スパッタ HA 薄膜の薬剤吸着特性と抗血栓性評価 Drug adsorbability of sputtered hydroxyapatite films and its antithrombogenicity

○尾関和秀¹, 吉原裕貴², 増澤徹¹

1. 茨城大学工学部, 2. 茨城大学大学院理工学研究科

OKazuhide Ozeki¹, Hirotaka Yoshihara² and Toru Masuzawa¹

1. College of Engineering, Ibaraki University

2. Graduate school of Science and Engineering, Ibaraki University

1. 緒言

人工臓器の生体適合性や抗血栓性は、望ましい性能をまだ発揮していない。ハイドロキシアパタイト(HA)は、硬組織置換材料として着目され、近年軟組織への親和性、優れた抗血栓性についても報告がなされており、人工臓器の表面改質材料として注目されている。また、吸着性にも優れ、消臭剤や洗顔料などに応用されている。スパッタリング法は、膜厚を1 μm 以下に制御可能で、HAのようなセラミックスの薄膜も作製でき、人工臓器のような複雑な形状へのコーティングが可能である。そこで、人工臓器表面の改質をスパッタ HA 薄膜により行い、生体適合性や抗血栓性を高めようとした。本研究では、薬剤吸着による複合化で HA 薄膜の抗血栓性を高めることを目的とし、複合化された HA 薄膜の抗血栓性評価を血栓形成により測定した。

2. 実験方法

スパッタリング装置には、SPF-210HD(キャノンアネルバ株式会社)を用い、粉末HA(宇部マテリアルズ株式会社)をターゲットとして、表1の条件で両面コーティングを行った。基板(10×5×0.3mm)にはステンレス(SUS316L, 株式会社ニコロ)を用いた。更に、結晶性を高める手段として、水熱処理を行った。水熱条件は、110℃, 0.15MPaとし、時間を24時間とした。以後、水熱処理24時間後のHA薄膜をHA(24h)とする。これらの試料を薬剤吸着に用いた。薬剤には、アルブミン(アルブミン[卵由来]; 和光純薬工業株式会社)とストレプトキナーゼ(MP Biomedicals)を用いた。試料を37℃のアルブミン水溶液[1mg/ml]又は、ストレプトキナーゼ水溶液[200 $\mu\text{g/ml}$]に1時間浸漬し、吸着量を分光光度計U-3010(株式会社日立ハイテクノロジーズ)にて測定(N=3)した。以後、アルブミンを吸着させたHA薄膜をA-HA、ストレプトキナーゼを吸着させたHA薄膜をS-HAとする。また、羊血液(綿羊無菌保存血液; コーシンバイオ株式会社)を用いてHA薄膜の血栓形成を測定した。試料に血液20 μl を滴下し8分後、蒸留水を20ml加えてヘモグロビンの吸光度を分光光度計にて測定(N=3)した。

Table 1 Sputtering condition

Gas	Ar
Discharge power [W]	100
Gas pressure [Pa]	0.5
Gas flow [sccm]	10
Thickness [μm]	1.0

3. 実験結果及び考察

図1にSUS316L, HA film, A-HA, S-HA, HA(24h), A-HA(24h)及びS-HA(24h)の血栓形成に伴うヘモグロビン吸光度を示す。通常、血栓は血小板の凝集反応、又は血液凝固因子によるカスケード反応によって形成され始め、血栓形成に伴いヘモグロビンが取込まれる。ヘモグロビン吸光度が高いほど血栓が出来にくくなっているため、ヘモグロビン吸光度が高いほど抗血栓性が高いと評価できる。図1より、A-HA(24h)とS-HA(24h)のヘモグロビン吸光度が高くなっている。A-HA(24h)のヘモグロビン吸光度が高くなっているのは、HA結晶のa面にアルブミンが吸着しているため、他の血漿タンパク質が吸着しにくくなり血栓形成が抑制され、血栓に取込まれるヘモグロビンが減少し、吸光度が増加したと考えられる。また、S-HA(24h)のヘモグロビン吸光度が高くなっているのは、形成されたフィブリンが溶解され血栓形成が抑制され、血栓に取込まれるヘモグロビンが減少し、ヘモグロビン吸光度が増加したと考えられる。

Fig. 1 Absorbance of the SUS316L, HA film, A-HA, S-HA, HA(24h), A-HA(24h) and S-HA(24h) (N=3). * < 0.05

4. 結言

HA 薄膜の抗血栓性は、アルブミン及びストレプトキナーゼとの複合化により高まった。また、アルブミン及びストレプトキナーゼ吸着量が多いほど、抗血栓性が高まった。