

骨再生促進効果を発現する 生体材料の表面加工技術の開発

SATテクノロジー・ショーケース2024

■ はじめに

再生医療分野では、細胞による組織再生を促す高機能性生体材料の開発が望まれている。細胞の足場となる材料表面の化学的・物理的性状は、細胞の接着、増殖、分化などの基本的挙動に影響を与えることが報告されている。これまでに我々は、フェムト秒レーザー (FsL) 照射により形成したジルコニア表面微細構造が、骨髄および脂肪由来の間葉系幹細胞 (MSC) の骨分化を促進させることを見出した[1][2]。また、骨分化誘導因子の一つであるL-アスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム塩n水和物が担持されたリン酸カルシウム (AsMg-CaP) を成膜したチタン表面が、骨芽細胞の骨分化を促進することも報告されている[3]。しかし、これら二つの材料表面加工の組み合わせが骨分化を促進し、相乗効果を示すかは不明である。そこで本研究では、まず表面微細構造を有するジルコニアを用いて、AsMg-CaPの骨分化への影響を検証した。

■ 活動内容

●FsL照射によるジルコニア表面微細構造の加工

表面微細構造は、鏡面研磨したイットリア安定化ジルコニア多結晶体 (3Y-TZP) に、FsL (中心波長810 nm、パルス幅80 fs) を照射し加工した。表面微細構造は楕円状クレーター (長径~80 μm 、深さ~10 μm) が規則的に配列した構造で、クレーター内面には直線状の溝構造 (深さ~400 nm) が平行に配列したレーザー誘起表面周期構造を有する[1][2]。

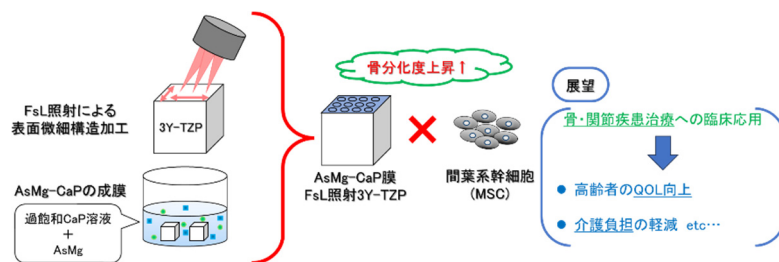
●AsMg-CaPの成膜とその組成分析

AsMg-CaPは、医療用輸液を用いて調製した過飽和CaP溶液に、AsMgを最終濃度0、25、50、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で添加し、各溶液にFsL照射3Y-TZPを浸漬し成膜した。

成膜したAsMg-CaPのCa、P、Mg量は、10 mMクエン酸溶液を用いて溶解後、ICPを用いて測定した。AsMg添加群のCa量は約20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、P量は約10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、Mg量は約0.76 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。一方、AsMg非添加群のCa量は約10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、P量は約5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。これより、FsL照射3Y-TZP表面においても、上記方法によって、AsMg-CaPが成膜されることを確認した。

●AsMg-CaPを成膜したFsL照射3Y-TZP上でのMSCの骨分化評価

骨分化レベルは、MSCを骨分化誘導後、骨形成マーカーであるアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性の測定により評価した。MSCは、F344/NSIcラット (7週令、オス) の骨髄より単離したものを使用した。AsMg-CaPを成膜したFsL照射3Y-TZP上にMSCを播種し、24時間培養後、骨分化誘導を行った。そして骨分化誘導後28日目に細胞を溶解し、ALP活性を測定した。結果、AsMg100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で成膜した群はAsMg非添加群と比較して、ALP活性が約3倍高い傾向が見られた。また、骨分化能を確認したヒトMSCを用いた評価においても、同様の傾向が観察された。以上の結果より、FsL照射3Y-TZP上に成膜したAsMg-CaPは、MSCの骨分化を促進する可能性が示唆された。今後、これら二つの材料表面加工の組み合わせ条件を最適化することで、相乗効果を示すか検討する。



■ 関連情報等(特許関係、施設)

- [1] S.Hashimoto, et al., "Cell attachment area of rat mesenchymal stem cells correlates with their osteogenic differentiation level on substrates without osteoconductive property", BBRC, 525(2020), p1081-1086.
- [2] M.Yasunaga, et al., "Zirconia substrate with periodic surface microstructures enhances osteogenic differentiation of rat adipose-derived stem cells", Mater Lett, 332(2023), p1-4.
- [3] X.Wang, et al., "Ascorbate-apatite composite and ascorbate-FGF-2-apatite composite layers formed on external fixation rods and their effects on cell activity in vitro", Acta Biomater, 5(2009), p2647-2656.

代表発表者
所属

吉岡 諒太(よしおか りょうた)
早稲田大学大学院
創造理工学研究科 地球・環境資源理工学専攻
国立研究開発法人 産業技術総合研究所
生命工学領域 健康医工学研究部門
生体材料研究グループ

問合せ先 〒305-8566 茨城県つくば市東 1-1-1 中央事業所六群
TEL:029-861-6149
E-mail:r-noritama8312@uri.waseda.jp

■キーワード: (1)再生医療
(2)生体材料
(3)骨分化

■共同研究者:

- (1) 安永菜由 産総研 健康医工学研究部門
- (2) 廣瀬志弘 産総研 健康医工学研究部門
- (3) 欠端雅之 産総研 電子光基礎技術研究部門
- (4) 屋代英彦 産総研 電子光基礎技術研究部門
- (5) 山崎淳司 早稲田大学 創造理工学研究科
- (6) 伊藤敦夫 産総研 健康医工学研究部門