

## 論文内容の要旨

### Abstract of Dissertation

氏名 Name 山田 翔太

水酸アパタイト (HA) 粒子は生体骨の主成分であり、HA 粒子は骨補填剤として用いられている。しかし、補填後に生じる生体液中での粒子の表面反応については解明されておらず、その解明の必要性があった。生体液中における HA 粒子は水分子と微量イオンに起因する水和層を形成し、その水和層を認識して骨再生を促進するタンパク質が吸着する。そのため、水和層とタンパク質吸着の関係を解明することによって、骨再生に理想的な HA 粒子の表面状態を創製できる可能性がある。そこで、生体骨に微量に含まれるケイ酸、及び、水分子との相互作用が特異的であるポリエチレングリコール (PEG) によって HA 粒子を表面改質する技術に着想した。本研究では、表面改質された HA 粒子によって、骨組織を再生するコラーゲン (Col) のフィブリル化の促進、及び、骨芽細胞の増殖を促進するアルブミン (Ab) の変性の抑制を目指し、骨再生のための最適な HA 表面状態の構築を目的とした。本論文では、「Study on Surface Modification of Hydroxyapatite Particles and Evaluation of Their Hydration States and Protein Interactions (水酸アパタイト粒子の表面改質とその水和状態とタンパク質相互作用の評価に関する研究)」と題し、生体骨のケイ酸濃度を模倣した HA 粒子の合成、及び、メソポーラスシリカ (MS) で被覆した HA 粒子を創製し、それらの粒子表面に PEG を修飾し、生体液中における粒子表面の水和状態とタンパク質相互作用の関係を評価・考察した。本論文は、全四章で構成される。

第一章「General Introduction」では、骨補填剤の現状と課題を、従来材料の例を挙げながら説明し、タンパク質吸着における材料表面状態の重要性を示した。具体的に、生体内におけるタンパク質 (Col と Ab) の役割を示し、生体骨の主成分である HA との関係性について述べた。そして、生体骨には微量のケイ酸が含まれていることを説明し、過去の研究例を挙げながらケイ酸を含有した HA 粒子合成の意義を述べた。次いで、HA 粒子の表面は生体液中で水和層を形成し、その水和層がタンパク質吸着に影響を及ぼすことを説明し、HA の水和層の制御を目的とし、ケイ酸と PEG 鎖による粒子表面の改質を提案した。

第二章は「Modification of Hydroxyapatite Particles with Tetraethoxysilane and Poly(ethylene glycol) and Evaluation of Their Hydration States and Collagen Fibrillation」と題し、テトラエトキシシラン (TEOS) を用いてケイ酸含有 HA (SiHA) 粒子を合成し、粒子表面に PEG 鎖を修飾し、Col を吸着させ、水和状態と Col フィブリル化の関係性を評価・考察した。その結果、柱状形態の SiHA 粒子表面には微量のシリカ相が存在した。SiHA 粒子が形成する水和層は HA 粒子と比較して、粒子表面とタンパク質が直接的な接触を防ぐ中間水の成分割合が多かった。一方、SiHA 粒子表面の PEG 鎖の修飾率が増加するにつれて自由水の成分割合が増加し、自由水成分中の水分子の非対称伸縮振動成分の割合も増加した。さらに、Col 吸着状態を測定した結果、PEG 鎖を修飾した SiHA 粒子では吸着開始 32～34 分からエネルギー散逸変化量が劇的に減少して弾性化がみられ、Col のフィブリル化が示唆された。また、吸着 Col の粘弾性物性とタンパク質 2 次構造の解析結果から、フィブリル化が示唆され、SEM による形態観察結果から、SiHA 粒子表面では Col のフィブリル化が抑制され、PEG 鎖の修飾により Col のフィブリル化が促進され、Col のフィブリル化と水和層の水分子の非対称性との関係性を見出した。これらの結果から、ケイ酸の含有により増加した中間水成分が Col のフィブリル化を抑制し、PEG 鎖の修飾により増加した自由水成分がフィブリル化を促進することを提案し、HA 粒子表面の水和状態が Col のフィブリル化にとって重要なパラメータであることを見出した。

第三章は「Modification of Hydroxyapatite Particles with Mesoporous Silica and Poly(ethylene glycol) and Evaluation of Their Hydration States and Albumin Interactions」と題し、カチオン性界面活性剤と PEG 鎖の存在下で、MS が HA を被覆した粒子 (MS/HA 粒子) を合成し、Ab を吸着させ、水和状態と Ab のタンパク質二次構造の関係性を評価・考察した。合成した MS/HA 粒子は、MS 相と HA 相が化学結合を形成して複合していた。MS/HA 粒子は、直径が 3.0 nm のメソ細孔に起因する高い BET (Brunauer, Emmett and Teller) 比表面積 ( $330 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ ) を示しており、Ab の高い吸着能がみられた。MS/HA 粒子は HA と比較して、粒子表面とタンパク質の直接的な接触を防ぐ中間水の成分割合が増加した。さらに、PEG 鎖の修飾により中間水成分の減少と自由水成分の増加がみられ、その自由水における水分子の非対称伸縮振動成分の割合が増加した。そして、中間水成分割合の高い MS/HA 粒子では Ab の変性が抑制され、PEG 鎖の修飾によって自由水の水分子の伸縮振動の非対称性が高くなった粒子表面では Ab の変性が促進された。これらの結果から、ケイ酸の含有により増加した中間水成分が Ab の変性を抑制し、PEG 鎖の修飾により変性を促進することが判明し、HA 粒子の水和状態が Ab の相互作用にとっても重要なパラメータであることが判明した。この傾向は第二章の研究結果を裏付けており、ケイ酸と PEG 鎖による HA 粒子の表面改質が水和状態とタンパク質相互作用にとって重要であることを見出した。

第四章「Summary」では、本研究の総括を行い、HA 粒子表面における水和状態とタンパク質相互作用の関係性についてまとめ、合成した粒子を骨補填剤として利用するための展望を示した。

以上のように、本論文では、HA 粒子を合成する際の表面改質法、及び、その水和状態とタンパク質相互作用の評価の重要性を提案し、表面改質により最適化された水和状態によってタンパク質吸着状態を制御する指針を見出した。再生医療分野におけるバイオセラミックス表面の改質技術としての波及効果が期待される。