

皮膚創傷治療用生体ゾルゲルガラスフェルト材料の開発

名古屋工業大学 大学院工学研究科 小幡亜希子

Development of Bioactive Sol-Gel Glass Felt for Skin Wound Healing

Akiko Obata

Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology

皮膚の創傷治療用バイオマテリアルとしての応用を見据え、ゾルゲルガラス繊維からなるフェルト材料を開発した。ガラスから溶出する無機イオンの一部は組織の再生を促進すると期待されるが、溶出過程にてバーストが起こることで周辺組織や細胞への悪影響が懸念されることから、イオンを継続的に徐放する機能が求められている。本研究では生体用ガラスである 70mol% SiO₂ - 30mol% CaO 組成のゾルゲルガラスをベースとして、新たに B または Zr を添加することでイオンの徐放機能を達成した。またエレクトロスピンング法を組み合わせることで、柔軟性を示す繊維構造体の作製にも成功した。

Sol-gel glass felts were developed for the use in skin wound treatment. Although several types of inorganic ions released from glasses have been regarded to promote tissue regeneration, burst release of such ions could induce adverse effects on surrounding tissues and cells and the glasses with controlled ion release for a long time have been expected. In the present study, we succeeded to achieve 70 mol% SiO₂ - 30 mol% CaO sol-gel bioactive glasses with controlled ion releasability by incorporating B or Zr into the glass system. Flexible fibers of the glasses were fabricated by an electrospinning method.

1. はじめに

皮膚は人間の生体において最も大きな臓器であり、その構造は表皮、真皮及び皮下組織の層状構造から成る。表皮は主とし 4 ~ 5 層のケラチノサイトからなり、衝撃などの外的要因から生体を保護する働きを有する。一方で、真皮は主にコラーゲンやエラスチンの繊維状物質から構成され、内部に血管やリンパ管が通っている。近年、皮膚の慢性創傷患者が増加傾向を示しており、これに特化した治療方法の確立や生体材料の開発が求められている。通常の皮膚創傷は、止血→炎症→細胞増殖→組織のリモデリングを介して数週間程度で治癒する。これに対し数ヶ月以上治らない創傷を慢性創傷と呼び、特に高齢者、肥満や糖尿病患者にて発症しやすい。そのため、超高齢化社会に突入し、かつ高齢者の肥満人口が増加傾向を示している日本において無視できない問題である。慢性創傷の治療過程は、炎症期、細胞増殖期、成熟期(再構築期)の 3 期に大別される。炎症期と増殖期では感染予防の抗菌処置が求められる場合がある。増殖期と成熟期においては、新しい皮膚組織を構築する細胞の増殖や細胞外マトリックスの成熟などを促す仕組みが求められる。

生体用ガラス・セラミックス材料の一部は、細胞の増殖や成熟を促進させ、組織の再生を促す作用を持つことがわかっている。とくに Bioglass® (45S5 : 46.1 mol% SiO₂, 2.6

mol% P_2O_5 , 24.4 mol% Na_2O , 24.4 mol% CaO) や 70 mol% SiO_2 - 30 mol% CaO 組成のゾルゲルガラス(70S30C)では、材料から溶出する無機イオンが骨組織の再生促進に寄与すると報告されている^{1,2)}。骨組織だけでなく、皮膚などの軟組織の再生に適したイオンの種類と量を供給し、かつ創傷部を保護するのに適した柔軟性と操作性を兼ね揃えたガラス・セラミックス材料を開発することができたならば、慢性皮膚損傷用の新規生体材料への応用展開が期待できる。しかし、溶解性ガラス・セラミックス材料の多くではイオン溶出の初期バーストが課題となる。バーストにより予期せぬ pH 上昇や過剰なイオン供給が起こり、その結果、細胞死や組織の炎症を引き起こす可能性がある³⁾。特にゾルゲルガラスは高い比表面積をもつ特徴がありバーストが起こりやすく、そのため材料の化学的耐久性の制御が強く求められる。例えば70S30Cの場合、単純にCaO量を減少させることで耐久性は向上する。しかし、Caは細胞の増殖や皮膚組織の構築に有効なイオンの一つであり、よってCaO量を減らすことなくバーストを制御する手法が求められる。

以上のことをふまえ、本研究では慢性皮膚損傷治療用のゾルゲルガラス材料の開発を目指した。細胞外マトリックスの生成を促すSiやCaをメインの構成元素とし、さらにBまたはZrイオンを導入したガラス組成について検討する。熔融急冷法で作製されたガラスに関する報告例を参照すると、BとZrイオンの導入はケイ酸塩ガラスの諸物性の制御に寄与する⁴⁾。また、ホウ酸塩ガラスにおいては、ホウ酸異常と呼ばれる現象が報告されている⁵⁾。これは、ホウ酸塩ガラスに修飾酸化物を導入することによってネットワークコネクティビティが増大し、その結果、溶解性を含め様々なガラスの特性が変化することを意味する。Zrイオンの導入によって形成されるSi-O-Zr結合は強固であるため、ガラス全体の耐久性の向上に寄与し、6配位構造をとるZrの周囲にCaが存在することでCaイオンのバーストが抑制すると期待される^{6,7)}。一方で、ゾルゲルガラスにおけるこれら元素の添加効果については報告例がない。本研究ではこれら元素の添加効果について調査するとともに、繊維化にも成功したので報告する。

2. 実験方法

2.1. ゾルゲルガラス粉末の作製と構造および諸物性の調査

TEOS、硝酸カルシウム四水和物、Triethyl borate、硝酸ジルコニウムを用いて70S30C組成をベースに、 SiO_2 の一部を B_2O_3 または ZrO_2 で置換した組成のゾルゲルガラスを作製した。ガラス組成は $(70-x) SiO_2 - 30CaO - x B_2O_3$ または $-x ZrO_2$ (in mol%)であり、サンプルコードはそれぞれ $x B$ または $x Zr$ と表記する。どちらのサンプルにおいても、最終的に700°Cで5時間加熱することで安定化処理し、粉碎することでガラス粉末を得た。

得られたサンプルは粉末X線回折法(XRD)、フーリエ変換赤外分光法(FT-IR)、窒素ガス吸脱着法による比表面積の計測を行った。また、体内環境に近い37°CおよびpH 7.4のトリス緩衝溶液中に浸漬し、サンプルから溶出した各種イオン量を誘導プラズマ発光分析法(ICP-AES)により測定した(n=3)。

2.2. ゾルゲルガラス繊維の作製

繊維化にはエレクトロスピンニング法(ES)を用いた。安定なスピニングを実現すべく、有機バインダーとして10 wt%のpoly(vinylbutyral)/ethanol溶液を用いた。これを上述の方法にて作製したゾル状態のサンプルと混合し、ES用の溶液として用いた。ES後のサン

プルは700°Cで5時間加熱することで安定化処理した。得られたサンプルは、走査型電子顕微鏡(SEM)により形態観察を行った。

3. 結果と考察

3.1. BおよびZrの添加効果

得られたサンプルのXRDパターンより、どのサンプルからもハローパターンが得られ非晶質構造であることがわかった。また、ブロードなピークは1つであることから大きく分相していないことがわかった。緩衝溶液中でのカルシウムイオン溶出挙動について、ICP-AES測定にて調査

Table 1. Percentages of amount of calcium ions released from glasses during immersion in Tris-HCl buffer solution for 4 and 8 hr. Average values of three samples.

	4 hr	8 hr
70S30C	83	99
15B	23	41
12Zr	47	57

した結果を表1に示す。BおよびZrを添加したサンプルにおいて、カルシウムイオンの溶出割合の減少が見られた。この要因を調査すべく、窒素ガス吸脱着法の結果から比表面積を算出したところ、B添加ガラスにおいては添加量に依存して減少することがわかった(表2)。溶融急冷法にて合成されたガラスに関する報告例を参照すると、ケイ酸塩ガラスにBを添加することでガラス転移温度や結晶化温度の低下することがわかっている⁸⁾。このことから、ゾルゲルガラスにおいても、B添加によって安定化処理過程(700°C)での焼き締まりが促進され、その結果比表面積が減少したと考える。

一方で、Zr添加ガラスにおいては上述のような変化は観察されず、むしろ比表面積は大きくなる傾向を示した。このことから、B添加とは異なる機序によりカルシウムイオンの溶出抑制が起きたと考えられた。FT-IRスペクトルより、Zrを添加することでSi-O-Zr結合に由来するピークが観測され、Zr量に依存して増大する傾向が見られた。このことから、6配位のZrがネットワークの形成に寄与しており、これによりガラスの重合度が上昇し化学的耐久性が向上したことが示唆された。また、カルシウムイオンはこの6配位Zrの電荷補償として機能し、これがイオンの溶出抑制に寄与したことも考えられた^{6,7)}。

Table 2. Specific surface area (SSA) of prepared glasses.

	SSA [m ² /g]
70S30C	56.7
15B	9.3
12Zr	83.6

以上のように、BまたはZrを70S30Cゾルゲルガラスに添加することで、どちらの組成系においてもカルシウムイオンの溶出の初期バーストを抑制することに成功した。また、この抑制機構はそれぞれ異なる機序に基づくこともわかった。

3.2. ゾルゲルガラスの繊維化

図1にESを用いて作製したZr添加ガラス繊維のSEM画像と外観写真を示す。今回作製したどのサンプルにおいても、直径が数百nmほどの繊維で構成されていた。また、直径はES用の溶液やES時の諸条件を変更することで調整可能であることもわかった。外観写真より、立体的な繊維構造体であることが分かる。また、一般的なフェルト生地のように柔軟性を示すことも確認できた。既に繊維化に成功していたケイ酸塩ゾルゲルガラス

と同様に、本ガラスにおいても ES 時の諸条件のうち特に湿度を調整することで、繊維の立体化を実現することもわかった⁹⁾。つまり、特定の湿度に設定することで二次元的な繊維シート(不織布状)や三次元的なフェルト状の繊維を得ることができた。

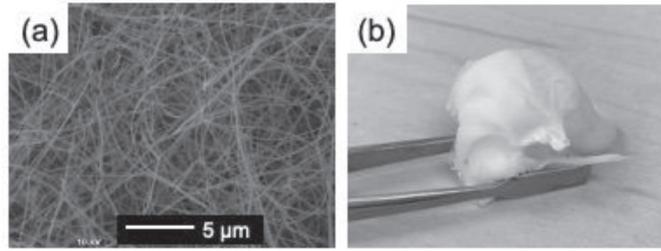


Fig.1. SEM image (a) and appearance (b) of Zr-containing glass fibers.

4. 結論

本研究では、生体組織の再建用バイオマテリアルとしての応用を見据えたゾルゲルガラス繊維を作製した。細胞の活性化および組織の再生に有効なカルシウムイオンを継続的に徐放するガラス繊維を実現すべく、70 mol% SiO₂ - 30 mol% CaO 組成ゾルゲルガラスに新たに B または Zr を添加した材料を開発した。その結果、どちらの組成系においても緩衝溶液へ浸漬した際の初期のイオン溶出割合を減少させ、徐放機能を付与することができた。また、その機序については両添加元素間にて異なることも見出した。

5. 謝辞

本研究は 2019 年度日本板硝子材料工学助成会の研究助成を受けて行ったものである。心より感謝申し上げます。

6. 参考文献

1. I. D. Xynos, A. J. Edgar, L. D. K. Buttery, L. L. Hench and J. M. Polak, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **276**, 461-65, (2000).
2. J. E. Gough, J. R. Jones and L. L. Hench, *Biomaterials*, **25**, 2039-46, (2004).
3. S. Midha, T. B. Kim, W. van den Bergh, P. D. Lee, J. R. Jones and C. A. Mitchell, *Acta Biomater.*, **9**, 9169-82, (2013).
4. Y. Tanaka, Y. Benino, T. Nanba, S. Sakida and Y. Miura, *Phys. Chem. Glasses-B*, **50**, 289-93, (2009).
5. D. R. Uhlmann and R. R. Shaw, *J. Non-Cryst. Solids.*, **1**, 347-59, (1969).
6. Y. Zhu, X. Li, J. Yang, S. Wang, H. Gao and N. Hanagata, *J. Mater. Chem.*, **21**, 9208-18, (2011).
7. L. Galois, E. Pélegrin, M.-A. Arrio, P. Ildefonse, G. Calas, D. Ghaleb, C. Fillet and F. Pacaud, *J. Am. Ceram. Soc.*, **82**, 2219-24, (1999).
8. K. M. Tohamy, I. E. Soliman, A. E. Motawea and M. A. Aboelnasr, *Nat. Sci.*, **13**, 145-54, (2015).
9. E. Norris, C. Ramos-Rivera, G. Poologasundarampillai, J. P. Clark, Q. Ju, A. Obata, J. V. Hanna, T. Kasuga, C. A. Mitchell, G. Jell and J. R. Jones, *Biomed. Mater.*, **15**, 015014, (2020).