The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	タンパク質放出制御用担体としてのハイドロキシアパタイト粉末の有効性に関する研究
Author(s)	松本, 卓也
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/44503
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【4】

氏　　名	松　本　卓　也（まつもと たくや）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学 位 記 番 号	第　17260　号
学位授与年月日	平成 14 年 7 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第２項該当
学 位 論 文 名	**タンパク質放出制御用担体としてのハイドロキシアパタイト粉末の有効性に関する研究**
論 文 審 査 委 員	（主査） 教　授　高橋　純造 （副査） 教　授　恵比須繁之　　助教授　大嶋　　隆　　助教授　岩本　容泰

論 文 内 容 の 要 旨

1. 研究の背景と目的

近年、分子生物学および発生生物学の発達により、多くの新たな遺伝子やタンパク質の発見およびその機能解明、ならびに、新たな細胞分化誘導方法の開発が飛躍的な進歩を遂げている。このようなことから再生医療実現の期待が高まっているが、一方で具体的な組織再生構築技術の確立は遅れているのが現状である。複雑な生体組織の再生医療を実現するためには、その組織を構成する細胞や基質を再生必要部位に適した形態で誘導させる必要があり、また迅速に再生を促し治癒期間を短縮させる必要がある。このような問題を解決するうえで、細胞、各種成長因子、生体材料を用いた組織工学的手法は非常に有望であり、骨や歯といった硬組織再生に有効な生体材料の１つとしてハイドロキシアパタイト（HAp）が挙げられる。

これまでにも、HAp を各種成長因子（タンパク質）の担体として利用し骨再生を試みた研究は報告されている。しかし、用いられた HAp の多くは焼結体で代謝性に劣るため、自然骨による完全な骨再生を妨げるものであった。また、HAp とタンパク質との複合化においても HAp 成形体に直接タンパク質溶液を含浸させており、HAp 成形体中のタンパク質分布は表層と内部で不均質であり、タンパク質放出を必要時期に達成できない。そこで、本研究では、タンパク質放出制御用担体として粉末状の HAp を利用することを目的とし、HAp 粉末の代謝性制御方法、HAp 粉末とタンパク質との複合化方法の確立および HAp-タンパク質複合体からのタンパク質放出挙動について検討を行った。

2. HAp の代謝性制御

HAp 粉末は、酢酸カルシウム水溶液とリン酸二水素アンモニウム水溶液を pH＝7.4 に維持した酢酸緩衝液中に等量ずつ滴下し、40℃、60℃、80℃の３種類の異なる温度条件下にて合成した。得られた粉末試料の物理化学的性質を調べたところ、合成温度の低下にともない HAp の結晶性、結晶サイズは減少し、見かけの溶解度、比表面積は増加した。また、合成温度の異なる HAp 粉末をラット脛骨の人為的骨欠損部に埋入した実験では、低温度で合成した HAp ほど代謝性に優れており、代謝性制御方法として HAp 合成温度の制御が有効であることが明らかとなった。

3. HAp とタンパク質との複合化

HAp とタンパク質との複合化および HAp へのタンパク質結合量制御を目的に HAp へのタンパク質吸着実験を行った。骨再生に有効であることが報告されている BMP、bFGF、TGF-β などの増殖因子は pI が 9～10 の塩基性タンパク質であることから、本研究ではシトクロム C (pI＝10.2) をモデルタンパク質として選択した。この結果、HAp のもつタンパク質吸着能を利用することにより HAp とタンパク質との複合化が可能であることが確認された。また、タンパク質吸着時におけるタンパク質溶液濃度を変えることにより HAp へのタンパク質吸着量を制御できることが明らかとなった。

4. HAp-タンパク質複合体からのタンパク質放出挙動の検討

異なる温度で合成した HAp にシトクロム C を吸着させタンパク質吸着 HAp (HAp-Pro) を準備した。pH＝7.0 および 4.0 の異なる pH 溶液中における HAp-Pro からのタンパク質放出挙動について検討したところ、pH＝7.0 溶液に浸漬した場合、タンパク質放出が浸漬初期にわずかに起こった後はほとんど起こらなかったのに対し、pH＝4.0 溶液に浸漬した場合、その放出は長期間持続するとともに、タンパク質放出割合が pH＝7.0 の場合と比較して大きかった。また、低い合成温度の HAp ほどタンパク質放出割合は有意に大きかった。これらのことから、HAp-Pro からのタンパク質放出が HAp の溶解に依存していることが明らかとなった。

5. おわりに

本研究で得られた結果から、HAp の代謝性については合成温度を変えることにより制御できること、HAp とタンパク質との複合化に関しては HAp のもつタンパク質吸着能を利用することが有効であること、また、HAp へのタンパク質吸着時におけるタンパク質溶液濃度を変えることによりタンパク質吸着量を制御できることが示された。これらの結果は、HAp がタンパク質放出制御用担体として有効であることを示唆するものであり、実際に in vitro で行った HAp-Pro からのタンパク質放出挙動の検討において、タンパク質の放出が HAp の溶解に依存していることが確認され、また、異なる温度で合成した HAp を用いることにより異なるタンパク質放出割合を達成できた。

本研究で作製した HAp-Pro の大きな特徴は、粉末状をしていることであり、最小構成単位であるマイクロ粒子の段階でタンパク質吸着量制御が行え、これを基盤材料として成形体作製が可能である。実際の臨床において、骨欠損部位の大きさ、形態は個人により異なることから、オーダーメイド再生医療の実現において使用する材料自体の成形性は重要となる。また、粉末状のままでも、ゲルやスポンジ、膜といった異なる性状をもつ生体材料への添加材料としても利用できる。このようにタンパク質制御用担体としての HAp 粉末は多くの応用性を有する生体材料として広く再生医療分野での活用が期待できる。

論文審査の結果の要旨

硬組織再生医療の実現において、成長因子などのタンパク質を放出制御できる生体吸収性材料の開発は重要である。本研究は、結晶性の異なるハイドロキシアパタイト (HAp) 粉末を合成し、その代謝性の違いに注目し、そのタンパク質放出制御用担体としての有効性を検討したものである。その結果、本 HAp 粉末は、タンパク質吸着量制御および吸着タンパク質の放出制御が可能な担体であることが確認された。

本研究の結果は、新しい硬組織再生用生体材料の開発に有効な知見であり、博士（歯学）に値するものと認める。