

「分子複合系の構築と機能」  
平成11年度採択研究代表者

田中 順三

(無機材質研究所 総合研究官)

## 「無機ナノ結晶・高分子系の自己組織化と生体組織誘導材料の創出」

### 1. 研究実施の概要

細胞の時系列にしたがって特異に組織化された有機・無機複合系細胞外マトリックスを試験管の中でナノ領域から自己組織化的に再構築する研究を行なっている。特に、「自己組織化による複合系構造の構築」を、「有機無機の界面形成 表面修飾と配位結合によるイオン/共有結合の競合・協調」および「結晶核形成時における結晶方位の規定 共有結合の方向性とイオン配列の制御」のように材料科学から視点から把握し、さらに人為的な化学結合を導入して高分子/無機系ナノコンポジットの創出を目指している。有機官能基 - 無機イオン相互作用についてカルシウムイオンを中心に解明し、生体組織を誘導する人工骨・歯・靭帯再建用材料の開発する。同時に生体内での組織反応を評価する。これまでに、コラーゲン繊維に対してアパタイトのc軸が整列した300 μmの自己組織化体を構築し、骨単位(オステオン)に類似した構造体を得ている。この材料は、生体中で骨芽細胞と破骨細胞を誘導して、骨吸収・骨形成の代謝サイクルに取り込まれることを確認している。また、コラーゲン間に架橋を導入して骨に近い強度をもった複合体を作製した。今後、架橋を導入すると同時に有機官能基と無機イオンの相互作用を制御して生体組織誘導材料の創出につなげる。

### 2. 研究実施内容

無機ナノ結晶・高分子系による自己組織化現象を理解するため、「無機ナノ結晶の表面構造」・「有機単分子膜を用いた水酸アパタイトの核形成モデル実験」により、ヘテロ界面の化学的相互作用を明らかにする。水酸アパタイト( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ )のナノ結晶表面と高分子の有機官能基(-COOH, -NH<sub>2</sub>, -SO<sub>3</sub>, -OH)の結合(イオン/共有/配位結合の競合・協調)を解明して高次に自己組織化した複合体を創出する。得られた複合体の生物学的反応を明らかにする。

無機/有機界面における結晶方位の規定：カルボキシル基を有する単分子(アラキジン酸)膜を作製し、擬似体液中で水酸アパタイトを形成させて電子顕微鏡で観察した(図1)。水酸アパタイトのナノ結晶が、単分子膜上に規則正しく並んで成長した。アパタイトの結晶軸(c軸)が基板面に平行であった。

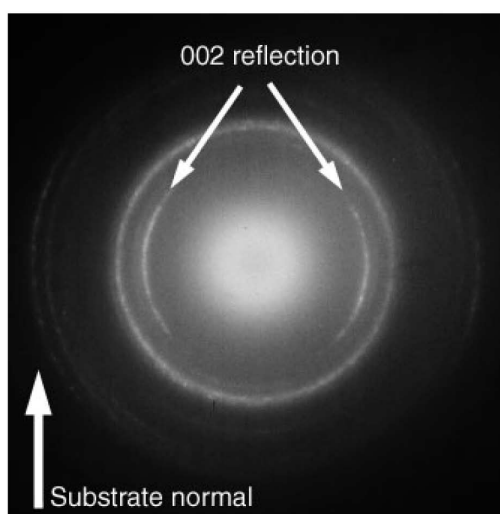


図 1

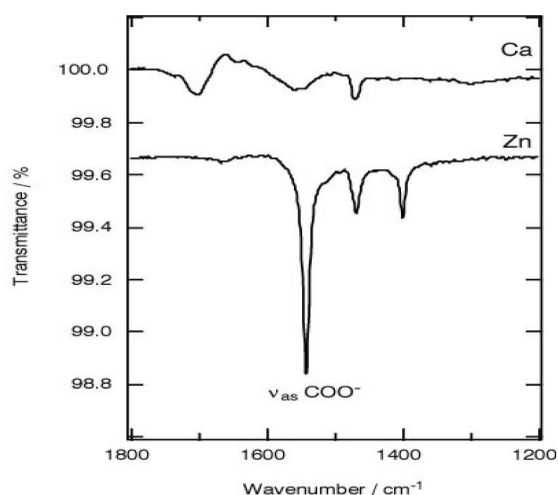


図 2

無機表面の終端面と官能基との相互作用： 水酸アパタイト焼結体を高分解能電子顕微鏡で観察して無機表面の終端面について検討した。その結果、{100}面（a面）では、水酸基チャネルを横切る面でアパタイト構造が終端していることが明らかとなった。この面について、分子軌道計算を用いて、カルボキシル基と金属イオンの結合強度・方向性の検討を行なった。金属イオンとカルボキシル基の結合強度は、Zn Mg > Cd > Ca > Sr > Baの順であった。このことは、有機無機界面をCaイオンとZnイオンで化学修飾することによって高い結合強度が得られることを示している。単分子膜表面のカルボキシル基をCaイオンとZnイオンで修飾して赤外線スペクトルを測定した（図2）。Znイオンによる修飾では、非対称伸縮振動に顕著な変化が観測され、結合状態の違いが明らかになった。今後、自己組織化体の材料設計に応用する。

無機/有機複合体の自己組織化体の構築： 複合体は、水酸アパタイト/タンパク質および水酸アパタイト/多糖類の2系列について検討した。タンパク質としてはI型コラーゲンを取り上げ、多糖類としてはプロテオグリカンに広く分布するコンドロイチン硫酸・ヒアルロン酸および甲殻類の殻の成分であるキチン・キトサンに着目した。

I型コラーゲン/水酸アパタイトの複合体については、300 μmの自己組織化構造の構築に成功した。合成条件はほ乳動物の体温と同じ温度40℃、pHは体内より高いpH9~10であることを見出した。さらに動物実験より、複合体の周囲に骨芽細胞と破骨細胞が誘導され、自家骨と同じ代謝を受けて新生骨に代わることを実証した。さらに、I型コラーゲン/水酸アパタイト複合体の懸濁液に架橋剤を添加して架橋密度を制御し、多孔体構造を作製した。

水酸アパタイト/多糖類の自己組織化体については、水酸アパタイトを無機体として、コンドロイチン硫酸・ヒアルロン酸・キトサンの3種類について制御を試みた。コンドロイチン硫酸は、4位または6位にスルホニル基(-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)をもち2位にカルボキシル基(-COO<sup>-</sup>)をもつ2糖鎖の繰り返しである。一方、ヒアルロン酸は2位にカルボキシル基をもつだけである。それぞれの自己組織化体の電子顕微鏡写真を示す(図3)。多糖類分子鎖に対してアパタイトのa面が接して、c軸が分子鎖に平行に整列している。分子鎖上のカルボキシル基がアパタイトの核形成の場となっており、有機単分子膜を用いた結果と一致している。

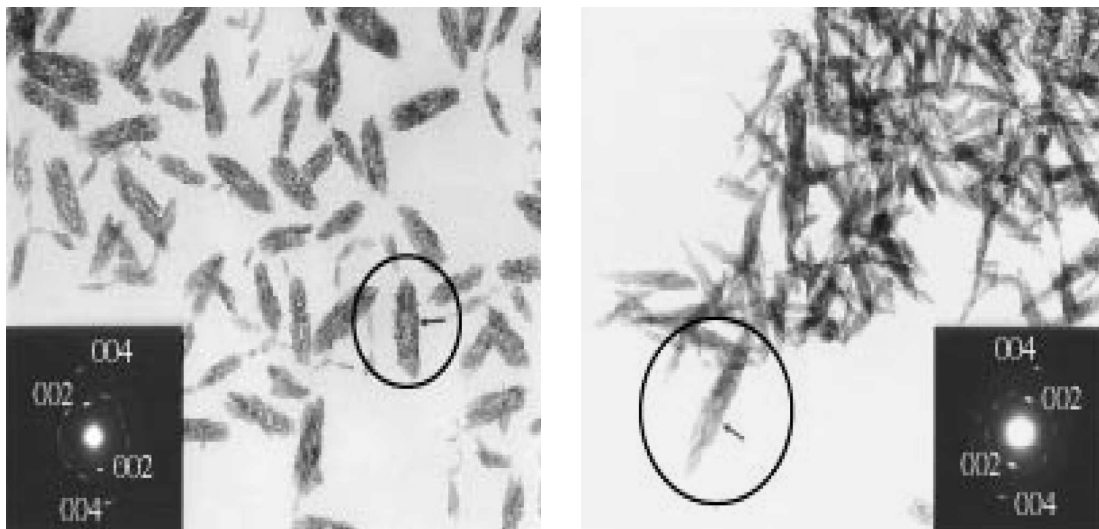


図3

また、水酸アパタイト/キトサン複合体についても同様の自己組織化体の合成に成功している。この場合には、キトサン中のアミノ基と水酸アパタイトのCaイオンの相互作用が構造構築を支配している。複合体の機械的強度は、水熱処理により改善された。

今後、さらに自己組織化機構を詳細に明らかにして、生体組織を誘導する材料の最適化を図る。

### 3. 主な研究成果の発表(論文発表)

無し