

Application of vector materials science to ceramic-metallic materials with specific structures

by ○Kimihito YAMASHITA

1. 研究目的

生体内埋入直後から、生体側の材料に対する防御作用として炎症が起こる。同時に無機イオンやタンパク質、多糖類などの体液成分の吸着が始まる。その後未分化細胞が近接し、細胞の接着、増殖、石灰化が順次進行し、材料の生体との同化が起こると考えられている。次世代のバイオマテリアルの開発には、生体内のような“疑似の閉じた系”において独立に周辺を制御できる材料の創製がキーとなる。初期反応からその後の一連の生体側の作用を制御する材料をベクトル(vector)マテリアルと分類した。Vector をここでは“材料によって周辺にある生物、無生物、無機物あるいは有機物を、いい結果をもたらすように操る(マニピュレート)する”こと、と定義する。材料による生体物質や微生物のマニピュレーションは医薬関連産業のみならず多種多様な分野で新たなデバイスを創出する可能性を秘めている。

本課題では、特異構造を有する無機材料あるいは金属との複合材料へのベクトル材料科学を適用して新機能創生の可能性を検討する。

2 研究成果

2. 1 ベクトル材料の定義

広範なサイズの、多様な無生物、生物、無機物、有機物の誘導に対して、セラミックエレクトレット(electret)の活用できる事を明らかにした。原理的には表面電荷と対象物との静電的相互作用に基づくが、作用の伝播の空間および時間の大きさあるいは長さ、生体や微生物に対する希有の効果を勘案してエレクトロベクトル効果(electrovector effect)と命名した。ベクトル[vector]は一般的には方向と大きさを表す数学的用語、あるいはウィルスの担体を意味する生理学用語として知られているが、さらに以下の意味も持つ。

これに基づき、演者は材料によって周辺にある生物、無生物、無機物あるいは有機物をいい結果をもたらすように操る(マニピュレート)すること、と解釈を加え、特に静電力による事を勘案し、エレクトロベクトル効果とした。

2. 2 固液中でのベクトル効果

無機成分をヒトの体液にほぼ等しく調製した溶液(擬似体液; SBF)中に種々の固体を浸漬すると、数日間で固体の表面に骨類似結晶(構造中に炭酸根を含有するヒドロキシアパタイト(HA))を析出させることができる。この現象を利用して、ポーリング HA のエレクトロベクトル効果を証明できる。HA セラミックスを電極で挟み、直流電界によりポーリングした後に、SBF 中に浸漬する。

SBF 中に 12 時間浸漬後にはポーリング HA の負に帯電した N 面上に微結晶粒の析出が確認され、24 時間後には N 面全体が成長した結晶に覆われる。SBF 浸漬後数時間内に微結晶の析出が観察されるので、結晶核形成は浸漬後 1~3 時間程度で起こると考えられる。未処理の O 面上での結晶成長速度は 1~2 $\mu\text{m}/\text{日}$ であるのに対し、N 面上では約 6.0 $\mu\text{m}/\text{日}$ 3 倍以上に加速される。一方正に帯電した P 面上では O 面上での析出速度よりも小さく、微弱なポーリング条件では結晶の析出は確認できない。したがって結晶析出に対するエレクトロベクトル効果は、N 面上での結晶析出の促進と、P 面上での抑制と言える。

この場合のエレクトロベクトル効果は、HA の表面電荷と、SBF 中のイオンまたはイオングループとの相互作用を用いて次のように説明できる。浸漬直後から N 面近傍には SBF 中のカチオンが静電的に引き寄せられ凝集し、その中の Ca^{2+} イオンが結晶核形成に関与する。核形成後も凝集イオンを用いて結晶成長が進行していく。一方、P 面ではリン酸イオングループや塩化物イオンなどのアニオングループが凝集して、 Ca^{2+} イオンの固体表面への接近を妨害し、その結果として核形成と結晶成長が抑制されるものと推察される。

2. 3 細胞に対するベクトル効果

骨芽細胞様細胞としてマウス頭蓋冠由来の MC3T3-E1 を用いて子牛胎児血清 10%含有の最小必須培地

α -MEM を培用液として 37°C, 5%CO₂ 環境で細胞培養実験を行った。ポーリング HAp 表面上に増殖した MC3T3-E1 細胞の挙動は次の通りである。生体親和性が高くまた骨伝導能がある材料として既に臨床応用されているノンポーリング HAp 表面に増殖した MC3T3-E1 細胞に比べ、N 面上で観察された細胞は数、密着性共に高く、エレクトロベクトル効果が骨芽細胞様細胞の活性を高めた。反対に P 面上では O 面に比較して接着細胞数が少なく細胞増殖ならびに接着抑制効果が観察された。同様の条件下で行われた培養用シャーレ中の MC3T3-E1 に対する相対増殖率の検討からも O 面に比べ N 面では細胞増殖能が高く、P 面で低い結果が得られた。また、チタンに HAp コーティングを行った材料をポーリングして細胞の挙動を観察した実験からも前述の細胞増殖を観察した実験と同様の傾向を確認した。この実験の SEM 観察から N 面上では HAp コーティング層の上に骨類似結晶が析出しこの上に接着細胞が観察されたのに対し、P 面上では骨類似結晶の析出が観察されずコーティング層の上に直接接着細胞が観察された。

これら無機物、有機物および細胞の存在する環境から N 面での骨類似結晶の析出と骨芽細胞様細胞の挙動を模倣していると考えられ、生物がポーリング HAp のエレクトロベクトル効果に強く関与していることが示唆された。

2. 4 まとめ

初年度はベクトル科学の適用性について検討したので、次年度からは前プロジェクトで開発された特異構造材料への適用を図り、細胞に対する影響や、安全性確認後には動物を用いた生体内評価を行う予定である。

3. 参考文献

- (1) K. Yamashita, and S. Nakamura, Concept and development of vector ceramics for bio-interface engineering, J. Ceram. Soc. Jpn., **113**, 1 (2005).
- (2) K. Yamashita, N. Oikawa, and T. Umegaki, Acceleration and deceleration of bone-like crystal growth on apatite by polarization, Chem. Mater., **8**, 2697 (1996).
- (3) M. Ohgaki, S. Nakamura, T. Okura, and K. Yamashita, Enhanced mineralization on electrically polarized hydroxyapatite ceramics in culture medium, J. Ceram. Soc. Jpn., **108**, 1037 (2000).
- (4) H. Takeda, Y. Seki, S. Nakamura, and K. Yamashita, Evaluation of electrical polarizability and *in vitro* bioactivity of apatite Sr₅(PO₄)₃OH dense ceramics J. Mater. Chem., **12**, 2490 (2002).
- (5) M. Ueshima, S. Nakamura, M. Ohgaki, and K. Yamashita, Electrovectorial effect of polarized hydroxyapatite on quasi-epitaxial growth at nanointerfaces, Solid State Ionics, **151**, 29 (2002).
- (6) Y. Toyama, M. Ohgaki, S. Nakamura, K. Katayama, and K. Yamashita, Conformation of self-assembled organic layer on the electrically polarized hydroxyapatite ceramics in non-aqueous solution, Solid State Ionics, **151**, 159 (2002).
- (7) A. Obata, S. Nakamura, Y. Moriyoshi, and K. Yamashita, Electrical polarization of bioactive glass and their *in vitro* bioactivity, J. Biomed. Mater. Res. A, **67**, 413 (2003).