

骨再生用有機・無機複合系多孔質サンドイッチ構造体の開発と力学特性評価

宮原，大祐

九州大学大学院総合理工学府総合理工学専攻機械・システム理工学メジャー

<https://hdl.handle.net/2324/7178780>

出版情報：九州大学，2023，修士，修士
バージョン：
権利関係：



修 士 論 文

骨再生用有機・無機複合系 多孔質サンドイッチ構造体の開発と 力学特性評価

九州大学大学院総合理工学府

総合理工学専攻

機械・システム理工学メジャー

生体エネルギー工学研究室

宮原 大祐

指導教員 東藤 貢

提出年月日 令和6年2月6日

目次

第1章	緒言	1
1.1	再生医療の現状	1
1.2	骨欠損治療	3
1.3	3Dプリンタと骨再生用バイオマテリアル	4
1.3.1	3Dプリンタと生体工学	4
1.3.2	バイオマテリアル	5
1.4	研究目的	7
第2章	材料および作製方法	8
2.1	バイオポリマー	8
2.2	材料	9
2.2.1	Hydroxyapatite (ハイドロキシアパタイト)	9
2.2.2	PLLA (ポリ L 乳酸)	10
2.2.3	PCL (ポリカプロラクトン)	10
2.3	ポリマー多孔体作製方法	10
2.4	PLA プレーットの作製	12
2.5	サンドイッチ構造体の作製方法	14
2.6	評価方法	15
2.6.1	微視構造観察	15
2.6.2	圧縮試験	16
2.6.3	3点曲げ試験	17
第3章	結果と考察	18
3.1	微視構造	18
3.2	圧縮変形・破壊特性	20
3.2.1	応力-ひずみ曲線	20
3.2.2	機械的特性	23
3.2.3	圧縮変形メカニズム	24
3.3	曲げ変形・破壊特性	27
3.3.1	荷重-変位曲線	27
3.3.2	機械的特性	37
3.3.3	曲げ変形メカニズム	41
第4章	結言	47
	参考文献	48
	謝辞	54

第1章 緒言

1.1 再生医療の現状

再生医療の基本アイデアは、生体のもつ自然治癒力を介して病気を治すことである。すなわち、自然治癒力の基である細胞の増殖、分化能力を高め、自然治癒力を促し、生体組織を再生修復させる。このように、体に本来備わっている自己の自然治癒力を高め、病気を治すアプローチは、患者の体に負担の少ない理想的な治療法となる。再生医療には2つの分野がある。1つ目は病気を治す再生治療であり、2つ目は次世代の治療を科学的に支える再生研究である。再生研究には、細胞の能力を調べる細胞研究と能力の高い細胞を利用した薬の作用、毒性を評価、薬を作る創薬研究がある。再生医療が現実味を帯びてきた背景に、2つの研究分野の進歩がある。1つ目の研究分野は、再生現象に関わる細胞の基礎生物医学研究で現在、増殖と分化能力の高い元気な様々な細胞の利用が可能となってきた。しかしながら、その能力は体外の細胞培養実験で調べられており、体内ではその能力がどうなっているのかは不明な点も多い。そのため、細胞をただ単に体内に注入するだけでは、体内で細胞はうまく働かず、生体組織の再生修復が期待できない場合も多い。2つ目の研究分野が組織工学(ティッシュエンジニアリング)である。すなわち、細胞の能力を高めるとともに、3次元の生体組織様構造を作るための工学である。[1] 組織工学では、3大要素として細胞と足場と増殖因子を用いる(Fig.1.1)。目標とする臓器の構造(足場)を生体内分解性の材料で作製し、そこに任意の細胞を播種し、さらに発生の過程または組織治癒の過程で組織・生体内部に存在する因子(成長因子など)を添加して組織形成を促すものである [2]。組織工学の手法を用いて組織の再生や再構築を実現させるためには、主役としての細胞、舞台としての足場(scaffold)そして、脇役としての成長(増殖)因子がそろって始めて可能になる。本稿では、足場材料に注目し研究を行なった。なぜなら足場材料はFig.1.2に示すように欠損が生じた患者の患部への組織再生に使用され、かつ細胞が接着し生存、増殖、分化する場所となり非常に重要だからである。足場材料は体内で使用されることから、人体に無毒であり吸収される生体吸収性や周囲の組織と適合できる適切な力学特性、細胞が侵入するための多孔質構造、体液を浸透できる連通性、細胞親和性など様々な機能が要求される。そのため生体吸収性のある材料が用いられ合成ポリマーや天然ポリマー、バイオセラミックスを中心に研究が進んでいる[3-6]。しかし、これら材料には長所と短所があり、合成ポリマーは構造保持のための優れた力学強度を提供する一方、疎水性であり細胞接着性が低い。天然ポリマーは、親水性であり良好な細胞親和性を示すが、合成ポリマーに比べ力学強度が低く細胞培養中や体内に埋め込まれた時に形状や構造を維持することが難しい。また、代表的なバイオセラミックスであるハイドロキシアパタイト(Hydroxy apatite:HA)などは高い骨伝導性を有するが、脆い。以上のように足場に使用される材料は、各々優れた特徴を示す一方で、重大な欠点も持ち合わせているため材料単体では使用されない。本稿では、バ

イオセラミックスとポリマーの複合体の力学特性向上を試みている。

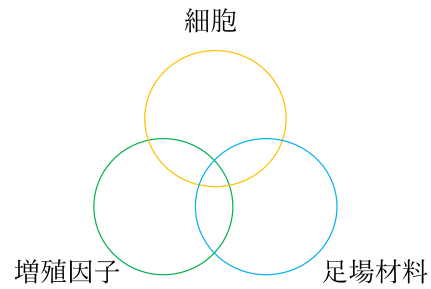


Fig.1.1 Three major elements of tissue engineering

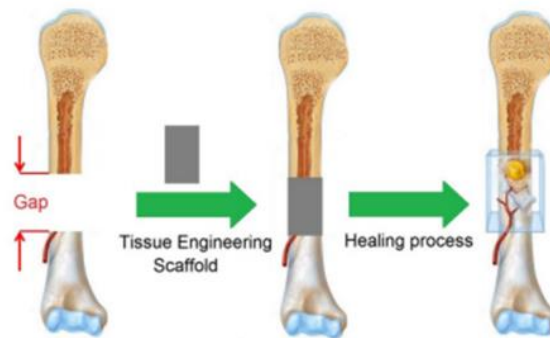


Fig.1.2 Tissue engineering approach for bone healing process using scaffold[7]

1.2 骨欠損治療

骨は、炭酸アパタイトを中心とするリン酸カルシウムが沈着した石灰化組織で構成される無機成分とⅠ型コラーゲンやコラーゲン系たんぱく質からなるコラーゲンを中心とした有機成分との複合構造を有している。その複合体である骨質が大部分を占め、骨膜や骨髄関節軟骨、神経、血管により構成されている[8]。さらに、網目構造の海綿骨とその周囲を多数の層構造を形成した非常に硬い皮質骨が覆っている。また、骨は常に骨芽細胞による形成と破骨細胞による骨吸収を繰り返し、そのバランスを維持しながら新しい骨組織が形成される骨リモデリングが行われている[9-11]。そのため、軽度の骨折の場合は、骨リモデリングにより修復が可能である。しかし、骨腫瘍や嚢胞、交通事故による複雑骨折など大規模な骨欠損が生じた場合、自然治癒は困難となり骨補填剤を用いた骨再生治療が行われている。この骨補填材には自家骨や他家骨、人工骨がこれまで用いられてきた。患者自身の骨を用いる自家骨移植は、拒絶反応がなく骨再生に優れていることから、最も有効的な治療法とされている[12]。しかし、骨採取用に別に手術が必要であることや、ドナー不足[13]の問題もあり、この治療法は最良の選択肢ではないかもしれない。また、チタンや金属合金などの材料も骨欠損治療にこれまで使用されてきたが、[14][15] これらを用いたインプラント法も新しい骨組織が完全な治癒後、金属プレート除去の手術があり、患者の負担が大きい。さらに場合によってはこのような金属プレートは危険な感染症を引き起こしたり、骨組織に炎症を起こしたりする可能性もあると指摘されている。そしてその場合には、感染症治療のための再度の除去手術が必要になる[16-18]。これに加えて、金属は天然骨と比較すると硬いため、金属と骨の間に高い応力がかかり、金属プレートの剛性により周辺組織が劣化する場合もある[19][20]。そのため最近では、自家骨の代替として骨の主成分と類似のリン酸カルシウム系材料を用いた骨補填材、いわゆる人工骨が開発され、骨再生治療に利用されており、その使用頻度は年々高まっている。しかし、無機材料のみでは操作性、成形加工性が悪く、さらに脆性的な破壊挙動を示すという欠点を示すことが問題となっている。これらの課題を解決するために、人工骨移植の開発が進められてきた。人工骨は骨の無機主成分に類似したハイドロキシアパタイトやリン酸カルシウムなどのリン酸カルシウム系バイオセラミックスが使用されている[21-24]。人工骨に求められる特性としては、機械的強度、安全性、骨組織との高い親和性や材料の靱性などがあげられる。しかし、バイオセラミックス製人工骨では骨再生能が自家骨や他家骨には及ばない[25]。そこで、近年では骨再生能の向上を目的とし、人工の足場材料と間葉系幹細胞を組み合わせた再生培養骨の研究が進められている[26-28]。再生培養骨移植は、多孔質足場材料に幹細胞を播種し、生体外である程度組織化させたものを移植する治療法である。この際に用いる幹細胞には患者自身の細胞を使用することで、移植時の拒絶反応のリスクを低減し、早期回復が可能とされている。再生培養骨などの再生医療分野にも、上記の工学と生命科学分野を融合させ組織や臓器の代替物の開発・創製を目的とした組織工学分野が当てはまる。生物を

構成する細胞は皮膚や骨、臓器など存在する箇所によってその特性を大きく変える。そのため、その細胞に適した足場材料を利用することが、その組織の再生の効率化につながると考えられる[29-31]。再生培養骨に用いられる足場材料には細胞が成長するために十分な空間が必要となり連通多孔質構造をとることが基本となる。その他にも生体適合性や構造安定性などが同時に要求され、各要素のバランスを保った足場材料が求められている。現在、生体骨と同等の骨再生能を有する再生培養骨の確立を目指した足場材料の開発に向けて、ハイドロキシアパタイト(HA)やリン酸カルシウムなどのバイオセラミックスや、ポリ L 乳酸 (PLLA) やポリカプロラクトン (PCL) などのバイオポリマーが用いられている[29-33]。

1.3 3D プリンタと骨再生用バイオマテリアル

1.3.1 3D プリンタと生体工学

3D プリンティングの概念は、積層造形(AM)、ラピッドプロトタイピング(RP)、またはソリッドフリーフォームテクノロジー(SFF)とも呼ばれ、チャールズハルによって開発された。近年、3D プリンタが世界的に大きな注目を浴びている。この 3D プリンタ熱を紐解くにあたって、重要なキーワードとして挙げられるのが「カスタマイズ」だ。3D プリンタは従来の加工技術では難しかった複雑な立体構造が造れるほか、3D データを直接出力するため設計の変更が容易であり、個々のユーザの要望に合わせて造形物をカスタマイズすることに非常に適している。製品のコモディティ化が進む市場において、3D プリンタは大量生産による価格競争ではなく、カスタマイズによる高付加価値化での競争を可能にするツールとして期待されている。上記の性質上、3D プリンタは単価が高くロット数が小さく、カスタマイズおよびオーダーメイドへのニーズが大きい分野との相性が良い。中でも近年特に活用が進んでいるのが、医療分野である。人間を対象とする医療分野では、患者に合わせたカスタマイズ度合いが治療の成果に直結することから、3D プリンタ黎明期から積極的に導入が進められている [34]。現在 3D プリンタを用いた積層造形技術は、骨や歯から血管や臓器の足場に至るまで、さまざまな組成の組織を作り出すためのツールとして生体工学の分野で広く用いられている。人工の足場を身体に導入する際の主な懸念としては上述した生体吸収能力と、生体適合性があり、これらの理由から足場は必要とする個人から採取された組織(自家組織)で構成されている。しかし、必要な足場が大きい場合など患者にとって自家組織のサンプリングが不可能な場合もある。その際に 3D プリンティングの技術を用いることで組織再生用に 3D プリントされた足場を作製することができるため、足場形成のために患者自身の組織からサンプルを採取する必要がなく、個別の治療が可能になる。そのため、生体適合性材料を用いた 3D プリンティング技術は、生体工学において重要な技術となっている[35]。3D プリンタを用いインクジェットベースまたは有機バインダーでプリンティングしこれらの材料から足場を作

製していく際、インプラントの骨への接着は、補綴物の細孔への骨の内方成長を通じて起こるため、インプラントの気孔率が重要となっており、骨の内方成長を促進するための 3D プリント足場の理想的な気孔率と気孔サイズは、それぞれ 30～70%と 500～ 1000 μm であるとされている[36][37]。

1.3.2 バイオマテリアル

バイオマテリアルを足場として用いるためには力学的、生物学的、構造的な 3 つの主要な要件を満たさなければならず、そのため足場を作製するための材料選択は非常に重要であり、欧州バイオマテリアル学会 (European Society for Biomaterial) はバイオマテリアルを以下のような材料であると定義している。「体内の組織や臓器を再生、治療、置換するために、ヒトの生物学的システムと連携することを目的とした材料である[38]。」現在足場として使用されるバイオマテリアルは、天然、合成、人工の 3 つの素材が主流であり、足場への応用には、天然素材、合成ポリマー、セラミックスが用いられている。そしてバイオマテリアルは天然バイオマテリアルと合成バイオマテリアルの 2 つに分けることができ、これらはそれぞれ 2 種類の起源がある。それによって材料の機械的特性と生物学的特性が異なっている。近年、天然バイオポリマーは、合成足場材に比べ優れた生体適合性と生分解性を持つため、組織足場材としての関心が高まっている [39]。具体的に天然バイオマテリアルの他の利点として生態学的に安全であり、誘導体から様々な酵素を生産できるということがあげられる。しかし、この天然バイオマテリアルは、力学的特性が低くほとんどの耐荷重用途に適していないという問題がある。Fig.1.3 はバイオマテリアルを分類した図であり、Table 1.1 は、バイオマテリアルのメリット、デメリットをまとめたものである。

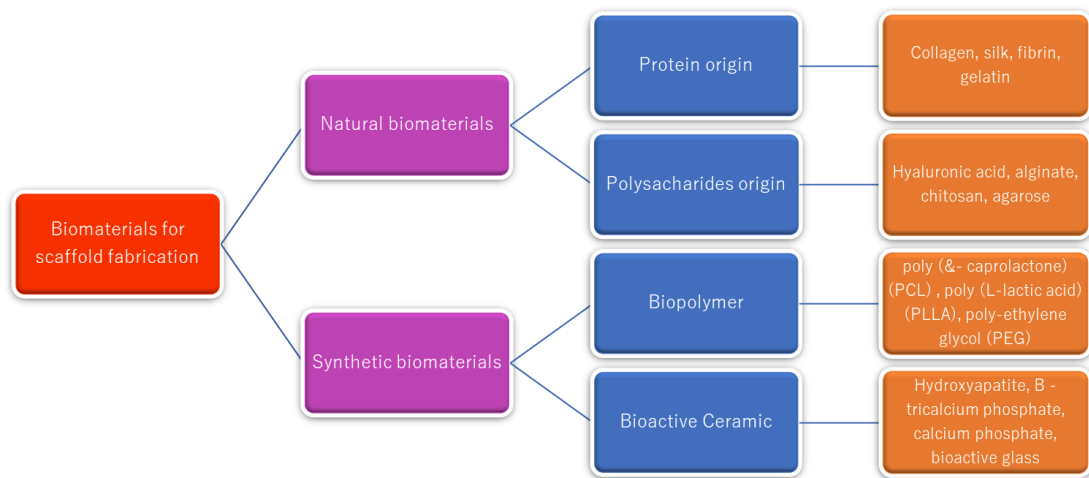


Fig.1.3 Biomaterials classification for scaffold fabrication

Table 1.1 Summary of materials for scaffold fabrication in bone tissue engineering and their advantages and limitation

Materials	Advantages	Limitations	References
Natural biomaterials	• Bio-compatible • Biodegradable • Osteogenic	• Low mechanical strength	55~59
Biopolymers	• Can be produced in mass quantities • Tunable properties • Biodegradable • Good mechanical properties	• Lack sites for cell adhesion	36,60,61
Bioceramics	• Biocompatible • Biodegradable • High strength	• Brittle	62~66

1.4 研究目的

近年、再生医療用材料としての生分解性ポリマーの応用が進んでいる。骨再生用として利用する場合は、ポリマー単体では生体適合性、生体親和性に劣るため、骨の無機成分と類似のハイドロキシアパタイト HA 微粒子との複合化が検討されている。我々の研究室では、機械的特性が異なる 2 種類の生体吸収性ポリマー PLLA と PCL を用いて足場材料の力学的特性の向上を試みてきた。

また、足場材料の圧縮力学特性に関する報告は多くあるが、曲げ特性の向上に関する報告の数は少ない。本研究は、3D プリンタを用いたサンドイッチ構造を有するビーム状複合多孔体の開発と、医用材料研究の 2 つから構成される。3D プリンタを用いたサンドイッチ構造を有するビーム状複合多孔体の開発では高分子材料とバイオセラミックスを用いてビーム状の多孔質複合体を作製し、3D プリンタを用いて作製したプレートによりサンドイッチ構造体の開発を行った。医用材料研究では、2 種類の高分子材料とバイオセラミックスを用いて作製した複合多孔体の圧縮試験と開発したサンドイッチ構造体の 3 点曲げ試験を行い、評価を行った。また同時にサンドイッチ構造体のプレートの形状の違いによる力学特性の評価を行った。3D プリンタを用いたサンドイッチ構造を有するビーム状複合多孔体の作製方法の確立と力学特性の改善、そして破壊メカニズムの解明を目指す。将来的には臨床応用可能な足場材料の開発を目指している。

第2章 材料および作製方法

2.1 バイオポリマー

整形外科分野で最も一般的に使用される合成バイオポリマーは、カプロラクトンやラクチド由来のものである。これら 2 つの材料は、加水分解能力があることが分かっており、体内での分解が容易で、体外に排出されやすいという特性がある [51]。そしてポリ L 乳酸 (PLLA) やポリカプロラクトン (PCL) のようなバイオポリマーは、体内で時間の経過とともに加水分解される。またこれらのバイオポリマーは、大量生産が可能で長期間保存することが可能であるため、生体材料として骨再生によく使用されている [52][53]。それに加えてこれらの材料は用途に応じて特性を調整することができる。また、ポリ乳酸-ポリ ϵ -カプロラクトン共重合体 (PLCL) のような共重合体も必要に応じて鎖長や結晶化度を制御できるためよく使用されている [51][54]。Table 1.2 は、組織工学、特に整形外科に使用される最も一般的な 3 種類のバイオポリマーの基本的な化学的性質を示したものである。PLLA は、柔軟性、生体適合性、生体吸収性などの独自特性により、10 年以上にわたって多くの整形外科用途やインプラント手術に採用されてきた [55][56]。また最近の研究では、PLLA は、オッセオインテグレーションを促進する疎水性薬剤の媒体として使用されており、オッセオインテグレーションを促進すると同時に感染症の可能性を低減させるために使用されている [57][58]。しかし、インプラントの破折などの症例が報告されており、PLLA の整形外科分野での適応の必要性が検討されている [59-61]。一方、PCL は長年研究されており、足場材の作製に使用されている。Weisgerber らの研究によると、COL / glycosaminoglycan (GGCaP) の PCL ベースの足場は、鈣物単独足場のものよりも弾性率が 6000 倍となることがわかった。また Pangesty らの研究によると、PCL 多孔質足場をエレクトロスピンニング法で作製した結果、多孔性足場により細胞移動が増加することが示され、血管工学への応用も期待されている [63]。しかし、足場の作製においては、PCL のみでは、天然骨に匹敵する機械的強度を得るには不十分である。 [55][64]-[68]

Table 1.2 Chemical properties of PCL、 PLCL and PLLA [55][64]-[68]

Materials	Tg (°C)	Tm (°C)	Tensile Strength (MPa)	Tensile Modulus (GPa)
Poly (&-caprolactone) (PCL)	~-60	60-65	10-17	0.01-1.2
Poly (L-lactic acid -co-caprolactone) (50:50) (PLCL)	16-35	130-160	3-20	~0.05
Poly (L-lactic acid) (PLLA)	60-65	173-178	390-2300	0.5-16

2.2 材料

2.2.1 Hydroxyapatite (ハイドロキシアパタイト)

ハイドロキシアパタイト(Hydroxyapatite：以下、HA と略記する)は歯や骨といった組織の主成分である水酸化リン酸カルシウムのことであり、化学式は $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ で示される。骨の 60%、歯のエナメル質の 97%がハイドロキシアパタイトで構成されている。特徴としては、骨の主要な構成成分であるため、特に骨への生体親和性が高く、人工骨等のバイオマテリアル(生体材料)として利用される。このようにして作成した人工骨を、骨の欠損した箇所に埋めることで、その表面を新生骨が覆い、骨の吸収と形成を繰り返し長い時間をかけて自家骨に置換されていく。医学・歯学分野では、主にヒトの生体に移植することを目的とした人工関節、人工骨、デンタルインプラント等で活用されている。また、タンパク質とも高い吸着性を示すことが知られており、生体分子等の分離で利用されるクロマトグラフィーの充填剤としても利用されている[69]。さらに、他の機能として、イオン交換特性、イオン吸着特性、触媒特性、イオン伝導特性などの多くの機能を発現することが知られており、HA は多機能材料とみなすことができる。[70]

2.2.2 PLLA (ポリ L 乳酸)

本研究ではペレット状の PLLA(U'z B-3、 トヨタ自動車株式会社)を実験に使用した。PLLA は生分解性プラスチックの一種であり、L-ラクチドの開環重合あるいは L-乳酸の直接重合によって合成される。結晶性が高く高強度であることから、骨固定材や骨補填材などとして整形外科や口腔外科の領域で使用されている。また、乳酸には光学異性体である D 体と L 体が存在する。また、その重合体であるポリ乳酸にもおもに L 体からなるポリ(L-乳酸):PLLA、D 体からなるポリ(D-乳酸):PDLA が存在する。医療用としては、生体内の乳酸が L 体であることから本研究では PLLA を使用した [71]。

2.2.3 PCL (ポリカプロラクトン)

本研究ではペレット状の PCL(CHLGREEN PH7、ダイセル化学工業株式会社)を実験に使用した。PCL は脂肪族ポリエステルの一種であり、 ϵ -カプロラク톤を開環重合させて得られる。また、主鎖にメチレン鎖を有し、成形性や軟質性に優れていることから足場材料や縫合糸、歯科材料、DDS の膜材として幅広く使用されている [72]。

2.3 ポリマー多孔体作製方法

本研究に使用した HA/PLLA 多孔体および HA/PCL 多孔体は、ビーム状、立方体状のもの、ともにテンプレート法と凍結乾燥法を用いて作製した。Fig.2.1 にその概要を示す。まず 5 g のマイクロ HA 粉末 (三技株式会社) と 5 重量%の PVA (和光化学工業株式会社) 7.5g を混合することにより HA スラリーを調製した。次に、Fig.2.2 の 10 mm $\times$ 10 mm $\times$ 70 mm の PU スポンジ (HR-30、ブリヂストン社製) を HA スラリーに浸漬し、1 mm のスライドガラスをスペーサーとし、圧力を加えることで余分なスラリーを除去した。そして HA コーティングされた PU スポンジを室温で 48 時間乾燥させ、電気オーブンで 400 $^{\circ}$ C で 6 時間、1100 $^{\circ}$ C で 4 時間焼結することで、Fig.2.3 に示す HA 多孔質体を作製した。次にポリマー溶液(PLLA)を濃度が 4wt%となるように 1, 4-ジオキサン(富士フィルム 和光純製薬株式会社)中にペレット状の PLLA を溶解させた後、マグネチックスターラー(RSH-1DR、アズワン株式会社)上で温度 80 $^{\circ}$ C、スターラーの回転速度 320 RPM の条件で調整し、得られたポリマー溶液に多孔質 HA ビームを浸漬させた。そして PLLA 溶液を含む HA ビームを -80 $^{\circ}$ C で事前凍結し、次に凍結乾燥機(FDU-1200、TOKYO RIKAKIKAI Co.、Ltd.)で -50 $^{\circ}$ C で 24h 凍結乾燥を行い不要な溶媒を飛ばしたのち、多孔質 HA/ポリマー複合体を得た。

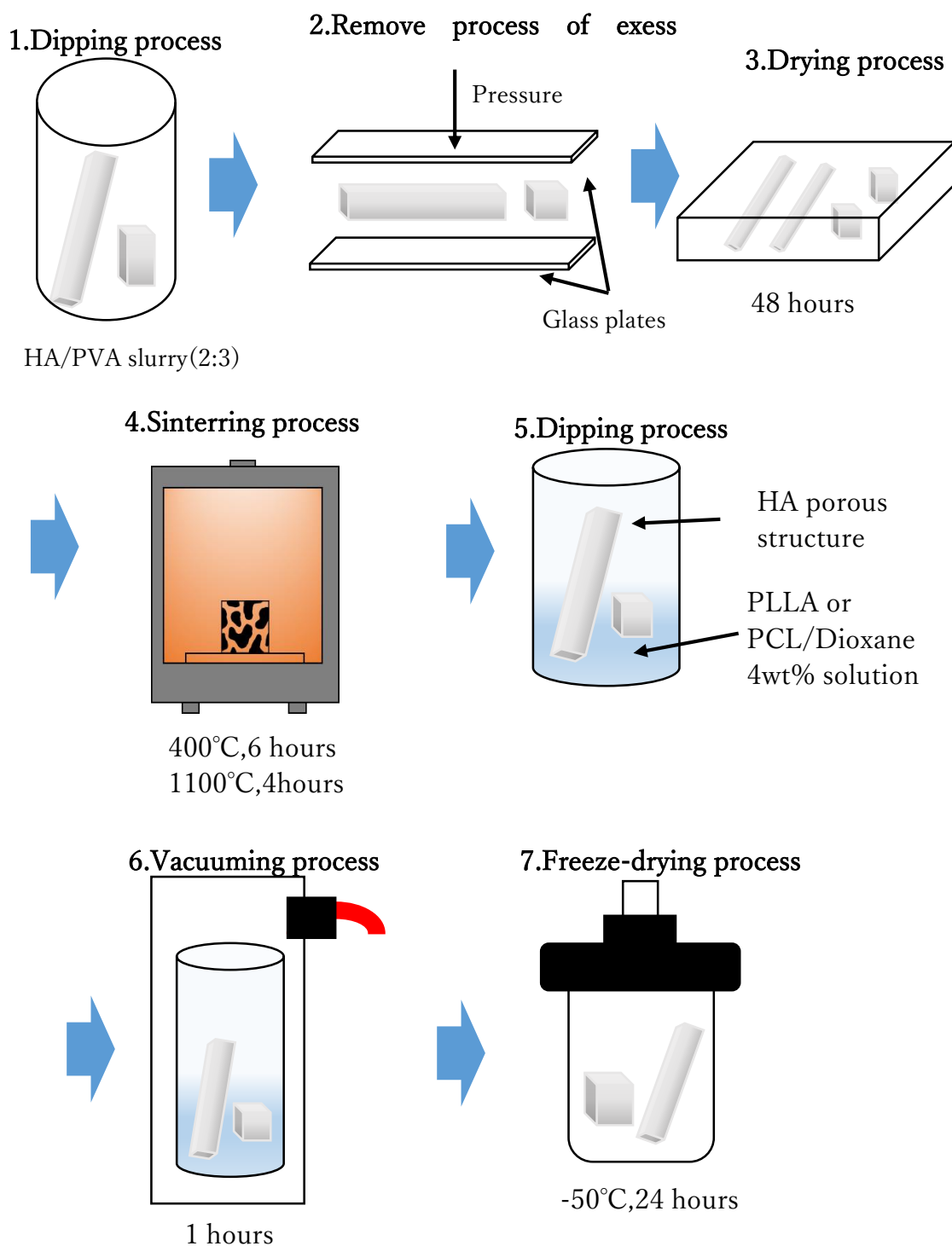


Fig.2.1 Method for producing polymer porous material



Fig.2.2 Beam shaped polyurethane(PU) sponges

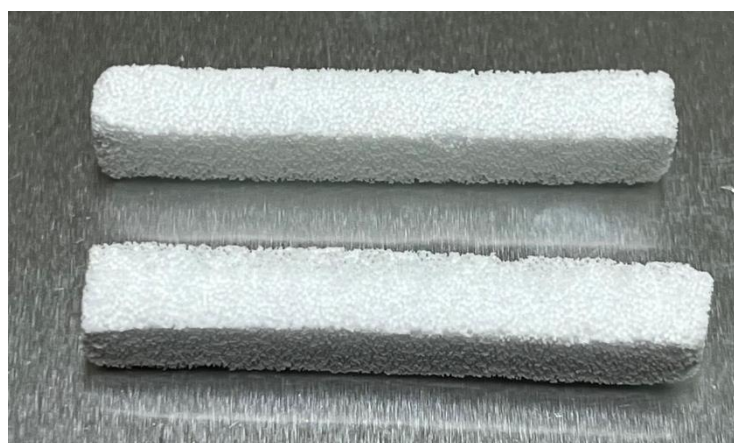


Fig.2.3 HA sponous beams after sintering process

2.4 PLA プレートの作製

PLA プレートの作製についてはモデリングソフト (Fusion360) を用いて Fig.2.4 (a) のようなモデルを作製し、PLA フィラメントを原料として Fig.2.4 (b) の 3D プリンタ (Value3D MagiX MF-2200D、武藤工業) を用いて作製した。この際の射出速度は 60mm/s、ノズル温度 195°C、積層ピッチ 1.2mm で作製した。Fig.2.4 (c) は作製中の PLA プレートである。

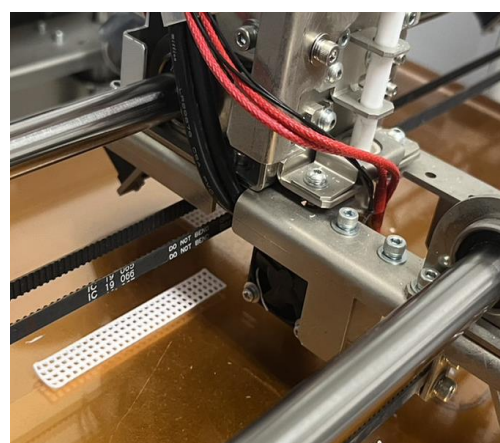
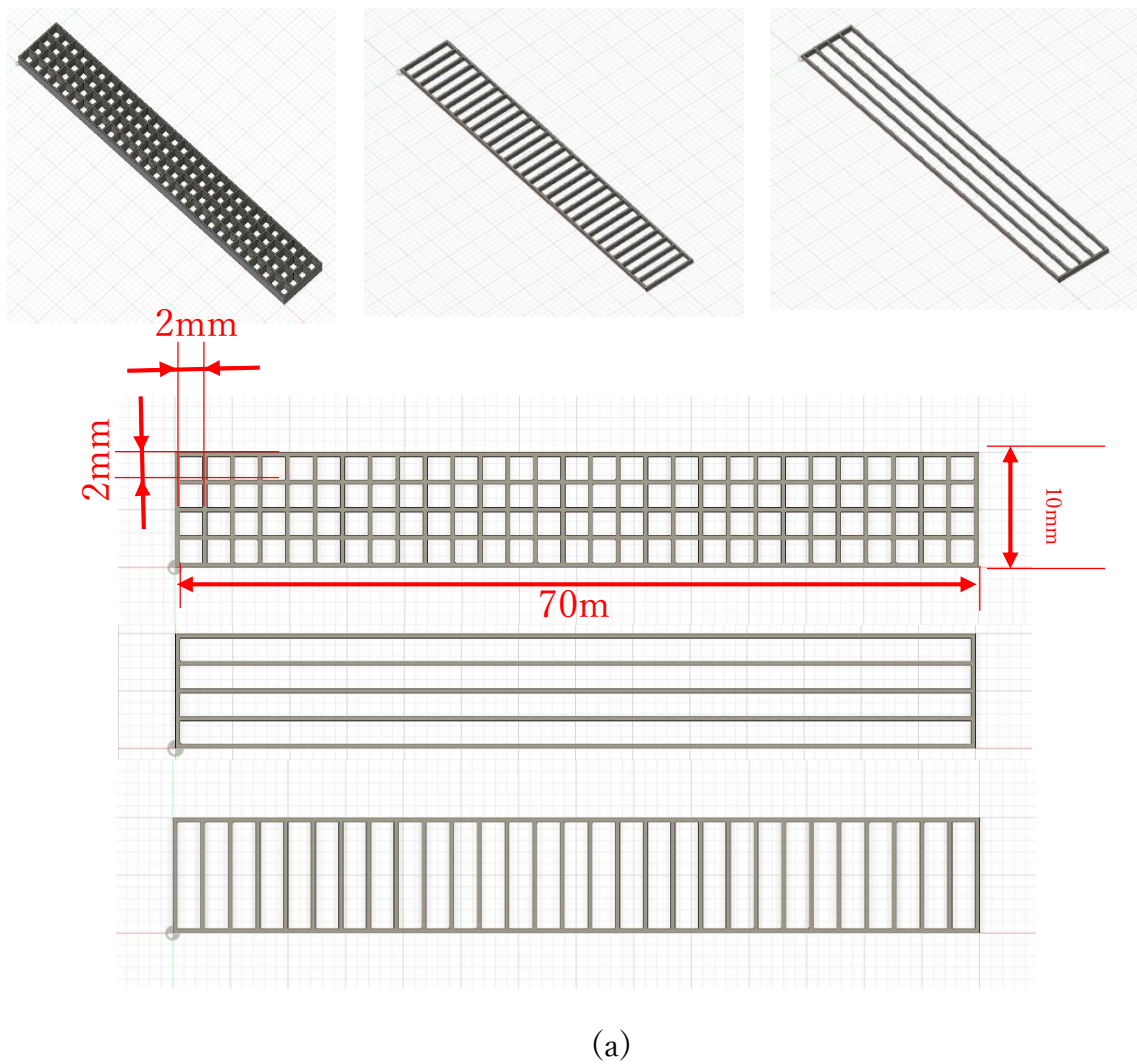


Fig.2.4 Method for producing PLA plates with 3D printer

2.5 サンドイッチ構造体の作製方法

作製した HA/PLLA 多孔体の上下に PLA プレート进行接着させることでサンドイッチ構造体を作製した。Fig.2.5 にその概要を示す。まず中間層である HA/PLLA 多孔体と PLA プレート进行接着させるために、多孔体を作製する際に用いたポリマー溶液の溶媒である 1-4-ジオキサン溶液に PLA プレートを一度浸す。そしてそれを作製後はがしやすいように Fig.2.5 のように一定の距離を空けた 2 枚のガラスの上に置く。その後、1-4-ジオキサンにより表面が少し溶け出した PLA プレートの上に中間層である HA/PLLA 多孔体进行置き、12 h 置くことで接着させる。その後再び 1-4-ジオキサン溶液に一度浸した PLA プレートをガラスの上に置き、天地を返したものを上に置き 12 h 置くことでサンドイッチ構造体を作製した。

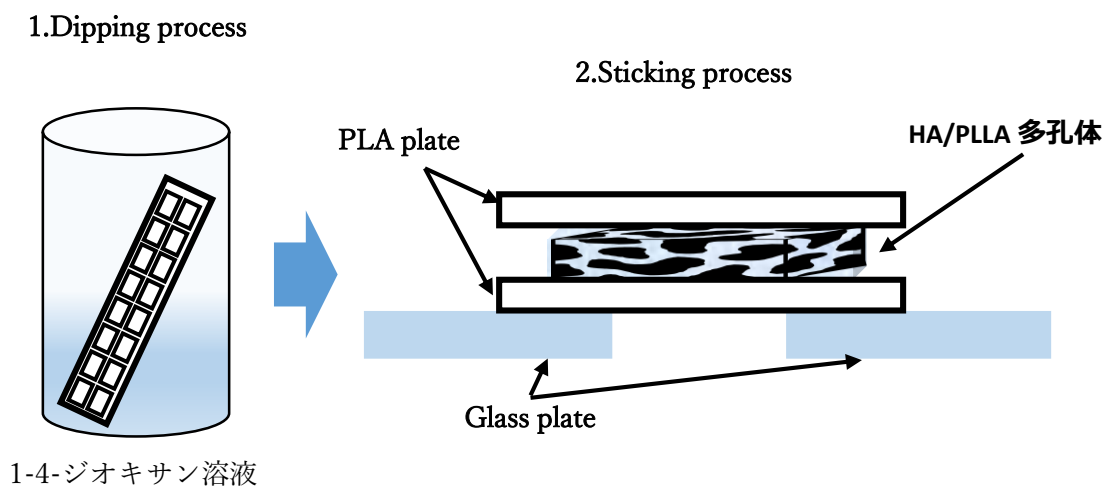


Fig.2.5 Method for producing sandwich structures

2.6 評価方法

2.6.1 微視構造観察

作製したポリマー多孔体、HA 複合ポリマー多孔体、サンドイッチ構造体の微細構造観察を、電解放出形走査型電子顕微鏡(Field Emission Scanning Electron Microscope : FE-SEM)(S-4100、 Hitachi、 Ltd.)(以下 SEM と略記))を用いて行った。試料をアルミニウムステージ上に固定し、イオンスパッタ装置(E-1030、 Hitachi、 Ltd.)により試料表面に Pt-Pd コーティングを施し、SEM で観察した。Fig.2.6(a)の青い面は圧縮試験での観察場所で、Fig.2.6(b)に示した赤丸は 3 点曲げ試験での観察場所である。

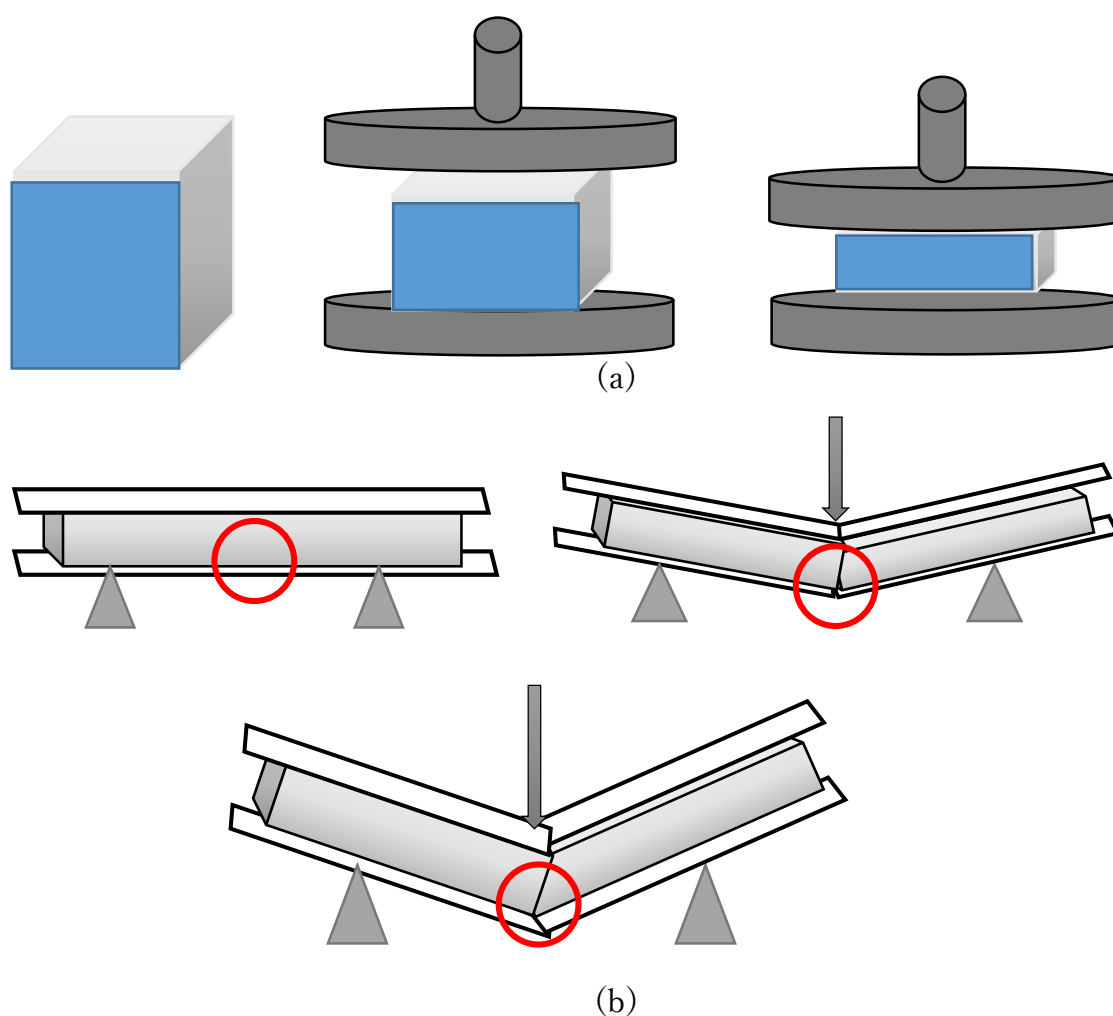


Fig.2.6 Observation point of the sample by SEM

2.6.2 圧縮試験

本研究では、圧縮試験より得られた応力-ひずみ曲線を用いて、ヤング率、臨界応力、破壊エネルギーを求め、試料の力学特性を評価した[47]。圧縮試験は小型卓上試験機（EZTest、EZ-Sseries、SHIMADZU Co.）を用い、圧縮速度 1mm/min の条件で行った。試験後、得られた荷重-変位曲線を(1)および(2)を用い応力-ひずみ曲線に変換した。

$$\sigma \text{ (Pa)} = \frac{\text{Load (N)}}{\text{Area (m}^2\text{)}} = \frac{4F}{D^2} \quad (1)$$

$$\varepsilon \text{ (-)} = \frac{\text{Stroke (mm)}}{\text{Original length of sample (mm)}} = \frac{\Delta L}{L_0} \quad (2)$$

σ (Pa):応力、 ε (-):ひずみ、 F (N):測定時の荷重、 D (mm):試料の一辺の長さ、 L_0 (mm):初期試料の高さ、 ΔL (mm):圧縮方向の変位量、 δ_1 (mm):クラック発生時の荷重、また、得られた応力-ひずみ曲線より以下の(3)を用いてヤング率を求めた。式が示すように、応力-ひずみ曲線の初期傾きから求めた(Fig.2.7)。臨界応力は、クラック発生時の δ_1 時点での応力とした。さらに、(4)を用いて破壊エネルギーを算出した。

$$\text{Young's modulus} = \frac{\sigma_2 - \sigma_1}{\varepsilon_2 - \varepsilon_1} \quad (3)$$

$$\text{Energy absorption} = \int_0^{\delta_1} \sigma d\delta \quad (4)$$

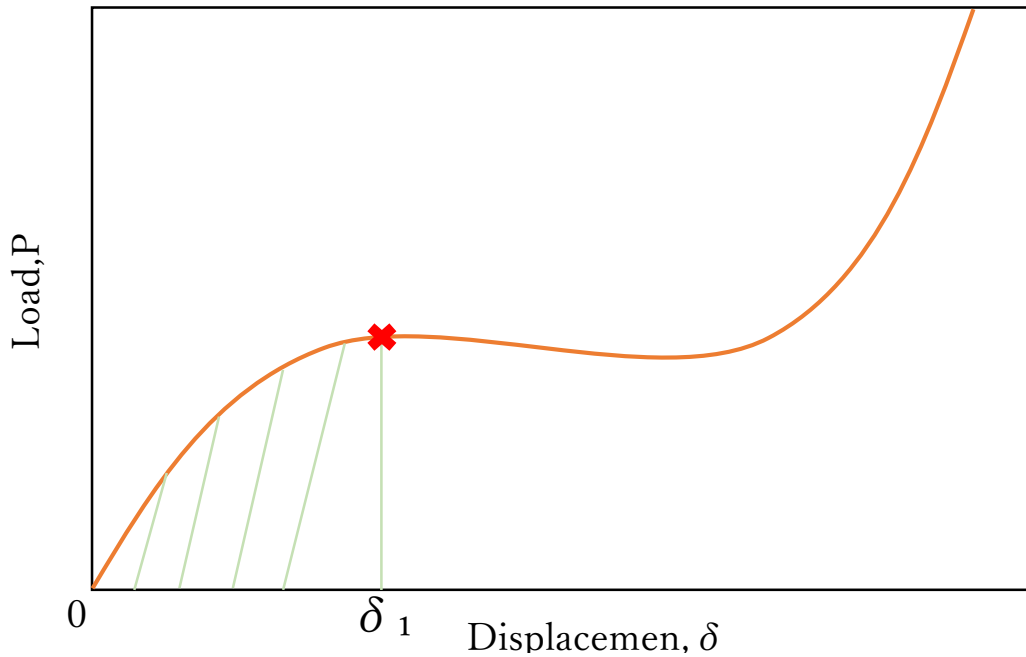


Fig.2.7 Observation point of the sample by SEM

2.6.3 3点曲げ試験

本研究では、3点曲げ試験より得られた荷重-変位曲線を用いて、曲げ剛性、曲げ強度、破壊エネルギーを求め、試料の力学特性を評価した[73]。3点曲げ試験は小型卓上試験機（EZTest、EZ-Sseries、SHIMADZU Co.）、10Nのロードセルを用い、圧縮速度1mm/minの条件で行い、荷重-変位曲線を得た。それを用いて Fig.2.8 のmは荷重-変位曲線の初期勾配である曲げ剛性であり、破壊エネルギー(G_{tot})は(5)を用いて、荷重-変位曲線の下面積から計算した。そして、曲げ強度は荷重-変位曲線の δ_{crack} 際の荷重とした。

$$G_{tot} = \int_0^{\delta_1} P d\delta \quad (5)$$

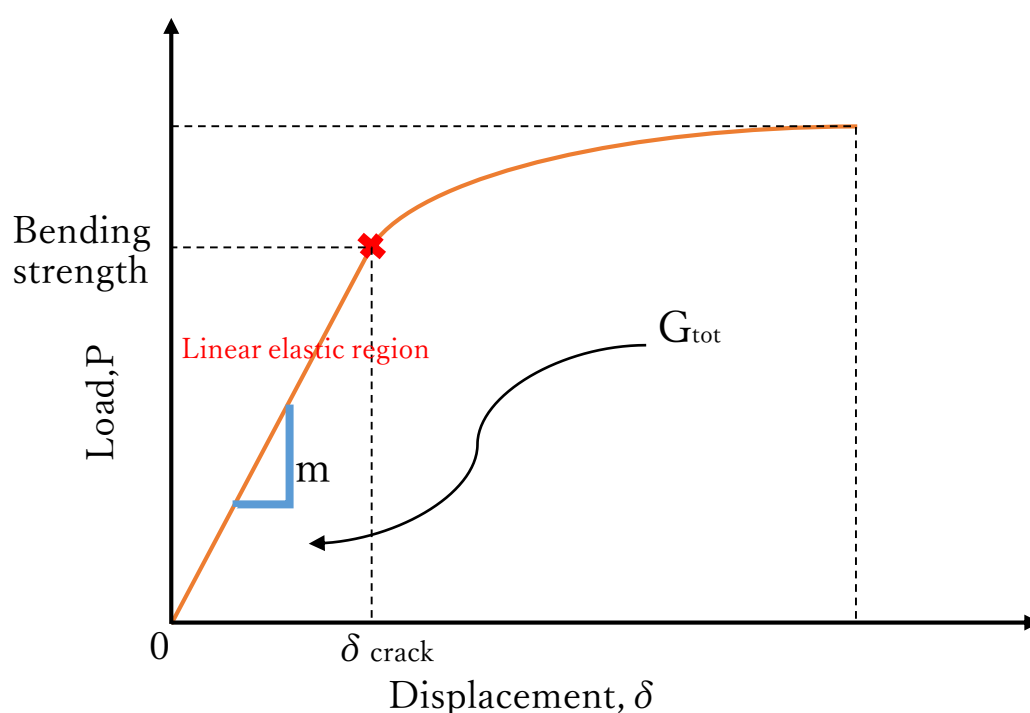
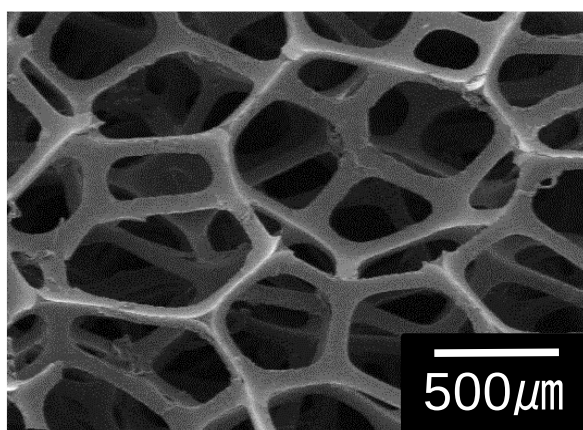


Fig.2.8 Load-displacement curve

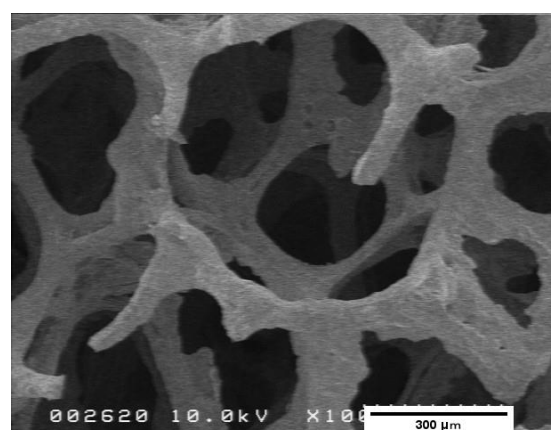
第3章 結果と考察

3.1 微視構造

Fig.3.1 (a)はPU スポンジの SEM 画像、Fig. 3.1 (b)は HA 多孔体の SEM 画像である。(b)の白くなっている部分が HA の柱構造部分である。ここからテンプレート法を用いて作製した HA 多孔体は PU スポンジと同様に多孔質構造を持つことが確認できた。



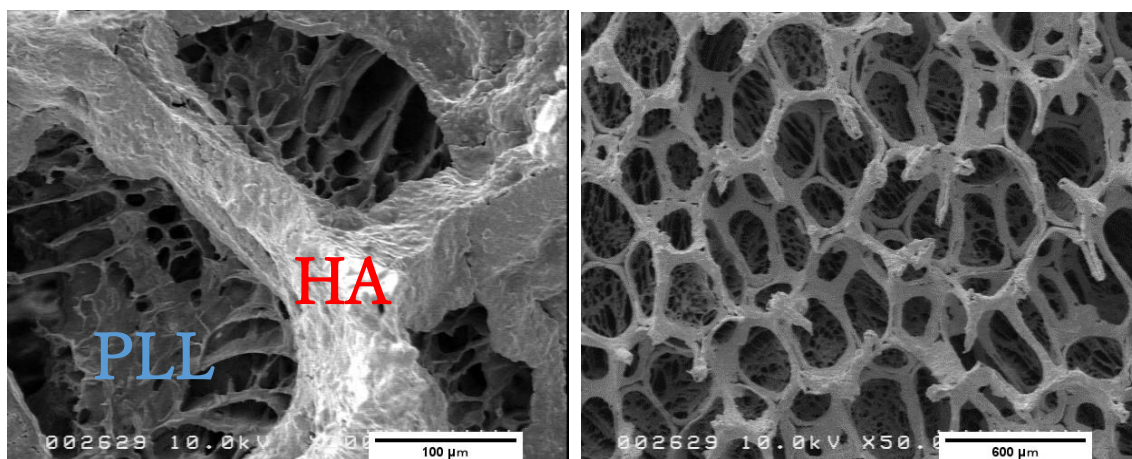
(a) PU sponge



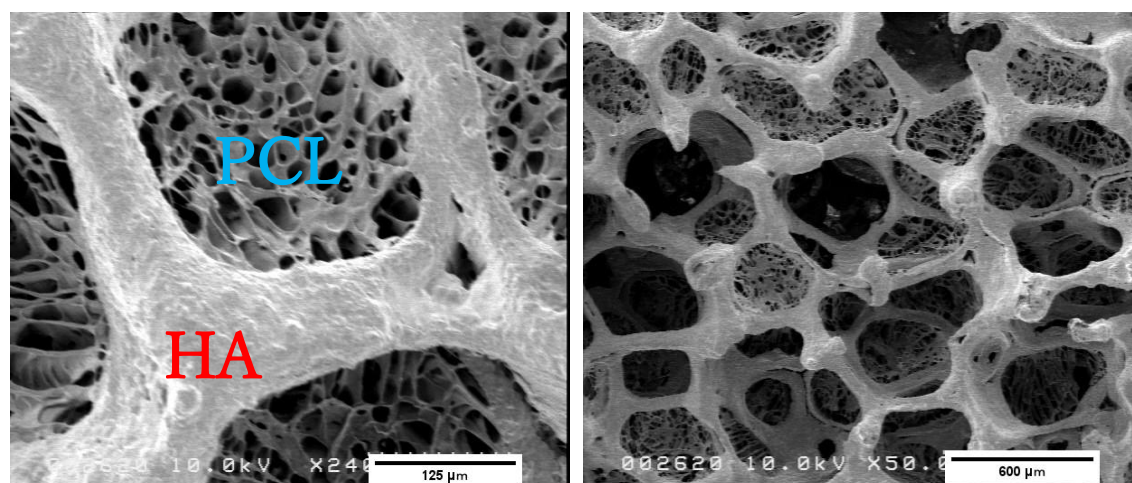
(b)HA beam

Fig.3.1 Porous structure of PU sponge and pure HA beam

Fig.3.2(a)、(b)は HA/PLLA 複合多孔体と HA/PCL 複合多孔体の表面領域の SEM 画像である。どちらの複合多孔体とも明らかに 3 次元 2 相多孔質構造となっている。より大きい孔はテンプレート法を用いることにより形成された HA 多孔質構造で、より小さい孔であるハニカム状のポリマー孔は凍結乾燥法によって形成されたものである。



(a) HA / PLLA



(b) HA / PCL

Fig.3.2 Micrographs of two-phase porous structures by SEM

3.2 圧縮変形・破壊特性

3.2.1 応力-ひずみ曲線

Fig.3.3～Fig.3.6 に HA 多孔体、HA/PLLA 多孔体および HA/PCL 多孔体の代表的な応力-ひずみ曲線結果をそれぞれ示す。まず HA 多孔体についてはひずみ初期から試験終了まで 5 ～ 15 kPa 程度の範囲で応力の増減を繰り返しながら変形が進んでいった。HA 多孔体は変形が進むと、圧縮面より徐々に柱構造が崩壊していったからであると考えられる。また HA/PLLA 多孔体および HA/PCL 多孔体の応力-ひずみ曲線は、主に以下の 3 つの領域に分類することができる。①A 点までのひずみが増加するにつれて応力も線形的に増加する弾性変形領域、②A 点から B 点までのひずみが増加するが応力はほぼ傾き一定で徐々に増加するプラトー領域、③B 点後から C 点の試験終了までの応力が急激に増加する高密度化領域である。

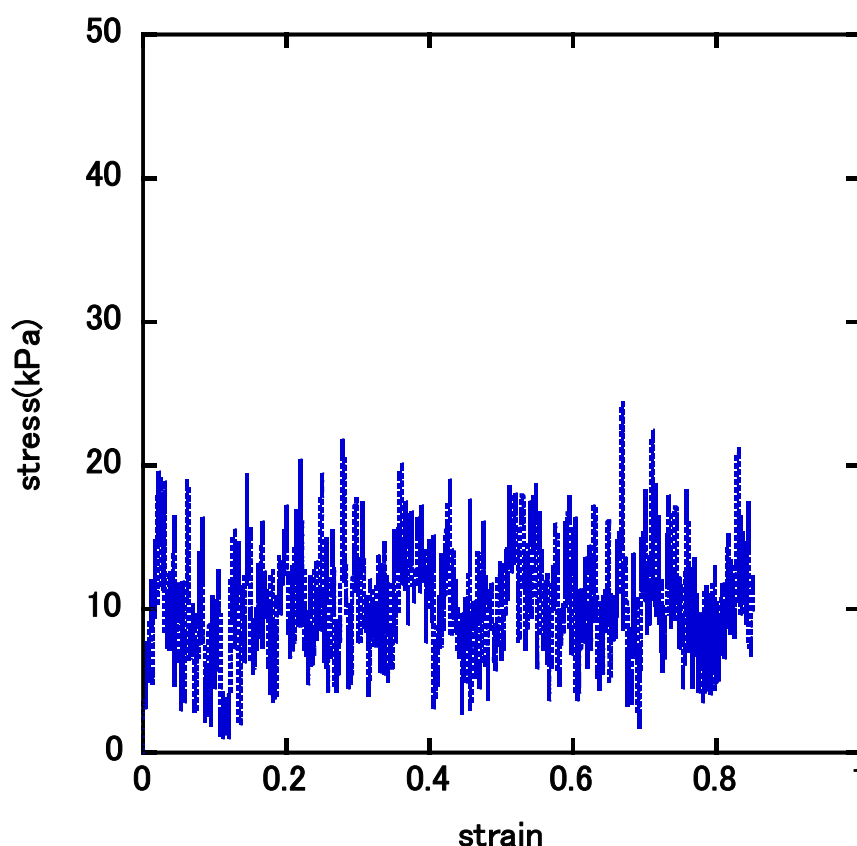


Fig.3.3 Typical Stress-Strain curve of HA Porous body

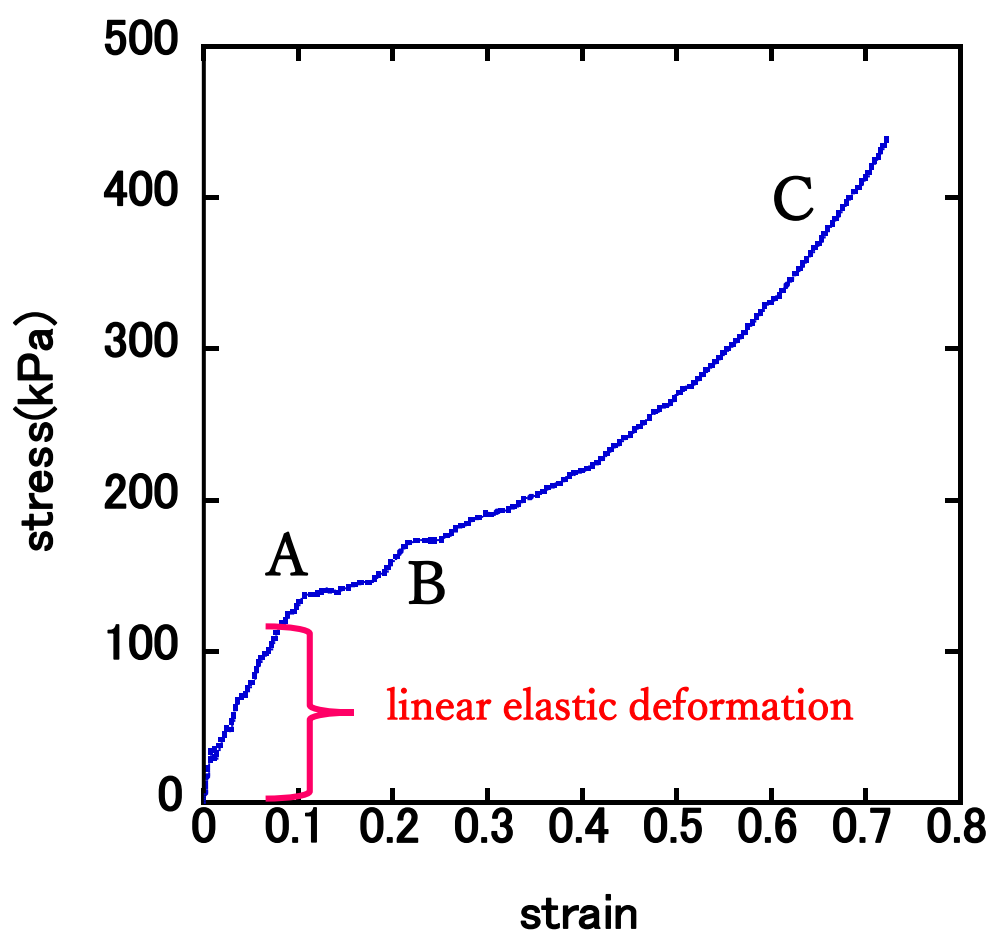


Fig.3.4 Typical Stress-Strain curve of HA/PLLA Porous body

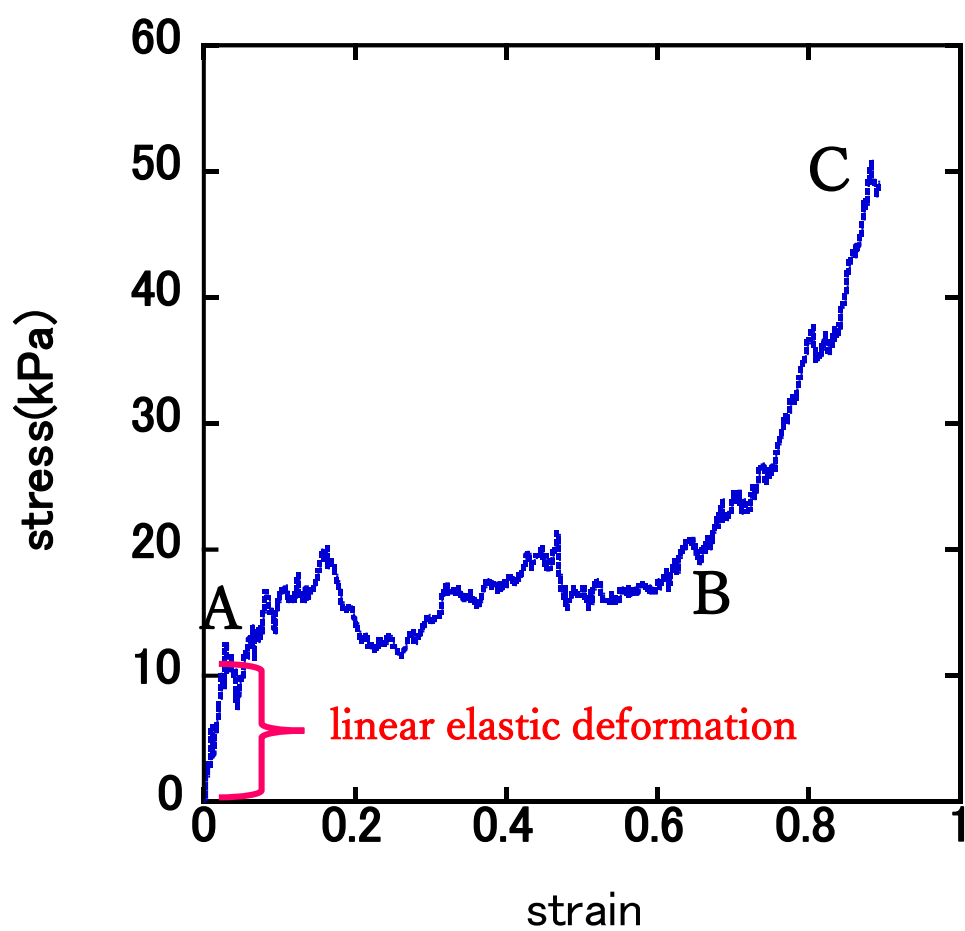


Fig.3.5 Typical Stress-Strain curve of HA /PCL Porous body

3.2.2 機械的特性

Fig.3.6 は HA 多孔体、HA/PLLA 多孔体、HA/PCL 多孔体の典型的な応力-ひずみ曲線である。Table 3.1 は試験データから算出したヤング率、最大応力、破壊エネルギーとなっている。今回の力学的特性評価では HA/PLLA、HA/PCL とともに 5 つの試料を用いて圧縮試験後データを取得し、その平均、標準偏差の値を用いている。まず確認できることとしては PCL、PLLA などのポリマー層を導入した複合多孔体は HA 多孔体よりも力学的特性が向上している。そのうえで、HA/PLLA 多孔体のほうが HA/PCL 多孔体よりも力学的特性が高いということが確認できる。

Table 3.1 Summary of compression mechanical properties

Mechanical properties	HA	HA/PCL	HA/PLLA
Young's modulus(kPa)	93	209 ± 95	888 ± 472
Critical stress(kPa)	20	47 ± 19	204 ± 107
Fracture absorbed energy(J/m ³)	13	25 ± 85	141 ± 74

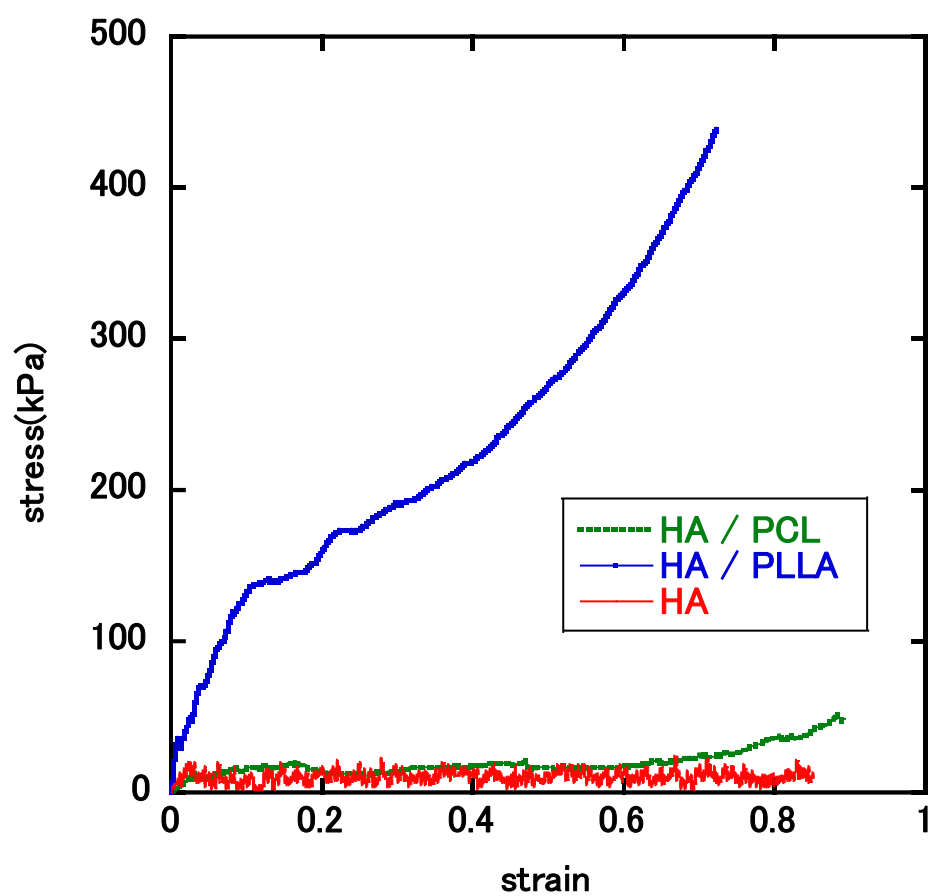


Fig.3.6 Typical Stress-Strain curves of HA HA/PCL HA/PLLA Porous body

3.2.3 圧縮変形メカニズム

Fig.3.7 は HA 多孔体の圧縮試験の様子である。HA 多孔体は変形が進むと、圧縮面より徐々に柱構造が崩壊していったことから、HA 多孔体の変形は局所的な柱構造の脆性破壊が支配的であったと考えられる。Fig.3.8、Fig.3.10 は HA/PCL 多孔体、HA/PLLA 多孔体の圧縮試験の様子、Fig.3.9 は PLLA 相の導入により変化した多孔体の圧縮変形挙動を確認するための試験片中央部の SEM 画像である。Fig.3.7 の HA 多孔体の圧縮試験の様子と比べて Fig.3.10 の HA/PLLA 多孔体の圧縮試験では圧縮面からの柱構造の崩壊は見られず、Fig.3.9 に示すように中央部では複数の HA 柱構造の破壊と、PLLA のポリマー層の座屈変形がみられた。この座屈変形と、HA 柱構造の破壊は HA/PCL 多孔体、HA/PLLA 多孔体の応力ひずみ線図の非線形領域部分の応力上昇の原因であると考えられる。これは圧縮により HA 柱構造の破壊後、ポリマー層が座屈変形し徐々に気孔が消滅していき、緻密化することにより応力が上昇していったからではないかと予想される。

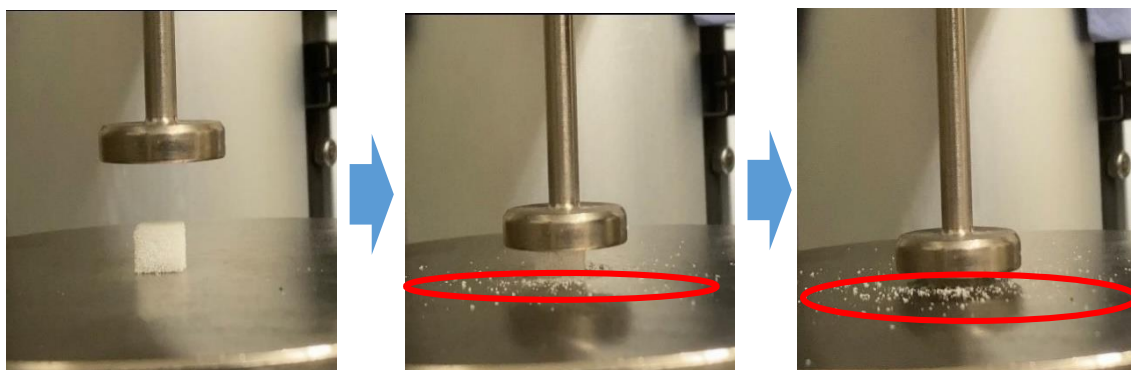


Fig.3.7 Fracture behavior of HA Porous body

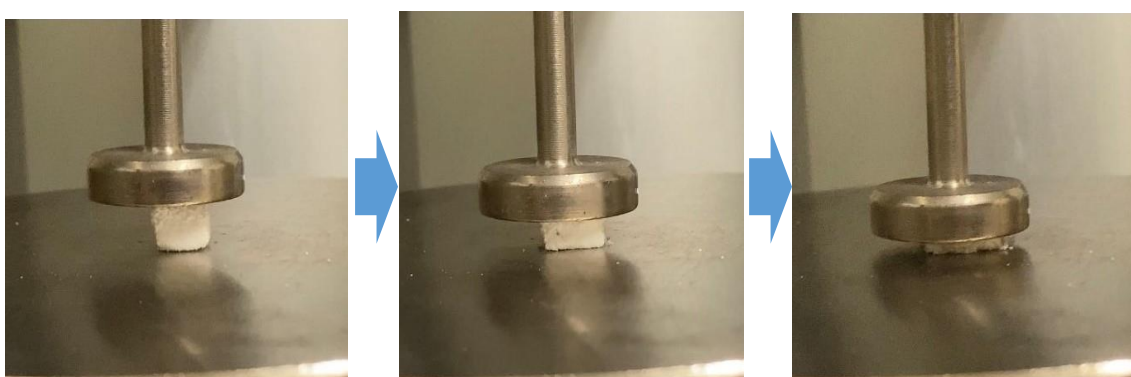


Fig.3.8 Fracture behavior of HA/PCL Porous body

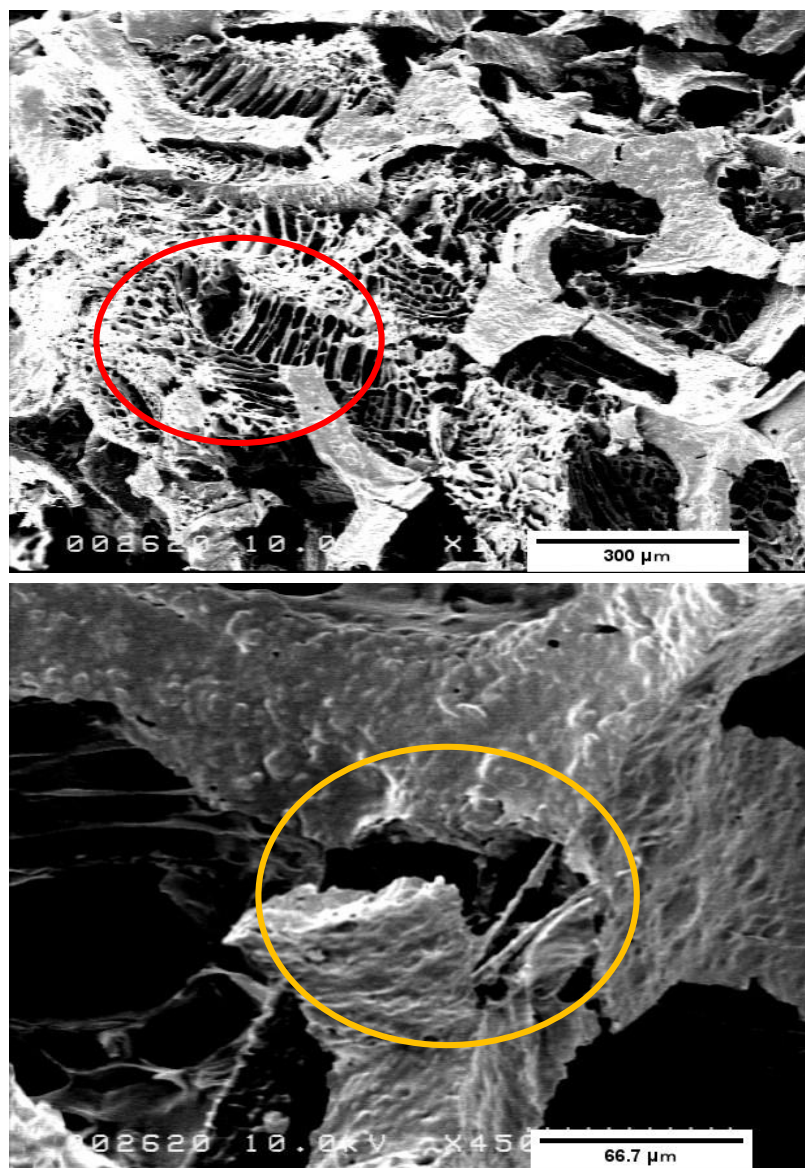


Fig.3.9 Fracture surface of HA/PLLA Porous body by SEM

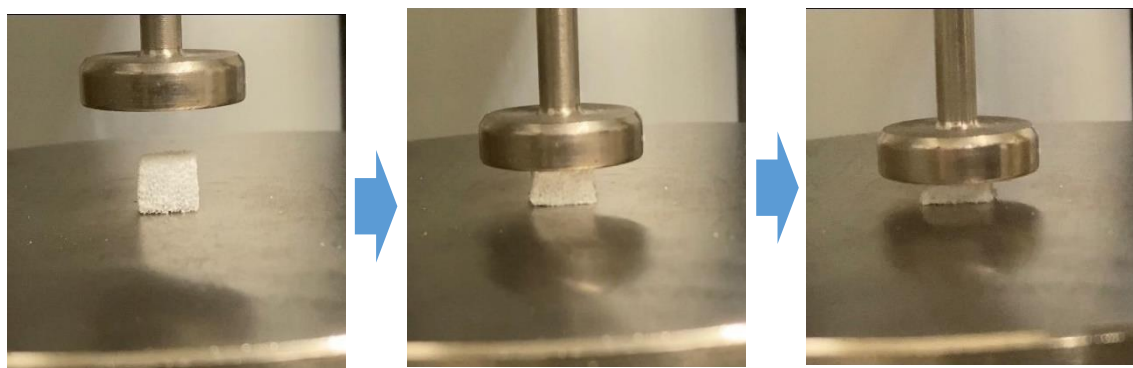


Fig.3.10 Fracture behavior of HA/PLLA Porous body

3.3 曲げ変形・破壊特性

3.3.1 荷重-変位曲線

Fig.3.11、Fig.3.12 に作製した試験前のサンドイッチ構造体と、PLA プレーットの 3 点曲げ試験時の代表的な荷重-変位曲線、そしてそれらの実験時のセットアップの様子をそれぞれ示している。

Fig.3.11 は 3 点曲げ試験時の HA/PLLA 単一複合ビームの代表的な荷重-変位曲線である。A 点まで線形弾性変形が見て取れます。そして A 点から B 点では HA 柱構造や PLLA 層での損傷発生と累積によりこのような荷重-変位曲線となっていると考えられます。そして B 点から C 点まででは微視損傷発生を伴うクラックの進展よりこのような荷重-変位曲線になっていると考えられる。

Fig.3.12 は 3 点曲げ試験時の HA/PLLA-PLA サンドイッチビーム（格子状プレート）の荷重-変位曲線である。こちらも a 点まで線形弾性変形が確認できる。そして a 点から b 点までで中間層での損傷発生と累積がみられる。そして b～c 点で中間層のクラック発生と進展がみられる。c～d 点で PLA プレーットの曲げ変形での荷重の上昇、d～e 点でプレートの剥離による荷重の急激な減少、e～f 点では c～d 点と同様に PLA プレーットの曲げ変形による荷重の上昇がみられる。

Fig.3.13 は 3 点曲げ試験時の HA/PLLA 単一複合ビーム、HA/PLLA-PLA サンドイッチビーム（格子状プレート）の代表的な荷重-変位曲線である。

Fig.3.14 は 3 点曲げ試験時の格子状 PLA プレーットの代表的な荷重-変位曲線である。急な変化ではなく変位とともに荷重が徐々に上昇していった。しかし荷重-変位の傾きは徐々に小さくなった。

Fig.3.15 は 3 点曲げ試験時の HA/PLLA PLA サンドイッチビーム（垂直プレート）の代表的な荷重-変位曲線である。a 点まで線形弾性変形が確認できる。a 点から b 点までで中間層での損傷発生と累積がみられる。そして b～c 点で中間層のクラック発生と進展がみられる。c～d 点で PLA プレーットの曲げ変形での荷重の上昇、d 点からはプレートの剥離による荷重の急激な減少がみられる。

Fig.3.16 は 3 点曲げ試験時の垂直 PLA プレーットの代表的な荷重-変位曲線である。初めは線形弾性変形がみてとれます。その後 A 点で降伏し、プレートの損傷形成とともに荷重が減少していった。

Fig.3.17 は 3 点曲げ試験時の HA/PLLA PLA サンドイッチビーム（水平プレート）の代表的な荷重-変位曲線である。a 点までは線形弾性変形がみられ、a 点から b 点で中間層での損傷発生と累積がみられる。そして b～c 点で中間層のクラック発生と進展、PLA プレートのねじれがみられる。c～d 点で PLA プレートの曲げ変形での荷重の上昇、d～e 点でプレートの剥離による荷重の急激な減少、e～f 点では c～d 点と同様に PLA プレートの曲げ変形による荷重の上昇がみられる。

Fig.3.18 は 3 点曲げ試験時の水平 PLA プレートの代表的な荷重-変位曲線である。A 点まで線形弾性変形がみられる。そして A～B 点でプレートのねじれによる荷重の急激な減少、そして B 点からは PLA プレートの曲げ変形による荷重の上昇がみられる。

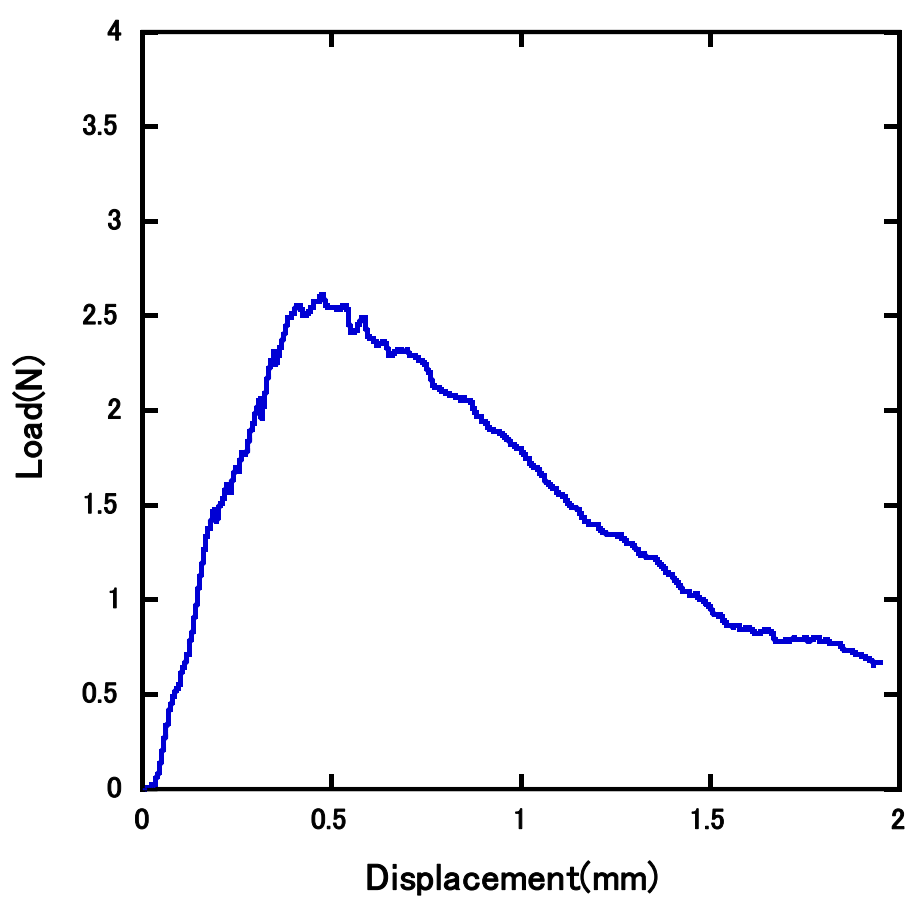


Fig.3.11 Typical load-displacement curve of HA/PLLA composite beam

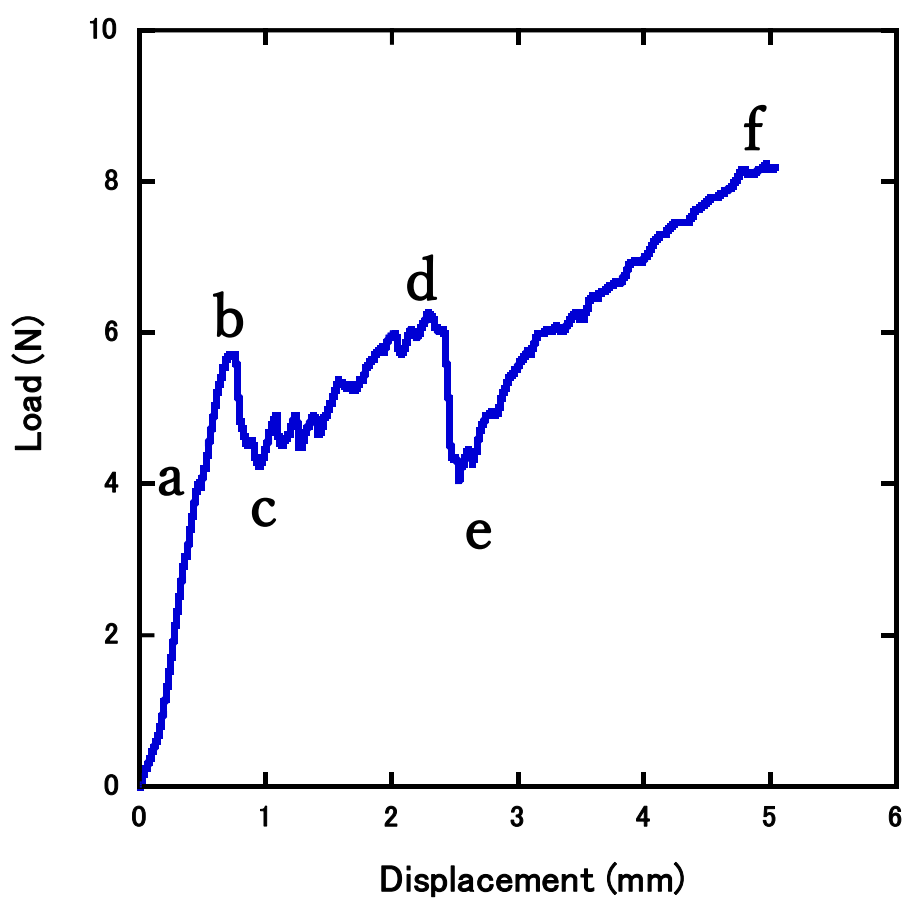


Fig.3.12 Typical load-displacement curve of HA/PLLA-PLA(lattice) composite sandwich beam

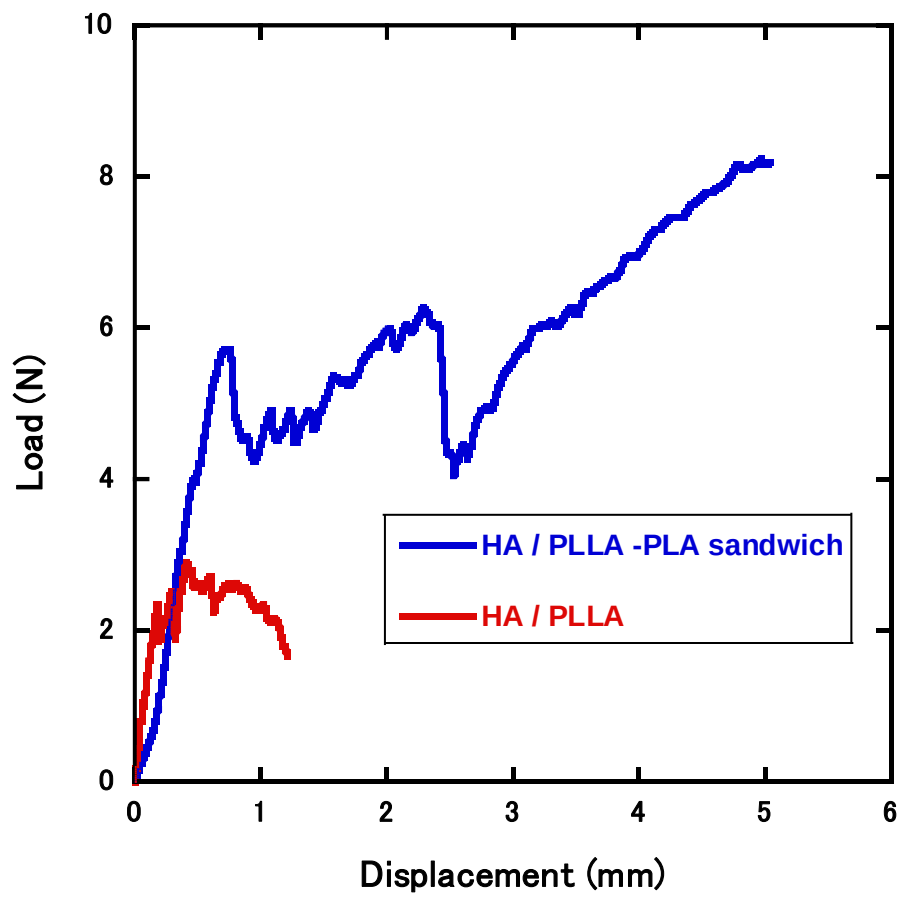


Fig.3.13 Typical load-displacement curve of HA/PLLA-PLA(lattice) composite sandwich beam and typical load-displacement curve of HA/PLLA composite beam

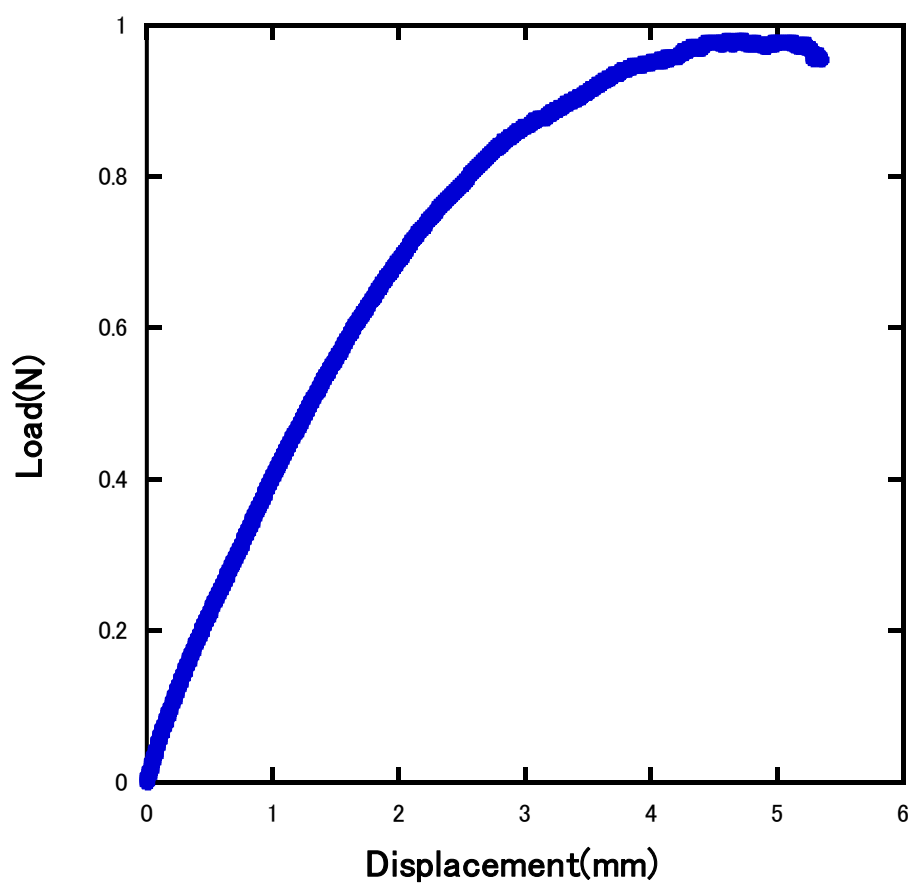


Fig.3.14 Typical load-displacement curve of PLA plate(lattice)

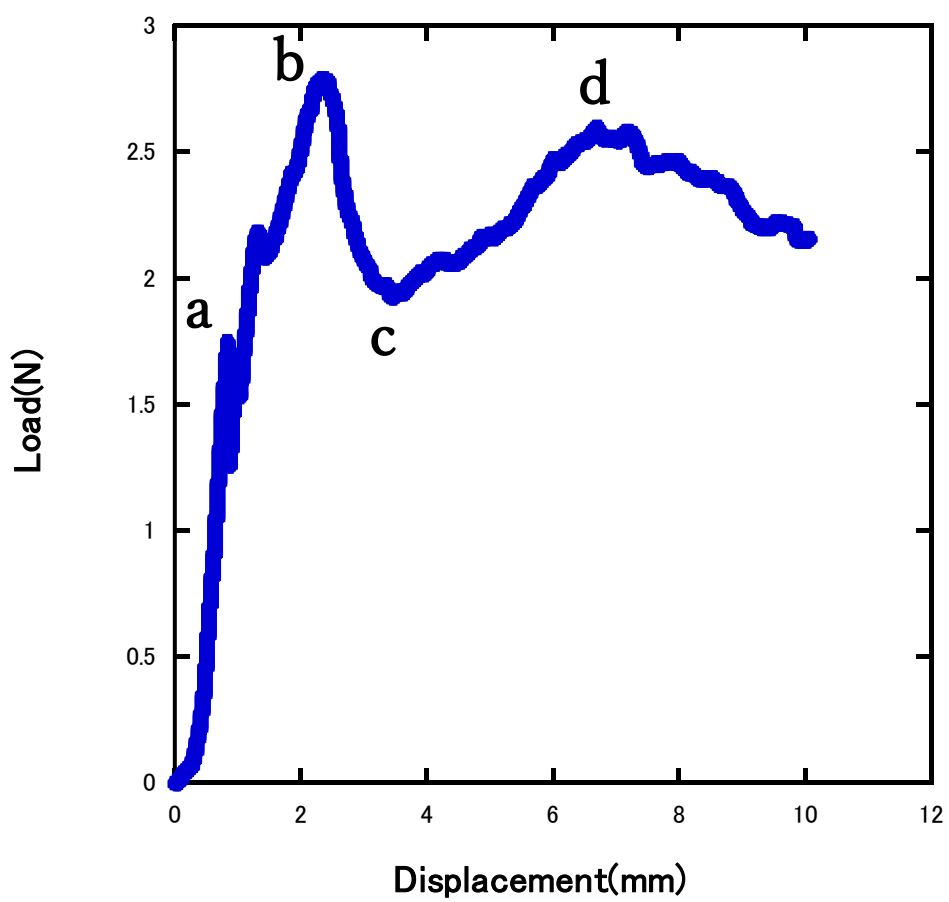
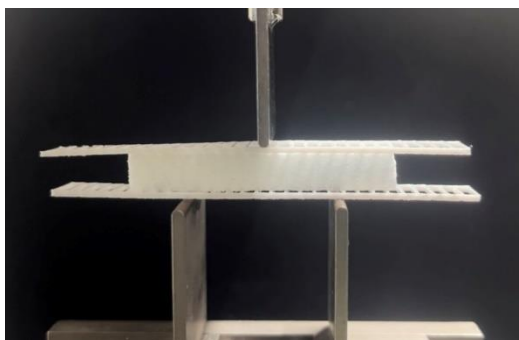


Fig.3.15 Typical load-displacement curve of HA/PLLA-PLA(vertical) composite sandwich beam

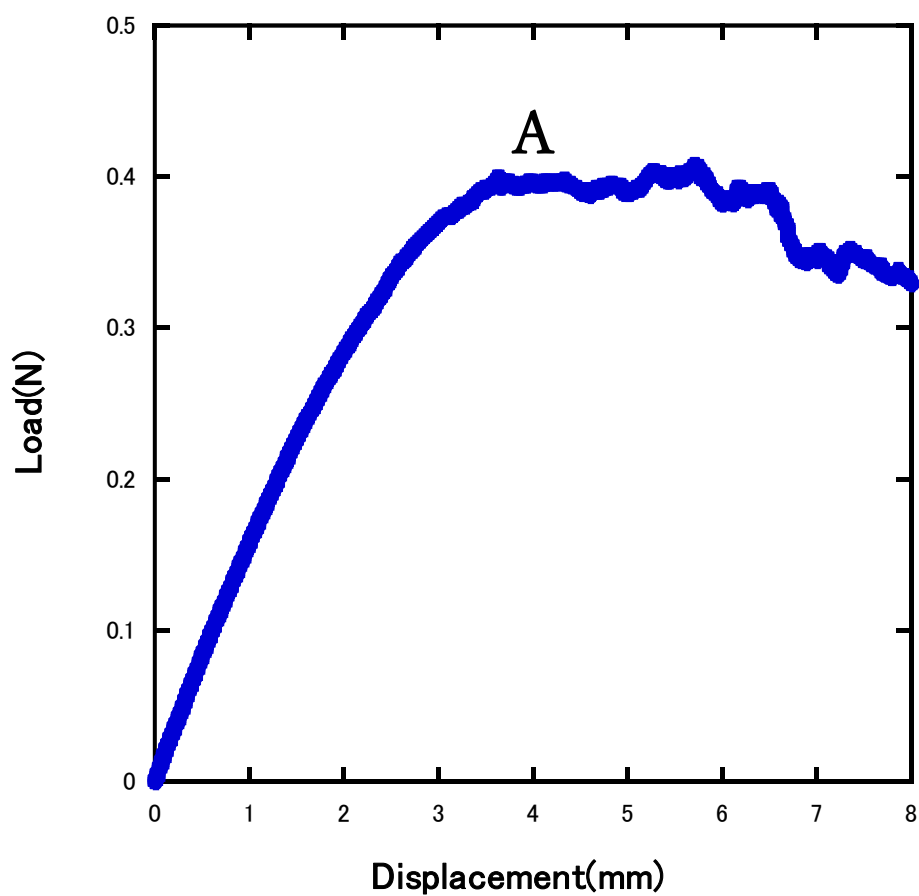
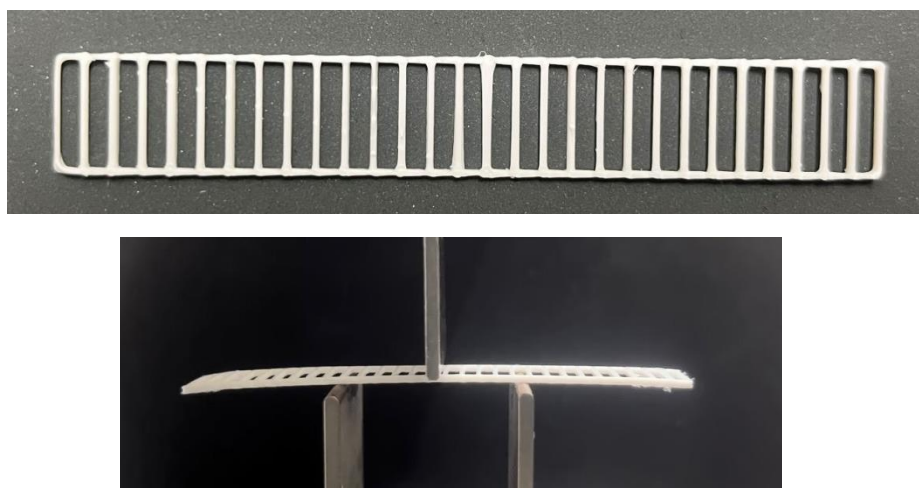


Fig.3.16 Typical load-displacement curve of PLA plate(vertical)

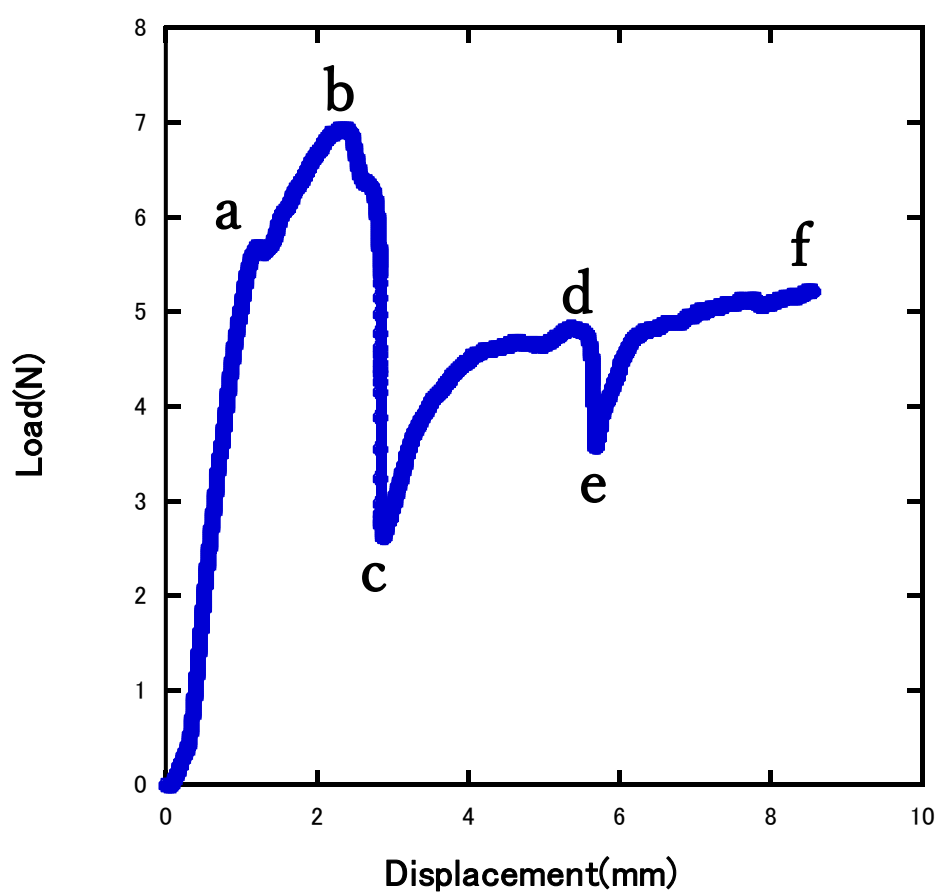
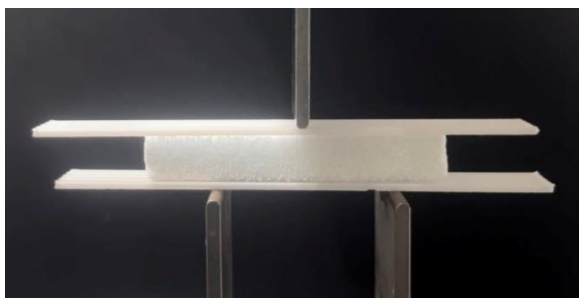


Fig.3.17 Typical load-displacement curve of HA/PLLA-PLA(horizontal) composite sandwich beam

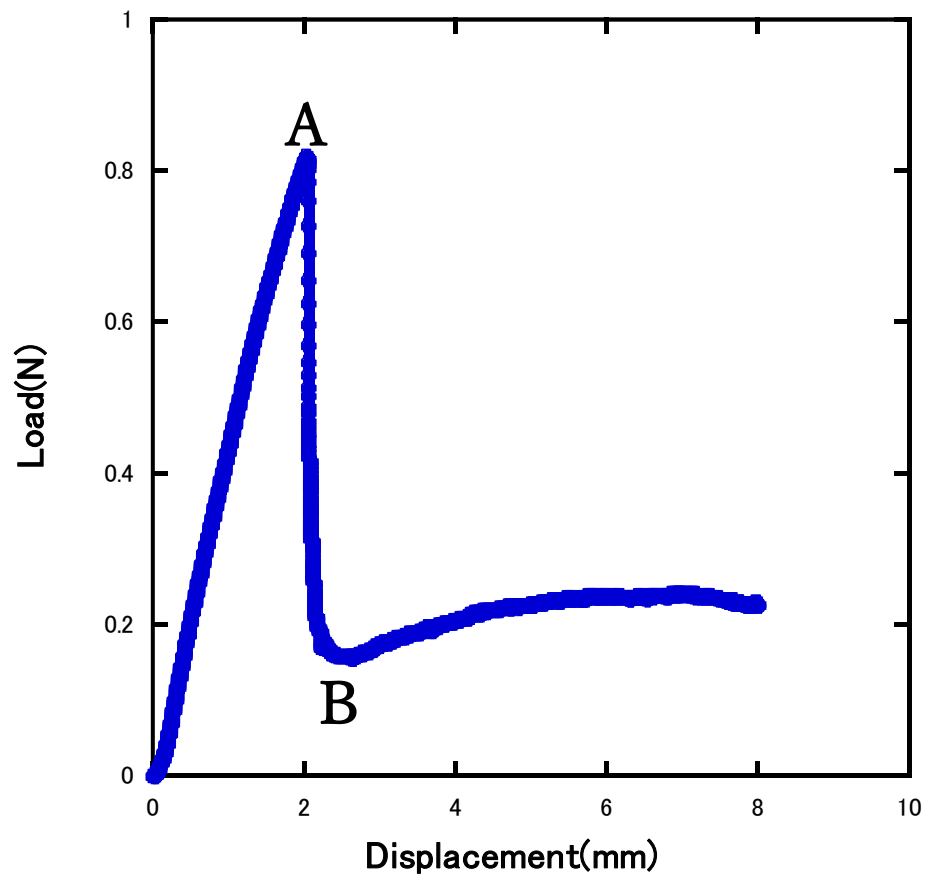
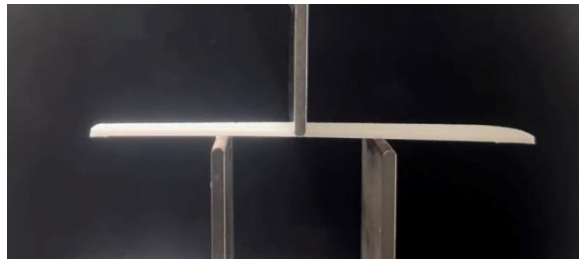
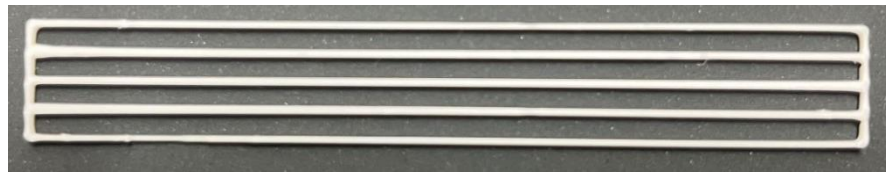


Fig.3.18 Typical load-displacement curve of PLA plate(vertical)

3.3.2 機械的特性

Table 3.2 は格子状、垂直、水平 PLA プレーットの試験データから算出した曲げ剛性、曲げ強度、破壊エネルギーとなっている。今回の力学的特性評価では垂直、水平 PLA プレーットはともに 3 つの試料を用いて 3 点曲げ試験後データを取得し、その平均、標準偏差の値を用いている。Table 3.3 は HA/PLLA 単一複合ビーム、HA/PLLA-PLA サンドイッチビーム（格子状プレート）、HA/PLLA-PLA サンドイッチビーム（垂直プレート）、HA/PLLA-PLA サンドイッチビーム（水平プレート）の試験データから算出した曲げ剛性、曲げ強度、破壊エネルギーとなっている。こちらも同様に 3 つの試料を用いて 3 点曲げ試験後データを取得し、その平均、標準偏差の値を用いている。Fig.3.19、Fig.3.20 は 3 種の PLA プレーットのみの 3 点曲げ試験、単一複合ビームと 3 種のサンドイッチ構造体の 3 点曲げ試験の荷重-変位曲線である。

Table 3.2 で確認できることとして垂直 PLA プレーットは他の水平、格子状 PLA プレーットと比べて曲げ剛性、曲げ強度、破壊エネルギー、どの項目も低くなっているということだ。これは PLA プレーットの水平部分が曲げ試験の力学特性において重要であるということだと考えられる。また、格子状 PLA プレーットと水平 PLA プレーットの曲げ剛性、曲げ強度には大きな差はみられない。しかし、破壊エネルギーには大きな差がみられる。

Table 3.3 より、HA/PLLA 単一複合ビームとその他のサンドイッチ構造体とを比較すると、まず曲げ剛性においては特性向上がみられなかった。これは PLA プレーットと HA/PLLA 複合多孔体の違いから生じるのではないかと考える。そして曲げ強度については垂直 PLA プレーットを用いたサンドイッチ構造体以外は特性向上がみられた。最後に破壊エネルギーについてはどのサンドイッチ構造体も単一複合ビームよりも高い値を示した。サンドイッチ構造体どうしの比較をすると、水平 PLA プレーットの破壊エネルギーを除いて、どの力学特性も格子状 PLA プレーット、水平 PLA プレーット、垂直 PLA プレーットの順に高い力学特性を示した。水平 PLA プレーットの破壊エネルギーについては、3 点曲げ試験時、途中で PLA プレーットがねじれることからこの結果になったと考えられる。水平 PLA プレーットがねじれないほど強力な接着であればまた違う結果がでる可能性がある。

Fig.3.19 は格子状、水平、垂直 PLA プレーットの荷重-変位曲線のグラフである。ここからも水平 PLA プレーットのみねじれによる荷重の急激な減少が起こっていることが確認できる。

Fig.3.20 は HA/PLLA-PLA サンドイッチ構造体（格子状プレート）、HA/PLLA-PLA サンドイッチ構造体（垂直プレート）、HA/PLLA-PLA サンドイッチ構造体（水平プレ

ート) の荷重-変位曲線である。

Table 3.2 Summary of mechanical properties of PLA plates at three stages of damage

Mechanical properties	Lattice PLA plate	Vertical PLA plate	Horizontal PLA plate
Bending stiffness(kN/m)	0.41	0.104 ± 0.041	0.43191 ± 0.19992
Bending strength(N)	0.97	0.2573 ± 0.1112	0.8596 ± 0.3183
Fracture absorbed energy(J)	3450	52.9 ± 22.6	734 ± 329

Table 3.3 Summary of mechanical properties of sandwich beams at three stages of damage

Mechanical properties	HA/PLLA-A	HA/PLLA-PLA (Lattice plate)	HA/PLLA-PLA (Vertical plate)	HA/PLLA-PLA (Horizontal plate)
Bending stiffness (kN/m)	11.6 ± 3.3	8.23 ± 2.3	3.04 ± 0.51	6.87 ± 1.51
Bending strength(N)	2.8 ± 0.1	5.97 ± 0.5	2.74 ± 0.26	3.80 ± 0.76
Fracture absorbed energy(J)	741 ± 15	4797 ± 2400	3440 ± 794	1779 ± 1204

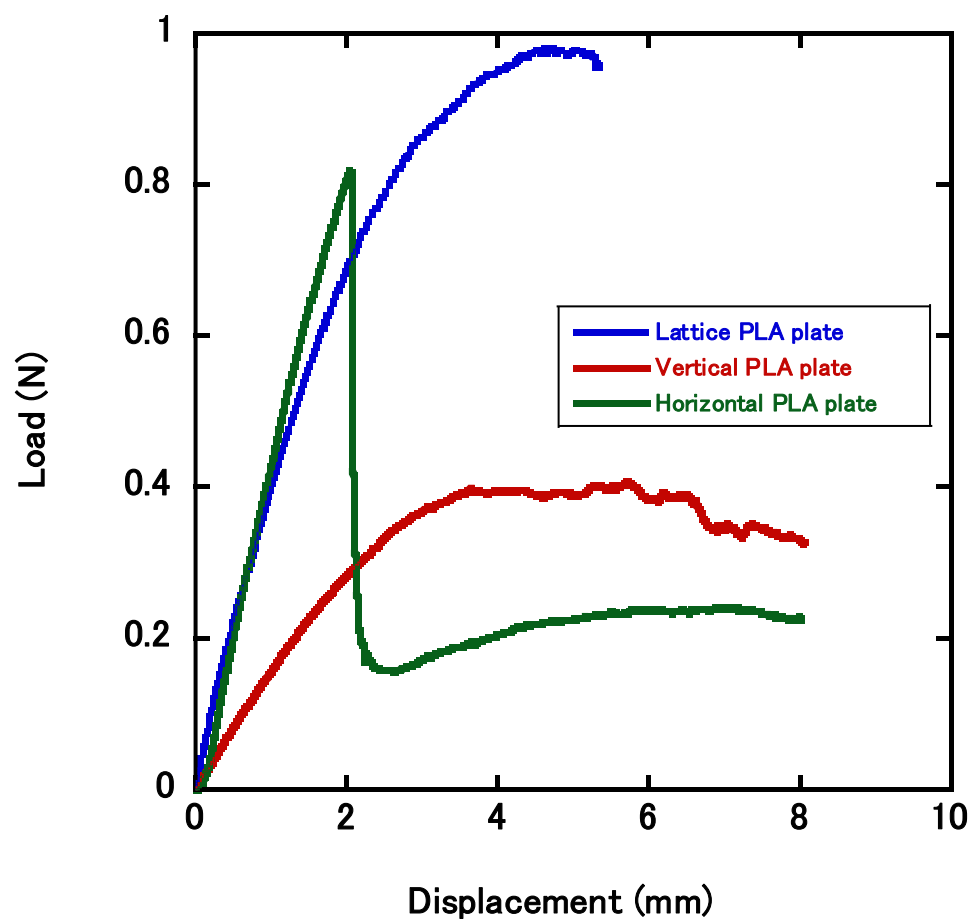


Fig.3.19 Typical load-displacement curves of PLA plates

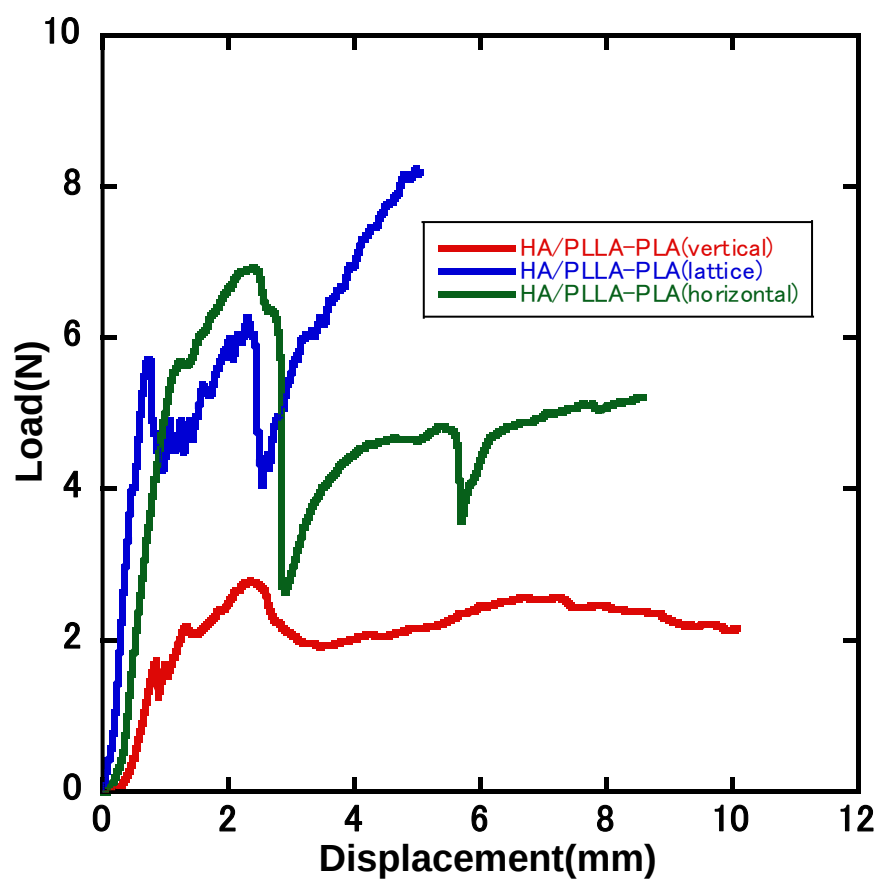


Fig.3.20 Typical load-displacement curves of 3types HA/PLLA-PLA composite sandwich beams

3.3.3 曲げ変形メカニズム

Fig.3.21、Fig.3.22、Fig.3.24 は、3 種類の PLA プレート、およびそれぞれを用いて作製したサンドイッチ構造体の 3 点曲げ試験の様子である。また Fig.3.21、Fig.3.22 は HA/PLLA 単一複合ビーム、HA/PLLA サンドイッチビーム(格子状)の曲げ破壊面の SEM 画像も示している。

Fig.3.21 は HA/PLLA 単一複合ビームの 3 点曲げ試験時の SEM 画像と試験時の様子である。先ほどの荷重変位曲線の各点での損傷の微視構造を確認していく。Fig.3.21 上の写真はクラック発生時の実験写真と、その SEM 画像である。多孔体の下の部分で HA 柱構造と PLLA 層の損傷がみられる。下の写真はクラック進展時の写真である。荷重-変位曲線 B～C 点で発生したクラックが進展し、多孔体の中央近い部分での HA 柱構造と PLLA 層の損傷がみられる。

Fig.3.22 は 3 点曲げ試験時の HA/PLLA サンドイッチビーム (格子状プレート) の 3 点曲げ試験時の SEM 画像と試験時の様子である。先ほどの荷重変位曲線の各点での損傷の微視構造を確認していく。a 点の写真は実験開始時の様子である。そして b 点の写真はクラック発生時の実験写真と、その SEM 画像である。多孔体の下の部分で HA 柱構造と PLLA 層の損傷がみられる。またクラック直下の PLA プレートの剥離がみられる。c 点の写真はクラック進展時の写真である。荷重-変位曲線 b～c 点で発生したクラックが進展し、多孔体の中央近い部分での HA 柱構造と PLLA 層の損傷がみられた。そして d～e 点の写真はプレート剥離時の実験写真と、その SEM 画像である。SEM 画像にみられるように PLA プレートと中間層の剥離がみられる。またここで PLA プレートに HA 柱構造が付着していることから、ジオキサンを用いたサンドイッチ構造体上下の PLA プレートと中間層である複合多孔体の接着は充分であったと考えられる。

Fig.3.23 はそれぞれ 3 点曲げ試験時の格子状、垂直、水平 PLA プレートの 3 点曲げ試験時の様子である。Fig.3.23(c)の水平 PLA プレートでは変位が大きくなると、荷重-変位曲線の A 点のタイミングで PLA プレートにねじれが生じ、同時に荷重が大幅に減少していることが分かった。

Fig.3.24(a)は 3 点曲げ試験時の HA/PLLA PLA サンドイッチビーム(垂直プレート)の 3 点曲げ試験時の様子である。Fig.3.24(b)は 3 点曲げ試験時の HA/PLLA PLA サンドイッチビーム (水平プレート) の 3 点曲げ試験時の様子である。水平 PLA プレートのみの 3 点曲げ試験時と同様に、PLA プレートのねじれがみられ、その時点で荷重の大幅な減少が確認された。

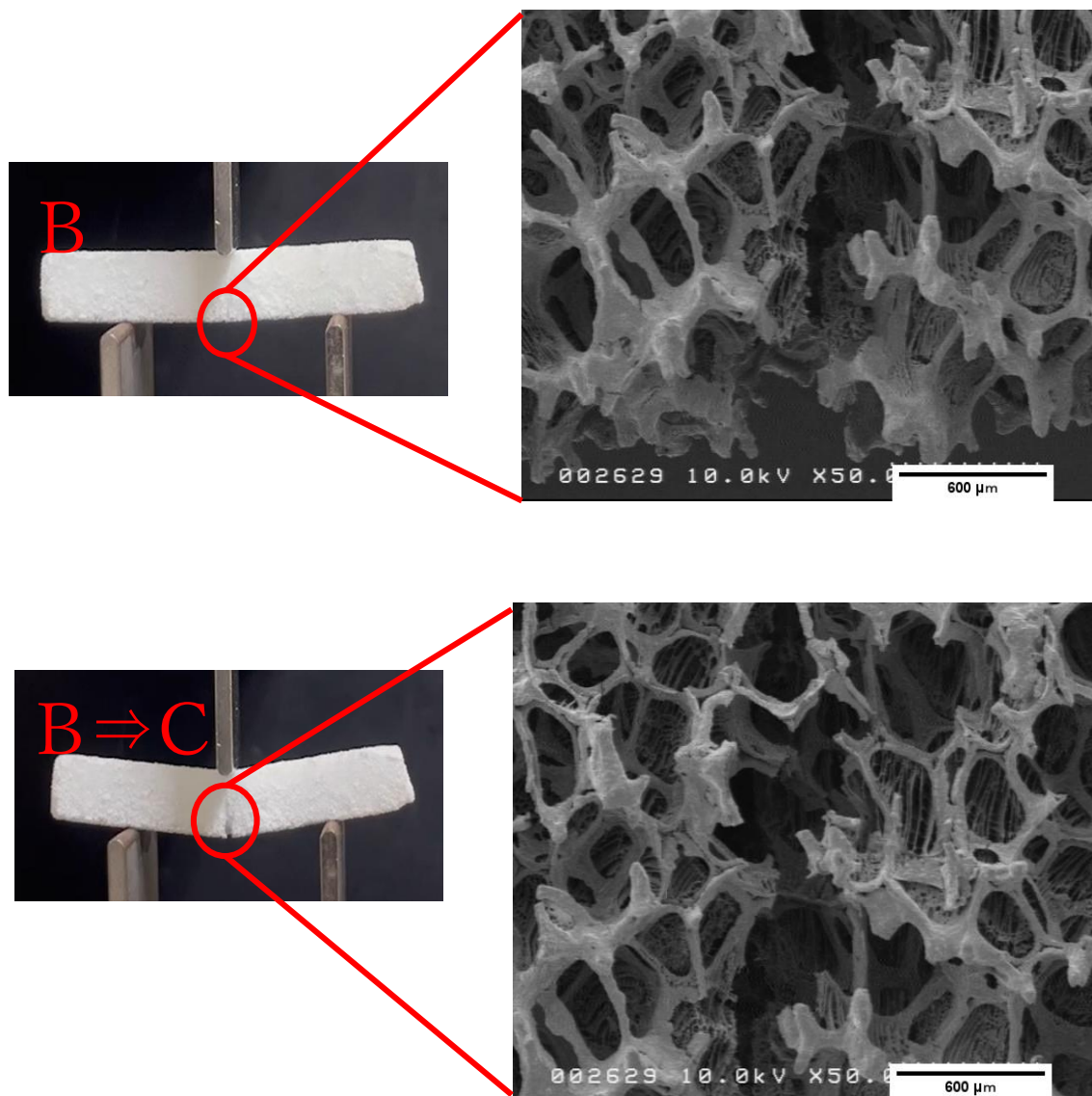
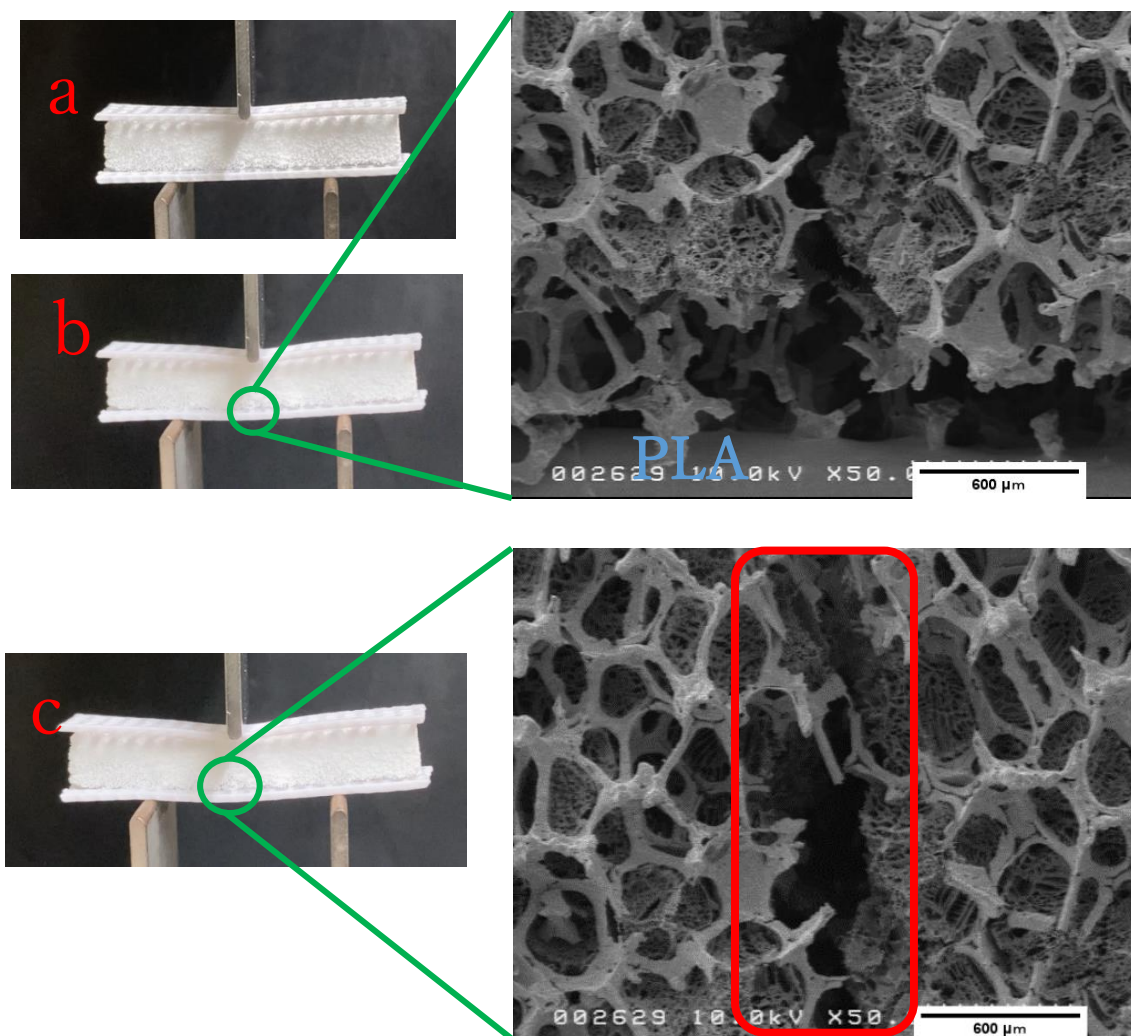
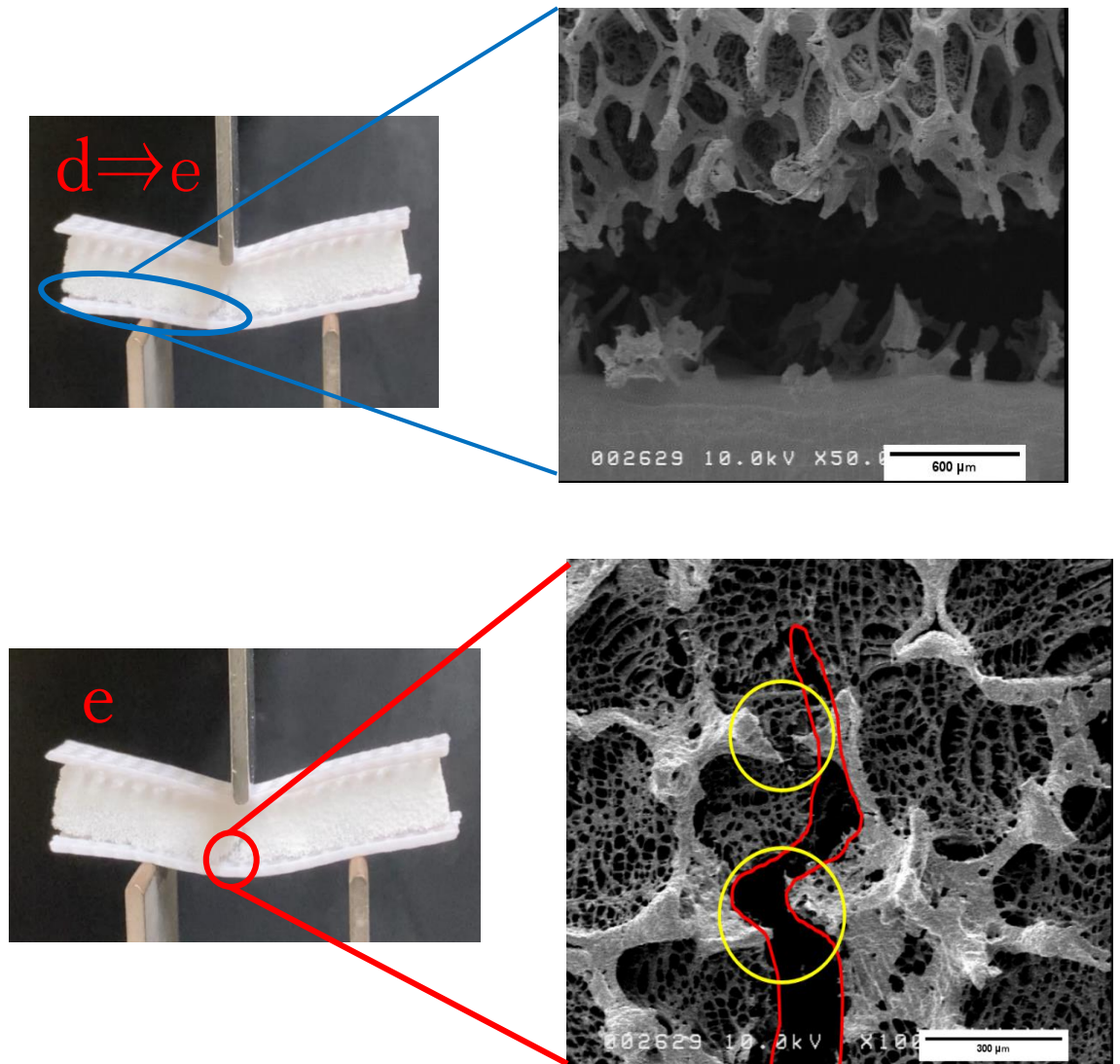


Fig.3.21 The microscopic damage mechanism of HA / PLLA composite beam



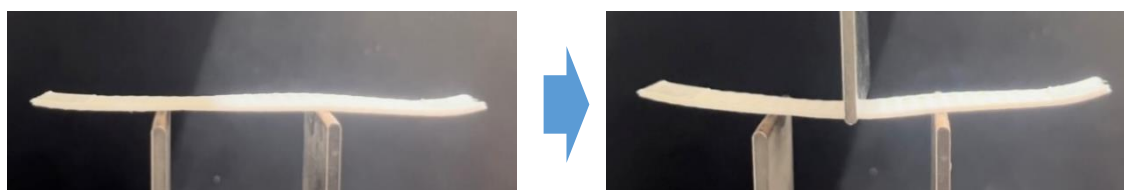
(a) The microscopic damage mechanism at point a,b,c

Fig.3.22 The microscopic damage mechanism of HA / PLLA sandwich(lattice) beam



(b) The microscopic damage mechanism at point d,e

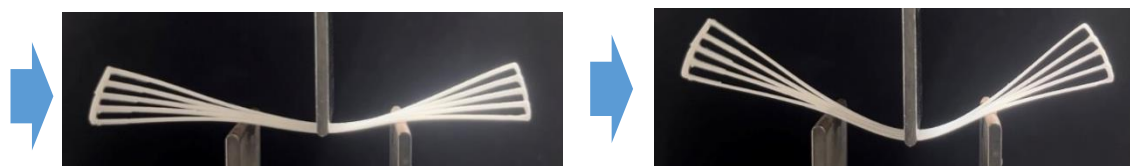
Fig.3.22 (continued)



(a) Lattice PLA plate

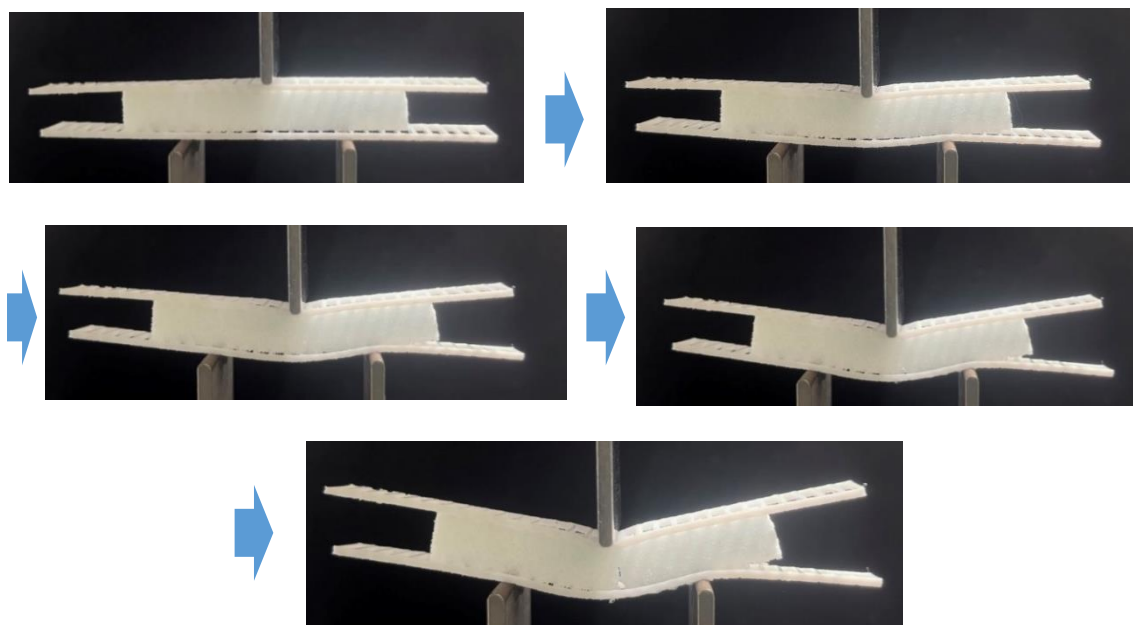


(b) Vertical PLA plate

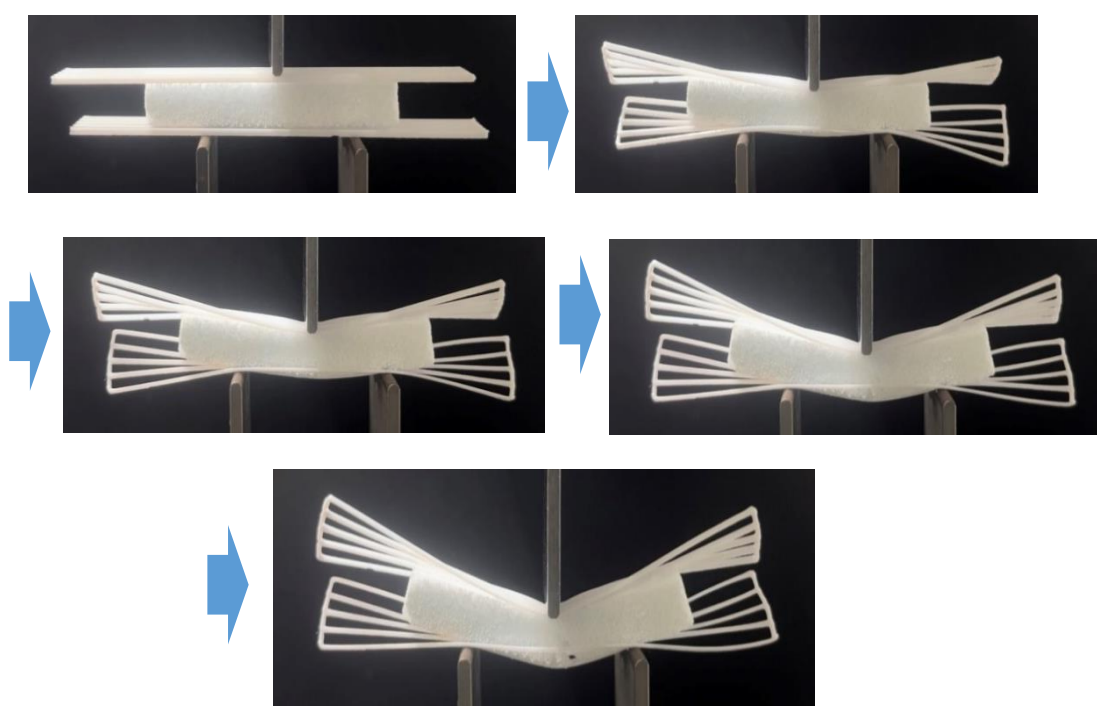


(c) Horizontal PLA plate

Fig.3.23 PLA plates of three types at three-point bending test



(a) HA/PLLA composite sandwich(vertical) beam



(b) HA/PLLA composite sandwich(horizontal) beam

Fig.3.24 HA/PLLA composite sandwich beam at three-point bending test

第4章 結言

- 3Dプリンタをも用いて作製した格子状PLAプレートとビーム状HA/PLLA複合多孔体とを組み合わせることでサンドイッチ構造体の作製法を確立した。
- サンドイッチ構造体でのエネルギー吸収メカニズムは、中間層における微視損傷発生と累積、クラック発生と進展、PLAプレートの剥離発生と進展、PLAプレートの塑性変形である。
- サンドイッチ構造体の上下層の構造と曲げ力学特性との間に関係があることを示し、サンドイッチ構造体の上下層の構造を変化させることにより力学特性を制御できる可能性を示した。
- 格子状、水平、垂直のPLAプレートを比べると、垂直PLAプレートは他の水平、格子状PLAプレートと比べて曲げ剛性、曲げ強度、破壊エネルギー、どの項目も低くなり、格子状PLAプレートと水平PLAプレートの曲げ剛性、曲げ強度には大きな差はみられなかった。しかし、破壊エネルギーは格子状プレートのほうがはるかに大きいことが分かった。
- HA/PLLA単一複合ビームとその他のサンドイッチ構造体とを比較すると、曲げ強度については垂直PLAプレートを用いたサンドイッチ構造体以外は特性向上がみられた。そして破壊エネルギーについてはどのサンドイッチ構造体も単一複合ビームよりも高い値を示した。サンドイッチ構造体どうしの比較をすると、水平PLAプレートの破壊エネルギーを除いて、どの力学特性も格子状PLAプレート、水平PLAプレート、垂直PLAプレートの順に高い力学特性を示した。

参考文献

- [1] 田畑泰彦, “材料科学からみた再生医療-再生研究と再生治療-”, 日本接着学会誌 Vol.51 No.12(2015).
- [2] Furukawa K, “組織工学と再生医療”, 人工臓器 40 (3), 211-216 (2011).
- [3] Xiaoming Li, Qingling Feng, Fuzhai Cui, ”Invitro degradation of porous nano hydroxyapatite/collagen/PLLA scaffold reinforced by chitin fibres”, Materials Science and Engineering C 26, 716-720 (2006).
- [4] Kanie K, Kato R, “ペプチドアレイを用いた ECM タンパク質由来機能性ペプチドの探索ストラテジーとその可能性” 化学と生物, 52 (6), 361-370 (2014).
- [5] Todo Mitsugu, Kuraoka Hiroyuki, Kim Jinwoong, Taki Kentaro, Ohshima Masahiro., “Deformation behavior and mechanism of porous PLLA under compression”, J Mater Sci, 43, 5644-5646 (2008).
- [6] Qin Zhang, Hongxu Lu, Naoki Kawazoe, Guoping Chen, “Pore size effect of collagen scaffolds on cartilage regeneration”, Acta Biomaterialia, 10, 2005-2013 (2014).
- [7] D. Barati, “Biodegradable Hybrid Tissue Engineering Scaffolds For Reconstruction Of Large Bone Defects,” University of South Carolina, (2016)
- [8] Proff, P., “The molecular mechanism behind bone remodeling: A review”, Clinical Oral Investigations, 13, (2009), 355-362.
- [9] S, C. Marks Jr, P. R. Odgren, “ Structure and development of the skeleton” , Principles of bone biology (2nd ed), Academic Press, San Diego (2002), 3-15.
- [10] Hill, P. A., “Bone remodeling”, British journal of orthodontics, (1998), 101-107
- [11] U. H. Lerner., “ Bone remodeling in post-menopausal osteoporosis”, Critical reviews in oral biology & medicine, (2006), 584-593
- [12] C. A. F. Dodd, C. M. Fergusson, L. Fredman, G. R. Houghton, D. Thomas, “Allograft versus autograft bone in scoliosis surgery”, The journal of bone and joint surgery, (1988), 431-434
- [13] O. B. C. Delloye, O. Cornu, V. Druetz, "Bone Allografts; What they can offer and what they cannot," The Bone and Joint Journal, 2007, doi: <https://doi.org/10.1302/0301-620X.89B5.19039>.
- [14] D. M. Vasconcelos, S. G. Santos, M. Lamghari, and M. A. Barbosa, "The two faces of metal ions: From implants rejection to tissue repair/regeneration," Biomaterials, vol. 84, pp. 262-275, Apr. 2016, doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.01.046.
- [15] K. Glenske et al., Applications of Metals for Bone Regeneration..
- [16] W. Wang and K. W. K. Yeung, "Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review," Bioactive Materials, vol. 2, no. 4, pp. 224-247, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.05.007.
- [17] T. Moriya, "Collaboration between Medicine and Engineering Promotes the Process

of Practical Applications," Bone and Joint Regeneration Technology, 2006.

[18] M. Böhner, "Bone Substitute Materials," Encyclopedia of Biomedical Engineering, pp. 513-529, Jan. 2019, doi: 10.1016/B978-0-12-801238-3.00224-5.

[19] K. Uthoff, "Cortical Porosis under plates Reaction to unloading or to necrosis?," The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume, 76(10), 1507-1512., vol. 76, no. 10, pp. 1507-1512, 1994.

[20] H. K. Uthoff, P. Poitras, and D. S. Backman, "Internal plate fixation of fractures: short history and recent developments," Journal of Orthopaedic Science, vol. 11, no. 2, pp. 118-126, Mar. 2006, doi: 10.1007/S00776-005-0984-7.

[21] Y. Yamazaki, M. Onishi, S. Shiota, M. Ogiso, N. Ichijo, "Experimental study on porous apatite as artificial bone", Mouth disease journal (1982)251-278.

[22] M. Motomiya, M. Ito, M. Takahata, K. Kadoya, K. Irie, K. Abumi, A. Minami, "Effect of Hydroxyapatite porous characteristics on healing outcomes in rabbit posterolateral spinal fusion model", European Spine Journal, 16, (2007), 2215-2224.

[23] Y. Yoshida, S. Osaka, Y. Tokuhashi, "Clinical experience of novel interconnected porous hydroxyapatite ceramics for the revision of tumor prosthesis: a case report", World journal of surgical oncology, 7, (2009)

[24] M. Hoshino, T. Egi, H. Terai, T. Namikawa, K. Takano, "Repair of long intercalated rib defects using porous beta-tricalcium phosphate cylinders containing recombinant human bone morphogenetic protein-25 in dogs", Biomaterials, 27, (2006), 4934-4940

[25] A. Myoui, "History of artificial bone and latest design concept", Artificial organ, 40, (2011), 76-80

[26] H. Hattori, K. Masuoka, M. Sato, M. Ishihara, T. Asazuma, B. Takase, M. Kikuchi, K. Nemoto, M. Ishihara, "Bone formation using human adipose tissue-derived stromal cells and a biodegradable scaffold", Journal of biomedical materials research –part B applied biomaterials, 76, (2006), 230-239.

[27] D. Tang, R. S. Tare, L. Y. Yang, D. F. Williams, K. L. Ou, R. O. C. Oreffo, "Bone regeneration by implantation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells", Biomaterials, 83, (2016), 363-382

[28] M. F. F. A. Hamidi, W. S. W. Harun, M. Samykano, S. A. C. Ghazalli, F. Ahmad, A. B. Sulong, "A review of biocompatible metal injection moulding process parameters for biomedical applications", Material science and engineering 78, (2017), 1263-1276

[29] D. Du, K. S. Furukawa, T. Ushida, "3D culture of osteoblast-like cells by unidirectional or oscillatory flow for bone tissue engineering", Biotechnology and Bioengineering, 102, (2009), 1670-1678

[30] K. M. Woo, J. Seo, R. Zhang, P. X. Ma, "Suppression of apoptosis by enhanced protein adsorption on polymer/hydroxyapatite composite scaffolds", Biomaterials, 28, (2007), 2622-2630

- [31] H.W.Kim, J. C. Knowles, H. E. Kim, "Hydroxyapatite/poly(ϵ -caprolactone) composite coatings on hydroxyapatite porous bone scaffold for drug delivery", *Biomaterials*, 25, (2004), 1279-1287.
- [32] S. Ravindran, Y. Zhang, C.-C., Huang, A. George, "Odontogenic induction of dental stem cells by extracellular matrix-inspired three-dimensional scaffold", *Tissue Engineering - Part A*, 20, (2014), 92-102.
- [33] M. Tang, W. Chen, J. Liu, M. D. Weir, I. Cheng, Xu, H.H.K., "Human induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cell seeding on calcium phosphate scaffold for bone regeneration", *Tissue Engineering - Part A*, 20, (2014), 1295-1305.
- [34] 鶴岡茉佑子 医療への活用が進む 3D プリンティング技術 みずほ情報総研レポート vol.15 2018
- [35] Evaluation of 3D Printing and Its Potential Impact on Biotechnology and the Chemical Sciences
Bethany C. Gross, Jayda L. Erkal, Sarah Y. Lockwood, Chengpeng Chen, and Dana M. Spence
Analytical Chemistry **2014** 86 (7), 3240-3253
- [36] Seitz, H.; Rieder, W.; Irsen, S.; Leukers, B.; Tille, C. J. *Biomed. Mater. Res., Part B: Appl. Biomater.* **2005**, 74B, 782– 788
- [37] Cuodeau, A.; Sachs, E.; Cadarise, S. J. *Biomed. Mater. Res.* 2000, 53, 525– 535
View
- [38] M. R. D. . Thein-Han W.W., "Biomimetic Chitosan-nanohydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering," *Acta Biomaterial*, vol. 5, pp. 1182-1197, 2009.
- [39] T. Y. Watanabe K, Nakamura M, Okano H, "Establishment of three-dimensional culture of neural stem/progenitor cells in collagen Type-1 Gel.," *Restoration Neurol Neuroscience*, pp. 109-117, 2007.
- [40] H. J. Kim et al., "Bone tissue engineering with premineralized silk scaffolds," *Bone*, vol. 42, no. 6, pp. 1226-1234, Jun. 2008, doi: 10.1016/J.BONE.2008.02.007.
- [41] A. M. Ferreira, P. Gentile, V. Chiono, and G. Ciardelli, "Collagen for bone tissue regeneration," *Acta Biomaterialia*, vol. 8, no. 9, pp. 3191-3200, Sep. 2012, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2012.06.014.
- [42] M. L. and M. Z. Soumen Jana, Stephen J. Florezyk, "High-strength pristine porous chitosan scaffolds for tissue engineering," *Journal of Materials Chemistry*, no. 13, 2012.
- [43] A. Ferrand et al., "Osteogenetic properties of electrospun nanofibrous PCL scaffolds equipped with chitosan-based nanoreservoirs of growth factors," *Macromolecular Bioscience*, vol. 14, no. 1, pp. 45-55, 2014, doi: 10.1002/mabi.201300283.
- [44] D. Grafahrend et al., "Degradable polyester scaffolds with controlled surface chemistry combining minimal protein adsorption with specific bioactivation,"

Nature Materials, vol. 10, no. 1, pp. 67-73, 2011, doi: 10.1038/nmat2904.

[45] S. E. K. Tae-Hoon Kim, Young-Pil Yun, Young-Eun Park, Suk-Ha Lee, Woonjae Yong, Joydip Kundu, Jin Woo Jung, Jin-Hyung Shim, Dong-Woo Cho, "In vitro and in vivo evaluation of bone formation using solid freeform fabrication-based bone morphogenic protein-2 releasing PCL/PLGA scaffolds," Biomedical Materials, vol. 9, no. 2, 2014.

[46] and H. J. H. Hanna Tiainen, S. Petter Lyngstadaas, Jan Eirik Ellingsen, "Ultra-porous titanium oxide scaffold with high compressive strength," Journal of Material Science. Material in Medicine, 2014.

[47] Q. Fu, E. Saiz, M. N. Rahaman, and A. P. Tomsia, "Bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and future perspectives," Materials Science and Engineering: C, vol. 31, no. 7, pp. 1245-1256, Oct. 2011, doi: 10.1016/J.MSEC.2011.04.022.

[48] T. C. Seitz H, Rieder W, Irsen S, Leukers B, "Three-dimensional printing of porous ceramic scaffolds for bone tissue engineering," Journal of Biomedical Material Research B. Applied Biomaterial, 2005.

[49] S. Bose and S. Tarafder, "Calcium phosphate ceramic systems in growth factor and drug delivery for bone tissue engineering: A review," Acta Biomaterialia, vol 8, no. 4, pp. 1401-1421, Apr. 2012, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2011.11.017.

[50] A. T. Silvia Panseri, Carla Cunha, Teresa D'Alessandro, Monica Sandri, Alessandro Russo, Gianluca Giavaresi, Maurilio Marcacci, Clark T. Hung, "Magnetic Hydroxyapatite Bone Substitutes to Enhance Tissue Regeneration: Evaluation In Vitro Using Osteoblast-Like Cells and In Vivo in a Bone Defect," Plos One, 2012.

[51] J. Fernández, A. Etxeberria, and J. R. Sarasua, "Synthesis, structure and properties of poly(L-lactide-co-g-caprolactone) statistical copolymers," Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, vol. 9, pp. 100-112, 2012, doi:10.1016/j.jmbbm.2012.01.003.

[52] V. Mouriño and A. R. Boccaccini, "Bone tissue engineering therapeutics: Controlled drug delivery in three-dimensional scaffolds," Journal of the Royal Society Interface, vol. 7, no. 43, pp. 209-227, 2010, doi: 10.1098/rsif.2009.0379.

[53] M. C. Azevedo, R. L. Reis, M. B. Claase, D. W. Grijpma, and J. Feijen, "AL SIN MEDICINE 14 (2003) 103 1 0 7 Development and properties of polycaprolactone/ hydroxyapatite composite biomaterials," vol. 4, pp. 103-107,2003.

[54] K. J. L. Burg, S. Porter, and J. F. Kellam, "Biomaterial developments for bone tissue engineering," Biomaterials, vol. 21, no. 23, pp. 2347-2359, 2000, doi: 10.1016/S0142-9612(00)00102-2.

[55] J. C. Middleton and A. J. Tipton, "Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices," Biomaterials, vol. 21, no. 23, pp. 2335-2346, 2000, doi: 10.1016/S0142-9612(00)00101-0.

- [56] A. Majola, S. Vainionpää, P. Rokkanen, H. M. Mikkola, and P. Törmälä, "Absorbable self-reinforced polylactide (SR-PLA) composite rods for fracture fixation: strength and strength retention in the bone and subcutaneous tissue of rabbits," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 3, no. 1, pp. 43-47, 1992, doi: 10.1007/BF00702943.
- [57] K. Tappa et al., "3D printing custom bioactive and absorbable surgical screws, pins, and bone plates for localized drug delivery," *Journal of Functional Biomaterials*, vol. 10, no. 2, 2019, doi: 10.3390/jfb10020017.
- [58] G. Giammona and E. F. Craparo, "Polymer-based systems for controlled release and targeting of drugs," *Polymers*, vol. 11, no. 12, pp. 10-12, 2019, doi:10.3390/polym 11122066.
- [59] B. L. Shafer and P. T. Simonian, "Broken Poly-L-lactic acid interference screw after ligament reconstruction," *Arthroscopy - Journal of Arthroscopic and Related Surgery*, vol. 18, no. 7, pp. 1-4, 2002, doi: 10.1053/jars.2002.32197.
- [60] M. Kosaka, F. Uemura, S. Tomemori, and H. Kamiishi, "Scanning electron microscopic observations of 'fractured' biodegradable plates and screws," *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, vol. 31, no. 1, pp. 10-14, 2003, doi:10.1016/S1010-5182(02)00166-X.
- [61] Z. Wang, Y. Wang, Y. Ito, P. Zhang, and X. Chen, "A comparative study on the in vivo degradation of poly(L-lactide) based composite implants for bone fracture fixation," *Scientific Reports*, vol. 6, no. January, pp. 1-12, 2016, doi:10.1038/srep20770.
- [62] D. W. Weisgerber, K. Ering, C. L. Flanagan, S. J. Hollister, and B. A. Harley, "Evaluation of multi-scale mineralized collagen-polycaprolactone composites for bone tissue engineering," *Journal of Mechanics Behavior Biomedical Material*, 2016.
- [63] A. Pangesty and M. Todo, "Development of cylindrical microfibrinous scaffold using melt-spinning method for vascular tissue engineering," *Materials Letters*, vol. 228, pp. 334-338, 2018, doi: 10.1016/j.matlet.2018.06.046.
- [64] C. A. Harper, *Modern Plastics Handbook*. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc, 2000.
- [65] S. Cong, "Properties of polylactic acid fiber based polymers and their correlation with composition," *Proceedings of 2007 International Conference on Advanced Fibers and Polymer Materials, ICAFP 2007*, vol. 1, pp. 8-11, 2007.
- [66] D. S. Rosa, I. C. Neto, M. R. Calil, A. G. Pedroso, C. P. Fonseca, and S. Neves, "Evaluation of the thermal and mechanical properties of poly(&-caprolactone), low-density polyethylene, and their blends," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 91, no. 6, pp. 3909-3914, 2004, doi: 10.1002/app. 13596.
- [67] J. Fernández, A. Larrañaga, A. Etxeberria, W. Wang, and J. R. Sarasua, "A new generation of poly(lactide/s-caprolactone) polymeric biomaterials for application in the medical field," *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, vol. 102, no.

10, pp. 3573-3584, 2014, doi: 10.1002/jbm.a.35036.

[68] J. F. Pan, N. H. Liu, H. Sun, and F. Xu, "Preparation and characterization of electrospun PLCL/ poloxamer nanofibers and Dextran/Gelatin Hydrogels for skin tissue engineering," PLOS ONE, vol. 9, no. 11, pp. 1-12, 2014, doi:10.1371/journal.pone.0112885.

[69] Tanaka S., “ハイドロキシアパタイト”, ファルマシア, Vol.53, No.4 343 (2017).

[70] 田中智,町長 治, “ヒドロキシアパタイトとその前駆体結晶の構造”, 日本大学生産工学部研究報告 A, 第 38 巻 第 2 号 (2005)

[71] 東藤 貢, 篠原 信之, 新川 和夫, 辻 秀人, “ポリ(L-乳酸)の破壊挙動に及ぼす加水分解の影響”, 高分子論文集, vol.60, No.11 644-651 (2003)

[72] Tanaka M, Tanaka K, “Introduction of Biomaterials for Beginners” Journal of the Society of Materials Science, Japan, 63 (8), 624-630 (2014).

[73] Suzuki S, Kobashi M, Ono F, Kanetake N, “Publication of JIS and ISO standards for evaluation of porous and cellular metals”, Journal of Japan Institute of Light Metals, 67 (11), 554-558 (2017).

謝辞

本研究は、九州大学大学院総合理工学府総合理工学専攻、修士課程、機械・システム理工学メジャーの講座において令和4年から令和6年の間に行われたものです。

本研究の実施に当たり、研究の計画・実施から本稿の作成まで懇切丁寧なご指導、ご鞭撻を賜りました、東藤貢准教授に心より感謝申し上げます。

また、九州大学応用力学研究所技術職員の林大吾氏には研究を行うにあたり実験の補助をしていただきました。同研究所吉津雅子氏には事務手続きなどお世話になりました。心より感謝致します。

大学院生活を送るにあたり、椎屋青波氏、白澤廉氏、内藤大裕氏、福井喬太氏には先輩として多くの助言をいただきました。また、同期の長崎快君、寄岡康太郎君、修士課程1年浦塚健士君、松田樹君には、研究のみならず、有意義な学生生活を送るにあたり大変お世話になりました。ここに深い感謝の念を表します。

最後に、あらゆる面で私を支えてくださった家族、友人達に心より感謝します。

2024 年 2 月

宮原 大祐