バイオコンポジットの現状と将来展望

5. 医療用バイオコンポジットの現状と将来展望[†]

東 藤 貢*

Current Status and Future Prospects of Biocomposites

V : Current Status and Future Prospects of Medical Biocomposites

by

Mitsugu Todo*

Key words : Bioabsorbable material, Regenerative medicine, Bone fixation device, Scaffold

1 緒 言

生体内で使用される医療用バイオコンポジットは、生体内で分解され吸収される生体吸収性材料としての特徴を有している。生体吸収性材料が生体内で使用されるには、

- ① 素材自体が免疫原性、毒性をもたないこと
- ② 適度な分解速度を有すること
- ③ 分解で生ずるオリゴマーや低分子が毒性を示さずに代謝・排泄されること
- ④ 加工しやすく適度な力学特性を保持すること

などの生体適合性、材料物性・機能上の条件を満たさなければならない。¹⁾マトリックスとして使用される生体吸収性ポリマーは、その分解過程の反応機構により大きく2種類に分類することができ、生体内の酵素の作用により分解するものと、体液との接触により自然に分解されるものに分けられる。酵素分解型としては、コラーゲン、ゼラチン、フィブリンなどがあり、コラーゲンやゼラチンは再生医療用足場材として、フィブリンは医療用接着剤として広く利用されている。自然分解型はその多くが合成高分子であり、ポリ乳酸 (PLA)、ポリグリコール酸 (PGA)、ポリカプロラクトン (PCL) やこれらの共重合体が代表的材料である。コラーゲンに代表されるように酵素分解型は生体内に元々存在するため、生体適合性・親和性に優れ、吸収速度も速いが、機械的特性に劣るのが特徴である。一方、合成高分子系の材料は、吸収速度が比較的遅いが、機械的特性に優れているのが特徴である。したがって、強度や剛性が要求される、例えば骨折した骨の固定用材料としては、PLA が主に用いられており、手術用の縫合糸として PGA やグリコール酸と乳酸の共重合体 PGLA が用いられている。表 1 に、一般的な生体吸収性高分子材料の医療への応用例を示す。²⁾これらの中では、吸収性縫合糸としての利用が最も多い。

これらの生体吸収性ポリマーをマトリックスとしたバイオコンポジットの代表例としては、PLA 製骨接合材料の生体親和性を向上させるために開発され実用化が進ん

表 1 吸収性高分子材料の医療用途

作 用	機 能	使 用 例
接 合	縫 合 定 着	術創部縫合、腸管吻合
閉 鎖	骨 折 接 合	骨折接合、弁固定
隔 離	外 科 用 接 着	外科用接着、ステープラ
補 強	局 所 止 血	局所止血、創傷被覆
足 場	血 管 塞 栓	血管塞栓、生検創封鎖
空間確保	臓 器 保 護	臓器保護
包 含	接 触 阻 止	癒着防止
	一 時 代 行	靱帯再生
	細胞増殖	皮膚再生、軟骨再生、血管再生
	組織再生	神経再生、歯科用 GTR
	薬剤放出	顎骨再生、ステント (スプリント)
		薬剤徐放化 (DDS)

でいるハイドロキシアパタイト微粒子分散 PLA がある。また、再生医療の分野では、ハイドロキシアパタイトや α -TCP、 β -TCP 等のリン酸カルシウムを生体吸収性ポリマーに複合化させた材料が検討されている。本稿では、骨接合材料と再生医療用足場材料としてのバイオコンポジットについて概説し、現状と将来展望を紹介する。

2 骨 接 合 材 料

2・1 吸収性骨接合材料

従来は、骨折部や骨切り部の接合用材料としてステンレス、チタンおよびチタン合金等の金属、あるいはアルミナやジルコニア等のセラミックスが主に用いられてきた。しかし、これらの骨接合材は、骨が接合し治癒した後に再手術によって抜去する必要があるため、再手術の必要がない吸収性材料が望まれてきた。高強度の PLA が開発されるに至り、吸収性骨接合材としての応用が試みられ、我が国において世界で初めての吸収性骨接合材として販売が開始された。整形外科領域では、主として、関節部の骨折治療、外反母趾の矯正、人工関節の置換の目的に用いられる。³⁾また、口腔外科においては、顎骨の骨折固定用として幅広く利用されている。実用化された製品の一例として図 1 に骨折固定用のプレートを示す。PLA 骨接合材は、骨組織との親和性に劣り、また剛性が低くさらに吸収速度も比較的遅いため、材料の改質が検

[†] 原稿受理 平成 22 年 6 月 10 日 Received June 10, 2010 ©2011 The Society of Materials Science, Japan

* 九州大学応用力学研究所 〒816-8580 春日市春日公園, Res. Inst. for Appl. Mech., Kyushu Univ., Kasuga-koen, Kasuga, 816-8580

図1 ポリ乳酸製骨固定材料（ゲンゼ社提供）

討されてきた。その結果、骨の主成分であるハイドロキシアパタイト (HA) 微粒子を PLA に分散させた HA/PLA 複合材料が開発され、臨床研究を経て骨固定材料として実用化されている。^{4)~6)}

2・2 吸収性骨接合材料の破壊特性

HA 粒子を単純に PLA マトリックスに分散させると破壊エネルギーを大きく低下させることが知られている。^{7),8)} PLA 等の熱可塑性樹脂は、成形過程に延伸を導入し分子鎖を配向させることで配向方向に垂直な方向のクラック進展に対する抵抗特性を大きく向上させることが可能となる。⁹⁾ HA/PLA に比較的簡単に延伸を導入する方法として、プレス成形を利用する方法があり、1 軸と 2 軸の延伸が可能となる。^{10)~12)} 一例として、PLA と HA/PLA にプレス成形で 1 軸配向を加えた場合の破壊エネルギーの増加挙動を図 2 に示す。未配向の場合に比べ PLA で 3.5 倍、HA/PLA で 5 倍程度破壊エネルギーは上昇する。主な高じん化のメカニズムは分子鎖の配向であるが、図 3 に示すように HA 粒子が PLA マトリックス中に挟みこまれるような形で存在するために界面強度が上昇することも高じん化の一因である。

我々は、HA/PLA の力学特性を向上させる方法として、微量の添加剤を用いて HA と PLA の界面の結合状態を改善する方法を見出した。¹³⁾ リジントリイソシアナート (LTI) を HA/PLA に 2wt% 添加した場合の破壊エネルギーの改善状態を図 4 に示す。わずか 2wt% で破壊エネルギーは 2 倍程度に上昇する。HA 粒子と PLA マトリックスの界面の SEM 画像を図 5 に示す。PLA 分子束が HA 粒子表面と強固に結合している様子が示されている。このこと

図2 破壊エネルギーに及ぼす延伸の影響

図3 PLA マトリックス中に強固に固定された HA 粒子

図4 HA/PLLA の破壊エネルギーに及ぼす LTI 添加の影響

図5 LTI により強固に結合した HA 粒子と PLLA マトリックス

から、HA の水酸基と PLA の水酸基が LTI を伸立ちとして結合したことが推測される。なお、LTI は PLA 単体に対しても効果的であり、¹⁴⁾ HA と PLA 界面の結合状態の向上のみならず、PLA マトリックスにおける架橋効果も破壊特性向上の主要なメカニズムであると考えられる。このように LTI は力学特性の改善に効果的であるが、生体材料として使用する場合には、LTI の生体適合性を十分確認する必要があることは言うまでもない。延伸や添加剤を用いる方法以外には、マイクロサイズとナノサイズの HA 粒子を混在させるバイモダル分散が力学特性に効果的であることが示されている。¹⁵⁾

2・3 今後の展望

生体吸収性骨固定材料には、その用途に応じてプレート、ロッド、スクリュー等の形状が準備されているが、新しいデザインはなく、基本的にはすべて金属製骨固定材料と同じ形状で作製されている（図1参照）。さらに、臨床においても、吸収性固定材料の剛性や強度を十分把握することなく金属製骨固定材料と同じ使われ方をすることがあるため、特に整形外科領域において生体内での破折が度々報告されている。また、特にPLA製固定材料が骨内で使用されたときに吸収速度の遅さが問題となっている。したがって、今後の重要な研究課題としては、高剛性、高強度の吸収性材料の開発、複合化による吸収速度のコントロール、生体力学的解析に基づく吸収性骨固定材料の使用条件の確立等が挙げられる。

3 再生医療用足場材料

3・1 複合系足場材料

再生医療における足場材料の役割は、*in vivo*の場合、再生したい箇所に足場材料を設置することで、周囲の細胞が増殖・分化しやすい空間を提供することである。細胞が侵入しやすくするために多孔質構造が採用され、さらに細胞増殖因子や細胞接着促進タンパク質を含有させた材料が開発されている。一方、*in vitro*の場合は、材料と細胞とを相互作用させ、適当な段階まで細胞を成長させてから、生体内に埋植するという方法がとられる。このとき使用する細胞としては、前駆細胞、体性幹細胞、ES細胞、iPS細胞等が考えられている。

骨の再生医療では、骨の主成分がハイドロキシアパタイトとコラーゲンであることから、主としてHA/コラーゲン複合材料が足場材料として検討されてきた。^{16), 17)}単なる複合化のみではなく、ナノ構造的にも生体骨と類似の材料を人工的に作製しようとする試みが行われており、HAとコラーゲンの自己組織化ナノ複合材料の研究も進められている。^{18), 19)}

しかし、コラーゲンをマトリックスとした複合材料では強度や剛性等の力学特性の点で問題があるため、PLA等の吸収性ポリマーをマトリックスとしHAや β -TCP等のリン酸カルシウム系微粒子を分散させた複合材料の研究が行われている。^{20)~23)}また、コラーゲンと吸収性ポリマー両者の利点を生かすために、これらを複合化した材料も検討されている。^{24)~26)}

3・2 足場材料の構造と細胞増殖性

一般に、足場材料の役割は、細胞が侵入し組織を形成することを助けることであるため、3次元的な連通性を有する多孔質構造を形成している。例として固液相分離法と凍結乾燥法により作製したPLA多孔質構造のSEM画像を図6に示す。²⁷⁾PLA単体では、細胞接着性や増殖能に劣ることが知られており、また、足場材料内部でのアポトーシス（細胞死）も報告されているため、²⁸⁾骨親和性に優れるリン酸カルシウム系微粒子を分散させた足場材料の開発が進んでいる。例としてPLAに β -TCP微粒子を分散させた材料の微視構造を図7に示す。図7(a)は図6とほぼ同様の多孔質構造を示しており、図7(b)より直径

図6 PLA足場材料の多孔質構造

(a) 多孔質構造

(b) PLAマトリックス中に分散する β -TCP微粒子
(矢印は β -TCP粒子を示す)

図7 β -TCP/PLAの多孔質構造と粒子分散状態

1 μ m程度の β -TCP微粒子が比較的良好に分散していることがわかる。

骨再生用の足場材料研究では、細胞として骨芽細胞様細胞MC3T3-E1が多く用いられている。骨芽細胞様細胞は骨芽細胞に分化するが、骨芽細胞の機能は骨をつくることである。骨芽細胞は、生体内では類骨層を介して骨組織表面に配列しており、骨基質タンパクを分泌し、さらに骨基質タンパクを石灰化させることで骨を形成する。さらに、骨基質形成や石灰化だけでなく破骨細胞の誘導にも重要な役割を果たすことが知られている。図8に多孔質 β -TCP/PLA上で培養したMC3T3-E1の状態を示す。このように各々の細胞が連結しネットワーク構造を形成する。また、図9に4種類の足場材料HA/PLA、 α -TCP/

図8 β-TCP/PLA 表面に形成された骨芽細胞様細胞のネットワーク構造 (矢印は細胞を示す)

図9 バイオセラミックス/PLA 足場材料の細胞増殖能の比較

PLA, β-TCP/PLA および PLA 単体を用いて MC3T3-E1 を 14 日間培養した際の足場材料内部と表面に存在する全細胞数の変化を示す。3 種類のバイオセラミックスを加えることで細胞増殖能が向上し、特に α-TCP が最も効果的に作用していることがわかる。体液環境下において α-TCP は β-TCP よりも溶解度が大きく、溶解度の差が細胞増殖能に影響していると思われる。なお、β-TCP は骨再生用の人工骨ブロックや顆粒として用いられており、一方、α-TCP は生体内で硬化するペースト状人工骨として臨床応用されている。

3・3 足場材料の力学特性

PLA にバイオセラミックス粒子を分散させる主目的は骨組織に対する親和性の向上であるが、弾性率の上昇も期待できる。図 10 に圧縮弾性率のバイオセラミックス粒子の重量含有率依存性を示す。含有率の増加にともない弾性率は上昇するが、HA よりも TCP の方がより大きく増加する。HA は PLA マトリックス中で凝集する傾向にあるが、TCP は比較的均一に分散する。このような分散状態の差が弾性率の増加状態に影響していると考えられる。

PLA 足場材料の弾性率を向上させる方法として複合構造化が検討されている。²⁸⁾一例として、中央部は PLA 多孔質構造であり最外層に HA/PLA 複合材料を導入した複合構造の SEM 画像を図 11 に示す。また、異なる 3 種類の

図 10 バイオセラミックス/PLA 足場材料の圧縮弾性率に及ぼす含有率の影響

図 11 HA/PLA の最外層を導入した PLA 足場材料

層状構造を有する足場材料の圧縮弾性率を図 12 に示す。Mono は通常の単層構造 PLA 足場材料であり、Porous layer は最外層に多孔質の PLA 層（中央部よりは低空隙率）を導入したもの、Solid layer は最外層に PLLA のバルク層を導入したもの、Composite solid layer は最外層に HA/PLA のバルク層を導入したものである。最外層の剛性に依存して足場材料の弾性率は増加し、また複合構造を制御することで弾性率の制御が可能となることが理解できる。

in vitro での組織再生を力学的観点から考えると、最終目標は、再生を目指している生体組織と同等の力学特

図 12 層状構造の導入による圧縮弾性率の向上

性を有する再生組織の構築である。したがって、基礎的研究として、足場材料に細胞を播種後、増殖にともなう力学特性の変化を把握しておくことは重要である。一例として、 β -TCP/ゼラチン足場材料(図13)にMC3T3-E1を播種し、最長2か月増殖させた場合の圧縮弾性率の変化を図14に示す。細胞播種後2週間では、ゼラチンの分解あるいは吸湿の影響で弾性率は若干低下するが、1, 2か月後には弾性率は増加し、特に2か月後には実験開始直後に比べ約3倍程度と大きく増加している。細胞の増殖に加え骨芽細胞特有の石灰化の影響も考えられる。

3・4 今後の展望

骨組織の再生を考えた場合、骨自体が主にハイドロキシアパタイトとコラーゲンの複合材料であることから、足場材料も無機/有機系複合材料が基本となる。粒子分散型や繊維強化型、あるいは積層構造型等いろいろな材料が検討されているが、未だ生物学的な条件と力学的な条件の両方を完全に満足するような材料は開発されていないのが現状である。さらに、足場材料の場合、細胞の培養環境を考慮に入れた材料設計も必要である。骨組織に限らずその他の生体組織の再生において複合系足場材料は重要な役割を果たすと考えられ、今後の研究の進展が期待される。

4 結 言

超高齢社会を迎えた我が国では、種々多様な疾病に悩まされる患者の数は増加する一方であり、今後ますます

図13 β -TCP/ゼラチンの多孔質構造

図14 β -TCP/ゼラチンの圧縮弾性率に及ぼす細胞増殖の影響

再生医療に対する期待が高まってくるであろう。再生医療において細胞を播種し増殖させるための足場材料は必要不可欠であり、生体吸性ポリマーをマトリックスとする複合系足場材料は、医療分野におけるバイオコンポジットの代表的存在として今後の益々の発展が期待される。

参 考 文 献

- 1) Y. Tabata, "Biomaterials science for regenerative medicine", (2006) Corona Publishing Co., Ltd.
- 2) H. Tsuji and Y. Ikada, "Porinyusan-iryuu-seizai-kankyou no tameni", Kobunshi, pp.149-160 (1997) Kankoukai.
- 3) J. C. Middleton and A. J. Tipton, "Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices", Biomaterials, Vol.21, pp.2335-2346 (2000).
- 4) Y. Shikinami and M. Okuno, "Bioabsorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly-L-lactide (PLLA) : Part I. Basic characteristics", Biomaterials, Vol.20, pp.859-877 (1999).
- 5) T. Furukawa, Y. Matsusue, T. Yasunaga, Y. Shikinami, M. Okuno and T. Nakamura, "Biodegradation behavior of ultra-high-strength hydroxyapatite/poly(L-lactide) composite rods for internal fixation of bone fractures", Biomaterials, Vol.21, pp.889-898 (2000).
- 6) Y. Shikinami and M. Okuno, "Bioabsorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly-L-lactide (PLLA) : Part II. Practical properties of miniscrews and miniplates", Biomaterials, Vol.22, pp.3197-3211 (2001).
- 7) M. Todo, S. Park, K. Arakawa and Y. Takenoshita, "Effect of particle shape on the fracture behavior of HA/PLLA composite material", Journal of the Japan Society for Composite Materials, Vol.31, No.4, pp.31-37 (2005).
- 8) S. D. Park, M. Todo, K. Arakawa and Y. Takenoshita, "Effect of Mixing Process on the Fracture Behavior of HA/PLLA Composite Material", Key Engineering Materials, Vol.2, 297-300, pp.2453-2458 (2005).
- 9) M. Todo, "Effect of unidirectional drawing process on fracture behavior of poly(L-lactide)", Journal of Materials Science, Vol.42, pp.1393-1396 (2007).
- 10) M. Todo and T. Kagawa, "Improvement of fracture energy of HA/PLLA biocomposite material due to press processing", Journal of Materials Science, Vol.43, pp.799-801 (2007).
- 11) T. Kagawa, M. Todo, Y. Takenoshita and A. Myoui, "Improvement of the fracture properties of hydroxyapatite micro-particles filled poly(L-lactide) by structural modification", Journal of the Japan Society of Powder Metallurgy, Vol.55, No.5, pp.341-346 (2008).
- 12) M. Todo, T. Kagawa, Y. Takenoshita and A. Myoui, "Effect of press processing on fracture behavior of HA/PLLA biocomposite material", Journal of Solid Mechanics and Materials Engineering, Vol.2, pp.1-7 (2008).
- 13) T. Takayama and M. Todo, "Improvement of mechanical

- properties of hydroxyapatite particle filled poly(L-lactide) biocomposites using lysine tri-isocyanate”, *Journal of Materials Science*, Vol.44, pp.5017-5020 (2009).
- 14) M. Todo and T. Takayama, “Improvement of mechanical properties of poly(L-lactic acid) by blending of lysine tri-isocyanate”, *Journal of Materials Science*, Vol.42, pp.4721-4724 (2007).
- 15) T. Takayama, M. Todo and A. Takano, “The effect of bimodal distribution on the mechanical properties of hydroxyapatite particle filled poly(L-lactide) composites”, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, Vol.2, pp.105-112 (2009).
- 16) K. S. TenHuisen, R. I. Martin, M. Klimkiewicz and P. W. Brown, “Formation and properties of a synthetic bone composite”, *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol.29, pp.803-810 (1995).
- 17) A. Tampieri, G. Celotti, E. Landi, M. Sandri, N. Roveri and G. Falini, “Biologically inspired synthesis of bone-like composite : Self-assembled collagen fibers/hydroxyapatite nanocrystals”, *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol.67A, pp.618-625 (2003).
- 18) M. Kikuchi, S. Itoh, S. Ichinose, K. Shinomiya and J. Tanaka, “Self-organization mechanism in a bone-like hydroxyapatite/collagen nanocomposite synthesized in vitro and its biological reaction in vivo”, *Biomaterials*, Vol.22, pp.1705-1711 (2001).
- 19) S. Itoh, M. Kikuchi, Y. Koyama, K. Takakuda, K. Shinomiya and J. Tanaka, “Development of a hydroxyapatite/collagen nanocomposite as a medical device”, *Cell Transplant*, Vol.13, pp.451-461 (2004).
- 20) P. X. Ma, R. Zhang, G. Xiao and R. Franceschi, “Engineering new bone tissue in vitro on highly porous poly(α -hydroxyl acids)/hydroxyapatite composite scaffolds”, *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol.54, pp.284-293 (2001).
- 21) G. Wei and P. X. Ma, “Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering”, *Biomaterials*, Vol.25, pp.4749-4757 (2004).
- 22) K. M. Woo, J. Seo, R. Zhang and P. X. Ma, “Suppression of apoptosis by enhanced protein adsorption on polymer/hydroxyapatite composite scaffolds”, *Biomaterials*, Vol.28, pp.2622-2630 (2007).
- 23) S. Haimi, N. Suuriniemi, A. M. Haaparanta, V. Ella, B. Lindroos, H. Huhtala, S. Raty, H. Kuokkanen, G. K. Sandor, M. Kellomaki, S. Miettinen and R. Suuronen, “Growth and osteogenic differentiation of adipose stem cells on PLA/bioactive glass and PLA/ β -TCP scaffolds”, *Tissue Engineering : part A*, Vol.15, pp.1473-1480 (2009).
- 24) G. Chen, T. Sato, T. Ushida, N. Ochiai and T. Tateishi, “Tissue engineering of cartilage using a hybrid scaffold of synthetic polymer collagen”, *Tissue Engineering*, Vol.10, pp.323-330 (2004).
- 25) Y. Hiraoka, Y. Kimura, H. Ueda and Y. Tabata, “Fabrication and biocompatibility of collagen sponge reinforced with poly(glycolic acid) fiber”, *Tissue Engineering*, Vol.9, pp.1101-1112 (2003).
- 26) X. Niu, Q. Feng, M. Wang, X. Guo and Q. Zheng, “Porous nano-HA/collagen/PLLA scaffold containing chitosan microspheres for controlled delivery of synthetic peptide derived from BMP-2”, *Journal of Controlled Release*, Vol.134, pp.111-117 (2009).
- 27) M. Todo, H. Kuraoka, J. Kim, K. Taki and M. Ohshima, “Deformation behavior and mechanism of porous PLLA under compression”, *Journal of Materials Science*, Vol.43, pp.5644-5646 (2008).
- 28) J. E. Park and M. Todo, “Development of layered porous poly(L-lactide) for bone regeneration”, *Journal of Materials Science*, Vol.45, pp.3966-3968 (2010).