

課題番号

06-015

平成20年度シーズ発掘試験（発掘型）研究報告書

報告日：平成21年4月16日


技術分野

61


課題名： 微細構造制御したリン酸カルシウム結晶のバイオおよび吸着材料応用

研究期間：平成20年7月4日～平成21年3月31日

1. 担当コーディネータ

氏名（役職）	田草川 信雄（科学技術コーディネータ）	
所属機関名	国立大学法人 信州大学 産学官連携本部	
連絡先	所在地	〒380-8553 長野市若里 4-17-1
	TEL/FAX	026-269-5642/026-269-5641
	E-mail	takusaga@crc.shinshu-u.ac.jp

2. 代表研究者（代表研究者のみ記入してください。）

氏名（役職）	大石 修治（教授）	
所属機関名	信州大学工学部	
連絡先	所在地	〒380-8553 長野市若里 4-17-1
	TEL/FAX	026-269-5533/026-269-5550
	E-mail	oishish@gipwc.shinshu-u.ac.jp

3. 共同研究者（JSTと委託研究契約を締結した共同研究機関の場合のみ記入してください。）

氏名（役職）		
所属機関名		
連絡先	所在地	
	TEL/FAX	
	E-mail	

4. 試験研究の結果報告

(1) 試験内容

本試験は、リン酸カルシウム結晶のバイオ・吸着材料応用に関し、下述する3課題で構成される。

(1) リン酸カルシウム結晶の微細構造・化学組成の制御：全予定実施

試験目的：これまでの研究で、超ロングウィスカーからなるアパタイト前駆体(リン酸八カルシウム, OCP)球晶の作製に成功している。本試験では、応用分野を拡充するために、構造面からは個々のウィスカーサイズの微細化、球晶サイズの制御およびメソ・マクロ孔サイズ制御を試みる。また、化学組成面からはさまざまなリン酸カルシウム系化合物の育成を試みる。

実施内容：出発原料組成(や濃度)、ゲルマトリックス、育成期間などの実験条件を制御することで、OCP球晶を構成する個々のウィスカーサイズ(幅 100~500 nm)を制御することに成功した。同時に、球晶のメソ・マクロ孔サイズも制御できた。また、ゲルマトリックスの pH を制御することで、リン酸三カルシウムやリン酸水素カルシウムなどのさまざまなリン酸カルシウム系結晶も育成できた。

(2) 微細構造制御リン酸カルシウム結晶の特性評価：一部未実施

試験目的：現在育成に成功している多孔質バイオクリスタルのタンパク質吸着特性を評価し、現行性能を上回る特性を獲得できるように改良する。さらに、さまざまな付着依存性細胞の高密度培養を試みる。

また、多孔質バイオクリスタル単体あるいは繊維マトリックスとの複合体の埋め込み評価を実施する。

実施内容：ユニークな構造をもつ OCP 球晶のタンパク質吸着特性(アルブミンとリゾチーム)を評価したところ、10~20 mg/g の吸着性能が得られた。若干劣る原因として、今回の育成条件では球晶を構成する個々のウィスカーが密に詰まりすぎていることを示している。しかし、OCP 球晶の吸着性能がタンパク質の種類に依存する可能性が示唆された。これは、OCP の特定結晶面が優先的に成長している結果と考えられ、本研究のユニークな性能である。次に、個々のウィスカーを疎にするためとバイオマテリアルとしての強度を獲得するために、セルロース系材料との複合化を試みた。その結果、育成条件を制御することで、比較的大きな空間をもち、セルロース繊維に沿って OCP 結晶が成長・複合化(繊維を取り込んだ成長)した複雑な複合体を育成することに成功した(図 1)。これらを用いた付着依存性細胞の高密度大量培養や生体内での埋め込み試験などを外注することはできなかったが、現在、歯科系大学や国立大医学部に実験データを開示し、共同研究の可能性を模索している(コーディネーター主導の連携)。

(3) バイオクリスタル応用の課題抽出、実用化判断およびターゲットの明確化：一部未実施

試験目的：現在のターゲットはカラム用充填剤、細胞培養担体、抗体検出担体あるいは骨充填剤などである。本試験で最適化した材料を用いて、実用化サンプルを作製し、その特性を実用面から評価する。

実施内容：上記(2)で作製した複合体を用いて、細胞培養担体や骨充填剤のサンプルを作製した。上述のとおり、性能評価できていない(連携先未定のため)が、ユニークな特性をもつため、新しいバイオマテリアルとしての可能性を十分に秘めていることを確認した。今後、複合体を骨充填剤と細胞培養担体として使用することに注力する。

(2) 得られた成果

①研究データ・試作物：リン酸カルシウム結晶やその複合体を作製し、単体では 10~20 mg/g の吸着性能が得られた。骨充填剤用の OCP/セルロース複合体を試作し、現在、連携先を選定している。

論文：Teshima et al., "Morphologically controlled fibrous spherulites of an apatite precursor biocrystal" Cryst. Growth Des., 9(2), 650-652 (2009).

発表：Teshima et al., "Adsorption properties of octacalcium phosphate crystals grown by naturally-derived gel method" IUMRS-ICA2009(Material Research Society 国際会議)など

②当初の目標値は 25 mg/g の吸着特性であるが、本研究では 10~20 mg/g にとどまった。しかし、通常のアパタイトにはないユニークな吸着性能(タンパク種による吸着の差異)が示唆された。

③本試験にて、骨充填剤や細胞培養担体として応用するためのサンプル作製を可能にした。左記の特性を評価するためには、医学系研究室(や企業)との協働が必須なため、コーディネーター主導のもと、共同研究先を選定している(歯科系大学と国立大医学部と接触中)。また、本試験で提案する新しいバイオマテリアルの性能向上の課題(上記(2)に記載の個々の OCP ウィスカーを疎にし、空間をつくる)は明白であり、それを解決するための一手法(繊維との高度な複合化)を提案できた。今後、共同研究先を決め、早急に特性評価を実施する。

(3) 今後の展開

本試験において、OCP 球晶をはじめとするリン酸カルシウム系結晶の特性向上のための課題が明白となった。ただし、この課題を解決する一つの手段を提案しており、今後の特性評価結果が注目される。解決手法の一つとして、セルロース系繊維と複合化することで、より多くの吸着サイトを導入することを提案した。この結果、セルロース繊維とアパタイト前駆体結晶が高度に複合化する結果が得られた。この新しい複合体は、骨充填剤や細胞培養担体としての可能性を秘めている。この新しいバイオマテリアルの評価を進めるためには、当研究室単独の研究では限界があるため、現在、コーディネーター主導のもと共同研究先候補に研究データを開示して連携の可能性を探っている。また、当研究室単独としては、結晶単体に適応したタンパク質吸着特性評価を複合体に応用し、性能向上に関する研究を継続している。

- ①他制度への応募：現在、本試験の発展研究を平成 21 年度シーズ発掘試験(B 発展型)に応募している。
外部発表・論文投稿：現在、OCP 単体および OCP/セルロース複合体に関する論文の投稿を準備している(欧文誌：2 件)。
共同研究の開始：現在、この複合体の環境浄化材料(具体的には水浄化)としての評価を、企業とともに共同研究の一部として開始した(バイオマテリアル以外の活用：スピノフ研究)。
特許出願：本試験にて得られた成果(リン酸カルシウム/繊維複合体)を信州大学単独の特許として出願した(下記(4)に詳述)。
- ②長期展望：バイオマテリアルとして実用化するためには、長期的な視野での開発が必要となる。材料合成の可能性はすでに見出しているが、In vivo 評価における新材料の特性最適化(安定性や親和性など)にはじまり、材料の認可まで実用化の道のりはさきわめて長い。本試験にて、実用化への第一歩を踏み出したばかりであり、適切な共同研究先を見つけることが大変重要となる。そのため、信州大学産学連携推進室に在籍する医学系コーディネーター主導のもと、現在、連携先を模索している。また、バイオマテリアルとしてだけでなく、環境機能材料としての可能性の評価をはじめ、多角的視点に立った研究を継続している。

(4) 知的財産権について

- ①本試験で得られた成果をもとに、新しいバイオマテリアルの基本特許を出願した。
発明の名称：リン酸カルシウム結晶複合体およびその製造方法、出願番号：特願 2009-057937、出願日：2009 年 3 月 13 日、出願人：国立大学法人信州大学、発明者：大石修治・手嶋勝弥、概要など：さまざまなリン酸カルシウム結晶と繊維や基板との複合体に関する“もの”あるいは“製法”としての特許である。国等の委託研究の成果に係る記載事項として、本試験(H20 シーズ発掘試験)を記載している。
- ②今後、バイオマテリアルとしての評価を推し進め、骨充填剤や細胞培養担体としての可能性を見いだしたのち、それらの評価結果をもとに戦略的な特許出願を展開する。また、スピノフ研究として開始した環境浄化材料としての特許出願も計画中である。

(5) 今後のフォローアップ等について (コーディネータ記載)

本試験代表者は現在、得られた成果を展開し、平成 21 年度シーズ発掘試験(B 展開型)に応募している。特許出願なども計画的に実施しており、実用化に向けたサンプル提供など、本試験のシーズの企業化に向けた活動を精力的に展開している。ただし、本試験の成果にも記載の通り、目標値に隔たりがあるため、更なる研究テーマの深耕が重要となる。そこで、上記グラントをはじめ、研究資金面からのバックアップやバイオマテリアル開発に必須となる医歯薬系共同研究先の探索など、さまざまな面から支援を継続する。

バイオマテリアルの実用化は、高度な専門性を求められ、長期間の研究開発が余儀なくされる。そこで、本試験で得られた新しい材料を環境浄化材料として活用するスピノフ研究も強力に支援する。環境浄化材料の場合、バイオマテリアルに比べてはるかに産業化のハードルが低いため、両研究開発を平行するように薦めていく。本研究テーマは 21 世紀の日本が掲げる“環境・生態・人類にやさしい社会”の実現にむけたテーマであり、科学的・技術的に大変重要であるとの認識のもと、多角的視点にもとづいたフォローアップを継続する。