



Title	Development of Cell Scaffolds Capable of Controlled Oxygen Release by Surface Modification of Calcium Peroxide
Author(s)	富岡, 大祐
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/101630
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏名 (富岡大祐)	
論文題名	Development of Cell Scaffolds Capable of Controlled Oxygen Release by Surface Modification of Calcium Peroxide (過酸化カルシウムの表面修飾により酸素徐放を制御可能な細胞足場材料の創製)
論文内容の要旨	

現在、機能不全に陥った生体組織を治療する新たな手法として再生医療が注目されている。再生医療とは生体外で構築した組織体を移植することで患部の機能改善を図るものであり、細胞懸濁液や二次元細胞シートを用いた治療が実用化されている。しかしながら、生体外での厚い三次元組織体の構築、特に200 μm 以上の厚さを有する組織体の構築は未だ困難である。その原因として、組織体内部への酸素供給不足があげられる。もし、十分な酸素を供給できれば、ミリメートル以上の厚い三次元組織体が構築できると期待される。また、虚血部位に移植した組織体は血管がつながるまで酸素供給が乏しく、移植先での酸素不足による細胞死も課題となっている。

このような酸素不足の問題を解決するために酸素を徐放するバイオマテリアルが注目されており、例えばヘムタンパク質や酸素溶解度が高いペーフルオロカーボンを酸素源に用いた材料が報告されている。しかしながら、これらの酸素源は酸素貯蔵量が少ないことが大きな課題であった。一方、水との反応で酸素、過酸化水素、水酸化カルシウムを生成する無機化合物の過酸化カルシウム (CaO_2) は酸素貯蔵量が大きいため、 CaO_2 をハイドロゲル等に内包した酸素徐放材料が数多く報告されている。しかしながら、 CaO_2 は迅速な水との反応が原因で酸素の初期バースト放出が課題となっており、持続的な酸素徐放が困難であった。近年、持続的な酸素徐放を行うために、 CaO_2 を疎水性の合成高分子材料に内包し、水との反応を抑制した材料が報告されている。しかしながら、 CaO_2 の一部が材料表面に露出しており、これらの材料を内包したハイドロゲル内における細胞の三次元培養に応用が限定されている。このようなハイドロゲル内に細胞が点在している組織体は細胞密度が低く、実際の生体組織とは大きくかけ離れている。

本研究では CaO_2 の酸素徐放制御を達成する新たな手法として CaO_2 自身の表面修飾を行った。また、表面修飾 CaO_2 を酸素源に用いた酸素徐放材料を開発し、細胞培養や三次元組織体構築への応用を行った。第一章では CaO_2 の表面を骨の主成分で優れた生体適合性を有するハイドロキシアパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HAp) で修飾し (HAp- CaO_2)、水との反応を抑制することで長期的な酸素徐放を行った。また、HAp- CaO_2 をゼラチン由来のハイドロゲルに内包した酸素徐放ハイドロゲルを作製し、材料からの酸素供給が細胞培養や三次元組織体構築に与える効果を評価した。第二章では、弱酸性環境で溶解するアモルファス状態の炭酸カルシウム (ACC) による CaO_2 の表面修飾を行い、pHに応答した酸素徐放制御を評価した。第三章では三次元組織体の内部から酸素供給を行うために、酸素徐放マイクロ細胞足場材料の開発を行った。 CaO_2 の反応の副生成物である過酸化水素由来の毒性を抑制するために、過酸化水素分解酵素であるカタラーゼ ($M_w=240\text{kDa}$, $pI=5.4$) とポリ-L-リシン (PLL) ($M_w=15\text{k-}30\text{kDa}$, $pK_a=10.6$) から成るナノ薄膜をLayer-by-Layer (LbL) 法で作製した。このLbLナノ薄膜でHAp- CaO_2 表面をコーティングしたLbL-HAp- CaO_2 を組織体に内包し、生きた厚い三次元組織体の生体外構築を行った。第四章ではマイクロ流路システムを利用した酸素徐放マイクロゲルの作製を行った。また、マイクロゲル内にACC- CaO_2 を内包し、酸素徐放マイクロゲルのpHに応答した酸素徐放制御を評価した。本研究で開発した酸素徐放材料は再生医療分野の課題である酸素不足の問題を解決し、多種多様な組織体構築への応用が期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名 (富岡 大祐)		氏名	
論文審査担当者	主査	教授	松崎 典弥
	副査	教授	平野 康次
	副査	教授	剣 隼人
	副査	教授	木田 敏之
	副査	教授	安田 誠
	副査	教授	正岡 重行
	副査	教授	鳶巣 守
	副査	教授	菊地 和也
	副査	教授	芝田 育也
	副査	教授	藤塚 守
	副査	教授	家 裕隆

論文審査の結果の要旨

現在、機能不全に陥った生体組織を治療する新たな手法として再生医療が注目されているが、現在 200 μm 以上の厚さを有する組織体の構築は未だ困難である。その原因として、組織体内部への酸素供給不足があげられる。もし、十分な酸素を供給できれば、ミリメートル以上の厚い三次元組織体が構築できると期待される。このような酸素不足の問題を解決するために酸素を徐放するバイオマテリアルが注目されており、無機化合物の過酸化カルシウム (CaO_2) をハイドロゲル等に内包した酸素徐放材料が数多く報告されている。しかしながら、 CaO_2 は迅速な水との反応が原因で酸素の初期バースト放出が課題となっており、持続的な酸素徐放が困難であった。

本研究では CaO_2 の酸素徐放制御を達成する新たな手法として CaO_2 自身の表面修飾を行った。また、表面修飾 CaO_2 を酸素源に用いた酸素徐放材料を開発し、細胞培養や三次元組織体構築への応用を行った。第一章では CaO_2 の表面を骨の主成分で優れた生体適合性を有するハイドロキシアパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HAp) で修飾し (HAp- CaO_2)、水との反応を抑制することで長期的な酸素徐放を行った。また、HAp- CaO_2 をゼラチン由来のハイドロゲルに内包した酸素徐放ハイドロゲルを作製し、材料からの酸素供給が細胞培養や三次元組織体構築に与える効果を評価した。第二章では、弱酸性環境で溶解するアモルファス状態の炭酸カルシウム (ACC) による CaO_2 の表面修飾を行い、pH に応答した酸素徐放制御を評価した。第三章では三次元組織体の内部から酸素供給を行うために、酸素徐放マイクロ細胞足場材料の開発を行った。 CaO_2 の反応の副生成物である過酸化水素由来の毒性を抑制するために、過酸化水素分解酵素であるカタラーゼ ($M_w=240\text{kDa}$, $\text{pI}=5.4$) とポリ-L-リシン (PLL) ($M_w=15\text{k}\cdot 30\text{kDa}$, $\text{pKa}=10.6$) から成るナノ薄膜を Layer-by-Layer (LbL) 法で作製した。この LbL ナノ薄膜で HAp- CaO_2 表面をコーティングした LbL-HAp- CaO_2 を組織体に内包し、生きた厚い三次元組織体の生体外構築を行った。第四章ではマイクロ流路システムを利用した酸素徐放マイクロゲルの作製を行った。また、マイクロゲル内に ACC- CaO_2 を内包し、酸素徐放マイクロゲルの pH に応答した酸素徐放制御を評価した。本研究で開発した酸素徐放材料は再生医療分野の課題である酸素不足の問題を解決し、多種多様な組織体構築への応用が期待される。

以上のように、本論文は交互積層ナノ薄膜の従来の定説を覆すものであり、独創的かつ新規性の高い研究内容である。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。