

植物性たん白質を利用した次世代型ハイブリッド人工骨

宮崎敏樹*

九州工業大学大学院 生命体工学研究科

A Novel Hybrid-type Artificial Bone Prepared from Plant Protein

Toshiki MIYAZAKI

Graduate School of Life Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology,
Fukuoka 808-0196

ABSTRACT

The so-called bioactive ceramics such as Bioglass®, sintered hydroxyapatite, and apatite- and wollastonite-containing glass-ceramics (glass-ceramics A-W), bond to living bone when implanted in bony defect. They have been already subjected to clinical applications as bone substitutes in orthopedic surgery, neurosurgery, dentistry, and so on. However, their higher brittleness and lower flexibility than natural bone, limits their clinical application to low loaded conditions. Materials exhibiting both high bioactivity and high flexibility are required for novel bone substitutes. Natural bone is a kind of organic-inorganic hybrid, which is composed of organic collagen and inorganic apatite nanocrystals. Based on this we think that apatite-polymer hybrid produces novel bone-repairing materials, which exhibit both bioactivity and flexibility. In living body, the bone tissue is produced by site-selective precipitation of apatite on collagen fibers abundant in carboxyl group. In the present study, we attempted to synthesize organic-inorganic hybrids from various plant proteins such as wheat-derived gluten and corn-derived zein. This kind of plant protein is free from diseases of virus and prion origin. Apatite deposition was observed on the surfaces of these proteins in aqueous solution supersaturated with respect to the apatite, when their surfaces were previously modified with calcium ions. This type of organic-inorganic hybrid is quite attractive as a novel bone substitutes in orthopedic and dental fields. *Soy Protein Research, Japan* **7**, 121-124, 2004.

Key words : artificial bone, organic-inorganic hybrid, gluten, zein, apatite

*〒808-0196 北九州市若松区ひびきの2-4

私たちの体は、病気やけが、老化などによりしばしば損傷を被りその機能を果せなくなる。生体の機能を修復または支援することを目的として、身体の内表面や内部の組織、あるいは体液と接して用いられる人工材料が、生体材料（バイオマテリアル, biomaterial）である。骨が損傷を受けた場合には、運動機能が損なわれ、患者の生活の質（QOL）は著しく低下する。そこで、人工材料を用いて骨の機能を代替させる治療法が施される。いわゆる人工骨（artificial bone）を用いる治療である。骨の機能を修復する生体材料として、セラミックスが臨床の現場で重要な役割を果たしている。現在臨床使用されているセラミックスは、生体内で化学的に安定な生体不活性材料、骨と直接結合する生体活性材料、および生体内で分解吸収される生体吸収性材料に大別される。

生体活性セラミックス（bioactive ceramics）の特徴は、体内で骨や軟組織と直接結合する特異な生理学的活性を発現する性質にある。一般に、人工材料を骨の欠損部に埋入すると、生体はこれを異物と認識して線維性の被膜で取り囲み周囲の組織から隔離しようとする。これは生体が示すごく自然な防御反応の一つである。ところが1970年代初頭にHenchらは、 $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$ ガラスを骨の欠損部に埋入しておくと、生体の拒絶反応を受けることなく周囲の骨と直接接して強く結合することを見出した¹⁾。それ以来、骨と結合する材料を開発する種々の試みが進められ、いくつかは臨床使用されている。骨欠損部に埋入された生体活性セラミックスの表面で新生骨が形成される性質は骨伝導（osteoconduction）と呼ばれる。生体活性セラミックスの示す骨伝導性は、材料と骨の強固な結合を構築するうえで魅力的な性質であり、長期に生体に埋入する生体材料（インプラント）を開発する上で種々の可能性を提供する。このような生体活性セラミックスとして上述のガラスの他、焼結水酸アパタイト（ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ）²⁾、 $\text{MgO}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5-\text{CaF}_2$ 系ガラスを熱処理して得られる結晶化ガラスA-W³⁾等が挙げられる。

但し、従来知られている生体活性セラミックスは、大きな荷重の架かる大腿骨などを置換するには十分な力学的特性を有していない。骨に比べて破壊韌性に乏しく、ヤング率が高すぎるためである。骨の構造は、たん白質のコラーゲン繊維上に水酸アパタイトが規則正しく並び、きわめて巧みな三次元構造に編みあがっている⁴⁾。この構造に倣い、有機高分子にアパタイトを複合化した有機-無機ハイブリッドであれば、セラミックスの問題点を克服した次世代型人工骨が構築で

きると考えられる。体内で骨組織が形成される過程においては、アパタイトに対して過飽和な体液中でコラーゲンのカルボキシル基によりアパタイトの不均一核形成が起こることが知られている。そこで、カルボキシルに富むたん白質であればこの種のアパタイト析出が期待できる。

本研究では、たん白質として小麦やトウモロコシなどの植物由来たん白質を選択し、アパタイトに対して過飽和な水溶液環境下でアパタイトの析出が起こるかを調べた。この種の植物由来たん白質であれば、ウイルスやプリオンなどの病因物質への感染の問題がなく、きわめて安全性の高い骨修復のための医用材料が設計できる。

方 法

試料の調製

植物たん白質として小麦由来のグルテンならびにトウモロコシ由来のゼインを用いた。まずグルテン粉末をエタノール中に分散させ、超純水を徐々に添加して懸濁液を得た。これを攪拌した後テフロン製容器に移し、60℃で1日乾燥してフィルム状の試料を得た。一方、ゼイン粉末をアセトンに溶解して攪拌した後、テフロン製容器に移し、60℃で約1日乾燥してゼインフィルムを得た。これらフィルムの一部については、引き続きカルシウム塩水溶液で処理し、表面にカルシウムイオンを保持させた。

過飽和水溶液への浸漬

カルシウム塩水溶液処理を行ったもしくは行わなかったたん白質フィルムを、アパタイトに対して過飽和な水溶液に7日間浸漬した。これら試料の表面構造変化を薄膜X線回折ならびに走査電子顕微鏡（SEM）観察により調べた。

結果と考察

アパタイトに対して過飽和な水溶液に7日間浸漬後の、未処理もしくはカルシウム塩水溶液処理されたグルテンならびにゼインフィルムの薄膜X線回折パターンをFig. 1に示す。未処理の試料においては、ピークは観察されなかったのに対し、カルシウム塩水溶液処理した試料においては、アパタイトに帰属されるブロードなピークが観察された。同試料のSEM写真をFig. 2に示す。カルシウム塩水溶液処理した試料においては、アパタイトと考えられる析出物の形成が観察された。

これらの結果から、植物由来たん白質表面に予めカ

ルシウム塩水溶液処理を施すと、アパタイトに対して過飽和な溶液中でアパタイトを析出するようになることが明らかになった。グルテンやゼインは側鎖にカルボキシル基を有するアスパラギン酸やグルタミン酸のような酸性アミノ酸を約30%含有している。このカルボキシル基がアパタイトの不均一核形成を誘導し、一方で導入されたカルシウムイオンが周囲の液中に溶出す

ることにより、液のアパタイトに対する過飽和度が上昇し、アパタイト形成が促進されたものと考えられる。

本研究の結果より、植物性たん白質と水酸アパタイトからなる有機-無機ハイブリッドを常温常圧の下で簡便に合成できることが分かった。これらハイブリッドは骨組織親和性と柔軟性を兼ね備えた次世代人工骨として有用と期待される。

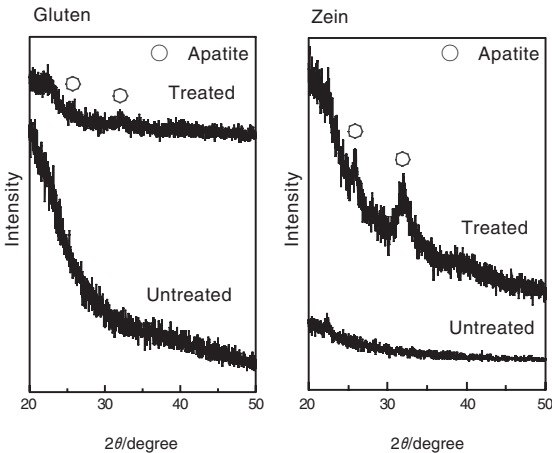


Fig. 1. Thin-film X-ray diffraction patterns of gluten and zein films with and without calcium solution treatment, which were soaked in aqueous solution supersaturated with apatite.

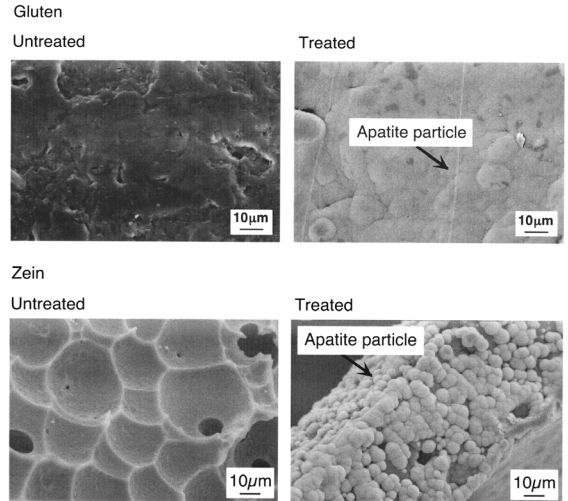


Fig. 2. SEM photographs of gluten and zein films with and without calcium solution treatment, which were soaked in aqueous solution supersaturated with apatite.

要 約

骨は無機物のアパタイトとたん白質の一種であるコラーゲン繊維がナノメートルレベルから巧みに組み上げられたボトムアップ型の有機-無機ナノハイブリッドである。この構造が、高強度でしなやかな骨の特性を生み出している。そこで骨のナノ構造に倣ってアパタイトとたん白質を複合化したハイブリッドは、骨組織親和性と骨に類似した力学的性質を併せ持つ次世代の人工骨として期待される。本研究では、狂牛病をはじめとする病因物質への感染の問題がない植物性たん白質を基材として、その表面にアパタイトを複合化したハイブリッド型人工骨の構築を試みた。具体的には、種々の植物由来たん白質からフィルムを作製し、これらが体液に類似した水溶液環境下でアパタイトを析出するか否かを調べた。その結果、カルボキシル基に富む植物性たん白質からなるフィルムを、予めカルシウム塩水溶液を用いて表面処理しておけば、体液類似水溶液中で短期間にアパタイトを形成することが分かった。

文 献

- 1) Hench LL, Splinter RJ, Allen WC and Greenlee TK (1971): Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *J Biomed Mater Res Symp*, **2**, 117-141.
- 2) Jarcho M, Bolen CH, Thomas MB, Bobick J, Kay JF and Doremus RH (1976): Hydroxyapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline forms. *J Mater Sci*, **11**, 2027-2035.

- 3) Kokubo T, Shigematsu M, Nagashima Y, Tashiro M, Nakamura T, Yamamuro T and Higashi S (1982): Apatite- and wollastonite-containing glass-ceramics for prosthetic application. *Bull Inst Chem Res Kyoto Univ*, **60**, 260-268.
- 4) Park JB and Lakes RS (1992): *Biomaterials; An Introduction* (Second Edition), Plenum Press, New York.