

氏 名	宋 秉泰
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	歯 学
学位授与番号	博甲第7446号
学位授与の日付	令和 8年 3月 25日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科機能再生・再建科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Amelioration of Cd-induced bone deterioration by orally administered calcium phosphate (経口投与されたリン酸カルシウムによるカドミウム誘発性骨劣化の改善)
論文審査委員	岡元 邦彰 教授 池亀 美華 准教授 仲 周平 准教授

学位論文内容の要旨

背景と目的

カドミウム (Cd) は穀物や飲料水などを介して体内に蓄積しやすく、腎障害や骨軟化症、骨折などの健康被害を引き起こす代表的な環境汚染物質である。日本では「イタイイタイ病」に代表されるように、慢性的なCd曝露が骨質劣化の主要な原因の一つとして知られている。これまで、活性炭 (Activated Charcoal : AC) がCdのデトックス剤として使用されてきたが、必須ミネラルの吸着や肝腎機能への悪影響など、副作用が指摘されている。一方、骨の主要構成成分であるヒドロキシアパタイト (Hydroxyapatite : HAp) は、高い生体適合性と重金属吸着能を兼ね備えており、 Ca^{2+} および PO_4^{3-} イオンの供給源として骨代謝を支える機能も持つ。本研究では、HApの経口投与がCdによる骨劣化を抑制しうるかを明らかにし、同時にACとの比較を通じてその有効性と安全性を検証することを目的とした。

研究方法

*In vitro*実験では、マウス骨芽細胞MC3T3-E1を用い、Cd (10 μM) 曝露下におけるHApおよびACの細胞保護効果とCd吸着能を評価した。培地中のCdおよびCa濃度は原子吸光法により測定した。 *In vivo*実験では、6週齢の雄ICRマウスを6群 (対照、Cd、Cd+2%AC、Cd+20%AC、Cd+2%HAp、Cd+20%HAp) に分け、CdCl₂を100ppm含む飲水およびそれぞれの吸着材を含有した飼料を4週間投与した。実験終了後、大腿骨を採取し、マイクロCT解析による骨微細構造評価、三点曲げ試験による骨強度測定、XRDおよびFTIRによる解析、さらに偏光顕微鏡によるコラーゲン配向性解析を行った。統計解析はone-way ANOVAおよびTukey-Kramer法により実施した。

結果

Cd曝露群では、皮質骨厚、骨密度（BMD）、骨量（BMC）、および骨強度のいずれも有意に低下した。

これに対し、HAp投与群ではこれらの値が回復し、骨構造および力学的強度の改善が確認された。AC群でも低濃度（2%）では一定の改善効果がみられたが、高濃度（20%）では肝腎障害による死亡率の上昇が認められた。*In vitro*実験では、HApおよびACがCdを95%以上吸着したが、高濃度ACは細胞毒性を示し、HApは安全性が高く細胞生存率を顕著に改善した。XRDおよびFTIR解析では、Cd曝露群で観察されたアパタイト結晶性の低下と炭酸基ピークの増大が、HAp投与により正常化した。また、偏光顕微鏡による解析では、Cd曝露によりコラーゲンおよびアパタイト結晶配向性に大きな変化はみられなかったが、HAp群では骨質の均一性が維持されていた。これらの結果から、HApはCdの消化管吸収を抑制すると同時に、骨形成に必要なCaおよびPを供給し、骨ミネラルバランスを安定化させる二重の防御機構を有することが示唆された。

考察

本研究は、消化管内のpH変化に伴うリン酸カルシウム（特にHAp）の溶解・再沈殿機構を利用することで、Cdの生体吸収を低下しつつ骨ミネラルの恒常性を維持できることを、*In vitro*・*In vivo*の双方から明らかにした。培養系では、HAp添加によってCdが95%以上吸着され、細胞生存率が有意に回復した。特にHApは高濃度でも毒性が低く、Cdを選択的に除去できることが示された。マウスCd曝露モデルでは、HAp経口投与によりCd投与で低下した皮質骨厚・BMD・BMC・骨強度が有意に回復し、XRDおよびFTIR解析でもCdによるアパタイト結晶性の低下や炭酸基ピークの増大が回復した。これに対し、ACは低用量では一定の改善を示したが、高用量では低栄養吸着や肝腎毒性の増大が認められた。これらの所見から、HApは消化管内でCd²⁺をイオン交換およびリン酸錯形成により捕捉し、同時にCa²⁺・PO₄³⁻を供給することで骨代謝を維持する二重の保護機構を有することが示唆された。さらに、HApは消化管内で部分的に溶解し、腸管内でCaP（DCPDなど）として再沈殿して糞中排泄を促進し、血中Ca濃度の上昇を抑制することが確認された。これにより、HApはCd吸着剤としての機能だけでなく、生体に対する安全性の面でも優れた性質を持つことが示された。臨床応用の観点からも、HApは歯科や整形外科領域で広く利用されており、口腔ケア製品における高濃度使用実績による安全性評価が蓄積している点から、食品グレードCaPとしての応用可能性は高いと考えられる。今後の課題としては、臨床的に妥当な投与設計を確立し、ヒト曝露条件下での効果検証を行うこと、さらに長期摂取による安全性の影響を評価することが重要である。

結論

以上の結果から、HAp はカドミウムによる骨劣化を抑制し得る有望な経口デトックス材料であることが示された。

論文審査結果の要旨

【緒言】カドミウム (Cd) は環境中に広く存在する重金属であり、食物や飲料水を介して体内に取り込まれることで、腎障害や骨軟化症などの重篤な健康被害を引き起こすことが知られている。特に骨組織はCdの主要な蓄積部位の一つであり、長期曝露により骨密度の低下や骨質劣化を招く。生体内において、ハイドロキシアパタイト (HAp) は骨の主要構成成分であり、pH変化に応じて溶解・再沈殿する特性を有するとともに、Cdなどの重金属イオンを取り込む性質を持つ。本研究では、HApを経口投与することにより、消化管内におけるCdの吸収を抑制し、骨への蓄積および骨質劣化を防止できるとの仮説を立て、その有効性を検証した。

【材料および方法】マウス由来骨芽細胞 (MC3T3-E1) を用いた*in vitro*実験により、Cd存在下におけるHApおよび活性炭 (AC) のCd回収能および細胞毒性への影響を評価した。また、6週齢ICR雄マウスを用いた*in vivo*実験において、Cd含有飲水 (100 ppm) を4週間投与し、同時に飼料中にHApまたはACを2 wt%および20 wt%含有させて給餌した。実験終了後、摘出した大腿骨について、マイクロCT解析、三点曲げ試験、組織学的観察、エックス線回折 (XRD)、赤外分光分析 (FT-IR) およびコラーゲン配向解析を行い、骨量、骨強度および骨微細構造の変化を総合的に評価した。

【結果と考察】*in vitro*実験において、HApおよびACはいずれも培地中のCdを回収し、Cdによる細胞毒性を低減した。20 wt%のAC高濃度条件では細胞生存率の低下が認められたが、HApでは同濃度でも細胞毒性を示さなかった。*in vivo*実験では、Cd曝露により大腿骨の皮質骨厚、骨密度および機械的強度が低下したが、HAp投与によりこれらの骨質劣化は濃度依存的に抑制され、対照群に近いレベルまで回復した。さらに、XRDおよびFT-IR解析から、Cd曝露による骨アパタイト結晶性の低下が示されたが、これもHAp投与により改善されることが明らかとなった。以上より、HApの経口投与は、Cdの体内吸収および骨への蓄積を抑制し、骨質劣化を防止する有効な手段であることが示された。

本研究は、HApの経口投与がCdの体内吸収および骨への蓄積を抑制し、骨質劣化を防止する有効な手段であることを明らかにした。HApはACと比較して高い生体適合性と骨保護作用を有し、Cdをはじめとする重金属曝露に対する新たな医療機器 (材料) としての応用可能性を示す重要な知見である。また、この研究内容については、すでに Applied Food Research (IF = 6.2) に掲載されており、国際的にも評価されている。

よって、審査委員会は本論文に博士 (歯学) の学位論文としての価値を認める。