



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Characterization of minocycline-carbon nanohorn conjugates and their antibacterial activity [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	前田, 由佳利
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13855号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78489
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yukari_Maeda_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 前田 由佳利

審査担当者	主査	教授	横山	敦郎
	副査	教授	吉田	靖弘
	副査	准教授	安田	元昭

学位論文題名

Characterization of minocycline-carbon nanohorn conjugates and their antibacterial activity
(ミノサイクリン - カーボンナノホーンの複合体の製作ならびにその静菌効果について)

審査は、主査、副査を含めて公聴会として行われ、論文提出者が論文内容の要旨を説明した。その後、内容について審査担当者が質問し、論文提出者が回答する形で進められた。以下に論文内容と審査の要旨を述べる。

カーボンナノホーン(CNHs)は、生体適合性を有し大きな比表面積を持つことから薬物の輸送用担体としての応用が広く研究されている。ミノサイクリン (MC) は局所薬物送達療法に用いられているが、効果を持続させるには、局所での薬剤保持が課題である。そこで、MC を CNHs に担持させることにより、MC の局所保持が可能となると考えた。本研究では CNHs の酸化の有無による MC 担持能の違いと静菌作用を比較検討した。

MC 水溶液に CNHs（未酸化：as-CNH、酸化：CNHox550）1mg を添加し、2 時間超音波分散を行い、得られた MC-CNHs 複合体 (MC/CNHs) を TEM にて観察した。吸光度測定・熱重量解析および透析により CNHs の MC の担持を確認し、CNHs の徐放性を検討した。MC/CNHs の薬効を調べるため、細菌培養を行った。さらに、MC/CNHs の骨芽細胞への影響を確認するため、DNA 量と ALP 活性を計測した。

CNHs の分散性は MC 水溶液と CNHs を混和することで向上した。TEM 観察により CNHs 周囲に MC と思われる構造が確認された。吸光度測定では、MC/CNHox550 において MC 低濃度付加条件下で MC 由来の吸光ピークが認められなかった。熱重量解析では燃焼時に MC の脱離に起因する重量減少が認められた。以上より、CNHs は MC を担持していることが確認され、MC/CNHox550 で MC の一部が CNH 内部に存在していることが推察された。透析の結果、CNHs への担持により MC の放出量が減少した。さらに 7 日後放出量に対する 1 日後放出量の結果の差異から、CNHs の有無および酸化処理に依存して MC 放出量が増加することが明らかとなった。

細菌培養の結果から、MC 単体と MC/as-CNH では同等の細菌増殖抑制効果を認められたのに対し、MC/CNHox550 では効果の減弱が確認された。SEM・TEM 観察では、CNHs に接して細胞壁形態を保持したまま死滅している細菌が確認された。以上より、内部に入り込んだ MC は細菌増殖抑制効果には関与しないことが推察された。

骨芽細胞培養 7 日後の DNA 量、ALP 活性は、全群において有意差はみられないことから、MC の CNHs への担持による骨芽細胞の増殖および分化に対する影響は低いと考えられた。

本研究の結果、MC が CNHs の分散剤として機能し、また MC/as-CNH は MC の静菌性を保持していることが明らかになった。

上記の論文内容及び関連事項について、以下の項目を中心に質疑応答がなされた。

1. CNHsをミノサイクリンの担体とする理由について
2. CNHsの安全性について
3. CNHsに対する炎症について
4. CNHsの生体材料への応用に関しての具体的な方法について
5. ミノサイクリンを担持させたCNHsのTiへの固着の可能性について
6. CNHsとミノサイクリンの結合様式について
7. CNHsへの薬剤担持について
8. カーボンナノマテリアルの実用化について

これらの質問に対して、学位申請者から明快な説明と回答が得られたとともに、今後の研究に対する展望が示された。

学位申請者は、2 種類のカーボンナノホーンを使用して、ミノサイクリンを担持することによりカーボンナノホーンの分散性を向上させるとともに、ミノサイクリンの徐放性、静菌性の保持を明らかにし、カーボンナノホーンの生体材料への応用の可能性を示し、その内容は高く評価された。よって学位申請者は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。