

# 放射光照射による生体親和性セメントの 硬化促進の波長依存性

神戸薬科大学薬学部助教授

大塚 誠

## 放射光照射による生体親和性セメントの硬化促進の波長依存性

### 1. 研究の背景と目的

高齢化社会を迎え、老人性疾患をどのように効率的に治療するかは将来の大きな問題となりつつある。特に骨や歯など関係する患者は、骨粗しょう症、歯槽膿漏による歯牙の脱落や顎骨の退縮、顎間接症による顎の損傷など極めて多くの潜在的な患者が存在しその治療の発展が望まれている。これらの、機械的に損傷を受けた硬組織を修復するためには、その損傷部分に人工骨の補充し、その人工骨が硬組織に接合することが必要である。これらの必要条件を満たすためには生体親和性のよいこと、つまりインプラントを取り巻く骨細胞群が活性化する生体材料が求められている。これに加えて、適用の後に自己硬化し、骨と接合するインテリジェントな能力を必要としている。

ところで、リン酸とカルシウムから構成されるハイドロキシアパタイト (HAP) は、歯や骨などの生体硬組織を形成していることから生体適合性が非常によく、生体硬組織に用いるバイオマテリアル材料として理想的である。これらの背景から、我々は、世界に先駆けて、生体に適用の後、HAPに転移するリン酸カルシウム(CP)セメントと生体活性ガラスセメントの自己硬化機構と生体親和性に着目し、このセメントを薬物送達システム (DDS) に応用する研究を開始し、すでに抗生物質、抗炎症剤、ポリペプチド、抗癌剤のDDSのin vitro 薬物放出制御方法を確立し、生体中 (ラット) で生体硬組織への効率的な薬物放出を実証し、臨床的に応用することが可能であることを示してきた。しかしながら、これらのセメントは、歯牙や人工骨として実用生活に適用するためには、その機械的強度や化学的安定性が不十分であり改善が望まれている。

一方、近年、電子科学技術の発展を背景にして実験物理学研究の進歩は目覚ましいものがある、物質の最も基本の単位である原子などの構成要素を解き明かすために巨大加速器などの建設が各地で行われ、これらの施設の利用が現実性をおびてきた。特に兵庫県においては世界有数の大型放射光施設「SPring 8」の建設が進められている。これらの施設の利用が近い将来に可能になりつつある。

これらの実験施設的な背景から、我々はこれまでにユタ大学との日米共同研究として生体硬組織としてのHAPの溶解性抑制に関する研究を展開してきた成果に基づき、大型放射光の持つ特性 (波長可変、超高輝度、平行光源) を極めて効果的にバイオマテリアル開発に利用することを計画した。これらの施設をハイドロキシアパタイトの臨床研究に応用し新規の特性を持つ生体硬組織親和性材料の開発するための基礎的な検討として種々のレーザーを用い本研究を開始した。

## 2. 研究方法

リン酸カルシウムセメントの処方を種々変化させた成形セメントにアルゴン、CO<sub>2</sub>レーザー光処理を行いその機械的強度を応力試験機により測定した成形体の破壊強度とpH 4.5酢酸緩衝液中の溶解速度を回転円盤法により求めた。この機械的強度と化学的安定性との関係を定量的に検討する。また、HAPセメントの原料粉末の粒子径を種々変化させ、硬化反応速度を熱分析装置により測定し、成形体硬度に対する影響を測定する。レーザー光処理によるこれらの結晶成長速度を粉末X線回折計によって定量的に測定し、その結晶成長機構を解明する。HAPセメント成形体の内部構造水銀ポロシメータと窒素ガス吸着法により測定し、成形体硬度と関係を明らかにする。HAPセメント結晶粒子の物理化学的性質に対するレーザー光処理の影響を粉末X線回折法、赤外吸収スペクトル法により測定する。アルゴンあるいは炭酸ガスレーザー光照射によるHAPセメントの成形体硬度の上昇と光波長の関係について検討する。レーザー処理されたHAP成形体を動物への埋め込み実験を行い、その生体親和性を評価する。

## 3. 研究内容

### レーザー照射様式がヒトエナメル質の溶解性に与える影響

レーザー光は、高いエネルギーを持つ電磁波であることから被照射体は、そのエネルギーを吸収し高熱となる。骨や歯の場合、この照射により照射エネルギー量が適当な場合アパタイト結晶の格子不整部分が結晶化し溶解性の低いアパタイトに変換される、しかしながら、過剰なエネルギーが加えられた場合には、硬組織が高温になり分解し、 $\alpha$ -TCPや $\beta$ -TCPなどの高い溶解度の準安定型のリン酸カルシウムに分解転移により、溶解性が高くなることが知られている。これらのレーザー照射処理の副作用現象を防ぐために照射の様式を、連続照射からパルス照射に変更し、照射の後冷却期間を設定することにより、高温による分解を抑制することが可能となる。そこで、我々は、ヒト歯エナメルに図1に示すような形式で炭酸ガスレーザーを照射し、照射様式とエナメル質の溶解性を比較検討した。コンピューターシミュレーションの結果から連続照射によるエナメル質表面における温度は1000℃以上に上昇するが、パルス照射では、およそ500℃の表面温度となることが示された。図2に炭酸ガスレーザーを照射し

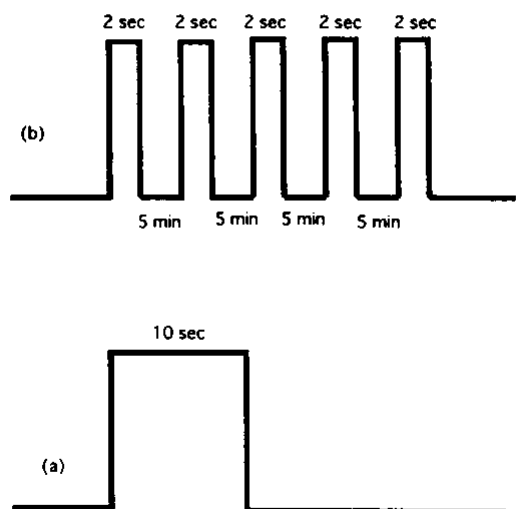


図1. レーザー照射様式

たエナメル質のpH 4.5酢酸緩衝液中の溶解プロファイルを示した。パルス照射は同一照射エネルギーであるにもかかわらず、連続照射に比較して著しく効率的なアパタイト溶解を抑制することができた、また、エナメル表面の反射FT-IRスペクトルの結果から連続照射されたエナメル表面のアパタイトの物性変化と比較して顕著な変化を示したこれらの結果から生体硬組織の安定性を効率的に向上させるためにレーザー照射の様式を考慮し、エナメル表面の温度を制御することが必要であることが実証された。

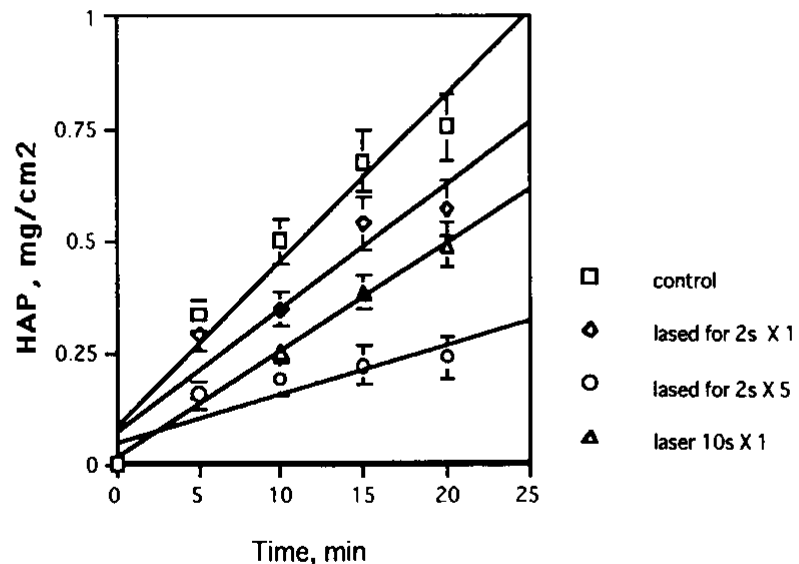


図2. エナメル質の酸性溶液中での溶解性に対するレーザー照射様式の影響

### レーザー光波長がアパタイトセメントの化学的安定性に与える影響

我々は、生体親和性をもつ高機能材料である自己硬化型リン酸カルシウムセメントを用い薬物送達能を有する人工歯や人工骨として利用することを発案し基礎的に検討してきた。これらの自己硬化型セメントは、溶液と練合の後に生体親和性の高いHAPに転移し、硬化する。転移したHAPは極めて微細な結晶で、格子不整を多く含むことから非常に熱に不安定な性質を持つことがこれまでの研究から明らかになってきた。しかしながら、このセメントは、機械的強度が80MPa程度で不十分であることから現在のところ実用的とは言えない。そこで我々は、これら機械的強度が十分とはいえないHAPセメントを炭酸ガスレーザーを用いレーザー光処理することによりその特性の改善を試み、レーザーエネルギー強度に依存して表面硬度や溶解性が改善されることを示してきた。これらの結果をさらに発展させることにより、さらに機械的強度と生体内における化学的安定性を短時間に飛躍的に向上させるためには被照射体の吸収波長依存性を発見することが重要である。これらが成果が明らかになった後にはセメントを作用部（生体内あるいは歯部）に装着硬化させた後、レーザー光処理により硬化させる新しい機能を持つタイプのインプラント、歯科デンタルセメント

システム開発が可能となる。このためには極めて広い光照射波長範囲においてその波長依存性とエネルギー量と硬化速度測定に関する実験および硬化機構について基礎的に検討するひつようがある。これらの特性を十分に把握するためには現在兵庫県においては建設されている世界有数の大型放射光施設「SPring 8」の使用が最もふさわしいが、これらの研究に前段階として各種固有波長のレーザー処理による、アパタイトセメントの酸性溶液中での溶解性の抑制効果について検討した。

図3にアルゴンと炭酸ガスレーザーを照射したアパタイトセメントのpH 4.5酢酸緩衝液中の溶解プロファイルを示した。レーザーエネルギー量と溶解速度との関係を図4に示した。炭酸ガスレーザー照射は同一照射エネルギーであるにもかかわらず、アルゴンレーザー照射に比較して著しく効率的なアパタイト溶解を抑制することができた。炭酸ガスレーザーの主要波長は、 $10.6\mu\text{m}$ の赤外領域である。一方、アルゴンガスレーザーの波長は、488, 514.5 nmの可視部領域であり全く異なる光学的特性を有する。ハイドロキシアパタイトのリン酸基は、 $10\mu\text{m}$ 付近に特異的吸収を持つことから炭酸ガスレーザーのエネルギーを効率的に吸収することが知られている。これらのこ

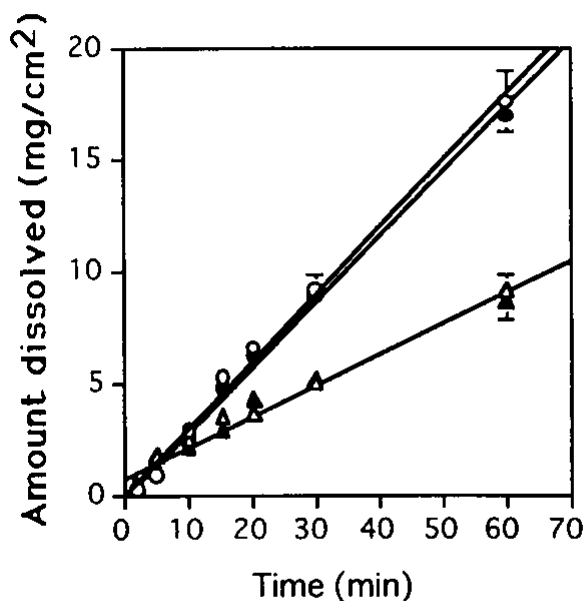


図3. アルゴンと炭酸ガスレーザー照射したアパタイトセメントの酸性溶液中での溶解性

○, 未照射セメント; ●, アルゴン320J/cm<sup>2</sup>; △, 炭酸ガス196J/cm<sup>2</sup>; ▲, 炭酸ガス320J/cm<sup>2</sup>.

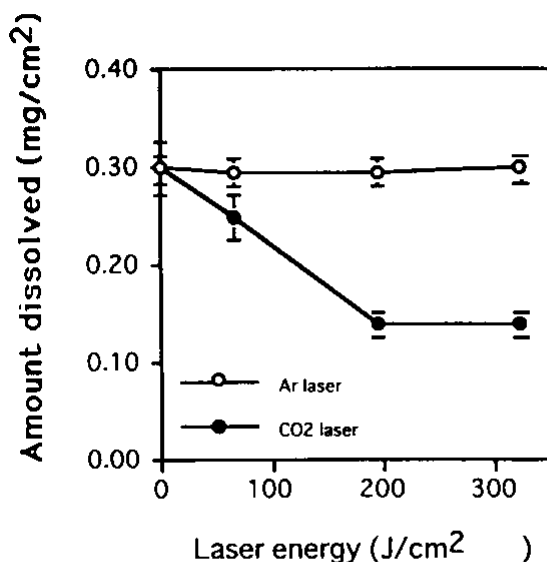


図3. アルゴンおよび炭酸ガスレーザーがアパタイトセメントの溶解性に与える影響

とから自己硬化型セメントから生体親和性の高いHAPに転移したセメントは極めて微細な結晶で、格子不整を多く含むことからレーザー照射による熱に結晶性により低い溶解性のアパタイトに転移したものである。また、アルゴンガスレーザーの波長の光はアパタイトの吸収効率が極めて悪くアパタイトを透過したためにアパタイトの溶解性を効率的に変換することができなかったものと思われる。このように、照射するレーザー光の波長を制御することにより被照射体の物理化学的特性を効率的に制御することができることが明らかになった。これらの事実からレーザー光の波長を自由に制御することのできる大型放射光施設「SPring 8」の使用により新規機能を有するバイオマテリアルの開発に新しい可能性が開けるものと思われる。

#### 4. 論文発表

1. A. A. Baig, J. L. Fox, J. Hsu, Z. Wang, M. Otsuka, W. I. Higuchi and R. Z. LeGeros: Effect of Carbonate Content and Crystallinity on the Metastable Equilibrium Solubility Behavior of Carbonated Apatite, *J. Colloid Inter. Sci.*, 179, 608-617 (1996).
2. Z. Wang, J. L. Fox, A. A. Baig, M. Otsuka and W. I. Higuchi: Calculation of Intercrystalline Solution Composition during In Vitro Subsurface Lesion Formation in Dental Minerals, *J. Pharm. Sci.*, 85 (1), 117-128 (1996).
3. C. Hamasniishi, K. Kitamoto, S. Tanaka, M. Otsuka, Y. Doi: A Self-Setting TTCP-DCPD Apatite Cement for Release of Vancomycin, *Applied Biomaterials*, 33, 139-143 (1996).
4. M. Otsuka, K. Yoneoka, Y. Matsuda, J. L. Fox, W. I. Higuchi and Y. Sugiyama: Plasma Calcium Level-Responsive Estradiol Release From Self-Setting Apatitic Bone Cement in Ovariectomized Rats, *Pharm. Sci.*, 2 (7) 321-323 (1996).
5. M. Otsuka, Y. Matsuda, J. Hsu, J. L. Fox and W. I. Higuchi: Effect of Micropore Structure on Drug Release from Self-Setting Calcium Phosphate Cement Containing Anti-Cancer Agent, *Advanced Biomaterials in Biomedical Engineering and Drug Delivery Systems*, 367-368 (1996).
6. J. L. Fox, J. Hsu, W. I. Higuchi, G. L. Powell and M. Otsuka: Physical Model Approach to the Design of Laser Irradiation Regiments to Improve Resistance to Dental Caries, *Progress in Biomedical Optics, Proceedings of Laser in Dentistry II, SPIE Vol.*, 2672, 88-98 (1996).
7. M. Otsuka, Y. Nakahigashi, Y. Matsuda, T. Kokubo, S. Yoshihara, T. Nakamura and T. Yamamuro: In Vitro and in vivo Indomethacin Release from Self-Setting Bioactive Bone Cement, *Bioceramics*, 9, 271-274 (1996).
8. M. Sawada, M. Otsuka, Y. Matsuda, T. Kokubo, T. Nakamura and T. Yamamuro: Drug Delivery System Using Bioactive Bone Cement, Consisting of Bis-GMA Resin and Bioactive Glass Ceramics, *Bioceramics*, 9, 275-278 (1996).
9. K. Otsuka, M. Otsuka, J. Hsu, Z. Wang, A. A. Baig, J. L. Fox, G. L. Powelle and W. I. Higuchi, Effect of Pulse and Continuous Laser Irradiation on Dissolution Kinetics of Human Enamel, *Laser in Life Science*, in press.