

204 編物構造複合材料の再生医療用スキャフォールドへの適用

—生体環境適合複合材料の現状と展望—

神戸大学 日和千秋

Application of a Novel Textile Composite Scaffold for Regeneration Medicine

Chiaki HIWA

1 はじめに

幹細胞とは増殖能と分化能を持っており、生体組織の分化や再生に関わる細胞である。1998年に、ウィスコンシン大学のJ.トムソン教授(米)らによって、ヒトの受精卵からほとんどの細胞に分化する、胚性幹細胞(ES細胞; Embryonic Stem Cell)が取り出された¹⁾。そして2007年には京都大学の山中教授らが、皮膚細胞から多能性をもったヒト人工多能性幹細胞(iPS細胞; induced Pluripotent Stem Cell)の樹立に成功したことで²⁾、将来の再生医療への応用に大きな期待が寄せられている。

また、人体に存在する体性幹細胞(Somatic Stem Cell)を培養して組織の欠損部に移植し、再生を図ろうとする再生医療も、臨床研究を含めてその適用が広がりつつある。疾病による欠損部に、幹細胞とGrowth factor(成長因子)を組織再生用の足場(スキャフォールド)に播種したものを移植することで、組織の再生とスキャフォールドの生体吸収が進行して、治癒に向かうというものである。スキャフォールドを用いた骨再生過程をFig.1に示す。移植後はスキャフォールドが負荷を受け持つので、通常に近い生活が過ごせる。また治癒後は金属を用いた場合のような再手術がいらぬといった特徴がある。

著者らはこれまでに、JSTイノベーションプラザ京都

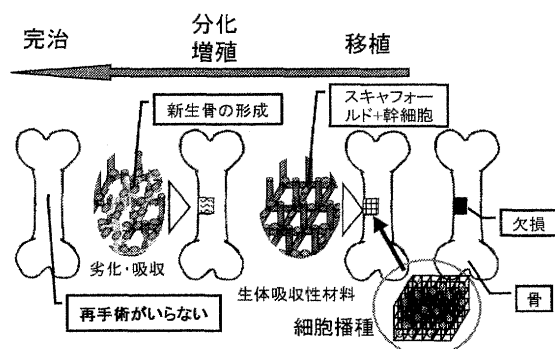


Fig.1 Bone regeneration using composite scaffold.

の育成研究「生分解性樹脂複合材料による骨再生用高機能スキャフォールドの開発」プロジェクトに参加し、歯科領域を対象とした骨再生用スキャフォールドの開発を行ってきた。得られた成果を中心に概観を述べる。

2 骨再生のためのスキャフォールド

2.1 歯科領域の再生医療 歯科領域では主に、歯周病で減少する歯槽骨の再生、下顎骨の再生、あるいはインプラント移植のための上顎洞の骨創成などがある。そしてスキャフォールドに求められる特性は、①咀嚼力などの

外力に耐えられる強度や剛性、②組織の再生に伴う生体内での分解と吸収、③細胞の接着性や増殖性と骨組織形成能、④血管や体液の侵入が容易な構造、⑤肉芽などの侵入阻止、など多岐にわたる。

したがって、スキャフォールドには完全な連通孔と、高い空孔率を有した、三次元的な構造が必要となる。しかし、すでに開発されているコラーゲンスポンジでは剛性が小さく、あるいはポーラスなアパタイトでは脆く、また生体に吸収されないなどの課題があった。そこで、生体吸収性樹脂を用いて織物構造を作製することで、多機能なスキャフォールドを開発した。

2.2 かご型スキャフォールドの開発 まず生体吸収性樹脂のポリ乳酸(PLLA)樹脂で、引張り強度400MPa(直径0.1mm)の繊維を作製した。これを特別に開発した小型編機を用いて、直径2mmの円筒形状編物を作製した。さらに半径方向の剛性を考えて、コイル状に繊維を織り込んだ。そしてε-ポリカプロラクトン(PCL)樹脂をバインダーに用いて、繊維交差部を接着した複合材料を作製した。Fig.2に作製したスキャフォールドを示すが、空孔率は95%である。またFig.3に引張り力-伸び線図を示すが、織物は初期の剛性が非常に小さいのに対して、スキャフォールドでは大きな剛性と降伏強度を発現している。また円周方向のコイル状繊維により半径方向の圧縮に対する変形力も大きくなり、実用に供すること

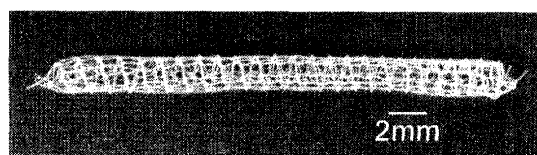


Fig.2 Tubular composite scaffold.

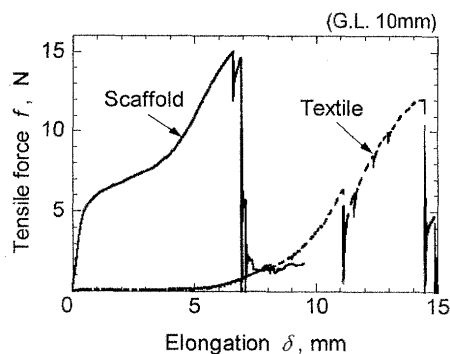
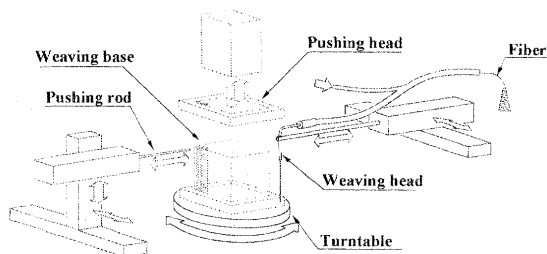


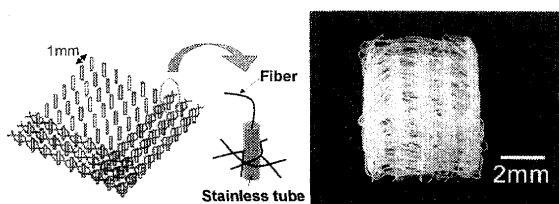
Fig.3 Tensile force - elongation curves of scaffold.

の出来る力学的特性が得られた。

2.3 三次元織物スキャフォールドの開発 下顎骨などのより大きな欠損の再生のために、三次元織物によるスキャフォールドの開発を行った。空孔率を大きくするために、疎な織構造が可能な織機を開発した。織機の概略を Fig.3(a)に示す。ステンレスチューブに対して Fig.3(b)



(a) Outline of weaving machine



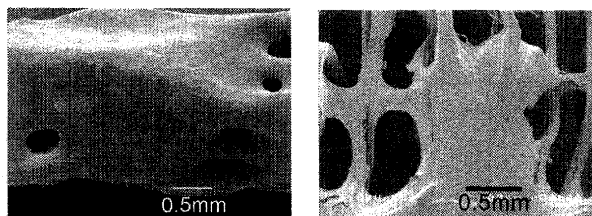
(b) Weave architecture (c) 3D composite scaffold
Fig.3 3D scaffold manufacturing system.

のように横糸を交互に織っていき、最後にステンレスチューブに縦糸を通して作成した。スキャフォールドの外観を Fig.3(c)に示すが、繊維の交差部は PLGA 樹脂のバインダーにより接着し固定されている。また空孔率は90%が得られた。縦横の糸の密度や直径を変えることで力学的な異方性を持たせることが出来る。また円筒状など様々な形状が作製可能である。

2.4 スキャフォールドの骨組織形成能 骨組織生成能を検討するため、作製したスキャフォールドに *in vitro* でマウスの骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1, Riken BRC) を播種した。温度 37°C, 湿度 100%, CO₂5%のインキュベーターで、10%FBS を含むα-MEM 培地を用いて培養した。

分化誘導後 6 週で、細胞数に相当する DNA 量をスキャフォールドの繊維の表面積で割った細胞密度は、培養皿と比べて 3-8 倍となった。これはスキャフォールドの空孔部分でコラーゲン線維が膜状に生成・増殖することで、実質的な細胞培養面積が増加するためであると考えられる。また細胞の骨基質形成能を表すパラメータである、DNA 当りのアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性値は、培養皿と比べて 2-3 倍大きい値を示した。この高い活性は培養皿 (ポリスチレン) とスキャフォールド (PLLA, PLGA) の材質の違いによるものと考えられる。また培養皿の平面形状に対してスキャフォールドの立体的な空孔構造といった構造的な因子も考えられる。

Fig.4 に 6-8 週でスキャフォールドにカルシウムが石灰化した写真を示す。これより本スキャフォールドは骨誘



(a) Tubular scaffold in 8wks (b) 3D scaffold in 6wks
Fig.4 Osteoblastic mineralization on scaffolds.

導性を有していることがわかる。

以上、大きな欠損での骨組織再生には、細胞と骨形成タンパク質 (Bone Morphogenetic Protein :BMP) などを埋入するためのスキャフォールドが必要であることが示された。さらに本スキャフォールドは織物構造による可撓性を生かして、外殻を樹脂膜でコートすれば、食道や血管などにも適用が可能であるものと考えている。

3 今後の展望

再生医療に用いられるスキャフォールドは「医療機器」となるため、原材料と製品の製造は「医療品及び医薬の製造管理及び品質管理規則 (Good Manufacturing Practice :GMP)」に従う製造工程・品質管理・製造管理を持った施設で製造されなければならない。また製品とするためには、生物学的安全試験、前臨床試験を経て治験確認申請を行い、受理後の臨床試験を経て、製造販売承認申請が行われる。ここまでには費用と時間を要するが、安全性を担保するためには必要な事柄であることは言うまでもない。これまでに、スキャフォールドはまだではあるが、骨接合用品や人工硬膜など、生体吸収性樹脂による医療器具は認可されている。

すでに骨髄幹細胞を用いた血管新生療法は高度先進医療として保険給付が認可されている。従来の治療法では困難であった疾病が、治癒できる可能性のある再生医療は、やがて多くの人々に恩恵を与えてくれるものと考えている。

[共同研究者]

北條正樹, 安達泰治 (京都大学), 馬場俊輔 (先端医療センター), 横田久美子 (神戸大学), 井元俊之, 西村理, 田中信生 (㈱井元製作所), 井上剛臣 (アルプラスト㈱)

参考文献

- 1) James A. Thomson, Joseph Itskovitz-Eldor, Sander S. Shapiro, Michelle A. Waknitz, Jennifer J. Swiergiel, Vivienne S. Marshall, Jeffrey M. Jones, "Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts", *Science*, Vol. 282, No. 5391, pp.1145-1147 (1998).
- 2) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. "Induction of pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors", *Cell*, Vol.131, pp.861-872 (2007).