in *Bioceramics and their clinical applications*, ed. by T. Kokubo, Woodhead Publishing, Cambridge, 2008, pp.501-517.
- [12] A. Oyane, M. Kawashita, T. Kokubo, M. Minoda, T. Miyamoto and T. Nakamura, "Bone-like Apatite Formation on Ethylene-Vinyl Alcohol Copolymer Modified with a Silane Coupling Agent and Titania Solution", *J. Ceram. Soc. Japan*, **110**, 248-254 (2002).
- [13] T. Kokubo, T. Ueda, M. Kawashita, Y. Ikuhara, G.H. Takaoka, T. Nakamura, "PET fiber fabrics modified with bioactive titanium oxide for bone substitutes", *J. Mater. Sci: Mater. Med.* **19**, 695-702 (2008).
- [14] T. Kizuki, T. Matsushita, T. Kokubo, "Apatite-forming PEEK with TiO₂ surface layer coating", *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **26**:41 (2015).
- [15] T. Saito, M. Takemoto, A. Fukuda, Y. Kuroda, S. Fujibayashi, M. Neo, D. Honjoh, T. Hiraide, T. Kizuki, T. Kokubo and T. Nakamura, "Effect of titanium-based surface modification of polyethylene terephthalate on bone-implant bonding and peri-implant tissue reaction", *Acta Biomaterialia*, **7**, 1558-1569 (2011).
- [16] T. Shimizu, S. Fujibayashi, S. Yamaguchi, K. Yamamoto, B. Otuski, M. Takemoto, M. Tsukanaga, T. Kizuki, T. Matsushita, T. Kokubo, S. Matsuda, "Bioactivity of sol-gel-derived TiO₂ coating on polyetheretherketone: in vitro and in vivo studies," *Acta Biomaterialia*, **35**, 305-317 (2016).
- [17] H-M. Kim, F. Miyaji, T. Kokubo, T. Nakamura, "Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surface treatment", *J. Biomed. Mater. Res.*, **32**, 409-417 (1996).
- [18] W.Q. Yan, T. Nakamura, M. Kobayashi, H-M. Kim, F. Miyaji, T. Kokubo, "Bonding of chemically treated titanium implants to bone", *J. Biomed. Mater. Res.*, **37**, 267-275 (1997).
- [19] K. Kawanabe, K. Ise, K. Goto, H. Akiyama, T. Nakamura, A. Kaneuji, T. Sugimori, T. Matsumoto, "New Cementless Total Hip Arthroplasty with Bioactive Titanium Porous-Coating by Alkaline and Heat Treatment: Average 4.8-Year Results", *J. Biomed. Mater. Res., Part B: Appl Biomater.* **90B**: 47-481 (2009).
- [20] S. Yamaguchi, H. Takadama, T. Matsushita, T. Nakamura, T. Kokubo, "Apatite-forming ability of Ti-15Zr-4Nb-4Ta alloy induced by calcium solution treatment", *J Mater Sci: Mater Med*, **21**, 439-444 (2010).
- [21] A. Fukuda, M. Takemoto, T. Saito, S. Fujibayashi, M. Neo, S. Yamaguchi, T. Kizuki, T. Matsushita, M. Niinomi, T. Kokubo, T. Nakamura, "Bone bonding bioactivity of Ti metal and Ti-Zr-Nb-Ta alloys with Ca ions incorporated on their surfaces by simple chemical and heat treatments", *Acta Biomaterialia*, **7**, 1379-1386 (2011).
- [22] S. Yamaguchi, T. Matsushita, T. Kokubo, "A bioactive Ti metal with a Ca-enriched surface layer

- releases Mg ions”, RSC Adv. **3**, 11274-11282 (2013).
- [23] T. Kizuki, T. Matsushita, T. Kokubo, “Antibacterial and bioactive calcium titanate layers formed on Ti metal and its alloys”, J. Mater. Sci: Mater. Med., **25** 1737-1746 (2014).
- [24] T. Kokubo, D.K. Pattanayak, S. Yamaguchi, H. Takadam, T. Matsushita, T. Kawai, M. Takemoto, S. Fujibayashi, T. Nakamura, “Positively charged bioactive Ti metal prepared by simple chemical and heat treatments”, J.R. Soc. Interface, **7**, S503-S513 (2010).
- [25] T. Kawai, M. Takemoto, S. Fujibayashi, M. Neo, H. Akiyama, S. Yamaguchi, D.K. Pattanayak, T. Matsushita, T. Nakamura, T. Kokubo, “ Bone-bonding properties of Ti metal subjected to acid and heat treatments”, J. Mater. Sci: Mater. Med., **23**, 2981-2992 (2012).
- [26] T. Kawai, M. Takemoto, S. Fujibayashi, H. Akiyama, M. Tanaka, S. Yamaguchi, D.K. Pattanayak, K. Doi, T. Matsushita, T. Nakamura, T. Kokubo, S. Matsuda, “Osteoinduction on Acid and Heat Treated Porous Ti Metal Samples in Canine Muscle”, PLOS ONE, **9**, eBB366 (2014).
- [27] S. Fujibayashi, M. Takemoto, M. Neo, T. Matsushita, T. Kokubo, K. Doi, T. Ito, A. Shimizu, T. Nakamura, “ A novel synthetic material for spinal fusion: a prospective clinical trial of porous bioactive titanium metal for lumbar interbody fusion”, Eur. Spine J., **20**, 1486-1495 (2011).
- [28] D.K. Pattanayak, S. Yamaguchi, T. Matsushita, T. Nakamura, T. Kokubo, “Apatite-forming ability of titanium in terms of pH of the exposed solution”, J.R.Soc., Interface, **9**, 2145-2155 (2012).
- [29] T. Miyazaki, H-M. Kim, T. Kokubo, T. Kato, T. Nakamura, “ Bioactive tantalum metal prepared by NaOH treatment”, J. Biomed Mater. Res., **50**, 35-42 (2000).