

氏名(本籍) : 江 副 祐 史

学位の種類 : 博士 ( 歯 学 )

学位記番号 : 歯 博 第 7 0 0 号

学位授与年月日 : 平成 27 年 3 月 25 日

学位授与の要件 : 学位規則第 4 条第 1 項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科 (博士課程) 歯科学専攻

学位論文題目 : 加水分解処理による OCP 析出ゼラチン複合担体の合成と生体材料学的評価

論文審査委員 : (主査) 教授 鈴木 治  
教授 高橋 哲 准教授 高田 雄 京

## 論文内容要旨

リン酸オクタカルシウム (octacalcium phosphate: 以下 OCP) は、リン酸カルシウム的一种であり、人工合成した OCP は生体内でアパタイトに転換し、他の骨代替材料に匹敵し得る優れた骨再生能と生体内吸収性を有する。私達はこれまで、医療用として長い使用実績が報告されている天然高分子材料であるゼラチンに着目し、OCP /ゼラチン複合担体 (以下 OCP/Gel) を開発し、その材料学的評価、及び骨再生能の評価を行い、既存の骨代替材料と遜色ない骨再生能を有することを明らかにしてきた。一方 OCP は化学的性状に多様性を示す物質として知られ、OCP 結晶に一部加水分解処理を施すと、未処理の OCP と比較して骨形成能が上昇することが明らかとなっている。そこで今回、OCP/Gel に部分的加水分解処理を施した材料の合成と生体材料学的評価を行うことを目的とした。

【方法】 OCP/Gel は、OCP の湿式合成法を応用して作製した。既報に従い水溶液中でゼラチンの共存下、カルシウムとリン酸から共沈法にて OCP/Gel のスラリーを合成、引き続き、スラリーの攪拌を継続することにより加水分解時間の異なる数種類の OCP/Gel 試料を作製した。X 線回折装置 (XRD)、フーリエ変換赤外分光法 (FTIR)、透過型電子顕微鏡 (TEM) および制限視野電子線回折 (SAED) にて結晶相を同定し、走査型電子顕微鏡 (SEM) にて試料の表面構造を観察した。OCP/Gel のカルシウム、リンの組成比、気孔径および気孔率を比較検討した。また、OCP/Gel の *in vitro* におけるマウス由来骨髄間質 ST-2 細胞の初期細胞接着能、細胞増殖能、ALP 活性を検討した。

【結果】 XRD, FTIR, SAED の結果から、OCP/Gel 上に析出した OCP がゼラチン溶液内でも単一相として析出していることが示されたが、加水分解が進むにつれて OCP 結晶相がアパタイトに転換していく傾向が示された。また、*in vitro* において、複合体は ST-2 細胞の細胞増殖、ALP 活性に対してゼラチンと遜色なく、高い細胞親和性を有することが示された。

【結論】 以上の結果から、部分的に加水分解した OCP/Gel の生体材料学的性質が明らかとなった。

すなわち、部分的に加水分解した OCP/Gel は未加水分解の OCP/Gel と類似の形態を保持していること、OCP/Gel 中の OCP の結晶は加水分解によりアパタイトへ転換が進むこと、骨髓間質 ST-2 細胞に対し、バイオマテリアルとして用いられるゼラチンと同等の細胞増殖能および分化能を持つことがわかった。以上から骨代替材料として適用の可能性が示唆された。

## 審査結果要旨

ハイドロキシパタイト (HA) や  $\beta$ -リン酸三カルシウムをはじめとするリン酸カルシウム系セラミックス材料は、量的制限が無く、生体親和性と骨伝導能を有することから自家骨移植に代わる骨補填材料として臨床応用されている。しかしながら、自家骨に比し骨再生能が劣るため、より高い生体活性を持つ人工骨材料の開発が望まれている。

骨や歯のハイドロキシアパタイトの前駆体と考えられているリン酸オクタカルシウム (OCP) の合成物は、生体内でアパタイト結晶相に転換し、その過程で優れた骨伝導能および生体内吸収性を示す材料であることが明らかになってきた。また、OCP の転換は加水分解により進展するが、一部加水分解した低結晶性 OCP は、オリジナル OCP を上回る骨伝導能を示すことがわかっている。一方、OCP は操作性や形態賦与性に乏しいため、コラーゲンやゼラチンといった天然高分子との複合体による骨再生が検討されてきた。しかしながら、複合体中の OCP の加水分解の効果は明らかになっていない。

そこで、本研究では高い生体内吸収性を示すことが報告された、OCP とゼラチン (Gel) との共沈により作製された複合体を調整し、その上で複合体中の OCP に異なる程度の加水分解を生じさせた加水分解処理による OCP 析出ゼラチン複合担体 (OCP/Gel) の合成を試み、詳細な材料科学的検討と培養細胞を用いた生体材料学的評価を行った。

研究では、材料科学的評価として X 線回折、FTIR による結晶相の同定、走査型および透過型電子顕微鏡による結晶形態の観察、制限視野電子線回折による微小部位の結晶相の同定、走査型電子顕微鏡観察に基づく気孔径の評価、また、生体親和性評価として、マウス骨髓間質 ST-2 細胞による細胞接着、増殖およびアルカリフォスファターゼによる骨芽細胞様細胞への分化も含め、詳細に検討した。さらに、Gel 共存の効果の機序を分析するために、予め合成した OCP 単体の加水分解における Gel の共存の影響も検討した。その結果、OCP の加水分解は Gel の共存により影響を受けること、OCP は加水分解時間依存的に Ca 欠損性の HA に転換すること、加水分解 OCP/Gel は生体材料として用いられる Gel 単体に匹敵する細胞親和性を有することを明らかにした。

本研究より、OCP/Gel 複合体の加水分解手法が確立された。また、作製された加水分解 OCP/Gel 中の結晶は加水分解の程度により OCP と HA の異なる比率の 2 相からなる性質を明らかにしている。複合体の *in vitro* における生体親和性は Gel 単体と同等であることも示し、今後の *in vivo* の検討に向けた基礎的な所見を提示した。

以上のことから、本論文は博士 (歯学) の学位に値するものと判断する。