

図7 ナノスフェア内のリン酸ベタメサゾンおよび亜鉛含量
PLGA (Mw8000 Mn3400)で調製したナノスフェア

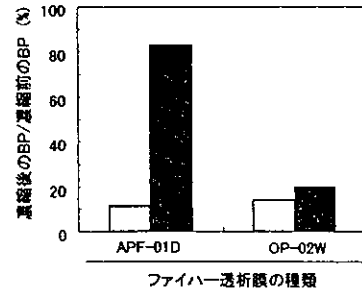


図8 ナノスフェアの濃縮/精製過程でのBP精製度のファイバー透析膜による相違
■ ナノスフェア中のBP
□ 外水相中のBP

表2 凍結乾燥処理時のショ糖濃度及びナノスフェア濃度の違いによるナノスフェアの粒径変化

| Nanospheres conc (mg/ml) | | Sucrose conc (mg/ml) | | | |
|--------------------------|----|----------------------|-------|------|-----|
| | | 0 | 20 | 50 | 100 |
| 5 | AG | 145nm | 107nm | 92nm | |
| 10 | AG | AG | 99nm | 97nm | |
| 15 | AG | AG | AG | 92nm | |

AG aggregation
Mean diameter of nanospheres before lyophilization = 93nm

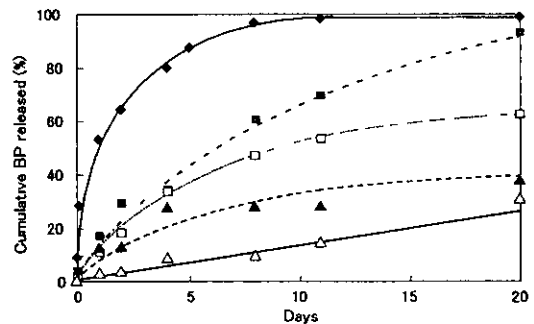


図9 希釈血清中でのナノスフェアからのステロイド放出挙動

◆ PLA (Mw14000)を用い液中乾燥法により調製したナノスフェア。■ PLGA (Mw8000) □ PLGA (Mw13000) ▲ PLA (Mw9000) △ PLA (Mw14000)を用い金属イオン法で調製したナノスフェア。

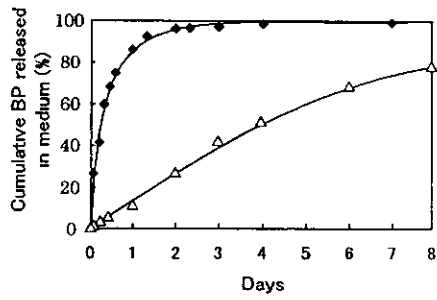


図10 マクロファージに取り込まれたナノスフェアからのベタメサゾン放出挙動
 △ 金属イオン法により調製したナノスフェア (PLGA Mw8000) ◆ 液中乾燥法により調製したナノスフェア (PLA Mw 14000)

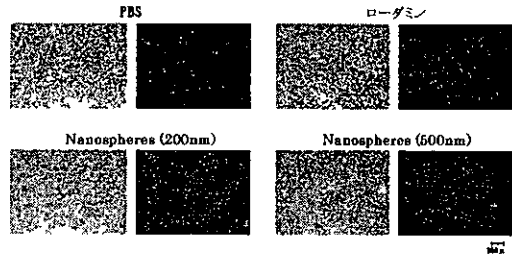


図11 ラット炎症部位の凍結切片の位相差および蛍光像

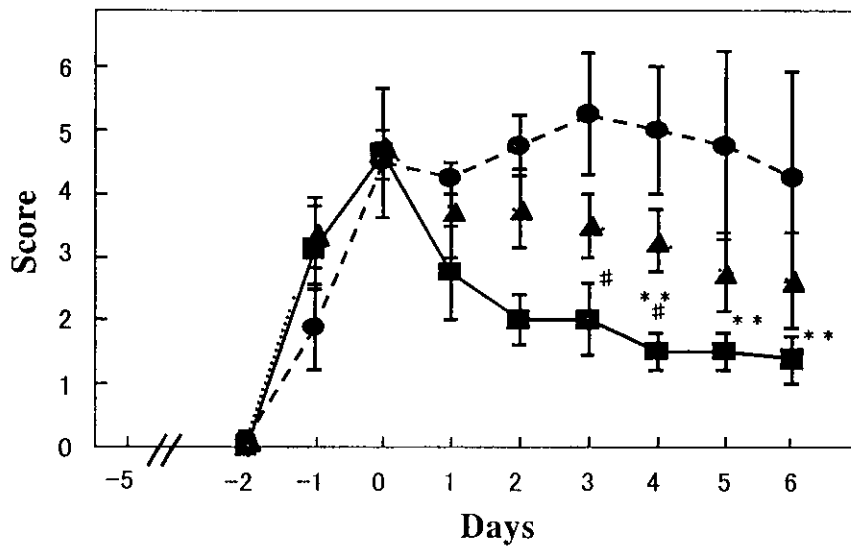


図12 タイプII コラーゲンマウス関節炎モデルにおけるナノスフェアの抗炎症作用
 ●, 生理食塩水投与 ▲, BP (30 μg) 投与 (Day0 及び1)、■, BP 封入ナノスフェア (BP 量 30 μg) #, P<0.05, vsBP ***, P<0.01, vs0day

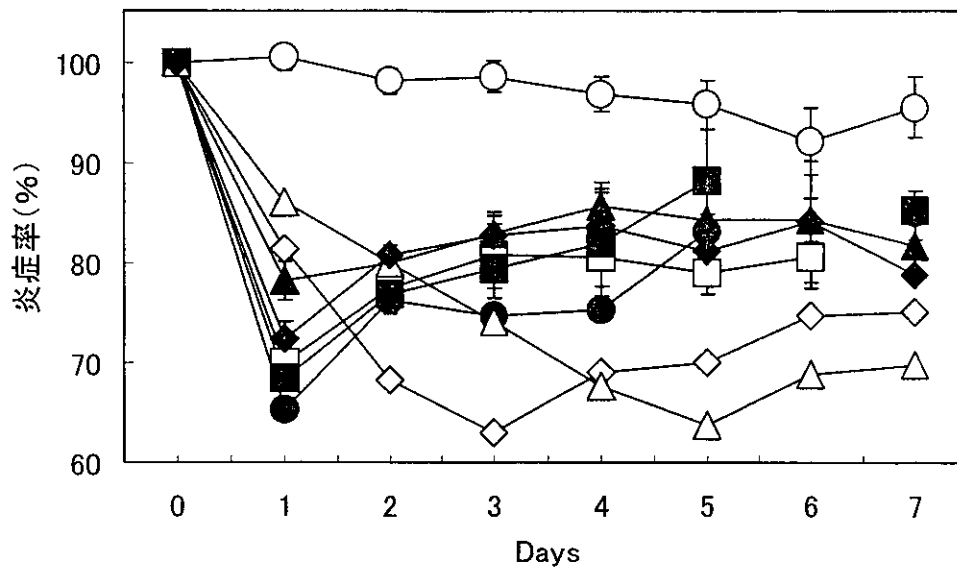


図13 アジュバンド関節炎モデルにおけるベタメサゾンの抗炎症作用

○, 未投与、▲, BP (100 μg s.c.)、■, BP (300 μg s.c.)、●, BP (600 μg s.c.)、□, リン酸デキサメサゾン (100 μg s.c.)、◇, BP (50 μg を 3 日連日 s.c. 投与)、△, BP (20 μg を 5 日連日 s.c. 投与)、◆, BP (100 μg i.v.)

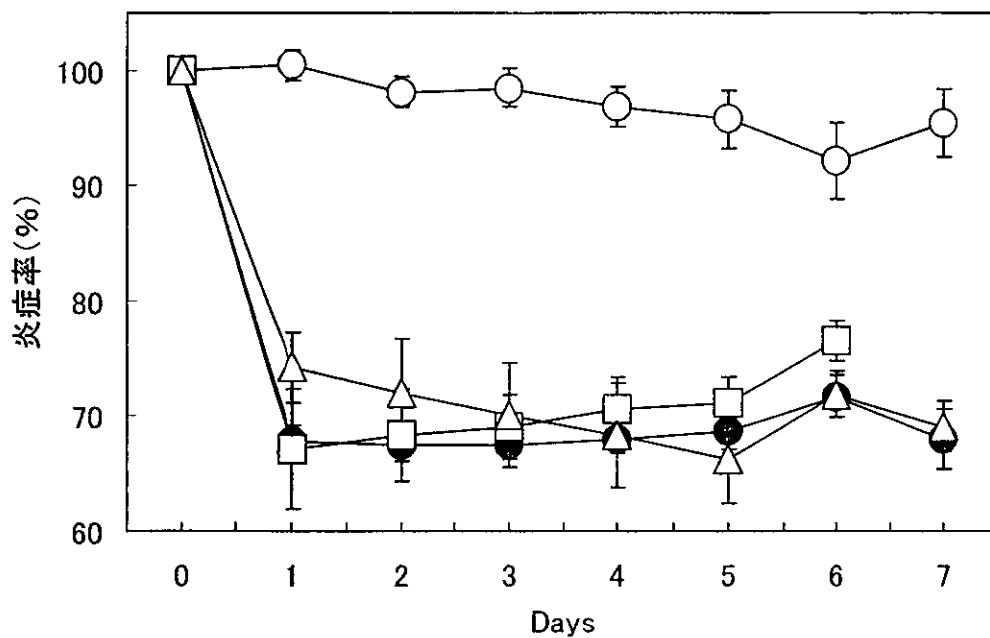


図 14 アジュバンド関節炎モデルでの種々の粒径のナノスフェアによる抗炎症作用
 ○, 未投与、●, BP-ナノスフェア(粒径 90-120nm), □, BP-ナノスフェア(粒径 70-90nm), △, BP-ナノスフェア(粒径 140-190nm) いずれも BP100 μ g, PLA (Mw14000), Lecithin, 1 v

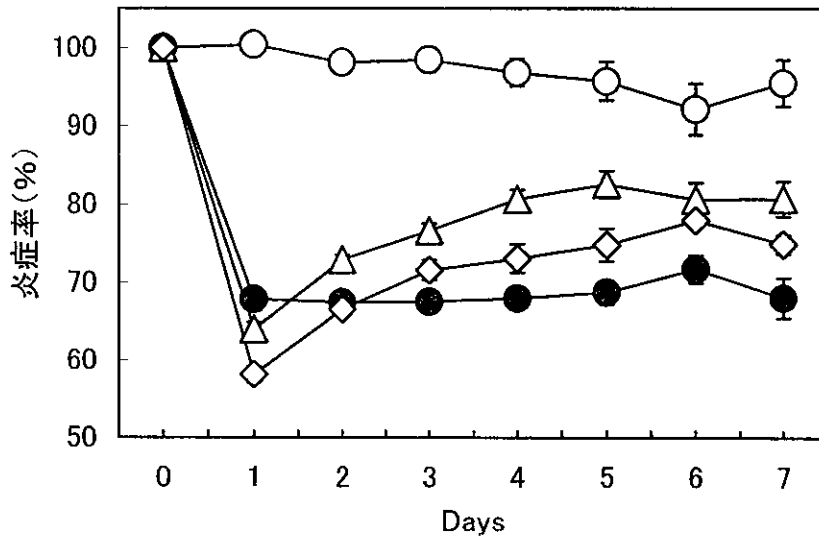


図15 アジュバンド関節炎モデルでの種々の基質で調製したナノスフェアによる抗炎症作用 ○, 未投与, ●, BP-ナノスフェア(PLA Mw14000)、◇, BP-ナノスフェア(PLGA Mw13000)、△, BP-ナノスフェア(PLGA Mw8000) いずれも BP100 μ g, 粒径 90-120nm, Lecithin, 1 v

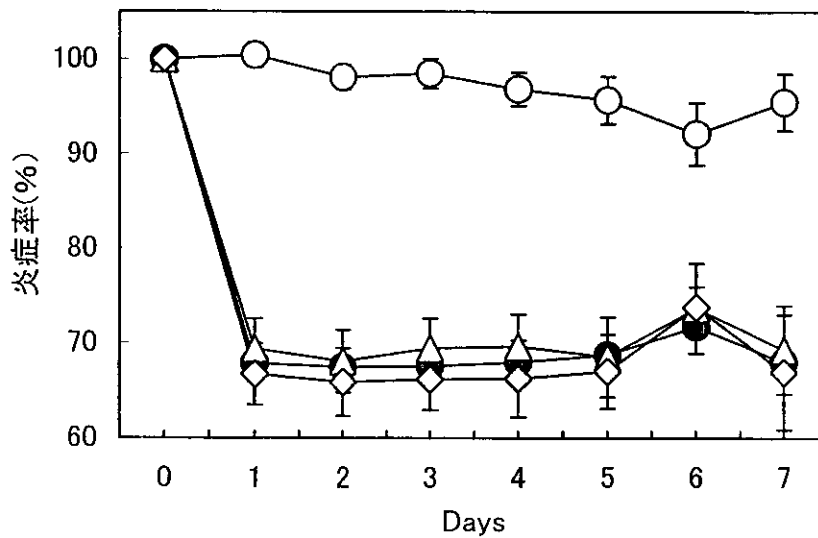


図16 アジュバンド関節炎モデルでの種々のコート剤で調製したナノスフェアによる抗炎症作用 ○ 未投与 ●, BP-ナノスフェア(Lecithin)、◇, BP-ナノスフェア(PVA)、△, BP-ナノスフェア(PluronicF68) いずれも BP100 μ g, 粒径 90-120nm, PLA(Mw14000) 1 v

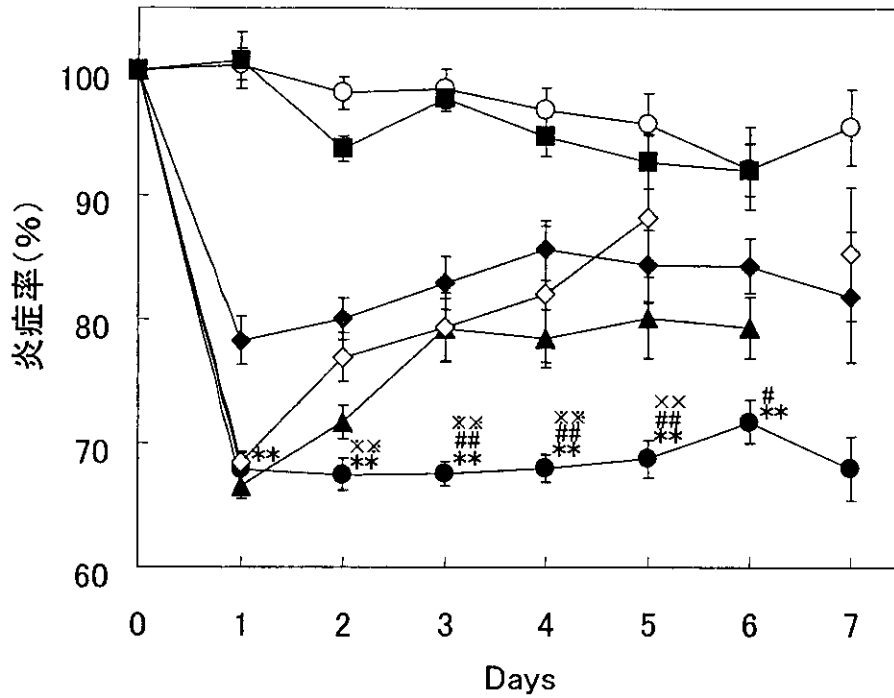


図17 アジュバンド関節炎モデルでのナノスフェアによる抗炎症作用 (まとめ)
 ○, 未投与、■, BP 未封入ナノスフェア (PLA Mw14000, Lecithin, 粒径 90-120nm, 1 v)、◆, BP (100 μg, s.c.)、◇, BP (300 μg, s.c.)、▲, リメタゾン (リン酸デキサメサゾン量として 100 μg, 1 v)、●, BP-ナノスフェア (BP 100 μg, Lecithin, 粒径 90-120nm, PLA (Mw14000) 1 v)
 ×× P<0.01 vs BP (300 μg) ** P<0.01 vs BP (100 μg) ## P<0.01 vs リメタゾン

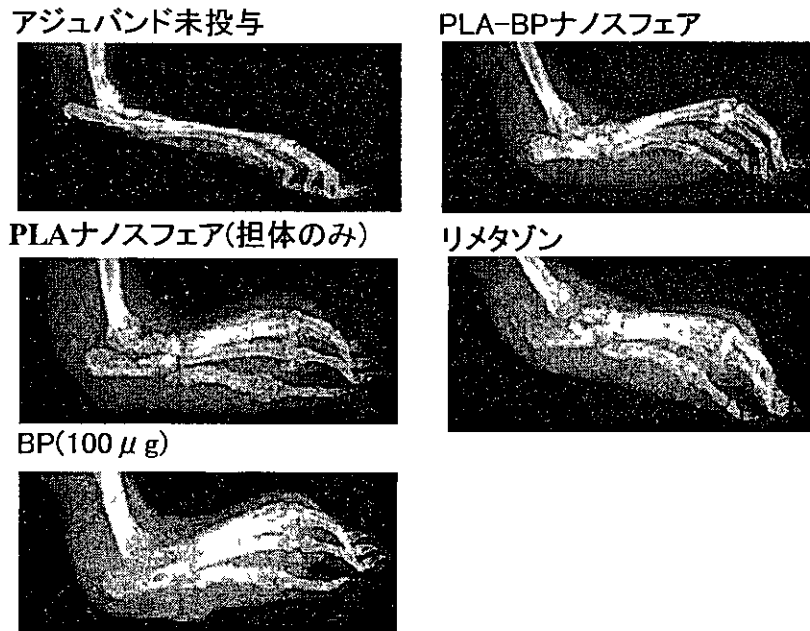


図18 薬物投与7日目の軟X線画像

免疫応答並びにワクチン化におけるナノ微粒子の応用に関する研究

分担研究者 檜垣 恵 東京慈恵会医科大学DD S研究所客員教授

研究要旨

本研究ではマイクロカプセルではなくさらに小さなナノ粒子 (100 nm - 1 μm) に抗原を内包することにより非特異的刺激を減少させ、樹状細胞への抗原の特異的な取りこみおよび抗原提示を促進して効果的な免疫応答の誘導をめざす。関節リウマチではナノ粒子へポリ IC や非メチル化 DNA 封入して現在注目されている Toll-like レセプターを利用した樹状細胞への抗原取りこみによる細胞活性化、インターフェロン産生を試みる。またプラスミド DNA のナノ粒子化により効率的な経皮 DNA ワクチンをマラリアを標的に作製する。この方法の開発により種々のワクチン抗原量及び投与回数、ひいては副作用の減少にも結びつくと考えられる。

A. 研究目的

関節リウマチ(RA)は関節滑膜を炎症の主座とする原因不明の慢性炎症性疾患で、自己免疫機序を背景に軟骨・骨の破壊が引き起こされる。クラミジアなどの反応性関節炎や風疹・肝炎ウイルスによる関節炎での微生物の関与は知られているが、RAにおける微生物の役割に関しては従来、連鎖球菌・ブドウ球菌とリウマトイド因子、EBウイルス、パルボウイルスやHTLV-1ウイルスなどが病因として示唆されてきたが確定的なものはない(檜垣恵、微生物の病因としての意義、慢性関節リウマチ232-236、南光堂)。一方、樹状細胞はプロフェッショナル抗原提示細胞の中で唯一ナイーフTリンパ球に抗原提示を行い、一次免疫応答を誘導する能力を有している細胞でヘルパーT細胞・キラーT細胞の誘導、抗体産生、IL-12産生を容易に惹起することができる。近年、生来免疫における樹状細胞の働きの解明が急速に進んてき

ている。Toll-likeレセプター(TLR)の発見により病原微生物産物のPathogen-associated molecular pattern(PAMP)の認識機構が明らかになると共に骨髄球系樹状細胞(MDC)に加えて形質細胞様樹状細胞(PDC)が同定された。MDCは単球・マクロファージと同様にグラム陰性菌のリポ多糖(LPS)を認識するTLR4およびグラム陽性菌のペプチドグリカン(PGN)やリポタイコ酸(LTA)を認識するTLR2を発現してIL-6, TNF- α などの炎症性サイトカインを産生する。さらにdsRNAに相当するポリICを認識するTLR3を特異的に発現してIL-12の産生を引き起こす。一方、PDCはssRNAやイミキモドを認識するTLR7と共に細菌由来の非メチル化オリゴヌクレオチド(CpG ODN)を認識するTLR9の発現が特徴的で多量のIFN- α を産生する。このPDCは食細胞能は低い炎症局所リンパ節でIFN- α を産生して免疫調節を行う興味深い細胞である。TH1タイプの免疫応答が優位となる自己免疫疾患ではIL-12およびIFN産生が病態形成に重要であり、この樹状細胞の活性化の解明は非常に興味深いと考えられた。そこで、RAおよび変形性関節炎(OA)患者の末梢血および炎症滑膜での樹状細胞の表面抗原などの性状および種々のPAMPsに対するサイトカインの産生能を解析することはRAの病因にせまると共に病態解析に寄与できる研究と考えて、この2年間での解析を行う。国内ではRAに関してはわれわれの報告があるのみである(臨床免疫38 606, 2002)。海外ではRA滑膜組織では連鎖球菌PGNに反応するTLR2発現細胞が優位で細菌非メチルDNAに反応するTLR9陽性細胞は少ないという最近の報告がある(Arthritis Rheum 48 642, 2003)。一方、自己免疫疾患の全身性エリテマトエスでは末梢血中のIFN濃度は高いがIFNを産生するPDCは末梢では減少して皮膚の発疹部に集積しているという報告がある(Science 294 1540, 2001など)。GVHDやHIV患者においてもPDCの減少が報告されている。RAにおけるPDCの挙動については病態形成への関与が興味もたれるが、関節滑膜に存在するHEVに関して移動する可能性の検討も必要と考えられた。CXCL9を発現しているPDCの走化因子としてのMIP-1 α やMIG, IP-10, I-TACなどのケモカインの滑膜局所における産生も病態形成に重要と考えられる。このようにRAの病因もしくは病態形成に関与する微生物成分の関与を樹状細胞のTLR発現と共に解析し、さらに細菌由来DNAによるPDCのIFN- α 産生および滑膜局所でのケモカイン産生の検討は今後の治療法の開発にも大きく寄与すると考えられる。樹状細胞のなかにはIL-10を産生する調節型DCも知られ、この誘導が自己免疫疾患やアレルギー疾患において今後重要となると考えられる。さらにIFN療法に関してもウイルス性肝炎に使用されるIFN- α は一般に自己免疫疾患を増悪させると考えられているが、同じレセプターを介するIFN- β は多発性硬化症の治療に用いられている。また、RAにおいて経口IFN- α が有効であるという報告もあり、IFNの作用に関してもRA患者の病態との関係で今後詳細な検討が必要と考えられる。

さらに樹状細胞が経粘膜投与の抗原にも反応することからナノ粒子を利用した経粘膜投与による免疫応答の誘導能亢進に関する検討も行う。これらの方法は表皮内ランゲルハンス細胞を標的とした表皮免疫法にも利用できると考えられる。一方、不活化ウイルスワクチンやDNAワクチンにおいても樹状細胞は有効な標的となると考えられるマラリアを標的に検討をすすめる。討する。

B. 研究方法

(1) 粒子サイズの検討

取り込みおよび免疫付与能の検討のためまずポリスチレンを用いて粒子サイズを検討する。種々の大きさのポリスチレン(PS)粒子(100 nm, 500 nm, 10000 nm, 4500 nm)にヒトガンマグロブリン(HGG)または破傷風トキソイド(TT)を吸着させる。一方、Balb/cまたはC57BL/6マウスの骨髄から磁気ビーズを用いたネガティブセレクションCD5, CD45R, CD11b, Gr-1, TER119陰性の幹細胞を分離するとともに脾臓よりCD2, CD3, CD45R, Gr-1, 4-7, TER119陰性の成熟樹状細胞を単離する。IL-4/GM-CSF存在下で上記HGG/TT-PS粒子を培養樹状細胞に添加した後、マウス腹腔内に投与して経時的に後眼窩静脈より採血して、抗HGG/TT抗体価をELISAにて検討する(図1)。

(2) PLGAナノ粒子の作成

製法は物理化学的な方法で行う。生体内分解性のポリ乳酸・ポリグリコール酸(PLGA)を用いてエマルション滴(抗原・PLGA・有機溶媒)から溶媒を外相の油相(O/Oエマルション)に拡散させ、液滴内で薬物と高分子を共沈させるエマルション溶媒拡散法でマトリックス型のナノスフェアを、W(抗原液)/O(PLGA有機溶媒液)型エマルションの外相にPLGAの貪溶媒を添加してPLGAを相分離させるエマルション相分離法によりリザーバー型のナノカプセルを作製する。粒子の大きさはポリスチレン粒子で得られた結果を参考にして界面活性剤(レシチン)およびコレステロール量により調節する。抗原としては破傷風トキソイド(TT)(PLGA-TT)およびインフルエンザHA抗原(PLGA-HA)およびGFPプラスミドDNAを使用する。さらに抗原の代わりにFITCまたはローダミン粒子を内包したものも作製する。試験管内でのナノ粒子から抗原の溶出は経時的に上清中のトキソイドおよびたんぱく量を定量して測定する。PLGA-ステロイド(脂溶性ベタメサゾンBDPおよび水溶性ベタメサゾンBSP)は本研究の共同研究者である東京慈恵会医科

大学の石原博士が作製したものをを用いた。

(3) ナノ粒子の樹状細胞への取りこみ

上記の方法で6週令のメスB a l b / c およびC 5 7 B L / 6 マウスより樹状細胞を分離し、P L G A - T T およびP L G A - H A を同様に添加する。F I T C を内包した粒子の取りこみ率をフローサイトメトリーで検討することにより最適な粒子サイズを確認する。さらにT L R 3 リガンド (ポリI C) などで粒子表面を修飾することによる特異的取りこみの亢進も検討する。一方、抗原含有ナノ粒子の取りこみによる樹状細胞の活性化はI L - 1 2 p 4 0 , p 3 5 の産生をELISAおよびRT-PCRにより確認する。同様にI L - 1 , T N , I L - 1 0 などの炎症性サイトカイン産生もE L I S A およびR T - P C R にて定量する。C C R およびT L R 2 · 3 · 4 · 9 の発現変化もフローサイトメトリーおよび定量PCRにて検討する ヒト樹状細胞はR A 患者末梢血から磁気ヒーズを用いてT細胞、単球、NK細胞を除いたのちCD34陽性細胞をポジティブセレクションしGM-CSF, IL-4を添加して増殖させる (M o D C) 。さらに末梢血および滑膜組織からのP D C (B D C A - 4 またはT L R 9 陽性) およびM D C (B D C A - T L R 2 / 4 陽性) を分離してP A M P s に反応するサイトカイン産生能およびT L R 発現をコントロールと比較検討する。またケモカインレセプターの発現も検討する。

(4) 末梢血および培養P B M C 産生サイトカインの測定

R A 患者およびコントロールの血漿中のT N F , I L - 6 , I L - 8 の炎症性サイトカインおよびI F N - α , I P - 1 0 をE L I S A で測定する。一方、分離したP B M C に種々のP A M P s を添加して24時間培養後、上清中の上記サイトカインおよびI L - 1 2 p 4 0 およびI L - 1 2 p 7 0 をE L I S A で測定する。同時に培養6時間後のm R N A を調整してサイトカインm R N A 発現をリアルタイムR T - P C R で測定する。

(5) 滑膜組織および滑膜細胞のT L R 発現

R A およびO A 患者より採取した滑膜のT L R および樹状細胞マーカーの免疫組織染色を蛍光2重染色で行う。さらに組織および細胞よりm R N A を調整してリアルタイムR T - P C R でT L R 発現を検索する。一方、分離した滑膜細胞のT L R およびケモカインレセプターの表面抗原はフローサイトメトリーにてP A M P s 刺激前後で解析する。

(6) 滑膜組織および細胞のサイトカイン産生

滑膜組織の器官培養および分離滑膜細胞のP A M P s 刺激培養上清を採取

してサイトカイン濃度をELISAで測定する。上記炎症性サイトカインに加えてMIGなどのケモカイン産生も測定する。

(7) ナノステロイドの滑膜細胞への取り込みおよびサイトカイン産生に与える影響

培養滑膜細胞を用いてPLGA-BDP, PLGA-BSP, BDP, BDP, BSPを10⁻⁸M添加したのち4時間後に洗浄、直後および4日後に1μg/mlのLPSもしくはPGNで刺激した。得られた培養上清のTNF-αおよびIL-6はELISAにて測定した。

(8) インターフェロン作用の検討

RA患者およびコントロールのPBMCの2, 5AS, PKR Mxの発現をリアルタイムRT-PCRで定量する。同様に滑膜組織における上記タンパクの発現もリアルタイムRT-PCRおよび免疫組織染色にて検索する。Poly(I:C)、CpGに対する反応性の違いからIFN誘導を行える有効なCpGの検討も行う。逆にIFN産生を制御する因子の検索も行う。

(9) PLGA-TT粒子のマウス皮下投与実験

6週令のメスBalb/c (Th2タイプ)およびC57BL/6 (Th1タイプ)マウスの皮下に5・gのTT抗原を含有するPLGANANO粒子を接種する。陽性コントロールとしてはアラムを併用した抗原投与を2週間隔て3回行う。投与後48週まで4週間隔て後眼窩静脈より採血して血清を得る。抗TT抗体価はゲラチン粒子凝集法により測定して抗体価の上昇と持続を検討する。防御抗体として重要な抗体のIgG2アールサブクラスはELISAで測定する。一方、T細胞の増殖反応は抗原投与後2週および24週後の各マウス群のリンパ節細胞を調整し、サイミジン取りこみにより測定する。一方、アイソトープラベルしたTT抗原を用いたナノ粒子の組織分布も検討する。さらに抗TT抗体を用いて経時的にTT-ナノ粒子の樹状細胞への取りこみを皮下組織および胸腺・リンパ節の免疫組織染色により確認する。

C. 研究結果

関節リウマチではI型インターフェロンを産生するTLR9陽性のPDCの減少が著明であった。SLEの炎症皮膚と異なり滑膜などの炎症局所への浸潤も認められず、慢性的な消耗もしくはリンパ節での停滞が考えられた。これらの機能の回復のためインターフェロン産生を誘導するプラスミドDNAを作成

きた。皮下注射に加えて経皮塗布にて作用を発揮する可能性が示唆された。

D. 考察と結論

ナノワクチンに関しては樹状細胞に特異的に取り込まれるナノ粒子サイズを明らかにし、免疫応答を示すところが明らかになった。今後さらにアジュバントの検討により効率化をはかっていく。東京大学医科研究所の渡辺博士との共同研究でマラリアゲノムのライブラリーを内包させたナノ粒子による効率的DNAワクチンの作成も計画している。TLGFPプラスミドDNAを含有するPLGAナノ粒子（50 nm）の作製が可能であった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文

- 1 Kanazawa H, Okada A, Higaki M, Yokota H, Mashige F, Nakahara K
Stereospecific analysis of Omeprazole in human plasma as a probe for CYP2C19 phenotype J Pharma Biomed Anal 2003, 30 1817-1824
- 2 檜垣 恵。炎症と栄養。Food Style 21 2003, 7 39-42
- 3 檜垣 恵。乾癬性関節炎の臨床。リウマチ科 2004, 31 94-100
- 4 Kanazawa H, Okada A, Igarashi E, Higaki M, Miyabe T, Sano T, Nishimura R
Determination of midazolam and its metabolite as a probe for Cyp3A4 phenotype by liquid chromatography-mass spectrometry J Chromatography A 2004, 1031 213-218
- 5 Takatsu M, Higaki M, Kinoshita M, Koizuka I Ear involvement in patients with Rheumatoid Arthritis Otol Neurotol (in press)

2. 学会発表

- 1 高津光晴、檜垣恵、肥塚泉、田村幸久、三宅信冒、坪井声示。関節症における生化学マーカーの検討。第47回日本リウマチ学会 2003年4月
- 2 石原務、出雲信夫、浅野聡子、高津光晴、檜垣恵、水島裕。水溶性薬剤を封入した亜鉛/PLGAナノスフェアの開発。第19回日本DDS学

会 2003年6月

- 3 出雲信夫、石原務、福慶あゆみ、榎本真理子、浅野聡子、高津光晴、檜垣恵、水島裕。新規ステロイド DDS 製剤（PLGA/PLAナノフェア）の持続性抗炎症作用。第23回日本炎症・再生医学会 2003年1月

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

カルシウム系化合物を用いた薬物徐放性担体材料に関する研究

分担研究者 田中 順三 独立行政法人 物質・材料研究機構 センター長
生駒 俊之 独立行政法人 物質・材料研究機構 研究員

研究要旨 蛋白質吸着特性に優れたリン酸カルシウムの多孔質微粒子をスプレイドライヤー法にて作製し、その諸特性を明らかにした。また得られた多孔を炭酸カルシウムによる栓塞する技術開発を行い、薬物の超徐放を達成させるための技術開発を行った。

A. 研究目的

水酸アパタイト (HAp $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) は骨や歯の無機成分であり、生体親和性の優れた材料として知られている。これまで整形外科領域では、焼結体・多孔質体・顆粒状材料が骨充填材・セメント材などとして臨床応用されている。また、アパタイトはタンパク質の吸着特性が優れているためカラム用素材として用いられ、リン酸カルシウムを薬物キャリアーとした薬剤送達システム (DDS) としても研究が行われている。

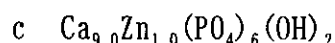
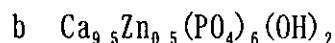
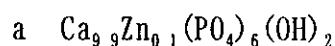
蛋白質はアミノ酸のペプチド結合により形成された高分子であり、側鎖にカルボキシル基・アミノ基などの活性な官能基を持っている。物質・材料研究機構では、これまでにリン酸カルシウムと蛋白質の界面を制御する研究を行い、特に金属イオン（亜鉛・マグネシウム・銀・白金など）を用いることで、蛋白質との結合性・方向性を制御可能であることを示してきた。これらは、側鎖とアパタイト界面の構造を制御することで相互の結合性を向上させることが期待される。また、ラングミュア・プロジェクト膜上（表面にカルボキシル基が整列）に炭酸カルシウムを成長させることで、その結晶方位・成長結晶相の形成メカニズムに関して詳細を明らかにしてきた。このように無機物・有機物界面の特性を制御することにより、目的とする蛋白質との相互作用を向上させ、より多くの蛋白製剤を担持させる担体材料の開発が可能である。

本研究では、1 上記のようにカルシウム系化合物の界面構造を金属イオンにより制御することで、より多くの蛋白質を担持可能な担体材料の開発を行った。2 カルシウムハイカーボネイト法により、薬物を封入した炭酸カルシウム微結晶集合体の合成・析出結晶相の制御に関しての詳細を明らかにした。

B. 研究方法

1. 金属イオン担持アパタイトの合成：

激しく攪拌した 0.5mol/l の水酸化カルシウム懸濁液に、所定量の塩化亜鉛粉末を加えた 0.6mol/l のリン酸水溶液を 20ml/min の滴下速度で加え、室温で合成した。最終 pH を 7.8 に調整し、熟成のため一晩攪拌を行った。合成した試料の化学量論組成は以下の通りである。



になるように塩化亜鉛を加えた。

得られた懸濁液を二流体ノズルのスプレイドライヤーで噴霧し、多孔質亜鉛含有 HAp (Zn-HAp) 球形粒子を作製した。噴霧条件は入り口温度 180°C・出口温度 80°C・噴霧圧 1.5Mpa とした。作製した微粒子の諸特性は、比表面積・細孔分布測定 (BET 法)・走査型電子顕微鏡 (SEM)・赤外線スペクトル分析 (IR)・X 線回折測定 (XRD) を用いて評価した。

2. ハイドロコートン/炭酸カルシウム製剤

5mol/l の塩化カルシウム水溶液中にヒドロコルチゾン (HyC) を添加し、攪拌を行った後、1mol/l の炭酸ナトリウム水溶液を加えた。10 分間攪拌した後、遠心分離により固液分離を行い、凍結乾燥を行った。また合成時に塩化マグネシウム・塩化亜鉛などの金属イオンを添加させて、同様の処理を行った。得られた試料は走査型電子顕微鏡 (SEM) による形態観察、粉末 X 線回折測定 (XRD)・赤外線スペクトル分析 (IR) により相の同定を行った。また薬物含有率に関しては熱分析測定 (TG-DTA)・分光測定により行った。得られた微結晶の結晶形態に関しては、透過型電子顕微鏡 (TEM) により観察を行った。

C. 研究結果

金属イオンに亜鉛を含有しアパタイトの走査型電子顕微鏡像を図 1 に示す。得られた粒子は 1-10 μm の球形粒子であることが明らかであった。XRD 測定の結果、得られた無機物相はアパタイト単一相であることが分かった。回折線の幅がブロードであることから、低結晶性であることが明らかであった。また、BET 法による比表面積の結果、亜鉛含有量が増加するに従い、比表面積が優位に大きくなっていることが明らかであった。(最大約 160m²/g) 赤外線スペクトル分析の結果、リン酸基に炭酸基が置換したアパタイトであることが明らかであった。蛋白吸着特性としてインスリンを用いた試験を行った。その結果、同様の

方法で合成した水酸アパタイト比較して亜鉛含有量を増加させることにより最大15倍程度の吸着特性の向上が見られた。

図2に各試料のXRDパターンを、図3に得られた複合体の代表的なSEM像を示す。XRD測定によりHyCを含む溶液から析出させた炭酸カルシウムは、カルサイトとバテライトの二つの結晶相が観測されることが分かる。またHyCの量を増加させることで、得られる炭酸カルシウムはバテライト相だけであることが明らかとなった。図3にSEM像を示す。得られたHyCを含有する炭酸カルシウムは粒子径が1～3μm程度の球形粒子であった。TEM測定結果より、大きさ約25nm程度の無定形のバテライト結晶が集合していることが明らかとなった。TG-DTA測定結果から、約290℃にHyCの分解に伴う発熱反応が観測され、合成時に添加したHyCの殆どが炭酸カルシウム微結晶集合体中に取り込まれていることが明らかとなった。

D. 考察

今回作製した亜鉛含有リン酸カルシウム多孔質体は、最大粒子径10・mで気孔率68%であった。炭酸基を含有しているため生体内では約3週間で完全に溶解した。亜鉛を含有させることにより優位に蛋白吸着特性が改善された。

炭酸カルシウム形成時にステロイドを封入した薬物封入炭酸カルシウム製剤の材料学的特性に関しての詳細を調べた。ステロイドを効率良く担持させる方法に関して明らかとした。

E. 結論

得られた材料は薬剤の吸着特性が優れており、炭酸カルシウム（バテライト）で栓塞することにより薬物の超徐放性が期待された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文

- 1 T Ikoma, H Kobayashi, D Walsh, S Mann, J Tanaka "Microstructure and Mechanical Properties of Fish Scale of Pagrus Major" J Structural Biology, 142(3) 327-333 (2003)

- 2 生駒俊之、田中順三“自己組織化機構による骨・軟骨系複合材料の開発—ハイオミメテックス法—”日本複合学会誌、29(4), (2003) 123-128

2. 学会発表

- 1 生駒俊之、田中順三、水島裕“炭酸カルシウムを用いた薬物徐放材料の開発” 第25回日本バイオマテリアル学会大会、12月17日 大阪
- 2 生駒俊之、東紀史、田中順三“アパタイト/多糖類複合球形微粒子の合成” 第7回生体関連セラミックス討論会、12月4日 東京
- 3 生駒俊之、田中順三“亜鉛含有アパタイト多孔質微粒子の合成”シンポジウム 分子複合系の構築と機能、12月3日 東京
- 4 T Ikoma, J Tanaka“Spherical microparticle of calcite covered with hydroxyapatite” International Japan-Korea Seminar on Ceramics, 2003 11 20-22, Shimane
- 5 生駒俊之、田中順三“リン酸カルシウム/生体高分子複合界面設計と生体材料” 第16回 DVXa 研究会、8月6-8日 筑波
- 6 T Ikoma, I Sekiya, T Muneta, J Tanaka“Porous materials of hydroxyapatite/biopolymers nanocomposites through self-organization”, 2003 6 14-17, The 5th International Conference on Intelligent Materials, Penn State Conference

H. 知的財産権の出願・登録（予定を含む。）

1. 特許所得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

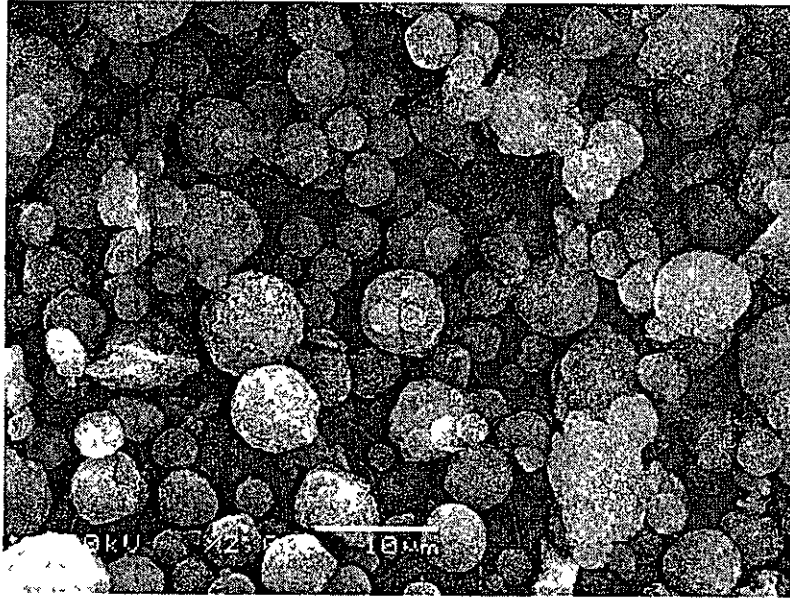


図1 亜鉛含有アパタイトのスプレイトライ粉末

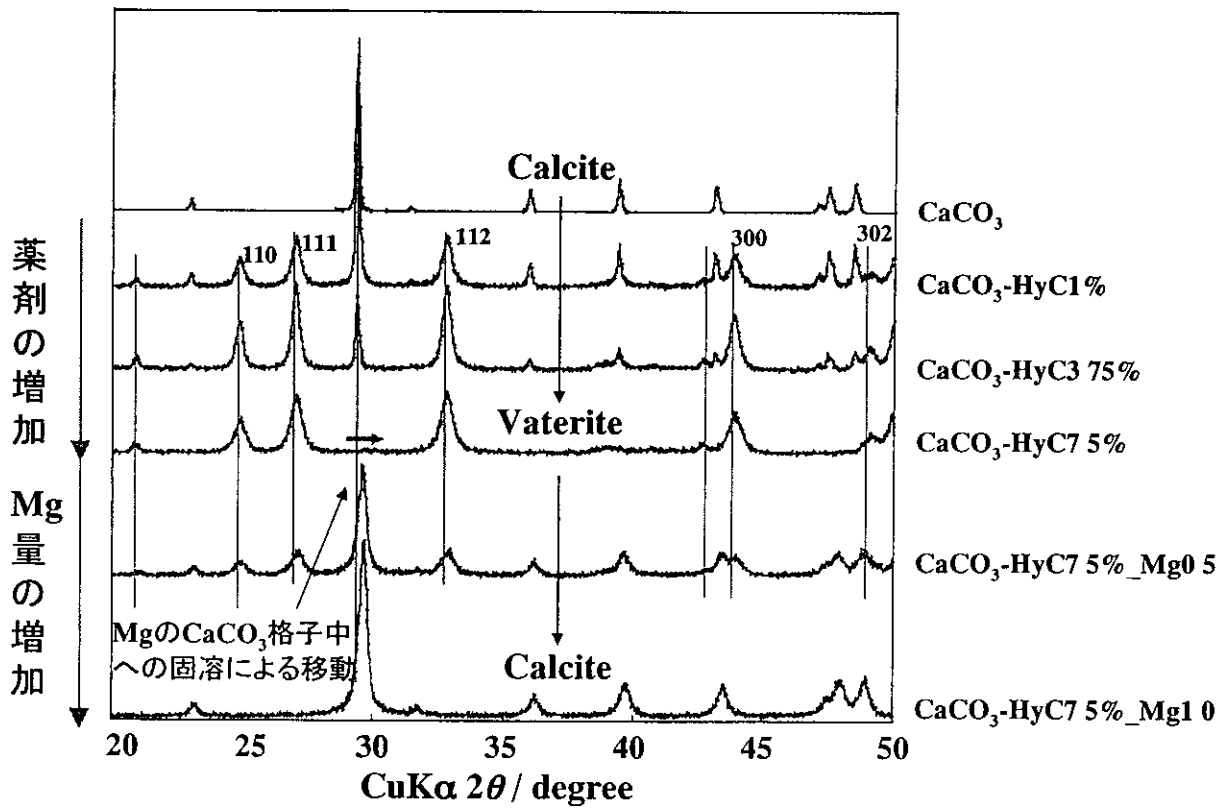


図2 HyC含有量による炭酸カルシウムの結晶相変化

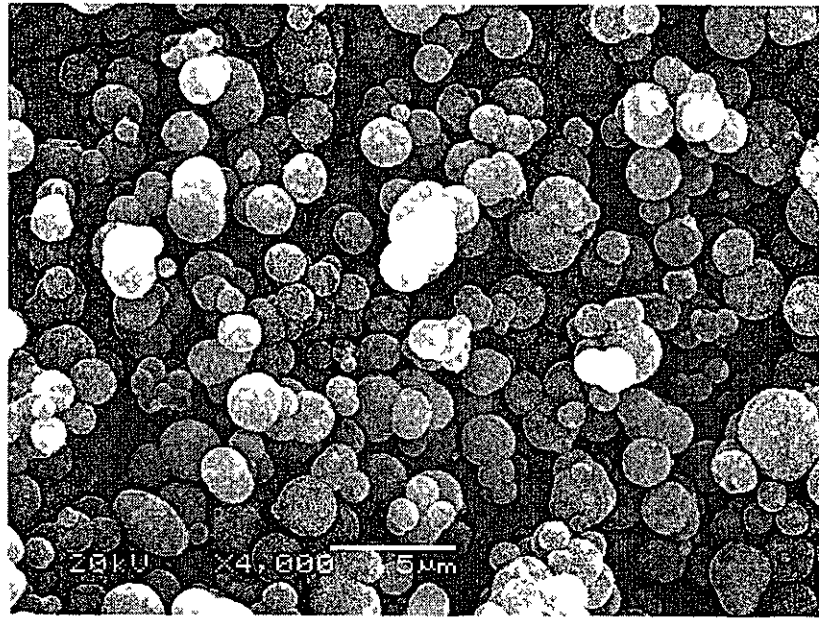


図3 HyC／炭酸カルシウムの操作型電子顕微鏡写真

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表