

オサダ ナオキ

氏 名 長田 直生

学位の種類 博士 (工学)

学位記番号 博第1164号

学位授与の日付 2020年3月31日

学位授与の条件 学位規則第4条第1項該当 課程博士

学位論文題目 生体吸収性複合材料の骨形成促進機構の設計  
(Designing new bioresorbable composites for enhancing bone-forming ability)

論文審査委員 主査 教授 春日 敏宏  
准教授 小幡 亜希子  
准教授 前田 浩孝

## 論文内容の要旨

本論文は、生体吸収性複合材料の骨形成促進機能を有する新たな人工骨の作製とその性能評価についてまとめたものである。各章は次のように要約される。

第1章は序論であり、骨移植の現状とこれまでの研究について概説し、本研究の目的を示した。

第2章では、形状の観点から骨形成を促進させるデザインを試みた。従来は粒子状や多孔質バルク状のものしかなかったが、本研究では綿形状という全く新しい概念の人工骨を想定した。β型リン酸三カルシウム (β-TCP)、ケイ素含有バテライト (SiV) およびポリ-L-乳酸 (PLLA) からなる複合材料を綿形状に成形し、動物実験による骨形成能の評価を行った。綿形状複合材料は、エレクトロスピング法により作製し、幅 50~150 μm、厚さ 10~30 μm の繊維が絡み合った構造とした。機械的柔軟性と優れた成形性を有しているため、どのような形の欠損部へも簡単に埋植できる特徴があることを示した。この材料の *in vivo* での性能は、ニュージーランドホワイト種のウサギ大腿骨遠位端および脊椎への埋植試験により評価した。埋植 6 週および 12 週の時点で、マイクロ CT および組織学的な評価を実施したところ、ファイバー間の空隙が巧く利用されて良好な骨形成が確認され、本材料は生体適合性と優れた骨形成能を有していることが確認された。

第 3 章では、生体材料として重要なタンパク質の吸着能の観点に立ち、とくにタンパク質を担持させた生体材料への展開を念頭に置いて、SiV 粒子における牛血清アルブミン (BSA) とリゾチウム (LSZ) の吸着特性について調査した。SiV 粒子は酸性タンパク質である BSA および塩基性タンパク質の LSZ の両方に対して高い吸着特性を示すという興味深い結果を得た。トリス緩衝液に浸漬すると、SiV はプラスに帯電しており、BSA 吸着を示した。一方、LSZ については浸漬後迅速に SiV の溶解・再析出反応によりカルサイトに变化してマイナスに帯電し、結果として吸着が確認された。SiV 粒子を含む複合材料では、生体内に埋入後に酸性タンパク質の吸着による細胞接着性の向上と塩基性タンパク質である BMP の吸着が期待でき、将来の新規高性能生体材料を設計するのに有用であると考えられた。

第 4 章では、微量の無機イオンの供給による細胞の活性化の観点から、高齢者医療をも念頭に置いた材料設計に取り組んだ。骨形成プロセスの初期段階で高濃度の  $Mg^{2+}$  イオンを溶出し、ケイ酸イオンと  $Ca^{2+}$  イオンを継続的に溶出する新しい複合材料を目指した。これらのイオン供給源として、可溶性の  $40SiO_2-40MgO-20Na_2O$  ガラス (G) とバテライト (V) 粒子を  $110^{\circ}C$  で熱混練してポリ乳酸-グリコール酸共重合体 (PLGA) と複合化した材料 (G-V/PLGA, G : V : PLGA = 4 : 56 : 40 (重量比)) を調製した。浸漬実験の結果、 $Mg^{2+}$  イオンの大部分は、細胞接着に重要な段階である浸漬後 3 日以内に溶出し、ケイ酸イオンと  $Ca^{2+}$  イオンは浸漬 7 日間に亘って継続的な溶出を示した。MC3T3-E1 による細胞培養試験の結果、G 粒子を含む複合材料では含まないものと比較して、有意に高い増殖性を示した。わずかなガラス含有量で、ガラスの特性を活かしたイオン溶出挙動の制御が可能であることを示した。

第 5 章は総括であり、本研究の成果をまとめた。

以上の結果から、材料を綿形状化することで多様な術式に対応させて骨形成を促進させることができること、さらに SiV や  $40SiO_2-40MgO-20Na_2O$  ガラスを使用した複合材料とすることで、骨形成に有効なタンパク質吸着能と骨形成を促進するイオン溶出能を持つ新規な人工骨材料を設計できることを明らかにした。これらの結果は骨形成性生体材料の設計に大きく貢献するものである。

## 論文審査結果の要旨

本論文は、生体吸収性複合材料の骨形成促進機能を有する新たな人工骨の作製とその性能評価についてまとめたものである。各章は次のように要約される。

第1章は序論であり、骨移植の現状とこれまでの研究について概説し、本研究の目的を示した。

第2章では、形状の観点から骨形成を促進させるデザインを試みた。従来は粒子状や多孔質バルク状のものしかなかったが、本研究では綿形状という全く新しい概念の人工骨を想定した。 $\beta$ 型リン酸三カルシウム ( $\beta$ -TCP)、ケイ素含有バテライト (SiV) およびポリL-乳酸 (PLLA) からなる複合材料を綿形状に成形し、動物実験による骨形成能の評価を行った。綿形状複合材料は、エレクトロスピンニング法により作製し、幅50~150  $\mu\text{m}$ 、厚さ10~30  $\mu\text{m}$ の繊維が絡み合った構造とした。機械的柔軟性と優れた成形性を有しているため、どのような形の欠損部へも簡単に埋植できる特徴があることを示した。この材料の *in vivo*での性能は、ニュージーランドホワイト種のウサギ大腿骨遠位端および脊椎への埋植試験により評価した。埋植6週および12週の時点で、マイクロCTおよび組織学的な評価を実施したところ、ファイバー間の空隙が巧く利用されて良好な骨形成が確認され、本材料は生体適合性と優れた骨形成能を有していることが確認された。

第3章では、生体材料として重要なタンパク質の吸着能の観点に立ち、とくにタンパク質を担持させた生体材料への展開を念頭に置いて、SiV粒子における牛血清アルブミン (BSA) とリゾチウム (LSZ) の吸着特性について調査した。SiV粒子は酸性タンパク質であるBSAおよび塩基性タンパク質のLSZの両方に対して高い吸着特性を示すという興味深い結果を得た。トリス緩衝液に浸漬すると、SiVはプラスに帯電しており、BSA吸着を示した。一方、LSZについては浸漬後迅速にSiVの溶解-再析出反応によりカルサイトに变化してマイナスに帯電し、結果として吸着が確認された。SiV粒子を含む複合材料では、生体内に埋入後に酸性タンパク質の吸着による細胞接着性の向上と塩基性タンパク質であるBMPの吸着が期待でき、将来の新規高性能生体材料を設計するのに有用であると考えられた。

第4章では、微量の無機イオンの供給による細胞の活性化の観点から、高齢者医療をも念頭に置いた材料設計に取り組んだ。骨形成プロセスの初期段階で高濃度の $\text{Mg}^{2+}$ イオンを溶出し、ケイ酸イオンと $\text{Ca}^{2+}$ イオンを継続的に溶出する新しい複合材料を目指した。これらのイオン供給源として、可溶性の $40\text{SiO}_2\text{-}40\text{MgO}\text{-}20\text{Na}_2\text{O}$ ガラス (G) とバテライト (V) 粒子を $110^\circ\text{C}$ で熱混練してポリ乳酸-グリコール酸共重合体 (PLGA) と複合化した材料 (G-V/PLGA, G : V : PLGA = 4 : 56 : 40 (重量比)) を調製した。浸漬実験の結果、 $\text{Mg}^{2+}$ イオンの大部分は、細胞接着に重要な段階である浸漬後3日以内に溶出し、ケイ酸イオンと $\text{Ca}^{2+}$ イオンは浸漬7日間に亘って継続的な溶出を示した。MC3T3-E1による細胞培養試験の結果、G粒子を含む複合材料では含まないものと比較して、有意に高い増殖性を示した。わずかなガラス含有量で、ガラスの特性を活かしたイオン溶出挙動の制御が可能であることを示した。

第5章は総括であり、本研究の成果をまとめた。

以上の結果から、材料を綿形状化することで多様な術式に対応させて骨形成を促進させることができること、さらにSiVや $40\text{SiO}_2\text{-}40\text{MgO}\text{-}20\text{Na}_2\text{O}$ ガラスを使用した複合材料とすることで、骨形成に有効なタンパク質吸着能と骨形成を促進するイオン溶出能を持つ新規な人工骨材料を設計できることを明らかにした。これらの結果は骨形成性生体材料の設計に大きく貢献するものであり、3編の有審査論文(すべて第1著者)としてまとめられている。よって、本論文は、学位論文として十分価値あるものと認められる。