

Quarterly e-mail newsletter for

Ceramics Research Forum in Medicine, Biomimetics, and Biology

THE DIVISION

No. 60

August 2013

Editor-in-Chief K. Teraoka, National Institute of Advanced Industrial Science and
Technology (AIST)

Associate Editor T. Miyazaki, Kyushu Institute of Technology
T. Kawai, Yamagata University

Editorial Staffs

J. Hamagami, Kanto Gakuin University
T. Sawamura, NGK Spark Plug Co., Ltd.
S. Hayakawa, Okayama University
K. Ioku, Keio University

K. Ishikawa, Kyushu University
M. Kikuchi, NIMS
S. Nakamura, NIMS

M. Neo, Osaka Medical College
M. Ohgaki, SII Nano Technology Inc.
C. Ohtsuki, Nagoya University
H. Takeuchi, Pharmaceutical and Medical
Devices Agency (PMDA)
N. Tomita, Kyoto University
H. Unuma, Yamagata University

Contents

1. MESSAGE & OPINION.....	3
< 巻頭言 >	
巻頭言	(尾坂明義)
2. INFORMATION ON RESEARCH & DEVELOPMENT.....	4
< 研究者紹介 >	
尾坂先生ご略歴等	(城崎由紀)
< 学会参加記 >	
日本セラミックス協会第25回秋季シンポジウムに参加して	(横井太史)
第16回生体関連セラミックス討論会参加報告	(高橋翔平)
日本セラミックス協会2013年年会	(中村 仁)
Bioceramics 24参加報告記	(桑原良光)
3. INTRODUCTION OF RECENT PAPERS.....	14
< 論文紹介 >	
4. ANNOUNCEMENT.....	30
< 行事案内 >	
< お知らせ >	

1. MESSAGE & OPINION

< 巻頭言 >

巻頭言

岡山大学名誉教授

尾坂明義

いつ頃かは定かでないが横尾先生（京大・化学研究所）とメールでお話をしていて、「背信の科学者」に互いに言及したことがある。日本語翻訳初版は 1988 年（化学同人社）であるから、四半世紀前ということになるだろうか。現状は当時と一向に変わったところがないどころか、そこに無責任と厚顔が加わっている。これは先頃の医薬データ処理のことだけをいうのではなく、最近あることをずっと歴史を遡り調べてわかったことだ。著名国際研究雑誌で、重複投稿であることが判明したため掲載取り消し処分となった論文に出会ったのである。統計的に考えると、そのような事態は多数出来していることになる。さらに、全く同内容ではないが極めて類似した内容の論文は枚挙に暇がなかろう。私事で恐縮だが筆者もレビューから指弾されたことが一度だけある。以前、国際会議プロシーディングス（＝議事録）に掲載された内容を中心に、議論を深めた論文を投稿したとき、二重投稿として拒絶された。同議事録掲載記事は、論文ではないと我々は解釈していたからである。考えようによれば、それだけ我々の研究を見て下さっているのだから、喜ぶべきであったかもしれない。

話を科学者・技術者としての信義に戻そう。仁義礼智忠信孝悌は封建社会と強欲を背景に持つ徳目の列。では、激しい競争社会に生きる現代の我々に求められている徳目・守るべきものは何か。新規材料の開発のみならずその応用の具体まで展開して初めてその材料の評価が定まる生体材料・医用材料の分野にあっては、医療技術者との連携は不可欠である。そこでの倫理観はいかなるものか。科学を含めた文化・芸術活動を単に個人の欲得のなせる技としか見られない為政者を相手に、如何に戦いを仕掛け継続してその進歩に貢献していくのか。骨の折れることではあるが、個人の信とその領域グループの協力による弛まぬ努力しかあるまい。

2. INFORMATION ON RESEARCH & DEVELOPMENT

<研究者紹介>

尾坂先生ご略歴等

一期生が家畜小屋と呼んだ建物からスタートし、数々の事件を起こしながら、みんなで汗水流して走り抜けたあつというまの 20 年。尾坂先生の略歴と、研究室の成長（イラスト）をまとめてみました。
(制作：城崎由紀)

尾坂 明義（おさか あきよし）

昭和 23 年生

【学歴】

昭和 45 年 3 月：岡山大学工学部工業化学科 卒業

昭和 45 年 4 月：京都大学大学院工学研究科修士課程（工業化学専攻） 入学

昭和 47 年 3 月： 同 卒業

昭和 47 年 4 月：京都大学大学院工学研究科博士課程（工業化学専攻） 入学

昭和 49 年 3 月： 同 2 年次終了 中途退学

【職歴】

昭和 49 年 4 月：岡山大学工学部工業化学 助手

昭和 59 年 8 月：カリフォルニア大学ロサンジェルス校材料工学科客員研究員
～昭和 60 年 8 月

昭和 59 年 9 月：京都大学工学博士

昭和 61 年 3 月：岡山大学工学部工業化学科 助教授

平成 5 年 4 月：岡山大学工学部生体機能応用工学科 助教授

平成 6 年 4 月： 同 教授

平成 8 年 4 月：岡山大学工学部生物機能工学科 教授（学科改組）

平成 17 年 4 月：岡山大学大学院自然科学研究科機能分子化学専攻 教授（学部改組）

平成 24 年 4 月：岡山大学大学院自然科学研究科化学生命工学専攻 教授（学部改組）

平成 25 年 3 月：定年退職。現岡山大学名誉教授・特命教授

<第一期尾坂研>



- 各種金属イオンをドーピングしたカルシウムシリケートガラスの生体活性評価
- 生体活性ガラスコーティングによる金属チタン表面への生体活性付与
- 各種金属塩化物を含む過酸化水素水による金属チタン表面の化学処理
- 生体活性ガラス修飾による高分子表面への生体活性付与
- ゼルーゲル法を用いた生体活性有機修飾シリケートハイブリッドの創製
- ゼルーゲル法を用いた各種酸化物粒子の創製と血液適合性評価

<第二期尾坂研>

准教授：早川 聡
助教：都留 寛治 (1999年4月~2008年3月)
教授：尾坂 明義

肖帆 (2005年3月博士(学術))
劉 永興 (2004年9月博士(学術))
趙 佳明 (2006年3月博士(学術))
藤井 英司 (2005年9月博士(工学))

教務員/技官：中村 有里 (6期生) 1999年4月~

部分置換ヒドロキシアパタイトの微細構造の解析
SiHAp
50 nm

武本 真治 (4期生) 2002年3月博士(学術)
浅野 拓司 (7期生) 2007年3月博士(学術)

ガラス表面での酸化チタンナノロッドアレーの創製

柔軟で細胞適合性の高い生分解性高分子-シリケートの作製

油谷 康 (5期生) 2003年3月博士(学術)

東 紀史 (7期生) 2005年3月博士(工学)
山口 勇 (2003年3月博士(工学))

助教：高嶋 征助

任 磊 (2001年3月博士(学術))

吉岡 朋彦 (8期生) 2008年3月博士(学術)
城崎 由紀 (7期生) 2005年3月博士(学術)
勝瑞 哲也 (10期生) 2007年3月博士(学術)

処理前(血小板の粘着) 処理後
表面金属の血液適合性を改善するための表面修飾

(1) 擬似体液中でのアパタイト形成機構の解明

- ・ 生体活性ガラスを用いた各種金属イオン含有擬似体液中でのアパタイト形成機構
- ・ 生体活性材料を用いた各種タンパク質含有擬似体液中でのアパタイト形成機構
- ・ シリカゲルを用いた擬似体液中でのアパタイト形成機構

(2) 金属表面処理および生体活性の付与

- ・ 希薄過酸化水素水を用いた金属チタンおよびチタン合金の表面改質
- ・ 電気化学処理を用いた金属チタンの表面改質
- ・ ゴルーゲル法を用いた金属チタン表面への酸化物修飾
- ・ 紫外線照射による酸化チタンの表面改質

- ガラスの表面反応を利用した金属基板表面への酸化チタンナノアレーの創製
- 化学処理を用いた酸化チタン表面のマイクロパターンニング

(3) 有機-無機複合体の創製と医用工学的応用

- 乳化重合法を用いた有機高分子表面の修飾および生体活性付与
- 生体活性有機修飾シリケートハイブリッドの機械的特性の改善
- 各種有機アルコキシシランを用いた生体活性有機-無機ハイブリッドの創製
- 多孔質生体活性有機修飾シリケートハイブリッドの創製と3次元細胞培養
- 生分解性有機-無機ハイブリッドの創製と細胞足場材料としての応用
- 生分解性有機-無機ハイブリッドを用いた薬物徐放担体の創製
- 生分解性有機-無機ハイブリッドを用いた脳組織再生
- ゼル-ゲル法を用いた高分子不織布への酸化チタン修飾

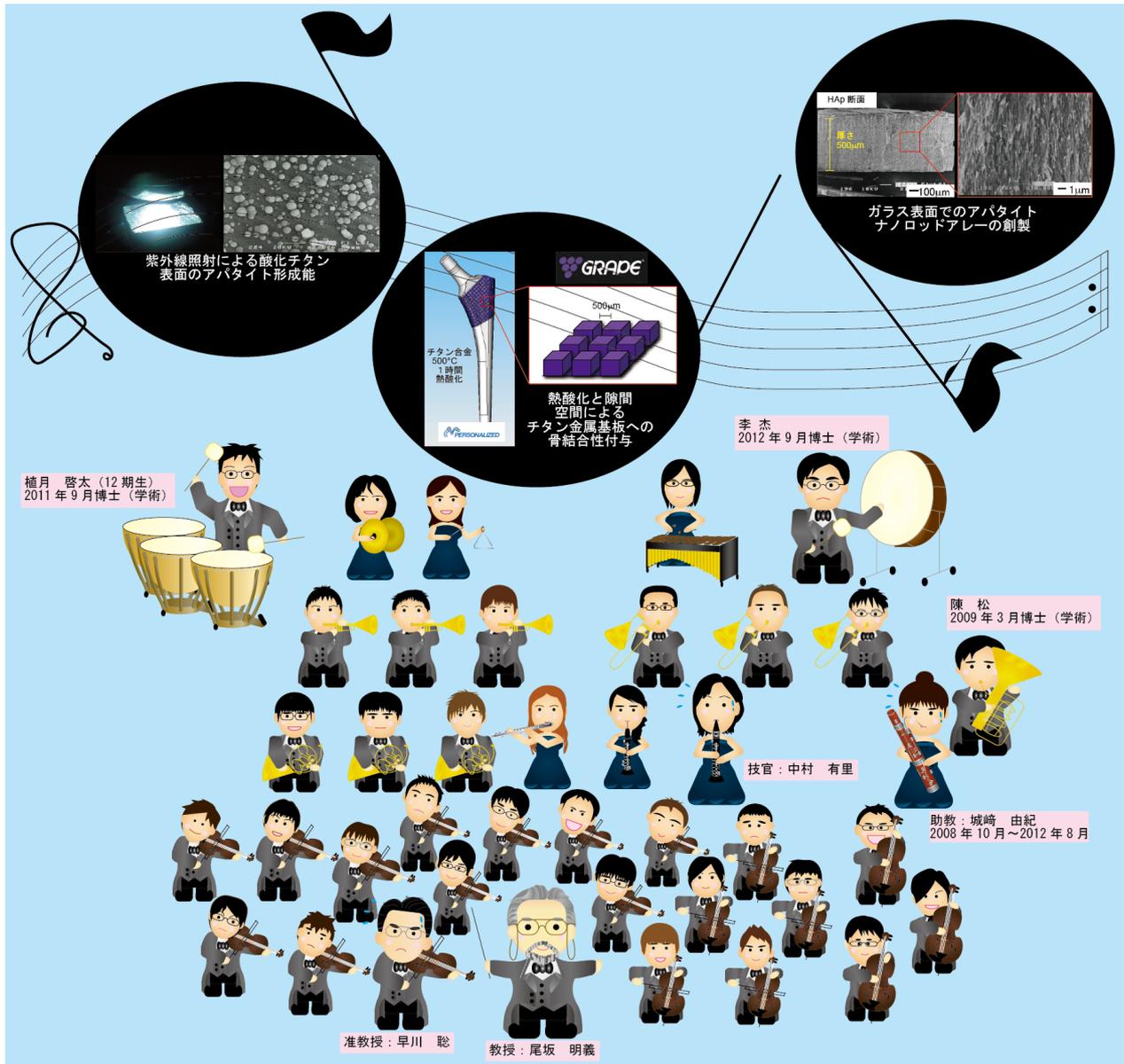
(4) 血液適合性材料の創製

- ゼル-ゲル法を用いた各種酸化物粒子の選択的タンパク質吸着特性
- 各種イオン置換ヒドロキシアパタイトの選択的タンパク質吸着特性
- 有機分子修飾による金属表面の抗血栓性制御
- 化学処理によるTi合金表面の抗血栓性制御
- 各種金属基板の活性酸素消去能評価
- 各種生体活性セラミックス表面でのタンパク質の構造変化

(5) その他

- 固体NMR法を用いたイオン置換ヒドロキシアパタイトの局所構造解析

<第三期尾坂研>



- 空間的デザインと熱酸化によるチタン表面への生体活性付与
- 紫外線照射環境による酸化チタン表面への生体活性付与
- ガラスを用いたヒドロキシアパタイトナノロッドの創製
- ゴルーゲル法による各種有機修飾を施した生体活性シリカナノ粒子の創製
- 水ガラスを用いたタンパク質吸着特性を有するシリカ粒子の作製
- エレクトロスピンングを用いたシリカナノチューブマットの創製
- 生分解性有機-無機複合体を用いたケイ酸化学種の細胞応答性
- 生分解性有機-無機複合体を用いた神経組織の再生
- 生分解性有機-無機複合体を用いた注入型ヒドロゲルの創製

<学会参加記>

日本セラミックス協会第 25 回秋季シンポジウムに参加して

名古屋大学大学院工学研究科

(現所属：東北大学大学院環境科学研究科)

横井 太史

日本セラミックス協会第 25 回秋季シンポジウムは 2012 年 9 月 19～21 日に名古屋大学にて開催されました。私の所属が名古屋大学であり、学会会場になっていたことがきっかけで The Division 編集長の寺岡啓先生（産業技術総合研究所）からご提案いただき、参加記の執筆をお引き受けいたしました。

今回の学会で大変印象的だったのは、生体関連材料のセッションにおいてリン酸カルシウムセメントに関する発表が多かった点です。具体的には、多糖と複合化したリン酸カルシウムセメント、抗菌性セメント、温度応答性セメント、キレート硬化型セメント、アパタイト種結晶を導入したセメントの発表がありました。リン酸カルシウムセメントは実用化されている材料です。そのため、このセメントに関する研究も応用を強く意識した内容でした。材料の強度に関するデータは多くの発表で紹介されていました。実用化されているリン酸カルシウムセメントにおいてはその強度が大きく、それを超える材料を作ることは難しいことなのだなと感じました。さらに、粉剤と液剤の混合しやすさを考慮している研究もあり、材料の強度の向上だけでなく、操作性の向上もセメントに求められる大変重要な因子であることを学びました。

リン酸カルシウムセメントに関する発表の中でも都留寛治先生（九州大学）の研究が大変印象に残っています。その内容は、リン酸カルシウムセメントの性質にアパタイト種結晶の導入方法が与える影響についてです。ヒドロキシアパタイト（HAp）の種結晶を α 型リン酸三カルシウム（ α -TCP）粒子上にあらかじめ析出させた粉末を硬化させると、 α -TCP に少量の HAp を混合した粉末を硬化させた場合よりも、強度の大きな硬化体を得られるという内容でした。セメントの硬化現象と強度の発現に関わる内容で、大変興味深く拝聴させていただきました。この研究は基礎的かつ重要な内容と感じ、今後のセメントの開発指針を与える知見になるのではないかと思います。私も多くの研究に波及する研究を展開したいという気持ちを新たにいたしました。

“基礎研究”というキーワードに関連して、川下将一先生（東北大学）の発表が大変盛り上がったというお話を金日龍先生（名古屋大学）から伺いました。発表内容は、生体活性なチタン金属表面における擬似体液（SBF）中での骨類似アパタイト形成に関するものでした。SBF もチタンも、生体材料の分野においては従来から取り扱われていますが、そこにはまだまだ未解明な部分があることを問題提起していただきました。あまりの盛り上がりで、質疑応答の時間が大幅に延長されたそうです。白熱した議論に参加できなかったことが、とても残念です。生体関連材料のセッションで熱い議論が交わされているときに、私は水溶液プロセスのセッションで口頭発表をしていました。

本学会における私の発表は有機修飾したリン酸八カルシウムの合成プロセスの最適化に焦点を当てた内容であったため、（いつもは生体関連材料のセッションで発表していますが）今回は

水溶液プロセスのセッションにて発表しました。普段、お会いしない先生方の前での発表でしたので、いつもよりも緊張しながらの発表となりました。質疑応答では、生体関連材料分野での発表時とは少し違う視点からコメントをいくつもいただきました。今後、研究を展開するうえで参考にしていきたいと思いました。

本学会では、基礎研究の重要性を感じる事が多くありました。基礎的な知見の積み重ねが革新的なバイオマテリアルの創製に繋がると思います。私も生体関連材料の研究者の一人として、イノベーションに繋がる基礎研究に取り組んでいこうという気持ちを新たにしました。

第16回生体関連セラミックス討論会参加報告

東北大学大学院環境科学研究科環境科学専攻
修士1年 高橋 翔平

第16回生体関連セラミックス討論会は、2012年11月30日に千葉工業大学にて開催されました。日本全国から数多くの研究者の方々が集まった本討論会に参加し、口頭発表を行うとともに多くの方々と交流し、意見交換することができたことは非常に良い経験になりました。

本討論会の発表時間は5分間と比較的短く、各人がその限られた時間の中で自分の研究をいかに簡潔に、そして深くまとめられるかを工夫されているのがよく伝わってきました。私自身、5分という短い時間で自分の研究を発表するのは初めての経験であり、どうすれば簡潔に、かつ正確に自分の主張を伝えられるのかについて苦労しながらまとめたのを覚えています。さらに、本討論会では「議論」が重要視されており、活発に意見が交わされたのも印象的でした。初めは、諸先生方からの発言が大部分でしたが、会が進行するにしたがって学生からの意見や質問も上がるようになり、学生を含めて、会全体が生体関連セラミックスという一つの分野を皆で成長させようとしている意識を感じ取ることができました。

私は、水質浄化を目指した微生物の足場材料の作製というテーマで発表させていただきました。本討論会の中では多少異質な内容ではありましたが、終始真剣な態度で聞いていただき、心地よい緊張感を感じながら発表させていただくことができました。発表後には多くの方々からご質問をいただき、自分の研究の至らない部分をご指摘いただくことができたとともに、今後の研究指針についても再確認することができ、以後の研究に対するモチベーションの向上につながりました。学外の方や、異なる分野の研究をされている方からの意見を聞くことで研究に新たな視点が加わり、更に研究の厚みを増すことができたと感じました。

討論会終了後のバンケットでは、おいしい食事やお酒、そして非常に美しい夜景に囲まれながら多くの方々と意見交換することができました。先生、学生問わず皆が親密に交流できる場となっており、笑顔あふれる素敵な雰囲気の中で、皆が生体関連セラミックスという分野の明日について語り合う様子が印象的でした。また、バンケットの中で表彰式が行われ、光栄にも私は優秀質問賞をいただくことができました。討論会に対する真摯な態度を評価していただけたことは非常に嬉しく、副賞としていただいた素敵な餃子皿はその思い出の一部として今も部屋に飾らせて

いただいています。

最後に、多くの先生方にお世話いただき、本討論会への参加は私にとって非常に実りある経験になりました。この場をお借りして深く感謝申し上げます。大変ありがとうございました。

日本セラミックス協会 2013 年年会

名古屋工業大学大学院 工学研究科
未来材料創成工学専攻 春日研究室
博士後期課程 3 年 中村 仁

去る平成 25 年 3 月 17 日（日）から三日間の日程で、日本セラミックス協会 2013 年年会が東京工業大学、大岡山キャンパスで盛大に開催された。学会当日は構内中央の芝生広場をはじめ随所で桜が咲き始め、初春の陽気に包まれた穏やかな気候であった。各分野を合わせて三日間で 600 件を超える口頭発表と、広大なホールを埋め尽くす程のポスター発表が取り行われ、常に討論を交わす研究者と学生で賑やかな学会であった。

自身は軟骨再建への応用をめざしたポリグルタミン酸とゾル・ゲルシリカとのハイブリッド材料の作製に関する発表を行い、セッションの座長であった明治大学の相澤先生、九州大学の石川先生を始め多くの先生方から、細胞のマイグレーションが乏しい軟骨に必要なスキャホールド設計、材料から溶出する無機イオンの軟骨組織成長への影響など、貴重な質問や意見を頂戴することができ、大変有意義な発表の場を得ることができた。

初日と二日目に開かれた生体材料セッションでは、リン酸カルシウムやセメント材料の構造や生体親和性評価、液相やレーザーを応用したリン酸カルシウムの合成手法、チタン金属材料およびこれらと関連する有機・無機複合材料に関する研究成果について計 21 件の報告があり、活発な質疑・討論が終始行われていた。

中でも、動物骨やヒト骨組織中のコラーゲンとアパタイトの電荷貯蔵様式、電荷量やその貯蔵期間に関する東京医科歯科大学 中村先生のご発表は、生体の機能発現メカニズムを取り入れた材料設計を行う上で新たな指針となる、興味深い発表であるように感じられた。二日目の昼には、岡山大学の尾坂先生による「材料合成と生体応用のはざままで」と題した特別講演が開催された。全ての材料研究の基礎となる化学結合についての導入に始まり、ゼラチン、キトサンとシリカとのハイブリッド材料やリン酸カルシウム、さらにはバイオミメティックプロセスと隙間効果を応用した GRAPE technology の実用化研究に至るまでの過程など、非常に内容の濃いお話であった。また多岐に渡る材料について、構造解析や細胞、生体応答の側面から取り組まれた成果の数々を目の当たりにし、研究分野の広さに驚嘆した。随所に他の研究者の研究成果についても紹介を加えていただき、また学生にも分かりやすい噛み砕いたお話は、生体材料の研究に足を踏み入れようとする自身にとって、貴重な勉強の機会となった。

今回の発表で得た知見をもとに、今秋、信州大学で開催される第 26 回秋季シンポジウムにて充実した発表ができるよう邁進したい。

Bioceramics 24 参加報告記

九州工業大学大学院生命体工学研究科
生体機能専攻 博士後期課程 1年
桑原 良光

昨年10月21日から10月24日にかけて、九州大学医学部百年講堂で開催された Bioceramics 24 に参加した。会期中の2日間はポスターおよび口頭発表の日で、私は23日にポスター発表を行った。

まず、22日には宮崎先生の口頭発表があったため、その発表などを中心に聴講した。しかし、まだ慣れていなかったため、質問等を行うことができなかった。その日の夜に行われた、Hench先生の特別講演を聴講した。若手研究者への研究に対する向きあい方に関する講演がなされ、今後の実験、研究を行う際の心構えを学ぶことができた。また、その時の質疑で、学生と教員で異なる意見が出た場合、時には自分自身の見解を貫く意思も必要であるという言葉が印象に残った。

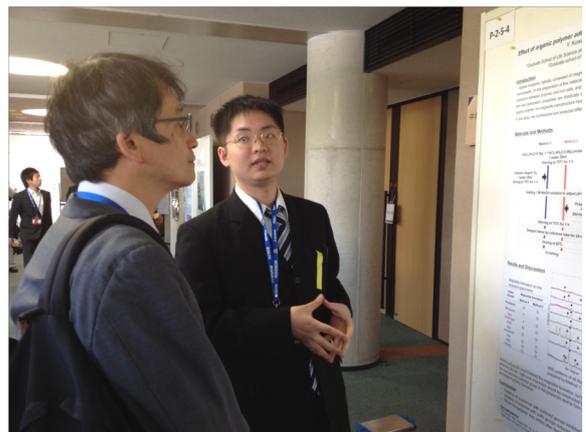
次に23日には、「Effect of organic polymer addition on the microstructure of magnetite-polymer hybrid」と題して、マグネタイトの水溶液プロセス合成における有機高分子の添加が、結晶構造などにいかなる影響を与えるかについてポスター発表と質疑応答を行った。主な質疑応答について以下に記す。

- ・ どうしてマグネタイトと高分子をハイブリッド化させる必要があるのか？

マグネタイトと高分子を複合化させた材料が実際に臨床応用されているからである。その利点についての調査が十分でなかったのが反省点である。

- ・ なぜ3価の塩化鉄を混合させるのか？

2価の塩化鉄のみで実験を行った場合でもマグネタイトを合成できるが、マグネタイトは2価の鉄イオンと3価の鉄イオンが1:2の比で含まれているため、鉄イオンのモル比を2価:3価=1:2の組成で行っている。また、過去にも同様の組成でマグネタイト合成が行われている。その際、使用している超純水は溶存酸素を除去するため窒素でバブリングを行っているが、バブリングしなくてもマグネタイトは作製可能である。



大阪市立大学・横川先生とのディスカッションの様子。

- ・ 今後の予定としては何を行うか？

まず、カルボキシル基を有する高分子を用いた場合において得られた酸化鉄の結晶構造が未解明であるため、電子線回折などを用いて分析を行う。

また、その後の Banquet にて、宮崎研究室と共同研究を行っている名大・大槻研究室のメンバーと会話し、それぞれの研究内容について語り合った。その際、今後の研究の進め方などにつ

いてもディスカッションを行い、様々な有機物質の影響をさらに調べていけば有用な知見が得られるのではないかとの結論に至った。

この学会に参加して、他大学で分野の近い研究内容を行う者同士で研究内容について討論でき、有意義な経験となった。

3. INTRODUCTION OF RECENT PAPERS

<論文紹介>

今回は尾坂研卒業生からよせられた尾坂先生の仕事まとめを掲載させていただきました。

金属チタン系医用材料の骨結合性付与に関する研究 その一

化学処理と熱処理：不屈の努力

チタン及びチタン合金は整形外科や歯科においてインプラントに応用されている。これらの金属が早期に骨組織と強固に結合し、その結合が長期にわたり安定になることを期待して、アパタイトコーティングをはじめとする様々な表面処理・表面修飾技術が検討されている。ここでは尾坂研究室での検討について少し紹介する。京都大学の小久保正先生の研究室出身の大槻主税先生が尾坂研究室に在籍されていた頃、ケイ酸塩系やホウケイ酸塩ガラスなどの生体活性ガラス等について擬似体液（小久保溶液；SBF）を用いたアパタイト形成能の評価が実施されていた。当時、小久保先生のグループの宮路史明先生らが *Bioceramics* 7 で、10M NaOH 溶液処理と 600°C の熱処理によって金属チタンにアパタイト形成能が付与できると報告し、Li *et al.*, *J. Biomed. Mater. Res.*, 1994; 28: 7-15. のゾル-ゲル法で作製された酸化チタンの薄膜上でもアパタイトが形成するという報告を参考にして、尾坂研では、化学処理や電気化学処理（陽極酸化・陰極分極）によって金属チタンの表面に金属酸化物やその水和物を作製してアパタイト形成能を付与する研究が始まった。最初は熱処理せずとも擬似体液中でアパタイトを析出する化学処理条件の探索が行われた。市販の 30 mass% 過酸化水素水溶液で金属チタンを処理した場合、金属チタン表面にはペルオキソチタン酸の層が形成され、その金属チタン試片を擬似体液中に浸漬すると表面層へのカルシウムイオンの吸着が確認されるもののアパタイトの粒子を析出することはなかった。それゆえ、Ti-OH 基さえあればアパタイトの核形成が誘起されるという単純なモデルは成立しないと考えられるようになった。しかし、尾坂研究室 1 期生の飯田裕久氏（現在、セキスイボード株式会社）の不屈の努力によって過酸化水素水に特定の (TaCl_5 や SnCl_2) 金属塩化物を添加した場合において、アパタイト粒子が析出したことから、Ohtsuki *et al.*, *J. Biomed. Mater. Res.*, 1997; 35[1]: 39-47. が最初の論文発表となった。本論文の図 3 に掲載されている TaCl_5 を添加した過酸化水素水溶液で処理した Ti 表面に析出した半球状のアパタイト粒子には細かい孔が開いており、擬似体液中で析出したアパタイト上で微生物が繁殖して腐食した形跡と考えられ、他の SEM 写真と差し替えるべきだったと反省している。この研究成果に基づいて、岡山大学医学部整形外科学教室の井上一先生のグループとの共同研究で動物実験（日本白色家兎）が実施され、Kaneko *et al.*, *Biomaterials*, 2001; 22[9]: 875-881. にて *in vivo* 実験でも本化学処理の効果として、埋入後 4 週間～8 週間以内での初期固定力の向上が確かめられた。ナカシマプロペラ（株）と千葉大学医学部との共同研究で動物実験（ビーグル犬）も実施され、臨床応用されている人工関節ステムの骨結合を期待するチタンメッシュの部分に化学処理を施して、メッシュの隙間空間への骨組織の侵入性を評価した (Kim *et al.*, *J. Biomed. Mater. Res., B: Applied Biomaterials*, 2003; 64B[1]: 19-26.)。

浙江大学から金属材料を専門とされている X-X. Wang 先生（現在、浙江大学教授）が岡山大学ベンチャービジネスラボラトリー(VBL)の研究者として尾坂研究室に在籍された頃に、尾坂研の修士課程の学生の不屈の努力もあって金属チタンの化学処理における問題点が明らかとなった。金属チタンの製造元の違い、鍛造なのか鍛造なのか、表面加工・処理法の違い、あるいはロットごとに、あるいは医療用デバイスごとに、化学処理の条件（過酸化水素濃度、処理温度、処理時間）を最適化しなければならない。したがって、我々の論文に記述されている数値は、研究で用いた「チタン試片」に依存するのである。ワイヤーカット放電加工機で切断した市販のチタン試片は、切断面付近が変色して化学反応性が変わるため、その後に表面を機械研磨するか、フッ硝酸に浸漬して表面を化学エッチングする必要がある、そうしないと過酸化水素水とはほとんど反応しない。放電加工機を使用した試片では 30 mass%程度の高濃度の過酸化水素水溶液処理でしか実験結果の再現性を得ることができなかった。一方、金属ハサミで切断できる市販の薄い金属チタン板やチタンワイヤーに変更したところ、過酸化水素水溶液の濃度を変えても実験結果の再現性が高いことから、 H_2O_2 濃度依存性や pH 依存性などの基礎的な検討を行った。(Osaka *et al.*, *Phosphorus Research Bulletin*, 2004; **17**: 130-141.)

Wang 先生は、 $H_2O_2/TaCl_5$ 溶液処理後に $300^\circ C \sim 600^\circ C$ で熱処理を施し、表面の酸化チタン層の結晶化を促すことでアパタイト形成能が促進されること、生成したナノ結晶性酸化チタン層（アナターゼ相）の割れ目（クラック）付近ではアパタイトの核形成が頻繁に起こることを Wang *et al.*, *J. Biomed. Mater. Res.*, 2000; **52**[1]: 171-176. で報告した。Wang 先生は次のような仮説を提案した。スーパーオキシドなどのラジカルがアパタイトの核形成を阻害する。アナターゼ型酸化チタンはエピタキシャル効果によってアパタイトの Ca 位置とアナターゼの O 位置が適合（マッチング）する。このマッチングルールと呼ぶ仮説に基づき、金属塩化物を添加しない H_2O_2 処理でも再び同様の検討が始まった。

Wang 先生が帰国された後、同じ浙江大学から J-M. Wu 先生（現在、浙江大学教授）が岡山大学 VBL の研究者として尾坂研究室に在籍された頃から、金属チタンの機械的な性質を変えないためにも高温で熱処理を施したくないという視点から、金属チタンの過酸化水素水による化学処理の後に続く熱処理の代わりとして、温水処理（ $100^\circ C$ 以下）を施し、アナターゼ相とルチル相からなるナノ結晶性酸化チタン層を表面に形成させた。酸化チタン層の主たる結晶相がアナターゼ相でもルチル相でも擬似体液中でアパタイト粒子層が形成することを Wu *et al.*, *J. Am. Ceram. Soc.*, 2004; **87**[9]: 1635-1642. で報告した。Wu 先生は次のような仮説を提案した。擬似体液中で形成する炭酸含有水酸アパタイトと酸化チタンのアナターゼ相及びルチル相の結晶構造に基づけば、O-O 原子間距離（ルチル相）と Ca-Ca 原子間距離（アパタイト）のミスマッチは小さいから、アナターゼ相と同等の生体活性を持つことは不思議ではないと。しかし、エピタキシャル効果の可能性はあるものの、その真否はまだ明らかではない。

名古屋工業大学の春日敏宏先生が 1.5 倍濃度の擬似体液中に浸漬した酸化チタンの圧粉体が紫外線照射下でアパタイトを形成するという報告(Kasuga *et al.*, *J. Cryst. Growth*, 2002; **235**: 235-240.) をしたことに刺激され、尾坂研究室ではアパタイト形成能を有するナノ結晶性の酸化チタン表面

に対して、擬似体液に浸漬する前に紫外線を照射したらどうなるのだろうか？という疑問から紫外線の照射環境（空气中あるいは水中）がアパタイト形成能に及ぼす影響とアパタイト形成機構に興味を持って検討を始めた。詳細は、植月啓太氏（現在、ナカシマメディカル株式会社）の論文を読んでいただきたい(Uetsuki *et al. Mater. Sci. Eng. B.*, 2010; **173**[1-3]: 213-215., Uetsuki *et al., J. Biomed. Mater. Res.*, 2013; **101A**[3]: 712-719.)。金属チタン板に過酸化水素水溶液による化学処理と熱処理を施すことにより形成するナノ結晶性酸化チタン層（アナターゼ相）は、擬似体液中で優れた *in vitro* アパタイト形成能を発現する。この酸化チタン層のアパタイト形成能は、空气中で紫外線（UV）照射すると低下する。XPS 表面分析の結果から、空气中の UV 照射で酸化チタン表面の塩基性 Ti-OH 基の割合は減少し、塩基性 Ti-OH 基の割合が減少した酸化チタン表面でアパタイト形成能が低下することがわかった。一方、水中で紫外線（UV）照射すると塩基性 Ti-OH 基の割合がわずかに増加し、酸化チタン層のアパタイト形成能は向上する。これらの結果と SEM 観察による半球状アパタイトの二次粒子の単位面積あたりの数（面密度）と大きさの解析結果に基づき、次のようなモデルを提案した。酸性及び塩基性の Ti-OH 基を含む活性点の空間的に適切な配置が実現した場合においてのみ、その空間でアパタイトの不均一核形成が誘起される。結局のところ、酸化チタン層の表面でアパタイトの一次粒子が析出した後に、そこに二次核の形成が誘起され半球状の二次粒子が形成すると考えると、擬似体液中で酸化チタン層の表面に形成したアパタイト層の半球状二次粒子の数は、最初に「一次核形成」を誘起した「酸性及び塩基性の Ti-OH 基を含む複数の活性点の空間的に適切な配置」の数（面密度）を反映していることになり、この数はナノ結晶性酸化チタンの数よりもはるかに少ないことを考えると、ナノメータースケールでの二次元的なエピタキシャル効果よりも高次の微細構造が影響しているように思われる。バイオガラスを始めとする生体活性ガラス及びガラスセラミックスや、カルシウムイオンを導入したシリカ骨格を含む有機-無機複合体などは、擬似体液と Si-OH ベース材料の局所界面で、カルシウムイオンを溶出することによってアパタイトに対する過飽和度の上昇を引き起こし、アパタイトの核形成及び成長を促進する。一方、酸化チタン及びチタン系材料では、過飽和度の上昇を促すカルシウムイオンがないため、アパタイトの一次核の形成に有利な複数の活性点の空間的な配置において、アパタイトの核形成と成長に必要な Ca(II), P(V), OH⁻イオンあるいは伊藤敦夫先生が提案されているクラスターを「滞留させ」、これらの化学種が空間的に適切な配置（密度）になること（自己組織化）により、アパタイトの一次核の形成と成長が促進されるのかもしれない。そのような視点から、「割れ目（クラック）」、「隙間空間」、「淀み」とアパタイト形成の関係に興味が出てきたのである。そして *GRAPE[®] Technology* へ展開するのである。

（執筆 早川 聡）

参考文献リスト

C. Ohtsuki, H. Iida, S. Hayakawa and A. Osaka

Bioactivity of titanium treated with hydrogen peroxide solutions containing metal chlorides

金属塩化物を含む過酸化水素水溶液によって処理された金属チタンの生体活性

Journal of Biomedical Materials Research, **35**[1], 39-47 (1997).

X-X Wang, S. Hayakawa, K. Tsuru and A. Osaka

Improvement of bioactivity of H₂O₂/TaCl₅-treated titanium after subsequent heat treatments

過酸化水素水/五塩化タンタルで処理された金属チタンを熱処理することによる生体活性の改善

Journal of Biomedical Materials Research, **52**[1], 171-176(2000).

A. Osaka, S. Hayakawa, K. Tsuru, S. Takemoto, Y. Kawabe and S. Iwatani

In vitro biomimetic deposition of apatite on chemically and electrochemically treated titanium

化学的及び電気化学的に処理された金属チタン上への *in vitro* 生体模倣的アパタイト析出

Journal of Australian Ceramics Society, **37**[1], 1- 8 (2001).

S. Kaneko, K. Tsuru, S. Hayakawa, S. Takemoto, C. Ohtsuki, T. Ozaki, H. Inoue and A. Osaka

In vivo evaluation of bone-bonding of titanium metal chemically treated with a hydrogen peroxide solution containing tantalum chloride

塩化タンタルを含む過酸化水素水溶液で化学処理された金属チタンの骨結合性の *In vivo* 評価

Biomaterials, **22**[9], 875-881 (2001).

T. Kim, M. Suzuki, C. Ohtsuki, K. Masuda, H. Tamai, E. Watanabe, A. Osaka and H. Moriya

Enhancement of bone growth in titanium fiber mesh by surface modification with hydrogen peroxide solution containing tantalum chloride

塩化タンタルを含む過酸化水素水溶液での表面改質によるチタンファイバーメッシュ内への骨成長の向上

Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, **64B**[1], 19-26 (2003).

A. Osaka, K. Tsuru, S. Hayakawa

Titania derived from combined chemical and thermal treatments of titanium: *in vitro* apatite forming ability

金属チタンの化学処理及び熱処理の組み合わせにより誘導されたチタニアの *in vitro* アパタイト形成能

Phosphorus Research Bulletin, Vol. **17**, 130-141, (2004).

J-M. Wu, K. Tsuru, S. Hayakawa and A. Osaka

Low-temperature preparation of anatase and rutile layer on titanium substrate and their ability to induce *in vitro* apatite deposition"

金属チタン基板上へのアナターゼ層及びルチル層の低温調製及び *in vitro* アパタイト析出誘起能

Journal of the American Ceramics Society, **87**[9], 1635-1642 (2004).

K. Uetsuki, H. Kaneda, Y. Shirosaki, S. Hayakawa and A. Osaka
Effects of UV-irradiation on *in vitro* apatite-forming ability of TiO₂ layers
TiO₂層の *in vitro* アパタイト形成能への UV 照射の効果
Materials Science Engineering B, **173**[1-3], 213-215 (2010).

K. Uetsuki, S. Nakai, Y. Shirosaki, S. Hayakawa and A. Osaka
Nucleation and growth of apatite on an anatase layer irradiated with UV light under different environmental conditions
異なる環境下で紫外線を照射されたアナターゼ層上でのアパタイトの核形成及び成長
Journal of Biomedical Materials Research, **101A**[3], 712-719 (2013).

金属チタン系医用材料の骨結合性付与に関する研究 その二

GRAPE® Technology : 隙間効果とはいったい何なのか？

学部の卒業研究で研究室に配属された際に最初に行った実験が、ウサギの骨欠損部に埋入された材料を摘出する *in vivo* 動物実験であった。卒業してからも見えない尻の糸できゅつきゅつと引っ張られ、2008年に岡山大学に舞い戻った際も再びウサギに向き合うところから始まった。これが当時ナカシマメディカル株式会社と共同で研究を進めていた GRAPE® Technology の *in vivo* 実験である。筆者が何故 GRAPE® Technology に関する部分を執筆しているのか不思議に思う読者がいるかもしれないが、この研究の始めと終わりに関わった一人として、今回本章を担当した。余談ではあるが、肉屋のショーケースにウサギが丸裸に吊られているヨーロッパで長く過ごしながら、未だウサギを口にすることがないのは、研究でウサギと触れ合う機会が多いからである。

本研究の発端は2000年まで遡る。VBL 研究員であった X-X. Wang 先生（現在、浙江大学教授）は、擬似体液浸漬実験に用いる容器の湾曲した底面側と面している熱酸化チタン基板表面に、アパタイトが析出していることを発見した。研究室の報告会で Wang 先生が、新しい発見だとうれしそうに報告していたのが今でも記憶に残っている。しかも、シリコンやテフロン等、表面が不活性な高分子表面でも熱酸化チタンを組み合わせるとアパタイトを析出させることができるというのである。当時、筆者はシリコンの表面にシラノール基を修飾し、アパタイトが析出し易い環境を作るという研究に取り組んでいたが、さっぱりうまくいかなくて毎日悩んでいたところだった。Wang 先生は、この方法を試すよう助言してくれたが、高分子担体に直接アパタイトを形成させる方法には応用できないため、全く興味が持てず筆者自身がこの方法で実験を行うことはなかった。クレーター状に析出したアパタイトの電顕写真が掲載された論文（Wang *et al.*, *J. Biomed. Mater. Res.*, 2001; **54**: 172-178.）を投稿して、Wang 先生は帰国された。

この研究が再び表舞台に出たのは、2005年植月啓太氏（現在、ナカシマメディカル株式会社）

の卒業研究テーマとしてである。彼は、2枚の熱酸化チタン基板をくさび形に配置し、その隙間の幅を変化させてアパタイトが形成する面積をひたすら調べていた。博士課程3年であった筆者は自身のことで手一杯で、植月氏がどれくらいの情熱を持って本テーマに取り組んでいたのか記憶に残っておらず、教員として再びこの研究に関わることになるとは当時全く予想もしていなかった。

この後、本研究はナカシマメディカル株式会社の協力により飛躍的に進行する。最適な熱処理条件や空間幅の検討が行われ (Sugino *et al.*, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, 2009; **117**: 515-520.), 400°C および 500°C での熱処理で得られる酸化チタン層および空間幅 0.3-0.5 mm 付近がアパタイト形成に適した条件であることが様々な実験結果より示唆された。2008 年には、この技術を **GRAPE (GROOVE + APATITE, ®:2008-39459) Technology** という名前で商標登録した。実用化に向け、チタン合金 (Ti-15Zr-4Ta-4Ni) を基板とした際の最適な隙間空間について探索した。ウサギへの埋入実験により、金属インプラントと骨組織の初期固定において本技術が効果的であることも明らかになっている。一連の研究は、おかやま産学官連携大賞を始めとした多くの賞を頂いた。

本手法は、従来の切削技術で溝を設け熱処理を施すという、非常に簡便な方法で人工関節表面に骨親和性を与える技術である。それはそれで喜ばしいことであるが、研究者として最も興味深い点は、なぜその隙間空間でアパタイトの析出が誘起されるのかということである。本研究に関する報告を学会等で行うたびに、Division 読者を含む多くの方から質問を受けてきた。

この疑問を明らかにすべく、いろいろな取り組みを行ってきたが詳細な解明には至っていない。熱酸化処理を施したチタン基板と様々な基板を組み合わせた実験から、アルミナ基板との組み合わせではアパタイトは形成しないことが分かった。さらに自己組織化単分子膜 (SAM) を用いた実験では、表面に修飾される官能基が異なるとアパタイト形成の有無が異なることも分かった。一方、隙間内での擬似体液の流動環境を変えた実験より、隙間空間内に溶液が留まることによって、核形成が誘起され易いことも分かった。隙間内に存在している溶液の変化 (クラスターの形成、pH やイオン濃度等) の証拠をつかもうと、いろいろと手段を尽くしてきたが、現在までに決定的な証拠を得るには至っていない。本研究に関わった学生の口から「イオンの淀み」「隙間効果」という言葉が出るたびに、「淀みとはいったい何か?」「具体的にはどんな効果なのか?」と何度も議論してきたが、未だ「隙間という淀み」から抜け出せずにいる。

現在、本技術はナカシマメディカルが主体となり医師主導の臨床治験が実施されている。この技術が患者さんの QOL を高めるものとなることを期待しつつ、未知な点を明らかにし、新たな材料設計に繋がる指針が打ち立てられることを期待している。

(執筆 城崎 由紀)

参考文献リスト

X-X Wang, S. Hayakawa, K. Tsuru and A. Osaka

A comparative study of in vitro apatite deposition on heat-, H₂O₂, and NaOH-treated titanium surfaces

加熱処理, 過酸化水素処理, 水酸化ナトリウム処理を施したチタン表面の in vitro アパタイト析

出能の比較研究

Journal of Biomedical Materials Research, **54**[2], 172-178 (2001).

A. Sugino, K. Uetsuki, K. Tsuru, S. Hayakawa, A. Osaka and C. Ohtsuki

Surface topography designed to provide osteoconductivity to titanium after thermal oxidation

チタンに骨伝導性を付与するためにデザインされた熱酸化処理による表面起伏構造

Materials Transactions, **49**[3], 428-434 (2008).

A. Sugino, K. Tsuru, S. Hayakawa, K. Kikuta, G. Kawachi, A. Osaka and C. Ohtsuki

Induced deposition of bone-like hydroxyapatite on thermally oxidized titanium substrates using a spatial gap in a solution that mimics a body fluid

隙間構造を設定した熱酸化チタンの体液を模倣した溶液中における骨類似アパタイト誘起析出

Journal of the Ceramic Society of Japan, **117**[4], 515-520 (2009).

A. Sugino, C. Ohtsuki, K. Tsuru, S. Hayakawa, T. Nakano, Y. Okazaki and A. Osaka

Effect of spatial design and thermal oxidation on apatite formation on Ti-15Zr-4Ta-4Nb alloy

Ti-15Zr-4Ta-4Nb 合金のアパタイト形成に及ぼす特殊デザインと熱酸化の影響

Acta Biomaterialia, **5**[1], 298-304 (2009).

Y. Nakao, A. Sugino, K. Tsuru, K. Uetsuki, Y. Shirosaki, S. Hayakawa and A. Osaka

Enhancement of apatite-forming ability of parallelly aligned Ti-substrates with optimum gaps by autoclaving

オートクレーブによる最適間隔で対面配置したチタン基板のアパタイト形成能の向上

Journal of the Ceramic Society of Japan, **118**[6], 483-486 (2010).

材料の血液適合性に関する研究 その一 血液浄化用セラミックス吸着材の創製

本研究は岡山大学地域共同研究センター（現在、岡山大産学官融合センター）の高島征助助教授と共同で行われた。地域共同研究センターは工学部のある津島キャンパスから10kmほど離れた芳賀地区の研究パークにあったことから“山”と言われていた。筆者が研究室に配属された1996年は、丁度この分野に力を入れ始めた時期であり、筆者ともう一人の計2名が血液浄化用セラミックス吸着材に関する研究テーマに取り組むことになった。はじめに筆者に課せられた課題は、リン酸カルシウムへのアミノ酸やタンパク質の吸着機構の解明で、リン酸カルシウムの組成や結晶構造などの微細構造の違いによるアミノ酸の吸着への影響を明らかにすることで、得られ

た知見をタンパク質の選択的吸着が可能な吸着材の材料設計に活かそうというものであった。アミノ酸の紫外領域での吸光度を紫外可視分光光度計で調べ、その減量でタンパク質の定量をしていたが、溶液中のタンパク質量とリン酸カルシウム量（粉液比）とのバランスが不確定で実験開始当初の吸着実験はなかなか進展しなかった。合成したセラミックス粉末のキャラクタリゼーションは、ほとんど研究室外の装置を使用させて頂いた。アパタイトの P の微細構造を調べるために、京都大学化学研究所・横尾研究室へ核磁気共鳴（NMR）測定ツアーを敢行した。右も左も分からない中で、車で岡山から京都までドライブし、NMR の部屋で寝て、まるで修学旅行のようであった。中でも筆者が最も楽しみだったのはラーメン横綱での夜食であった。X 線回折装置や高周波誘導結合プラズマ発光分析装置は岡山県工業技術センターの装置を拝借した。学生ながらに最も悩ましかったのは、病因物質として用いていた β_2 -マイクログロブリンやビリルビンとその評価キットは他の消耗品と比較して“超高価”であったため、研究室と高島先生との懐具合を探りながら研究を行う必要があったことである。これらの努力が日の目を見るのは、粉末のキャラクタリゼーションに必要な測定機器（比表面積測定や自動滴定装置）が導入された後、しばらく経ってからであった（Asano *et al.*, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, 2003; **111**: 645-650., Takemoto *et al.*, *J. Biomed. Mater. Res.* 2004, **69A**, 544-551.）。

一方、研究室では当時、チタンの表面処理による骨伝導性付与が盛んに行われていた。 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{TaCl}_5$ 溶液で表面処理したチタン棒を家兎の骨欠損部に埋入し、その骨結合性を評価していた（Kaneko *et al.*, *Biomaterials*, 2001; **22**: 875-881.）。この埋入実験を補佐していて、埋入時に最初に接触する血液は、チタン表面に酸化物とどんな反応をするのか？と思いつき、過酸化水素水で表面処理したチタンやゾルゲル法で合成した酸化チタンのタンパク質吸着や血液適合性評価の研究が始まった。この血液適合性は血液凝固時間を調べる方法で評価していたため、血液・血漿は新鮮なものが必要であった。実験で用いる血液は、当日に保健管理センターで保健士さんに研究室の生きのいい学生数名から 25~50 mL を採血してもらい、血漿成分を分離して使用し“山”に持って行って血液凝固時間を測定していた。血液採取をしたあとに貧血になる学生もいたので、血液採取をお願いする研究室の学生には食事を食べてきてもらうことや風邪をひいていないかななどの体調を万全にしてもらう事前準備が必要であり苦勞した。また、チタン表面の化学状態を同定するために X 線光電子分光装置（XPS）が有効であったが、尾坂先生と同門の三浦先生が管理されていて“汚染試料厳禁”であったため、結局、本系試料（タンパク質が吸着した試料や血液に曝した試料）の XPS 測定は叶わなかった。酸化処理したチタン表面のチタニアゲルは血液凝固時間には影響が少ないという結果が得られた（Takemoto *et al.*, *J. Sol-Gel. Sci. Technol.*, 2001; **21**: 97-104.）。筆者が博士課程を修了した後、多血小板血漿を用いた血小板粘着試験や血液凝固因子への影響を調査するなど、血液適合性評価は研究室の研究の大きな柱となった。これらの論文については吉岡朋彦先生（現在、東京工業大学助教）の Review（材料の血液適合性に関する研究その二）を参照してほしい。

血液中の病因物質の選択的除去の研究が進行するにしたがって、研究室および高島先生の興味は患者さんの血液から病因物質を選択的に除去できるのかと、透析による血液循環時に除去する

ためカラムに充填して同様の結果が得られるのかということになった。医学系の学術雑誌やクロマトグラフィーの雑誌を調べながら方略を練っていたが、実験に必要な量の血液を患者さんから集めることは倫理や感染の知識も不十分である工学部の学生が行うにはハードルが高く回避された。また、カラムにセラミックス粉末を充填する方法も検討していたが、*in vitro* 試験でも十分なデータを得ることが出来なかった。その一方で、高島先生の退官に伴って血液浄化用セラミックス吸着材の創製を目標とするよりは、種々の合成セラミックス（リン酸カルシウム系材料、チタニア、アルミナ）のタンパク質吸着メカニズムを調べる検討が発展していった (Fujii *et al.*, *Acta Biomater.*, 2006; **2**: 69-74., Hayakawa *et al.*, *J. Am. Ceram. Soc.*, 2007; **90**: 565-569., Asano *et al.*, *Acta Biomater.*, 2008; **4**: 1067-1072., Asano *et al.*, *Bio-med. Mater. Eng.*, 2008; **18**: 161-170.)。

以上の結果を踏まえ、筆者の私見として、血液浄化用セラミックス吸着材を含む医用材料の開発は、材料の合成、評価とそれを医療臨床で評価するための医工連携、また、実際に実用化のための産学連携は欠かせないものであると考える。ニーズとシーズをマッチングできるようなシステム作りがあれば、さらなる基礎研究の発展が期待できるのではないだろうか。

(執筆 武本 真治)

参考文献リスト

S. Takemoto, K. Tsuru, S. Hayakawa, A. Osaka and S. Takashima

Highly blood compatible titania gel

高血液適合性酸化チタンゲル

Journal of Sol-Gel Science and Technology, **21**[1-2], 97-104 (2001).

T. Asano, S. Takemoto, K. Tsuru, S. Hayakawa, A. Osaka and S. Takashima

Sol-gel preparation of blood-compatible titania as an adsorbent of bilirubin

ビリルビン吸着材としての血液適合性酸化チタンのゾルゲル合成

Journal of the Ceramic Society of Japan, **111**[9], 645-650 (2003).

S. Takemoto, Y. Kusudo, K. Tsuru, S. Hayakawa, A. Osaka and S. Takashima

Selective protein adsorption and blood compatibility of hydroxy-carbonate apatites

炭酸含有水酸アパタイトの選択タンパク質吸着と血液適合性

Journal of Biomedical Materials Research, **69A**[3], 544-551 (2004).

E. Fujii, M. Ohkubo, K. Tsuru, S. Hayakawa, A. Osaka, K. Kawabata, C. Bonhomme and F. Babonneau

Selective protein adsorption property and characterization of nanocrystalline zinc-containing

hydroxyapatite

亜鉛含有水酸アパタイトナノ結晶の選択タンパク質吸着特性とキャラクター化

Acta Biomaterialia, **2**[1], 69-74 (2006).

S. Hayakawa, K. Ando, K. Tsuru, A. Osaka, E. Fujii, K. Kawabata, C. Bonhomme and F. Babonneau
Structural characterization and protein adsorption property of hydroxyapatite particles modified with zinc ions

亜鉛イオン修飾水酸アパタイト粒子の構造キャラクタリゼーションとタンパク質吸着特性
Journal of the American Ceramics Society, **90**[2], 565-569 (2007).

T. Asano, K. Tsuru, S. Hayakawa and A. Osaka
Bilirubin adsorption using titanium oxide particles

酸化チタン粒子を用いたビリルビン吸着材
The International Journal of Artificial Organs, **30**[8], 704 (2007).

T. Asano, K. Tsuru, S. Hayakawa and A. Osaka

Low density lipoprotein adsorption on sol-gel derived alumina for blood purification therapy
血液浄化療法のためのゾルゲル合成されたアルミナの低密度リポタンパク吸着
Bio-Medical Materials and Engineering, **18**[3], 161-170 (2008).

T. Asano, K. Tsuru, S. Hayakawa and A. Osaka

Bilirubin adsorption property of sol-gel-derived titania particles for blood purification therapy
血液浄化療法のためのゾルゲル合成されたチタニアのビリルビン吸着特性
Acta Biomaterialia, **4**[4], 1067-1072 (2008).

材料の血液適合性に関する研究 その二 表面修飾による血液適合性の獲得

セラミックス吸着材を使った血液成分の選択吸着の研究が進展するにつれ、筆者が修士課程1年のころに、材料の「血液適合性」に踏み込んだ研究が立ち上がってきたように記憶している。チタン金属の過酸化水素処理は擬似体液中でのアパタイト形成を誘起するが、なぜか多血小板血漿に接触させると通常粘着するはずの血小板がほぼつかない (Takemoto *et al.*, *Biomaterials*, 2004; **25**: 3485-3492.)。酸化チタンの抗血栓性については NEDO の助成が付き、研究室では「資金の潤った研究」であったと思う。当時、マイピンセットがほしかった筆者は (実験室にピンセットは2本ほどを取り合って使っていた)、勝手にこの分野に参入しようと画策した。セラミックスや金属表面の分子修飾のテーマを与えられていたため、論文を調べまくって抗血小板粘着性の表面処理を考えた。行きついたところが、アルギン酸を用いた表面修飾であった。当時、イタリアの Marco Morra らが、アルギン酸コーティングの興味深い性質を報告していた。アルギン酸コー

ティングは L-929 細胞の接着を抑制するが、一方でプラズマ処理すると細胞接着性に転じる、というものである。恐らく、アルギン酸コーティングによって抗血小板粘着性も獲得できるだろうと予想できたが、なにか研究の拡がりもあるのではないかと拙い頭で考えた。アルギン酸はステンレスやチタンの表面にシランカップリング剤を使って固定化した。と書くと簡単だが、なかなか文献どおりの反応が起きずに 1 年近くも右往左往して苦勞したことを覚えている。少しでも詳しい先生がいると直接話を聞きに行つて、それでも修士課程 2 年の前半には予想通り抗血小板粘着性を証明できて論文を執筆した (Yoshioka *et al.*, *Biomaterials*, 2003; **24**: 2889-2894.)。時を同じくして、Morra らのグループもアルギン酸の抗血栓性に関する論文を *Biomaterials* に投稿しており (投稿日は我々が 2002 年 7 月 9 日、Morra らが 7 月 16 日であった)、危ないところであった。

次の展開はお決まりの「タンパク質吸着」である。血小板が粘着しないのは、タンパク質がどうのこうの～の流れである。学会参加した際に BCA Protein Assay 法を教えてもらい、さっそく 2 本目の論文投稿を目論んで実験を開始した。しかし実験をやれどもやれどもデータがフワフワしている。再現性のないデータばかりで、データの傾向も一貫性がない。結局半年以上やって何も有効な結果が得られないまま、あきらめることにした。BCA 法はステンレス板に吸着したタンパク質を界面活性剤ではがして定量するのだが、どうも金属からタンパク質を完全にはがすことは困難らしく、それが原因だったようだ。修士課程 2 年も終わりに差し掛かるころで次の展開をどうするか困ったが、丁度そのころに NEDO パワーで、Nicolet の FT-IR と RAS アタッチメントを導入してもらえることになった。タンパク質をはがすことなく FTIR-RAS で定量することとした。またしても、いろいろな先生のご指導を仰ぎながら、金属板に有機分子層を形成させ、そこに吸着したタンパク質を FTIR-RAS で定量する方法を確立した。有機分子層を形成させた金属板をバックグラウンドにすることで、その後に吸着させたタンパク質が純粋なスペクトルとして得られる。簡単なようだが、有機分子層がコンフォメーション変化を起こす場合があり、その際は純粋なタンパク質のスペクトルが得られないためノウハウが必要であった。測定の際には金属板の向きをそろえるなどまで気を使い、タンパク質のアミド I のピークから定量できるようになった。アルギン酸固定化表面へのアルブミン (BSA) 吸着は検出限界であることを示して、博士課程 1 年の中ごろには雑誌発表した (Yoshioka *et al.*, *Trans. Mater. Res. Soc. Japan*, 2004; **29**: 2671-2674.)。その後、憑りつかれたように夜な夜な FTIR-RAS の測定を繰り返す、アルギン酸の構造とタンパク質吸着の関わり合いについてのデータを得るところまで行った。しかし残念なことに、データのいくつかは未だパブリッシュされていない。

研究が盛り上がるきっかけになった酸化チタンについても、FTIR-RAS を用いたタンパク質定量法を確立してからは、いろいろと興味深いデータが蓄積されていったように記憶している。また、少しテーマを発展させて、チタンカップリング剤を用いて酸化チタン様の表面修飾も検討した。血小板凝集作用のあるフィブリノーゲンの吸着抑制に効果があり、論文化した (Yoshioka *et al.*, *Mater. Sci. Eng. C*, 2004; **24**: 901-905.)。

血液適合性に関する知見は、セラミックス系材料に比べ、ポリマー系材料で圧倒的に多い。筆者の検討範囲における偏見では、血液とセラミックス系材料の相互作用はポリマー系材料に比較

して“穏やか”印象をもっている。酸化チタンのように、セラミックス系材料にはまだまだナゾが多い。今後のさらなる研究進展が期待される。

(執筆 吉岡 朋彦)

参考文献リスト

T. Yoshioka, K. Tsuru, S. Hayakawa and A. Osaka

Preparation of alginic acid layers on stainless-steel substrates for biomedical applications

医療応用のためのステンレス金属基板表面へのアルギン酸分子層の作製

Biomaterials, **24**[17], 2889-2894 (2003).

S. Takemoto, T. Yamamoto, K. Tsuru, S. Hayakawa, A. Osaka and S. Takashima

Platelet adhesion on titanium oxide gels: effects of surface oxidation

酸化チタンゲルの血小板粘着：表面酸化の影響

Biomaterials, **25**[17], 3485-3492 (2004).

T. Yoshioka, K. Tsuru, S. Hayakawa and A. Osaka

In vitro platelet adhesion and protein adsorption of biomedical implant modified with polysaccharide

多糖類で表面修飾した医用インプラントの *in vitro* 血小板粘着とタンパク吸着

Transactions of the Materials Research Society of Japan, **29**[6], 2671-2674 (2004).

T. Yoshioka, K. Tsuru, S. Hayakawa and A. Osaka

Preparation of organotitanium molecular layers for biomedical applications

医療応用のための有機チタン分子表面層の作製

Materials Science and Engineering C, **24**[6-8], 901-905 (2004).

有機修飾セラミックス医用材料に関する研究

岡山大学工学部 生体機能応用工学科 尾坂研究室に学部生として配属された 1993 年、筆者は大槻主税先生（現在、名古屋大学教授）の直接指導の元、生体活性ガラスの体液模倣環境下における自発的アパタイト析出能に及ぼすガラス組成依存性に関する研究を行っていた。修士への進学を決断した際に、尾坂先生・大槻先生から、「新たなテーマとして柔軟性を持つ骨補填材の創製に取り組んでみないか」と話を頂き“有機修飾セラミックス医用材料”の創製に着手した。元来、ヒトの骨はアパタイトとコラーゲンから成る無機-有機複合体（一種の有機修飾セラミックス）であるし、骨伝導性を持つバイオセラミックスの脆性を有機修飾によって克服したいというのが本研究のモチベーションであった。一方、工業用途としての有機修飾セラミックス人工物

の合成は 1980 年代より盛んに行われていた (Philip and Schmidt, *J. Non-Cryst Solids*, 1984; **63**: 283-292.; Schmidt, *J. Non-Cryst. Solids*, 1985; **73**: 681-691.)。筆者らは、これら一連の有機修飾セラミックス合成法を参考にして、柔軟性を持つ有機骨格に生体活性ガラス組成を導入すれば、骨と直接結合する有機修飾セラミックスが創製できるのではないかと着想した。

最初に着目したのはシリコーンゴムの主成分であるポリジメチルシロキサン (PDMS) のオリゴマーとオルト珪酸テトラエチル (TEOS) を出発原料とした TEOS-PDMS 型ハイブリッドである。UCLA の J.D. Mackenzie 教授らは PDMS/TEOS 配合比の高い組成領域で柔軟性が発現することを見出し、Rubbery Ormosils と呼ばれる有機修飾シリケートを創製した (Hu and Mackenzie, *J. Mater. Sci.*, 1992, **27**, 4415-4420)。著者らは、この組成を基本として無機構造部位への $\equiv\text{Si-O}^- \text{Ca}^{2+} \text{O-Si}\equiv$ の導入を試みた。この無機構造は生体活性ガラスの体液環境下における自発アパタイト析出能に寄与する (Ohtsuki *et al.*, *J. Non-Cryst. Solids*, 1992; **143**: 84-92.) ことが既に明らかにされており、この構造が PDMS 鎖で修飾されてもその性質を発現しうることが期待された。

研究開始当初は、相分離により均一な合成体を得ることが困難であったが、Mackenzie 教授の了解を得て、当時、UCLA にご留学されていた鶴沼英郎先生 (現在、山形大学教授) にご仲介頂き、1 週間と短い期間であったが著者自身が UCLA で材料合成を学ぶ機会を頂いた。その当時を振り返りながら大変お世話になった S.J. Kramer 氏やキャンパスに近い定宿であるクレアモントホテルでの出来事などを思いだし、この様な貴重な経験によって挙げられた成果であることを改めて痛感した。

本 TEOS-PDMS 型ハイブリッドについては、 $\equiv\text{Si-O}^- \text{Ca}^{2+} \text{O-Si}\equiv$ 構造の導入による擬似体液中で自発的アパタイト析出能の発現 (Tsuru *et al.*, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 1997; **8**: 157-161.)、合成時の加水分解および重合機構および固体 NMR を用いた Si 原子周囲の局所構造の解明 (Tsuru *et al.*, *J. Sol-Gel. Sci. Technol.*, 2001; **21**: 86-89.)、補強剤の添加による柔軟性の制御 (Aburatani *et al.*, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, 2003; **111**: 247-251., Aburatani *et al.*, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, 2003; **111**: 318-322.) 等の成果を報告した。さらに、水溶性粒子をテンプレートとして作製した TEOS-PDMS 型ハイブリッド多孔体を作製し、肝細胞の培養担体としての応用の可能性を調査した。本研究は岡山大学大学院医歯薬総合研究科細胞生物学教室の許南浩教授との共同研究によって実施した。100-200 μm の孔径を有するハイブリッド多孔体をラジアルフロー型バイオリアクターに装着し、ヒト胚芽種由来株細胞 (HepG2) の三次元培養を試みた。その結果、培養 3 日後にはスフェロイドを形成し、細胞が分泌するアルブミン量は二次元平面培養に比べて優位に高い値を示した (Kataoka *et al.*, *Biomaterials*, 2005; **26**: 2509-2516.)。本系ハイブリッドが炎症性を惹起することも同時に判明したため、現在は研究を一時中断している。

前述の TEOS-PDMS 型ハイブリッドの研究成果に基づくと、有機成分を変更しても同様の効果が期待される。天然高分子は生体内で溶解するといった利点から医療の分野では早くから利用されてきたが、天然高分子に骨伝導性を付与する検討は行われていなかった。そこで、尾坂研究室では天然高分子の骨格に生体活性ガラス組成を導入した天然高分子型ハイブリッドの創製に着手した。

ゼラチンを原料としたハイブリッドについては L. Ren 氏（現在，厦門大学教授）が担当した。ゼラチンとシリカの化学結合を得るために γ -グリシドキシプロピルトリメトキシシラン（GPTMS）を原料として用いた。様々な出発原料配合比で作製したハイブリッド膜や多孔体のキャラクタリゼーションを行い，ゼラチンと GPTMS の配合比によって溶解速度が制御可能なこと，Ca イオンの導入によって擬似体液中で短期間にアパタイトの自発析出能を付与可能なこと，凍結乾燥温度の制御によって孔径の異なるハイブリッド多孔体が作製できること（Ren *et al.*, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, 2001; **109**: 406-411., Ren *et al.*, *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 2001; **21**, 115-121., Ren *et al.*, *J. Non-Cryst. Solids*, 2001; **285**, 116-122., Ren *et al.*, *Biomaterials*, 2002; **23**: 4765-4773.）等が明らかになった。

キトサンを原料としたハイブリッドについては城崎由紀氏（現在，九州工業大学准教授）が担当した。本系ハイブリッドについては細胞適合性評価を行い，Ca イオン未導入のハイブリッドは擬似体液中でアパタイトの自発析出能を持たないが，ヒト骨肉腫由来株細胞（MG63）の親和性が向上することが明らかになった（Shirosaki *et al.*, *Biomaterials*, 2005; **26**: 485-493.）。さらに，ポルト大学歯学部 M.H.Fernandes 教授，ポルト大学工学部 J.D.Santos 教授，M.A.Lopes 博士との共同研究によって Bone Marrow Cells の適合性について検討した。その結果，ハイブリッド化により石灰化基質産生が著しく亢進されることが明らかになった（Shirosaki *et al.*, *Acta Biomaterialia*, 2009; **5**[1]: 346-355.）。現在，本系ハイブリッドについては，城崎先生が中心になって神経の再生を目的としたスキャフォールドとしての応用を進めている。

有機修飾セラミックス医用材料の創製に関する尾坂研究室の研究成果を振り返ってみて，多くの方々に支えられて挙げられた成果であることを再認識させられた。著者が学部生であった尾坂研究室 1 年目の材料のキャラクタリゼーションについては京都大学の小久保正先生（現在，中部大学教授）にご協力を頂き，小久保研究室の装置を使わせて頂き挙げた成果である。その際，当時修士の学生だった川下将一先生（現在，東北大学准教授）の下宿に押しかけて宿泊までさせて頂いた経験は心に強く刻まれている。尾坂研究室における MC3T3E1 細胞を用いた評価系は物質・材料研究機構の山本玲子博士，廣本祥子博士の懇切丁寧なご指導により導入することができた。ご協力頂いた全ての方々に，改めてこの場を借りて深く感謝申し上げたい。

（執筆 都留 寛治）

参考文献リスト

- K. Tsuru, C. Ohtsuki, A. Osaka, T. Iwamoto and J. D. Mackenzie
Bioactivity of sol-gel derived organically modified silicates, Part I: *In vitro* examination
ゾルゲル法で合成した有機修飾シリケートの生体活性；その一：*in vitro* 評価
The Journal of Materials Science: Materials in Medicine, **8**, 157-161 (1997).
- K. Tsuru, Y. Aburatani, T. Yabuta, S. Hayakawa, C. Ohtsuki and A. Osaka
Synthesis and *in vitro* behavior of organically modified silicate containing Ca ions

Caイオンを含有する有機修飾シリケートの合成とその*in vitro*挙動

Journal of Sol-Gel Science and Technology, **21**, 89-96 (2001).

Y. Aburatani, K. Tsuru, S. Hayakawa and A. Osaka

Mechanical property and microstructure of bioactive organic-inorganic hybrids containing colloidal silica particles

コロイダルシリカ粒子を含有した生体活性有機-無機ハイブリッドの機械的特性と微細構造

Journal of the Ceramic Society of Japan, **111**[4], 247-251 (2003).

Y. Aburatani, K. Tsuru, S. Hayakawa and A. Osaka

Bioactivity of viscoelastic ormosil-type organic-inorganic hybrids containing colloidal silica particles

コロイダルシリカ粒子を含有した粘弾性有機-無機ハイブリッドの生体活性

Journal of the Ceramic Society of Japan, **111**[5], 318-322 (2003).

K. Kataoka, Y. Nagao, T. Nukui, I. Akiyama, K. Tsuru, S. Hayakawa, A. Osaka and N.H. Huh

An organic-inorganic hybrid scaffold for the culture of HepG2 cells in a bioreactor

バイオリアクターを用いたHepG2細胞培養のための有機-無機ハイブリッドスカフォールド

Biomaterials, **26**, 2509-2516 (2005).

L. Ren, K. Tsuru, S. Hayakawa and A. Osaka

Incorporation of Ca²⁺ ions in gelatin-siloxane hybrids through a sol-gel process

ゾルゲル法によって合成したゼラチン-シロキサンハイブリッドへのCaイオンの導入

Journal of the Ceramic Society of Japan, **109**[5], 406-411 (2001).

L. Ren, K. Tsuru, S. Hayakawa and A. Osaka

Sol-gel preparation and *in vitro* deposition of apatite on porous gelatin-siloxane hybrids

ゼラチン-シロキサンハイブリッド多孔体のゾルゲル合成と*in vitro*アパタイト析出

Journal of Non-Crystalline Solids, **285**, 116-122 (2001).

L. Ren, K. Tsuru, S. Hayakawa and A. Osaka

Synthesis and characterization of gelatin-siloxane hybrids derived through sol-gel procedure

ゾルゲル法によるゼラチン-シロキサンハイブリッドの合成とキャラクターゼーション

Journal of Sol-gel Science and Technology, **21**, 115-121 (2001)

L. Ren, K. Tsuru, S. Hayakawa and A. Osaka

Novel approach to fabricate porous gelatin-siloxane hybrids for bone tissue engineering

骨組織工学用ゼラチン-シロキサンハイブリッド多孔体創製の新しいアプローチ

Biomaterials, **23**, 4765-4773 (2002).

Y. Shirosaki, K. Tsuru, S. Hayakawa, A. Osaka, M.A. Lopes, J.D. Santos and M.H. Fernandes

In vitro cytocompatibility of MG63 cells on chitosan-organosiloxane hybrid membranes.

キトサン-オルガノシロキサンハイブリッド膜のMG63細胞を用いた*in vitro*細胞適合性
Biomaterials, **26**, 485-493 (2005).

Y. Shirosaki, K. Tsuru, S. Hayakawa, A. Osaka, M.A. Lopes, J.D. Santos, M.A. Costa and M.H. Fernandes
Physical, chemical and *in vitro* biological profile of chitosan hybrid membrane as a function of organosiloxane concentration

キトサンハイブリッド膜の物理的, 化学的, *in vitro*生物学的特性に及ぼすオルガノシロキサン濃度依存性

Acta Biomaterialia, **5**[1], 346-355 (2009).

4. ANNOUNCEMENT

<行事案内>

(1) **日本セラミックス協会第24回秋季シンポジウム**

【日時】 2013年9月4日～6日
【場所】 信州大学
【ホームページ】 <http://www.ceramic.or.jp/ig-syuki/26th/>

(2) **The 25th European Conference on Biomaterials**

【日時】 2013年9月8～12日
【場所】 Madrid, Spain
【ホームページ】 <http://www.esb2013.org>

(3) **第23回無機リン化学討論会**

【日時】 2013年9月19～20日
【場所】 松江テルサ
【ホームページ】 <http://www.jaipc.jp/>

(4) **第62回日本歯科理工学会学術講演会**

【日時】 2013年10月19～20日
【場所】 日本歯科大学新潟生命歯学部
【ホームページ】 <http://www.jsdmd.jp/2013/riko62p.html>

(5) **Composites at Lake Louise 2013**

【日時】 2013年11月3～7日
【場所】 Lake Louise, Canada
【ホームページ】
<http://www.engconf.org/conferences/materials-science-including-nanotechnology/composites-at-lake-louise-2013-2/>

(6) **25th Symposium and Annual Meeting of International Society for Ceramics in Medicine (Bioceramics 25)**

【日時】 2013年11月7～10日
【場所】 Bucharest, Romania
【ホームページ】 <http://bioceramics25.srb.ro/2/home>

(7) 第30回 日韓セラミックスセミナー

【日時】 2013年11月20～23日
【場所】 北九州国際会議場
【ホームページ】 <http://jkceramics.kenkyuukai.jp>

(8) 第35回日本バイオマテリアル学会大会

【日時】 2013年11月25～26日
【場所】 タワーホール船堀
【ホームページ】 <http://www.kokuhoken.jp/jsb35/>

(9) Thermec 2013

【日時】 2013年12月2～6日
【場所】 Las Vegas, USA
【ホームページ】 www.thermec.org

(10) 13th Asian BioCeramics Symposium (ABC2013)

【日時】 2013年12月4～6日
【場所】 京都大学百周年時計台記念館
【ホームページ】 <http://abc2013.jp/>

(11) 第33回整形外科バイオマテリアル研究会

【日時】 2013年12月7日
【場所】 奈良県新公会堂
【ホームページ】 <http://orthopaedic-biomaterials.com/>

<お知らせ>
なし。

編集後記

「ちょっと風です、Division です」なんて思っていたのですが、今号は相当のボリュームに！そのくせ（実質）制作期間は激短！巻頭言の尾坂先生、および執筆者諸子のおかげです（今後ともよろしくお願いいたします）。

（The Division 編集長：寺岡 啓）

私が日本セラミックス協会年会で初めて学会発表したときの座長が尾坂先生でした。あれから 17 年経ちますが、昨日のことのよう思い出されます。いつまでもお元気で。

（The Division 副編集長：宮崎敏樹）

連日の猛暑で体調を維持するのが難しい昨今となりました。こちら東北地方は比較的過ごしやすい気候でしたが、次の DV が出る頃には例年の如くドカ雪に悩まされていることかと想像すると、やや気が滅入ります。変動の激しい気候に即応できる頑健な体を養いたいものです。

（The Division 副編集長：川井貴裕）