

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 第	号	氏 名
			岡田 伸之介
主論文題目：			
ナノ構造を有する水酸アパタイト系材料による細胞活性の制御			
<p>(内容の要旨)</p> <p>水酸アパタイト (HA) は天然骨の主成分であり、生体適合性が高いため生体材料として臨床的に用いられている。一方で生体材料の表面にマイクロからナノスケールの構造を施すとその生体適合性が大きく変化することが最近の研究で示唆されている。しかし HA は結晶形態の制御が困難だったため、HA のナノ形態と細胞適合性に関する知見は少なかった。伊藤らは最近、リン酸カルシウム無水物 (DCP) を中間体としてこれを水溶液プロセスで加水分解することにより、様々な形態をもつ HA ナノ結晶の作製に成功した。本研究ではこの HA ナノ結晶が細胞に与える影響について検討した。また HA ナノ結晶を焼成することで微細構造を持つ HA と β-リン酸三カルシウム (β-TCP) の複合体である二相系リン酸カルシウム (BCP) を作製し、この細胞適合性についても検討した。</p> <p>第 1 章では、細胞と材料との相互作用に関する背景および先行研究について概説し、研究の目的を述べた。</p> <p>第 2 章では、表面にナノ構造を有する HA および BCP ペレットの作製について検討した。中間体である DCP のペレットを異なる条件で処理することで、ペレット表面に直径 30~100 nm 程度の繊維状 HA 結晶、直径 20~25 nm の微結晶が束になった針状 HA 結晶、厚さ 25 nm 幅 260 nm 程度のフレイク状 HA 結晶を合成した。さらに、繊維状やフレイク状のナノ構造表面を有する HA ペレットを焼成することで数百 nm~数 μm の粒子で覆われた BCP ペレットが得られた。</p> <p>第 3 章では、ナノ構造を有する HA ペレットに骨芽細胞を播種し培養することで、HA のナノ結晶が骨芽細胞に与える影響について検討した。その結果、ペレットを構成している HA 結晶の一次粒子サイズが低下するほど、その上に接着した細胞の機能が抑制されることが判明した。さらに粒子サイズが 100 nm 以下の HA 上では骨芽細胞はアポトーシスに陥ることが判明した。これは結晶の微細化により骨芽細胞が生存に必要なサイズの接着斑を形成することが不可能になるためである。</p> <p>第 4 章では、第 3 章と同様の HA ナノ結晶表面が線維芽細胞に与える影響について検討した。30 nm 以下の結晶上では線維芽細胞は骨芽細胞同様の活性低下を示したが、50~100 nm の結晶上では緻密な HA 上に比べ線維芽細胞の初期接着性や増殖性が向上することが判明した。線維芽細胞は骨芽細胞に比べ小さな細胞であり、生存に必要な接着斑のサイズも骨芽細胞より小さいことが観測された。さらに、ナノ構造上では緻密面に比べ細胞の接着や増殖に必要なタンパク質の吸着量が多いため、生存に十分なサイズである 50~100 nm の結晶上で線維芽細胞の活性が向上することがわかった。</p> <p>第 5 章では、BCP の微細構造が骨芽細胞に与える影響について検討した。HA の場合と同様にナノ構造上では骨芽細胞の生存性が抑制されることが判明した。しかし、マイクロ構造の BCP 上では骨芽細胞の接着や増殖は抑制されず、細胞のアルカリフォスファターゼ活性が緻密な BCP 上に比べ 7.4 倍に向上することが判明した。また生存性が抑制されたナノ構造上でも、骨芽細胞は安定に接着していた。これは BCP ペレットの微細化により表面からのカルシウムイオン放出量が増大したためである。</p> <p>第 6 章では、結論として各章で得られた結果を総括し、ナノ構造と組成によって細胞を制御するための指針及び今後の課題と展望について述べた。</p>			
以上			

SUMMARY OF Ph.D. DISSERTATION

School Integrated Design Engineering	Student Identification Number	SURNAME, First name OKADA, Shinnosuke
<p style="text-align: center;">Title</p> <p style="text-align: center; font-size: 1.2em;">Control of Cellular Activities by Nanostructured Hydroxyapatite Materials</p>		
<p>Abstract</p> <p>Hydroxyapatite (HA) is one of the most important biomaterials used for artificial bones and tissue engineering due to its high biocompatibility. The composition and the micro- and nano-structures of the biomaterial have been suggested to affect activities of cells adhering on the surface. However, the influence of HA nanostructures on the cellular activities have not been understood sufficiently. In this thesis, the cellular behaviors of osteoblasts and fibroblasts were investigated by using various types of nanostructures of HA and HA/β-tricalcium phosphate (β-TCP) biphasic calcium phosphate (BCP) prepared through a hydrolysis of a dicalcium phosphate (DCP) crystal as a precursor. The effects of the surface topography are clarified to be dependent of the size of the cells and the composition of the substrate. The activities of the various cells could be controlled by the size, the arrangement, and the composition of the HA crystals. These results would be useful for the development of a new type of biomaterials controlling the cellular performance. This thesis comprises six chapters.</p> <p>Chapter 1 describes the background of this study, the summary of previous works, and the outline of this thesis.</p> <p>Chapter 2 describes the preparation procedures of HA and BCP pellets used in this work. The nanostructured HA pellets were obtained by the hydrolysis of compacted DCP powder prepared from dicalcium phosphate dihydrate. The nanostructure of the HA pellets was tuned by variation of the conditions of the alkaline solution. The finely structured BCP pellets were prepared by sintering of the nanostructured HA pellets.</p> <p>Chapter 3 describes the response of osteoblasts to various types of the nanostructured HA. The activities of the osteoblast cells were limited with a decrease in the size of HA nanostructures. The HA crystals under 100 nm in size inhibited the formation of cellular focal adhesion and lead cells to apoptosis.</p> <p>Chapter 4 describes the response of fibroblasts on the nanostructured HA. The fibroblast showed the high affinity to the 50–100 nm of the HA crystals absorbing a large amount of proteins. The fibroblasts required the focal adhesion smaller than osteoblasts. On the other hand, They did not survive on the HA crystals of under 30 nm in size.</p> <p>Chapter 5 describes the response of osteoblasts on the micro- and nano-structured BCP pellets. The cells on the microstructured BCP showed sufficiently higher alkaline phosphatase (ALP) activity than that on the dense BCP. Moreover, the intercellular focal adhesion was clearly observed even on the micro- and nano-structured BCP pellets. A high amount of calcium ions eluted from the β-TCP phase of the BCP pellets activated the osteoblasts.</p> <p>Chapter 6 summarizes the results of this study and describes prospects of the nanostructured HA materials.</p>		