

厚生科学研究研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

ハイブリッド型人工血管の作成に関する研究

平成13年度 総括研究報告書

主任研究者 野一色 泰晴

(横浜市立大学医学部外科学第一講座 講師)

平成14(2002)年4月

# 目 次

## I. 総括研究報告書

- ハイブリッド型人工血管の作成に関する研究 \_\_\_\_\_ 1  
野一色 泰晴

## II. 研究成果資料

1. 生体内の環境を活用した組織工学 (in vivo tissue engineering) \_\_\_\_\_ 16  
2. 組織の治癒力を引き出す事による in vivo tissue engineering \_\_\_\_\_ 19  
3. Blastogenesis の活用 \_\_\_\_\_ 27  
4. 小口径人工血管開発の問題点、Tissue engineering 的考察 \_\_\_\_\_ 29  
5. Bone marrow transplantation in vascular prostheses \_\_\_\_\_ 42  
6. 組織工学研究における「走性」の活用 \_\_\_\_\_ 56

## III. 参考資料

1. The long-term clinical results of vascular prostheses sealed with autologous adipose tissue fragments 62  
2. 超極細繊維の人工血管領域への導入 \_\_\_\_\_ 68  
3. 超極細繊維を用いた人工血管の開発の経緯 \_\_\_\_\_ 82  
4. FABRIC VASCULAR GRAFTS MADE OF ULTRAFINE FIBER \_\_\_\_\_ 90  
5. ハイブリッド型人工血管の開発 \_\_\_\_\_ 105

## IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 \_\_\_\_\_ 110

## V. 研究成果の刊行物・別冊

1. 血管の組織工学—血管壁をつくる— \_\_\_\_\_ 111  
2. Dreams for the Future in the Field of In Vivo Tissue Engineering.,(for Guest Editorial) \_\_\_\_\_ 116  
3. Clinical Long-Term Results of Vascular Prosthesis Sealed with Fragmented Autologous Adipose Tissue \_\_\_\_\_ 121  
4. Introduction of Tissue Engineering Concepts into the Field of Endovascular Grafts: An Attempt to Solve Endoleakage Problems of Endovascular Grafts Implanted in Aortic Aneurysms. \_\_\_\_\_ 126  
5. 成長可能な人工血管 \_\_\_\_\_ 134  
6. Experimental Study of Materials for Patch Graft on Right Ventricular Outflow Tract under Extracorporeal Circulation in Dogs—Comparison between Denacol<sup>R</sup> EX-313-Treated Bovine Jugular Vein Graft and Expanded Polytetrafluoroethylene (EPTFE) Graft \_\_\_\_\_ 136  
7. Age Dependency of Neointima Formation on Vascular Prostheses in Dogs \_\_\_\_\_ 141

ハイブリッド型人工血管の作成に関する研究

主任研究者 野一色 泰晴 横浜市立大学医学部外科学第一講座・講師

**研究要旨** 患者自身の治癒力を人為的に引き出し、それを人為的に誘導することで血管壁組織の自己形成を促す技術を開発し、この手法を活用して治癒力の低下した高齢者にも有利な治癒をもたらすハイブリッド型人工血管を開発する事を、3年計画の本プロジェクトの目標としている。本年度は本プロジェクトの2年目にあたることから、初年度で得られた成果を基礎として、組織工学的な考え方を組み込んで更に進んだ考え方を創成した。すなわち、血管壁を人為的に形成誘導する方法である。この考え方を実証するため、心筋組織内に人為的に血管を創成させる研究を行った。具体的手法としては、生体内で吸収されるハイドロゲルを用いて柔軟な紐を作り、心筋内にエラストマー針を用いて挿入する。1ないし2週間でハイドロゲルが吸収されたときには、その部位に血管が創成される。この方法によって、任意の部位に任意のサイズで任意の形態の任意の長さの任意の太さの血管を創成することが可能となった。本手法は虚血性心筋障害の治療に役立つことが期待される。

#### A. 研究目的

自然治癒力を最大限に活用することで、細胞組込型の血管壁を創成するように誘導する技術を確認することを本研究の目的とする。患者自身の身体には自然治癒の力がある。これは活きている生物の特性であり、強みである。これを活かして治癒力の方向付けを行うことによって、意図した血管壁を人為的に作らせるのである。そうすることによって、治癒力の低下した患者、高齢者においても、機能的に安定した血管壁を創り出すことが可能になる。とくに小口径人工血管を安定的に長期間開存させるには、このような自然治癒力の活用が最も望ましいと、我々は考えてきた。しかしながら我々はそれをどのようにすれば引き出せるのかについての技術を持っていなかったため、それを適切に使用することができなかった。この度の3年間のプロジ

エクトでは、当初、我々が得てきた骨髄細胞の自家移植技術によって新たな血管壁を創成する方法を考案した。その為の技術としては、組織工学的な手法を採用した。

組織工学を効率よく勤める上においては、組織工学の3要素を満足させることを考えるのが、まず最初に必要な事である。そこで、初年度はその様な人工血管を作成する上に置いて、最も基本であるマトリックスとして、何を採用するかを考えた。その結果、超極細ポリエステル繊維を使用する事、e-PTFE graft の場合には、骨髄組織をトラップさせて、その場で組織工学的に培養して増殖させ、マトリックス内にて更に増殖させて新たな組織を構築させる方法を採用している。

初年度においては、この方針で研究を行い、極細繊維を使用した人工血管の作成に成功した。

この方法で作成した人工血管は四肢末梢の血管に使用可能と期待されている。

この成果を受けて我々は更なる目標を高いところにおいて、チャレンジ的な研究を開始することにした。すなわち、臨床で最も期待されている領域としては、心筋梗塞などの虚血性心疾患時に使用可能な血管の創成である。これまで世界中の多くの研究者が、その創成を目指して粘り強い努力を行ってきた。しかしながらだれ一人としてなし得なかった課題である。我々はこの領域に於いて、組織工学的な手法を用いることによって、更には患者自身の治癒力を用いて新たな血管壁を創成し、その結果として、人為的に作成したハイブリッド型の血管が長期間安定して開存し続けるための条件を明らかにする事を、研究の目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 研究の基本的考え方

研究を行う過程として、我々は組織工学の3要素を準備することを常に念頭に置いてこの研究をスタートさせた。組織工学の3要素は、細胞、細胞外マトリックス、細胞成長因子、である。この要素を揃えると、その部位に於いて組織が自然に形成される。その時にそれらの要素に人為的に操作を加えることによって、意図的に形成される組織の形態、機能などを誘導することが可能である。

### 2. 研究の背景

後述するように、我々は本プロジェクトに入る前から組織工学的に小口径人工血管を作成する研究を行ってきた。初年度はこの流れを受けると同時に、我々の本プロジェクトでの創意工夫

も加えた人工血管の創成を行ってきた。しかしながら時代は急速に変わり、臨床からの要求も急激に変化している。そこで、臨床での要求を更に突き詰めることで、次世代で必須をされる要求を先取りして、血管の創成を行うこととした。

### 3. 心臓疾患臨床からの要求

優れた人工血管の開発における需要の高さは、年々増している。四肢においては糖尿病性の血管破綻による疾患が急増している。しかし、四肢における血管の代用物の需要よりも、虚血性心疾患における新たな人工血管の開発への期待が急速に高まっている。これは高齢化社会を迎えて需要が高まると言うよりも、現代の社会におけるストレスなど、社会的要因、食事内容の変遷など、種々の要因が重なって、社会を第一線で支える活動性の高い年齢層における虚血性心疾患の急増が考えられる。

アメリカに於いても新たな人工血管の開発で最も需要の高いには心臓での冠動脈バイパス領域であった。これはヨーロッパでも同じであった。しかも我が国も、他の先進国に於いても数年前のそれから、徐々に「虚血性心疾患に使用可能な人工血管」自体の需要も変わりつつあることが判明した。すなわち、従来では単純に「冠動脈バイパス手術に使用可能な人工血管の開発」が望まれていた。しかしながら種々の外科手技の向上、自家血管の使用上の工夫、及びバルーンによる血管形成術、更には冠動脈内に挿入するステントの技術の向上、などから、実際上は臨床家は、「バイパス手術もバルーン技術でも救命し得ない症例を救命するための人工血管の開発」を望んでいることが判った。

これは実にハードルが高い要求である。ただ単に細い人工血管というのみならず、たとえ優れた製品ができたにしても、その人工血管にとっては非常に状況の悪い場での使用である。そこで、我々はこれまで行ってきた研究を全て見直し、この臨床家からの要求を満足させるための工夫と、その人工血管の設計の見直しを行った。

#### 4. 新たな研究計画

前述の要求に関して、我々は研究計画の一部を変更し、未知の世界への挑戦を始めた。研究計画の一部の変更と言っても、基本計画における目標「患者自身の治癒力を最大限に引き出し、人工的に血管壁を創成する。」は不変である。また、患者自身の細胞の Blastogenesis を活用することも変わらない。変更点としては、応用部位を冠動脈に限定した事である。

続いて、冠動脈に应用可能な人工血管を創る事に於いて、我々は「人工血管を創る」から「人工的に血管を創る」に変更した。これは人工的に血管壁を創成するにあたって、細胞の特異性と共に、組織の特異性、すなわち、組織内の制帽の特異性の差違を活用する考え方を、私どもが、この度のプロジェクトで開発した事による。

#### 5. 人工的冠動脈の創成

前述したように、私どもは組織内の細胞の持つ特殊性を活用して血管を創成する方法を考案しています。具体的には、冠動脈をそのターゲットとして選び、組織を心筋とした。心臓の特異的な構造として心内膜及び心外膜付近には、結合組織が多くて、無数の線維芽細胞や平滑筋細胞などが有るが、心筋の内部に於いて最も多い細胞は心筋細胞である。次に多いのは、心筋細

胞に栄養を与えるために発達した毛細血管を構成する血管内皮細胞である。次に多い細胞というのは、ほとんどない。少し太めの血管の周囲に結合組織があつて、それらが線維芽細胞等をもってはいるが、それらはごく少量である。すなわち無視できる範囲内である。このような心筋の壁内に於いて、もしも障害が起きると、まず最初に組織修復に動員される細胞は血管内皮細胞である。心筋が傷つくと、血管も傷つき、これによって、詳細には後述する Blastogenesis が惹起される。従って、無数の内皮細胞が組織修復に動員される。ここでは VEGF 等の Growth factor を使用する必要はない。この点が前述した組織内の細胞の特異性の差違の活用である。ただし、無秩序にそれらが動いては、癒痕組織への治癒と言う道筋にそって組織修復が進む。つまり血管はできない。そこで、私どもは、この動きを制御して、血管壁を作らせる方法を開発することとした。すなわち、自然治癒の人為的誘導による組織の創成である。

#### (倫理面への配慮)

本研究では、これまで説明したとおり、患者自身の成熟した細胞を使用するため、臨床応用におけるハードルの高い倫理問題は生じない。もしもこの研究に ES 細胞などを組み込む必要があれば、倫理問題に対しての配慮が必要となるが、我々の方法では、ジコの細胞を活性化して活用することになっていることから、臨床面においての問題は生じない。

ただし、本研究を行う上において、動物実験を繰り返さねばならないことから、動物実験倫理への配慮は必要である。これに関しては、我々

は既に横浜市立大学医学部動物実験センター倫理委員会に対して我々の研究計画を提出し、研究内容を説明することで、既に動物実験を行うことに対する倫理的な審査を受け、それに合格して動物実験の遂行に関する許可を受けている。しかしながら、我々は更に動物実験の回数を少なくするための工夫についての努力を続けている。これによって動物をし結おうしなくても済むような代替え研究手段を創成し、実験を行っている。たとえば、人工血管壁からの血液の漏れに関しては、通常条件かでは漏れなくても、人工心肺装置を使用していると漏れ始めることがわかっている。したがって、ポンプを用いて、この用はシミュレーション実験を繰り返し、動物の使用を必要最小限に押さえる事に成功している。

### C. 研究成果

#### 1. 本年度開始した新たな研究における成果

前述の方針に従って、我々は心筋組織内に血管を創ることを行った。具体的方法は、心筋組織内に16ゲージから14ゲージ程度の太めのエラストマー針を挿入し、それを介して心筋組織内へ、ヒアルロンサンで作成したゲルの紐を挿入することである。

この挿入によって、結果的にはゲルの長さ、太さ、形態、位置、などに従って、任意のサイズの血管を人為的に創ることに成功した。

その考え方はTissue Engineeringの原則から考えついた方法である。すなわち、心筋内には心筋細胞とそれを養う毛細血管がある。前者は細胞分裂や遊走を行わないので、心筋が障害を受けたときには組織修復にかり出されない。しかしながら、後者には血管内皮細胞が多くあっ

て、それらは組織修復のために遊走し細胞分裂を活発に行う。したがって、心筋内で障害を人為的に起こすことで内皮細胞をかり出すことが可能となる。これは組織内におけるBlastogenesisである。

さらには、心筋が障害を受けると、心筋細胞や内皮細胞が多量の細胞成長因子を出す事が知られている。したがって、組織工学の3要素である、細胞、成長因子、の二つはそろっている。残りは細胞外マトリックスである。そこで、管腔形態を維持した筒状のマトリックスを心筋内に人為的に作るため、我々はヒアルロンサンのゲルの紐を使用した。

この処置によって、ヒアルロンサンが1週間ほどで分解され吸収される過程において、ヒアルロンサンの周辺に遊走してきた内皮細胞が管腔の内面を覆って、新たな血管ができるという設計である。

#### 2. 超極細繊維を用いた人工血管

超極細繊維を用いた人工血管の作成に関しては、臨床使用可能な製品が、試作品のレベルであるが、開発を行うことができた。具体的な手法としては、通常太さの繊維を縦糸に使用して、横糸には通常繊維と超極細繊維を重ねて使用する方法である。通常太さの繊維径はその断面が16ミクロンであるのに対して、超極細繊維のそれは3.5ミクロンである。

このような通常繊維と超極細繊維との組み合わせによる人工血管を無数の小さなフックで連続的にひっかくことで超極細繊維を選択的に起毛した。このような起毛を起こさせ易いように、我々は予め横糸の超極細繊維をゆとりを持って膨らませるように配するため、「縺り織り」の

技術を使用した。その結果、SEMでその表面を観察すると、超極細繊維が全面に膨らみだしていることが良く分かる。このような下準備の結果、超極細繊維のみの選択的な起毛が可能となった。次に我々は70気圧程度の高水圧のwater jetを用いて、起毛した超極細繊維を人工血管の基本的構築となる通常の太さの基材繊維の間隙に押し込み、それらの繊維と複雑に絡ませる操作を行った。この処置により、超極細繊維の間隙が広がり、細胞が入り込む易くなると共に、組織の創成が一気に進む可能性が出てきた。これは自然の力を組織工学という人為的な方向に誘導することによって組織を作らせる我々の基本的な考え方に合致できる構造となった。

### 3. e-PTFE Graft への親水性物質の組み込み

まずは、我々はヒアルロンサンを e-PTFE Graft の細い亀裂の間隙に挿入させる技術を開発した。e-PTFE Graft は疎水性の強い物質である。その亀裂は極めて狭い間隙となっていて、親水性物質は入り込めない。具体的には、水ですら、表面張力の働きで入り込むことはできない。しかるにヒアルロンサンは分子量が 200 万程度の巨大分子からなる親水性の極めて強い物質である。しかも水に触れることで含水性が高く、巨大なハイドロゲルとなる。このような物質を疎水性の極めて強い狭い間隙に入れることは事実上、不可能と思われる。このような状態であるが、我々はこの問題点を克服した。

具体的に説明すると、我々は界面活性剤を使用して逆ミセルを作成することに成功し、ヒアルロンサンをミセルに包み込んで間隙に挿入することに成功した。すなわち、ヒアルロンサンゲルに界面活性剤を加えてよくよく攪拌する。この時、少量のエタノールを加えておくことで、

ミセルの親水性部分はヒアルロンサンの分子に向かい、疎水性部分はエタノールに向かう。その状態で攪拌することによって、ミセルの粒子は徐々に小さくなる。そして親水性物質であるヒアルロンサンを取り囲んだ逆ミセルが形成される。

一般にミセルは外側が親水性で内面が疎水性の状態が存在する。この状態になると、疎水性物質をミセル内部に取り込み、親水性の溶液、例えば水の中にでも懸濁液状態で浮遊させ得る。しかしながら、この度作成したミセルは、内部に親水性物質であるヒアルロンサンがあり、その外側に疎水性の膜が覆って、疎水性でもあるエタノールの液の中にういた状態で懸濁液を作る。したがって、ヒアルロンサンは疎水性物質に覆われた微細な粒子状態となる。

このようにして e-PTFE Graft の亀裂の間隙に無理なく入り込むことができる。そこで、親水性状態にすると、ミセルは逆転してはじけ、界面活性剤は亀裂から溶け出てくる。しかしながら、ヒアルロンサンは巨大分子であるため、亀裂の内部にトラップされたまま出てくる事ができない。このような状態で親水性の物質が e-PTFE Graft の壁内に入り込むことができる。この結果、ヒアルロンサンに細胞成長因子などを含ませることで、人工血管壁からそれらの因子を徐放させるシステムを作ることが可能となった。

次に我々はゼラチンを亀裂のなかに挿入する工夫を行った。具体的には、ゼラチンもヒアルロンサンと同様に親水性の物質であるため、そのままでは挿入不可能である。しかし我々はゼラチンに疎水性の基である長いアルキル基を科学的に付けた。すなわち、ゼラチン自体に両親性を持たせて、疎水性の状態でも溶液を作りやす

い条件を整えた。つぎに、そのゼラチンの水溶液を作成した。この状態でその水溶液に徐々にエタノールを加えてゆき、50%以上のエタノール状態とした。実際には70%程度までエタノール濃度を上げることが可能であった。そこでこのような状態にしたアシル化ゼラチンをe-PTFE Graft に押し込むと、無理なくゼラチンはe-PTFE Graft の間隙に挿入する事が可能であった。次にその状態で乾燥させると、水とアルコールは取り除くことができ、ゼラチンがe-PTFE Graft 壁に残る、と言う仕組みである。

#### D. 考察

##### 1. 人工的冠動脈の創成

我々の基礎実験から、心筋組織内に新たな血管が創成されることが明らかとなった。この血管は意図したとおり、希望する位置に、希望する長さで、希望するサイズで、希望する形態で、作ることが可能である。実際にイヌを用いた実験では、意図したとおりの血管腔を作らせることに成功した。

これは世界で初めての快挙であり、臨床家の要求を十分に満たすことができると思われる。これによって、心筋組織内に、自由自在に、内径1mmから4mm程度の血管を創成させる原理をうち立てることに成功した。すなわち、使用したヒアルロンサンのゲルの形状によって、その通りの形態を持つ血管壁を作るように、心筋の細胞の働きを誘導することが可能となった。

しかしながら、まだ詳細を詰めてゆかねばならないことも判明した。すなわち、ヒアルロンサンのゲルが余りにも強く膨潤すると、周囲の心筋細胞を圧迫して、そのあたりの栄養障害を引き起こす可能性があることであった。更に進む

とヒアルロンサンの周囲に癒痕組織が形成されることが判った。その為、ヒアルロンサンの不溶化の程度を設定する必要がある。

このような研究成果から、最終年度にはその様な不都合を惹起させないヒアルロンサンのゲル紐を作成し、実際にヒトの臨床に於いて使用可能であるかどうか、その効果がどのように予測されるかと言った、臨床応用のための詳細な条件設定を、犬などの比較的大きな動物を用いて明らかにしてゆく予定である。

更に、次の方針としては、この血管が虚血性の心筋障害の改善に役立つかどうかは、確認する必要がある事から、本プロジェクトは、来年度も引き続き行う必要が出てきた。しかも、ある程度の期間をおいた動物実験が必要なことから、まとめの年ではあるが、引き締まった研究が要求される。それはできる限り臨床応用を目指した諸条件のとりまとめであり、更にはヒトの心臓に使用しやすい様な器具の開発も合わせて必要となるであろう。

恐らく、3年度には、ヒアルロンサンの生体内での吸収機関の適正化、可能であるならば、化学修飾によるヒアルロンサンの生体内吸収速度のコントロールが必要である。又、我々はこの時にヒアルロンサンに抗血栓性を賦与すべきかどうか、考えている。すなわち、抗血栓性がある方が、効率よく血管を創ることが予測されるためである。その為、現在はヒアルロンサンにヘパリンを混ぜて、固化させる工夫を行っている。この条件設定で、ヒトのしかも虚血の心筋に於いて、適切なヒアルロンサンの持つべき性質を定める必要があるだろう。これが第3年度にも越された課題と思われる。

次にこのようなヒアルロンサンを挿入するため



に適切な器具の開発が残されている。これに関して、この原理を用いてくれる企業と組む必要がある。我々大学に勤務する研究者は、このような原理の部分での仮説を立てて、それを実証し、臨床応用への未知を開くところまで行い、う。しかしながら、この技術を普遍化して、誰でも使用できるようにするには、企業の協力が必要である。適切な企業との組み合わせが得られることで、その増幅作用が働いて、アイデアから臨床まで繋がることができる。この意味合いから、3年度は、企業の参加を呼びかけるつもりである。

## 2. 超極細繊維を使用した人工血管の作成

超極細繊維を使用した人工血管を実際に作成しようとする、我が国にはその様な繊維を作成している会社がいくつかある。ところが、我が国の主な繊維会社は、医療用に繊維を素材として使用する事を極端に嫌う傾向がある。これはシリコーンの豊胸材訴訟のあおりを未だに受けているせいであろう。

しかしながら、アメリカに於いては、青のシリコーンの事件を教訓として各企業は既に立ち直っており、あの時の経験を生かして、常にデータを開示し、常に問題点を記載し保存する様な姿勢をとることで、更に前へと進む傾向を見せているにもかかわらず、我が国の繊維会社では、臭いものにふたをする、危なそうな物事には近寄らない、と言った態度をとり続けている。その為、我々は原料であるポリエステル繊維を提供してくれない、と言う困った事態に陥った。しかしながら、海外にも目を向けることで、この問題は解決しそうである。

この度はこのような努力の結果、人工血管を作

成することが可能となった。そして、この度、臨床用の人工血管を実際にある企業の協力で製造することができた。そのことから、我々はそれを持って厚生労働省の許認可を得て、広く一般に使用できるような方針で進むこととしている。

## 3. e-PTFE Graft への被覆

細胞をどのように誘導するかを考えると、この研究も使い勝手の良い結果を示してくれた。すなわち、我々はこの方法によって、ゼラチンを e-PTFE Graft 内部に挿入する事に成功し、更に、そのゼラチンに bFGF 等の細胞成長因子を固定化する可能性にパイロットスタディーにも成功した。

この人工血管は、植え込み自に人為的に bFGF 等の細胞成長因子をしみ込ませただけでもそれらを固体化して植え込み後の徐放出を図ることがかのであるが、組織工学的に考えると、もっと単純で使い勝手の良い方法が考えられるので、その確認を行った。

すなわち、もっと具体的に説明すると、前述した方法でゼラチンをしみ込ませた人工血管を植え込むだけであるが、人工血管の植え込みにあたっては、植え込み操作によって手術野にある周辺の組織が障害を受け、多くの細胞が傷つく、あるいは破壊される、あるいは大変な刺激を受ける事となる。その様な細胞は、手術が終わると、当然の事ながら組織修復に向かう。そしてこの時組織修復のために多量のサイトカイン、細胞成長因子を放出する。従って、手術野ではこのような細胞成長因子にあふれた状態となる。ところが、e-PTFE Graft にはそれらの細胞成長因子を止めておく機能がない。別な例で言い換

えると、禿げ山に雨が降った状態である。水を止めておくことができない。したがって、人工血管周囲に多量にある細胞成長因子は暫くすると分解吸収されてしまう。この時に人工血管壁内にそれらの因子を止めておくことができるシステムが存在すると、天然の細胞成長因子の働きをより長期間働かすことが可能となる。

我々はこの発想に基づいて基礎研究を行った結果、これらの細胞成長因子は疎水的な物質に多く付着することが判明し、アシル化ゼラチンには無処理のゼラチンに比べて約5倍のbFGFが吸着されることが明らかとなった。そして動物を用いた実験では、アシル化ゼラチンの挿入されたe-PTFE Graftの壁内に、無数の毛細血管が入り込む現象を確認したことから、我々の考えた仮説が正しいことが判明した。

更に我々はもう一つの利点を見いだすことができた。それは人工血管壁からの血清の漏れ防止作用である。これはこの度の組織工学的な研究とは関連が直接にはないが、この度の研究で明らかとなったことから、ここに記載しておく。具体的に説明すると、一般にe-PTFE Graftの欠点として、術後に持続する血清の漏れがあげられる。たとえば、血液透析に使用した内シャント用のe-PTFE Graftの場合、上腕に植え込まれたe-PTFE Graftの周囲には術後3週間ほど浮腫状態が持続する。すなわち、血清の漏れが持続することから、浮腫によって、人工血管を穿刺する事ができない。場合によっては、人工血管周囲にセローマと呼ばれる漿液種が形成されることもある。このような現象は、e-PTFE Graftの亀裂を、消せ胃が漏れ出ていることと考えられるが、これを防ぐ手段は無かった。

この度我々はe-PTFE Graftの壁内にヒアルロン

サンやゼラチンなどを挿入することができたことから、これらの人工血管に於いては、植え込み後、これらに血清がしみ込むと、それらが膨潤して、それ以上の血清の通過を許さなくなる現象が得られた。そしてこれらの物質は3週間程度で吸収されるが、このころまでにはホストの線維芽細胞が壁内に侵入して、その部分にホスト自身の組織を形成することから、この組織によって血清の漏れは更に持続的に阻止される。したがって、その様なゼラチンとかヒアルロンサンによる被覆は、一時的な被覆から永久的な被覆へと引き継がれることが判明した。これは臨床的には朗報である。

#### 4. 初年度までの研究の流れ

ここで、初年度までの研究の流れを紹介する。これを理解することによって、本プロジェクト、特に2エンドとなる本年度の研究の本質が理解されやすくなると期待される。

この研究課題に対しては、我々は関連した研究を既に行ってきており、この度の研究はその成果の上に立脚する子のであるので、ここにその基礎的な成果を紹介したい。

まず最初に血管壁を組織工学的に作成した研究としては、我々の静脈組織細切片を用いた実験を紹介したい。

##### 4. 1. 静脈細切片移植

この研究は、自家の静脈を細説して、人工血管壁に播種することによって血管壁を急速に生体内で創成させる手法である。末梢の切除可能な静脈を採取し、それを鉗で細切して、それを生理的食塩水の中に入れて静脈組織細切片浮遊液を作成し、それを布製人工血管に播種する。こ

の操作によって静脈組織内の内皮細胞や平滑筋細胞、線維芽細胞などの成熟細胞が刺激を受け、Blastogenesis（幼弱化）が惹起されるが、その時、幼弱化された細胞が置かれた環境の変化によって、新たな組織の再生に、その場に適した挙動をとるであろう事を予測し、その細胞の習性を誘導する事で、人為的に組織創成を形成させる方法である。これによって、組織工学の3要素である「細胞」に関しては満足させ得た。次に細胞外マトリックスであるが、それは組織を細切することによって、細胞周囲のマトリックスを細胞と同時に活用できることで、その条件を満足させうる。私どものグループ以外の世界中の研究者達は、細胞を採取する際にはトリプシンなどの酵素を使用している。しかし、組織工学的に考えるとその操作は宜しくない。なぜならば、細胞周囲にある細胞外マトリックスを酵素が破壊するからである。我々の細切と言う手段は、この点において、細胞外マトリックスを破壊することなく温存させうる。さて、そうすると残りは「細胞成長因子」である。我々は細胞成長因子を使用しなかった。しかしながら、組織を細切する事で、組織内の細胞が刺激を受けて、大量の細胞成長因子を産生する事を我々は明らかにした。具体的には、細切した組織を移植すると、bFGF 染色で、それが大量に産生されていることが染色で明らかとなった。bFGFは細胞成長因子のごく一つに過ぎない。ここでbFGFが産生されていることは、他の細胞成長因子をもこの組織が賛成していることが類推される。このようなことから、細胞成長因子に関しても、この手法では満足していることが明らかである。

しかしながら我々は一つの壁に突き当たった。

すなわち、基礎実験としての動物実験では、末梢静脈で、採取しても差し支えない部分の静脈を使用した。が、いざ、臨床となると、静脈瘤患者ぐらいしか、末梢血管を採取できる患者はいなかった。そこで、臨床的には、皮下脂肪組織を細切して使用する事と決め、我々は皮下脂肪組織を用いた基礎実験を行った。その結果、静脈を細切したとほぼ同じような結果を得たことから、我々は臨床に踏み切ることとして、布製人工血管に採取した患者自身の皮下脂肪を細切して播種するという処置をおこなった。これによって、布製人工血管はプレクロッティングを組織片で行うこととなつて、術後の繊維素溶解現象に基づく血管壁からの出血を予防できる、という副産物まで得た。そしてこの方針で我々はこの臨床例を関連病院を含めて50例ほど行った。

しかしながら、この研究の過程で、私どもは、皮下脂肪組織が、患者の年齢、性別、食習慣、栄養状態、運動状態、糖尿病などの基礎疾患の有無、その他種々の要因で千差万別であることが判った。そして、たとえその様な事があっても常に一定した「採取可能な自家組織」の採取場所を皮下脂肪以外に求めざるを得なくなった。

#### 4. 2. 骨髓移植

我々はこのような過程を経て、自家組織を採取する組織として骨髓を選んだ。骨髓組織は高齢者からでも得られる。しかも採取によっての副作用は、手技を工夫すればほとんど無いことも判った。また、前述した様な個人差が少ないことも判明した。このような理由から、我々は採取組織として骨髓組織を選んだ。骨髓組織にはが弱な幹細胞を多量に含まれること、骨髓細胞

は原始的な細胞であるために、自家移植とはいえ他の部位に移植され環境が変わるのであるが、この環境の激変にもかかわらず生着しようとしてたかには生き延びる作用があること、さらには、このようなときには、骨髄細胞は多量の細胞成長因子、特に栄養を要求するために毛細血管の成長を促す血管成長因子を産生する、と言う、細胞の特性が発揮される事が明らかとなった。

さらに我々は、骨髄組織内の幹細胞が環境の変化によって移植先の人工血管壁において、血管内皮細胞や平滑筋細胞、線維芽細胞などの血管壁を構成する諸細胞へ分化し、血管壁を短期間に創成する事も期待し、骨髄組織を人工血管に播種する実験を行った。

この研究は予期した成果を収め、人工血管内面が決して治癒しなかったにもかかわらず、骨髄組織を播種することで、見事に血管壁再生を果たした。この時、多量の血管増殖因子の産生を確認し、さらに、血管内皮細胞が非常に早い時期に人工血管の内面に出現して人工血管内面を覆い、その後に平滑筋細胞も出現して、血管壁に非常に酷似した組織が速い速度で創成される事を見いだした。この過程で、私どもは骨髄内の幹細胞がそれらの細胞に分化する事は期待したが、それを科学的に立証することはできなかった。しかしながら、このような急速な血管壁創成は、周囲から内皮細胞などの血管壁を構成する細胞達が何らかの方法で急速に運ばれてこなければ生じ得ないことである。ところが、その様な事はありえないので、やはり、骨髄細胞内の幹細胞が分化したのではないかと思われる現象であった。そして、この手法は、自家の骨髄組織がごく少量あれば、手

術室内での10分程度の処置で行える手術手技であることから、高齢者や一般状態の悪い患者でも、容易に行える実際的な治療法である事が判明した。

#### 4. 3. 人工血管の基材における工夫

今日、人工血管の枠組み用の基材としては、ポリエステル布製と、テフロンの管を急激に圧縮をかけて延伸して無数の亀裂を生じさせた e-PTFE graft が臨床で使用されている。我々はこの両者に対しての改良を行うことで、本プロジェクトで使用する人工血管の枠組み作りを行った。

よりえすてる繊維は1957年のCreechらのアメリカ血管外科学会委員会の報告で見られるように、生体内での異物反応、発癌性等がなく、しかも生体内での劣化が極めて少ないことがあげられており、それ以降の生体内植え込みのような人工血管素材として多用され、人工血管もそれを使用して今日に至っている。ポリエステル繊維はアメリカのDuPont社がDacronの名前で売り出し、世界中の人工臓器市場を占めていた。しかしながら、ダウコーニング社を始めいくつかの会社がシリコーンの医用材料としての訴訟問題で多額の和解金を支払わざるを得なくなった経緯があるため、DuPont社は1994年1月31日以降、Dacronを医療用の素材としては出荷しないとアナウンスしたことから、今日ではDuPont社のDacronは使用されていないが、世界中のその他の会社のポリエステル繊維が使用されている。

#### 4. 4. 超極細繊維の人工血管基材としての活用

この度我々が注目したのは日本の繊維技術で最高級のハイテクを駆使して創成した極めて細い繊維である。その理由は、我々が基礎研究の結果、極細繊維が細胞の本能的な性質を刺激することによって、繊維周囲に細胞を集める事が可能である事が可能であることを我々が見いだした事による。前述したとおり、今日臨床で使用されているポリエステル繊維を用いた人工血管では、1957年以降、広い範囲で応用されており、その安全性は世界中で認識されているが、その後においてポリエステル繊維自体を改良した研究は医療の分野では行われていない。そこで我々はポリエステル繊維をより活力のある材料に変換させるため、その改良を行った。

我々の用いた改良の指標は細胞との親和性である。本プロジェクトでは、人工血管の上に如何にしてハイブリッド型の血管壁を創成するかにかかっていることから、如何にすれば細胞と親しくなれるか、如何にすると細胞活動を助けることができるか、と言った事にその努力目標をおいた。具体的な研究方法としては、超極細繊維を用いた人工血管を作ることであったが、実際には、人工血管として要求される基本的条件は、内圧による変形のないこと（動脈瘤様の変形防止）、異物反応などの副作用の無いこと、吻合部がほつれないこと、その他の要件を満たす布製人工血管を通常の太さの繊維を用いて作成し、さらにそこに超極細繊維を組み込んで、細胞誘導を無理なく行える設計を工夫した。

#### 4. 5. e-PTFE graft の活用

我々は次に、e-PTFE Graft の改良も行った。得e-PTFE Graft は1972年に医療の場に紹介された。元々は電線の被覆用のカバー材であったものを、

それがテフロン製であることから、テフロンが植え込み用の医療材料の素材として、やはり Creech らの委員会でお墨付きをもらっていることから、人工血管の素材として使用する考え方があった事から、当初はテフロン繊維で作成した織りタイプの人工血管が使用された。しかしながら、テフロン繊維は互いに滑りやすいことから、繊維間の固定性が悪くて、繊維の滑りにより布の型くずれ、切断端のほつれなどが生じやすいことが判明し、敬遠されてしまった。しかしながら、織る、編む、以外の方法で作られた e-PTFE Graft ではその取り扱いが容易であって、しかもテフロンの持つ非粘着性と言う特性が血栓の粘着を阻止することが強調されて、それを人工血管、特に小口径人工血管、静脈用の人工血管に使用したという経緯がある。

我々の主眼は、異物反応の少ないテフロンという素材を用い、更にこの構造物に細胞成分を如何にして絡めてゆくかと言う、工夫であった。その為の工夫としては、我々は骨髄組織を e-PTFE Graft の壁内部に取り込ませるため、その亀裂を大きくする操作を行った。一般に市販されている e-PTFE Graft の亀裂の大きさは約30ミクロンである。これでは細胞や組織は絡まらない。もしも無理矢理に絡めたにしても、細胞はその様な狭い活動の場では十分な機能を活気する事はできないであろう。そのため、我々は亀裂を大きくする工夫を行った。しかしながら、亀裂を大きくしすぎると、e-PTFE Graft の壁が力学的に弱くなる、という欠点があった。そこで、e-PTFE Graft の構造自体を変化させて、ぎりぎりの力学的な強度を保ちつつ亀裂を大きくすく工夫を行い、90 から 120 ミクロンと言う、幅の広い亀裂を得ることができて、骨像組織を

絡めることに成功した。

#### 4. 6. 細胞成長因子の活用

次に我々の行った工夫としては、細胞を動かすための細胞成長因子を e-PTFE Graft の壁に固定するための工夫であった。この研究は、本研究をスタートする前から考えていたことであったが、細胞を組み込みやすい人工血管を考える上において、e-PTFE Graft を組織工学的に活用するためにも、是非とも行わねばならない課題であった。

e-PTFE Graft 糊点は血栓が付着しにくいことである。これは鍋の底にテフロン加工が施されている事からも明らかである。しかしながら、テフロンの特徴は欠点ともなりうる。すなわち、テフロン自体は生体内で何の毒性も示さないことから、組織内でのステルス性が発揮される。ところが、細胞がそれに付着しようとしても、血栓と同様に付着の阻止を受ける。したがって、細胞成長因子やサイトカインを働かせて e-PTFE の壁内に細胞を誘導しようとしても、細胞の付着が阻止されると、細胞の活発な活動が期待されない。さらにまた、このような細胞成長因子やサイトカインをテフロンと言う物質は長期間固定して止めておくことができない。そこで我々は、テフロンの構造物の中にそれらを固定できる物質を詰め込み、更には、細胞にとっての良好な足場となる、つまり細胞外マトリックスとしての働きも兼ね備えた物資の組み合わせを行うこととした。

しかしながら、その様な物質は、コラーゲンを代表としてすべて親水性の生体由来物質であって、疎水的な性質の強いテフロンの、しかも狭い亀裂の隙間にそれらを入れることができない。

この点に於いて、我々は特殊な工夫を行うこととした。

具体的には、我々は生体内で吸収されるゼラチンやヒアルロンサンなどの物質を一時的に壁内に絡め、それに細胞成長因子を組み合わせる事を計画した。その為の工夫として、我々は本研究中で、これらの親水性物質を界面活性剤によってマイクロなミセルで包み込み、それを e-PTFE Graft の壁内に入れた後に、そのミセルを破壊して、親水性物質を壁内部に残す方法を開発した。

#### 5. 細胞活動の誘導

組織光学的に考えると、細胞が最も自由に活動できる場が必要であり、更にはその場に細胞を誘導することが必要である。前者の課題はマトリックスの改良で可能となることを前述した。後者に於いてはどのような手段で細胞を誘導するかという大きな問題が残った。そこで、我々は細胞の本能的な性質を活用することにした。それが走性の活用である。

走性とは、自由運動の能力を持つ生物が外部からの刺激に反応して運動をおこし、この運動に方向性が認められたときに、これを走性という。走性は刺激の種類によって、化学走性、重力走性、電気走性、温度走性、流れ走性、音波走性、などに分けられ、いずれの場合にも刺激源に向かって進むときには正、刺激ゲント反対方向に進むときは負と呼ばれる。走性は下等動物の行動に於いて、極めて重要な意義を持っている。我々はその「走性」を活用することとした。

さらに、我々は細胞の持つ接触走性と言う観点から、細胞の挙動を操作する方法も採用している。

具体的に説明すると、組織内の細胞を種々の方

法で刺激して、細胞が周囲の物質との接点に於いての好き嫌いを活用する方法である。

この方法も、前述した走性も、アメリカの研究者と話したときに於いて、私は「Mother Nature」という言葉を用いて説明した。この言葉について、NIHの友人は、それはScientific wordではない。という。ところが同席した研究者は、「その言葉は、非常に理解しやすい。第一、走性（taxis, 例えば chemotaxis とか phototaxis など）は、Scientific に説明できるものではない。したがって、それも歴然とした事実であり、その様な mother nature を活用することが、Tissue engineering の手段として使用することが、新しい考え方だ。お前の新しい考え方は良く分かる。とってくれています。

具体的には、我々は、線維芽細胞が、太さ3ミクロン以下の細い繊維に対して、積極的に付着してくる現象を活用して、growth factor を使用せずに細胞を集め、組織修復に活用する方法を人工血管分野に使用しつつある。我々がこれまで明らかにしたのは、このようにして線維芽細胞を極めて細い繊維に集めると、それらの細胞が栄養を要求して angiogenic growth factor を産生し、自然と毛細血管が侵入してくる。そして組織修復が進むことである。この時、その組織修復の場が血管壁であれば、VEGF の様な growth factor を使用しなくとも、毛細血管が自然に侵入してきて、血管壁が形成されてゆく。この時、更に細胞増殖を促すことで、growth factor も多く産生されるので、細胞活動を効率よく惹起させることが可能であることが判明している。

この現象は、15年ほど前に旭化成の梅香家が、血液細胞の中で、自走能を持つ白血球のみを極

めて細いポリエステル繊維を用いたフィルターで集めることに成功しており、この学術的な原理は解明されないまま臨床に導入されたが、現在の我々の考え方では、細胞の mother nature の活用である。

次に我々が使用した工夫は、成熟した細胞を用いて Blastogenesis を活用する事であるが、これについての詳細は前述したとおりである。我々は、これを有効に活用する工夫を行った。

## 6. 周辺の動向からの情報収集

私どもは、常に研究成果の臨床応用を考えて、その為に研究期間中における周辺の動向からの情報入手し、最も効果的な方法を模索してきたが、その為には常にそれらの臨床応用に関して、臨床現場の要求をできる限り聞くことにしていた。その結果、我々は臨床現場での要求が少しずつ変化していることに気がついた。特に小口径人工血管の開発に置いては、一時期の要求が、下肢の閉塞性動脈に対するバイパス用人工血管の開発であったが、抗血小板剤などの開発が進み、抗凝固療法の技術と、閉塞動脈周辺の側副血行路造成のためのリハビリテーション技術も進んだため、下肢での要求が少なくなったこと、高齢化と食生活の変化によって冠動脈疾患の患者が増加し、心臓関係での要求が一番増加していることであった。

このような調査の結果、我々の独自の工夫も加味して、更に心臓関係の臨床現場の声を聞き、結果手取りには前述した用に、虚血性心疾患に使用可能な血管を心筋組織内に創成する、と言う研究の方向に我々の方針を変更することとした。

## E. 結論

本年度は、3年計画の2年度目にあたる。そして初年度の研究成果を受けて、更に飛躍の年でもあった。これらは全て、組織工学の3要素を常に念頭に置いて思考を深めていった成果である。

これらの研究活動によって、まずは人工血管の枠組みである超極細ポリエステル繊維製の人工血管の作成に成功した。次に、e-PTFE Graft をもちいた人工血管の作成にも成功した。これによって、予期した成果及び副産物の成果をも得ることができた。これらは臨床応用への取り組みとして、企業との共同研究を深く考えている。次に心臓壁での血管創成である。これは現時の所、動物実験レベルでは満足した結果を得ることができた。今後はこの手法が普遍化してゆくように、現実的に企業との共同作業を真剣に考える必要があるだろう。先端医療の技術を活用した治療法の開発に於いては、まずは注目すべき現象として認められる。しかし、これらの原理作りは、大学の研究者レベルで可能であって、企業との組み合わせをどのようにするかを真剣に考える必要が出てきた。

来年度はこのような事も含めた報告ができることを期待している。

## F. 健康危機情報

本研究を遂行するにあたり、基本的には大きな問題点は無かった。しかしながら、実際に臨床を目指しているヒトは、これだけの情報では不十分である。判断しかねる状況も生じうる。したがって、3年度に於いてはこの件にも大いに配慮して、予測される問題点を次々と明らか

にして、先取りした検討を始めるべきと思われる。

又、我が国の企業が嫌うPL法に関して、大学の研究者もよく勉強した上で、それに対する対策を占め実が場ならないと思われる。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

#### 論文報告

1. Yasuharu Noishiki: Dreams for the future in the field of in vivo tissue engineering. *Artificial Organs*, 25;159-163, 2001.
2. Hiroshi Ito, Yu Aso, Masayoshi Furuse, yasuharu Noishiki Teruo Miyata: A homeycomb collagen carrier fo rcell culture as a tissue engineering scaffold. *Artificial Organs*, 25;213-217, 2001.
3. Norihisa karube, tamitaro Soma, Yasuharu Noishiki, Ichiya Yamazaki, takayuki Kosuge, Yukio Ichikawa, Yoshinori Takanashi: Clinical long-term results of vascular prosthesis sealed with fragmented autologous adipose tissue. *Artificial Organs*, 25;218-222, 2001.
4. Yasuharu Noishiki, Yukio Ichikawa, Takayuki Kosuge, Ichiya Yamazaki, Kennji Yamamoto, Takahiro Manabe, Yao Lu, Yoshihisa Yamane: Introductiono of tissue engineering concepts into the field of endovascular grafts; attemptsto solve endoleakage problems of endovascular graft implanted into aortic aneurysms. *Artificial Organs*, 25;228-235, 2001.
5. Yasuharu Noishiki, M.D., Ph.D., Yukio



Ichikawa, Ichiya Yamazaki, Takayuki Kosuge,  
Noriyoshi Karube, Lu Yao: Creation of blood  
vessels in myocardium. 投稿準備中

2. 学会発表

無し。

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

1. 特許取得

現在検討中であるが、まだ具体的に予定は立っ  
ていない。

2. 実用新案登録

無し。

3. その他

特に記すことは、現在のところ全く発生してい  
ない。

## 生体内の環境を活用した組織工学 (in vivo tissue engineering)

横浜市立大学 医学部 野一色泰晴

### 研究のバックグラウンド

今年は本研究が開始されて2年目となる。この間に世界中でTissue Engineeringに対する期待が高まってきた。本研究にとっても、昨年と同様なものの見方だけでは世界の研究にリーダー的なコンセプトを出し続けることはおろか、状況に追従できない状態にもなりかねなくなってきた。

世界の状況のこの1年間での変化は、in vivo tissue engineeringの考え方が広がってきたことであろう。マウスの背中に人間の耳の形態をした構造物を作らせることが人目を引く報告として現れた。このような技術は学術的には何ら新鮮味はないが、臨床的にこれでいけるのではないかと言った期待感を一般の方々に持たせることに貢献したと思われる。そこで次にはこの技術をどのように臨床で活用するかが問われ、さらにもっと新しい進んだアイデアはないものかと、多くの人たちが期待するようになった。このことを考えると、本研究に課せられた期待は大きくなってきたことを私は感じている。

### これまでの研究の総括

我々は骨髄を人工血管に播種して、骨髄組織の産生する細胞成長因子を活用して人工血管内に血管壁を形成させる技術を開発した。この技術はこれまでにない方法であって、人工血管領域のみならず、外科手術一般に細胞性因子産生システムの移植方法として活用されるようになった。

この研究で我々が行わなかったことは、骨髄組織内に含まれる幼弱な未分化細胞、幹細胞の血管壁細胞への分化の過程を追求できなかったことである。しかしながら、骨髄には幹細胞があって、このような細胞は環境の変化に応じて分化するはずである。このようなことから、我々は積極的に未分化細胞を人工血管に用いることを考え、次の研究に移行した。

次に行った研究は腹腔内における幼弱な細胞の活用であった。我々は骨髄以外の組織から幼弱な幹細胞を採取することを考慮してきた、その結果、腹腔内には胎生期の細胞が幼弱なまま残存していることが判明したことから、腹腔内で管腔組織を作成し、そこに幼弱な腹腔内の細胞を集め、ついでその管腔を人工血管として血管の場に植え込むことによってこの幼弱な細胞が、血管という環境の変化に応じてそれぞれ血管内皮細胞や平滑筋細胞、繊維が細胞などに分化し、血管内皮細胞は人工血管内表面を覆い尽くすとともに、その表面からヘパリンなどのムコ多糖類を産生し、その表面での血栓形成を阻止する作用を行う。一方平滑筋細胞は内皮細胞層下に位置し、その長軸を張力、歪みのかかる方向に配列し、周囲に弾性繊維網を形成して、血圧によって生じる血管壁の張力に順応する柔軟で

弾力性のある組織形態を作り上げる。線維芽細胞は人工血管の枠組みとして用いたポリエステル繊維を異物として見なし、異物処理のためポリエステル繊維周囲に集まり、コラーゲン繊維を産生して線維性の結合組織を形成する。

このように、ここの細胞がそれぞれの場に応じて環境によって分化の方向付けが定められ、その結果、組織全体として血管壁組織へと分化してゆくことを確認した。

この研究によって、幼弱な細胞を用いて幼弱な組織を形成させ、その組織を環境を変化させることによって高機能組織へと組織分化させることが可能となることが明らかとなった。

### 本年度の研究の主眼

次に行った研究は、骨髄組織や腹腔内組織に頼らずに、一般の体組織から幼弱な細胞を集める方法の開発である。このために我々は Blastogenesis という現象を活用した。一般に細胞は成長過程にある組織内では活発に細胞分裂を繰り返し、組織形成を行う。しかしながらひとたび組織が形成されると、その維持管理のために、あるいは代謝作用によって細胞死があった場合のみ細胞分裂が行われ、新たな細胞が生まれる。小腸の内面粘膜組織のように、非常に活発に細胞死と細胞分裂の行われる組織もあれば、脳組織のように、ひとたび組織が形成されると、もはや新たな細胞分裂がほとんど行われない組織もある。また皮膚組織のように、徐々にではあるが、常に新たな細胞分裂が行われ、表皮を押し上げつつ、最上層階の細胞が細胞死を迎えている組織もある。

このような組織の中であって、一般的な多くの組織では、細胞は組織が傷害を受けた場合のみ細胞分裂を活発に行い組織修復を行うが、平時は細胞分裂をあまり行わないのが常である。そこでこのような組織内で活発な幼弱な細胞を集める方法として、細胞集積装置を開発した。

この装置は多孔性のシリコーン袋の中に細胞の進入に適した足場としてのコラーゲンスポンジを入れた、単純な構造物である。この装置を皮下組織や肝臓、脾臓、腹腔漿膜などの近くに置くことによって、それらの組織内から遊走能や分裂能の高い、好奇心の旺盛な細胞を集めることが出来る。遊走能の高い細胞が必ずしも幼弱な細胞とは限らないが、活性度が高いという意味からは、細胞分裂能力も高く、幼弱な細胞、もしくは幼弱化した細胞が多く含まれているということが考えられる。すなわち、このような装置を組織の近くに置くことによって、その刺激で平時にはじっとしている細胞がとたんに細胞の遊走活動を開始し、そして細胞分裂を繰り返して、装置内の新たな環境の場へと進んできている。これがいわゆる Blastogenesis, 若返り現象、である。この若返り現象を積極的に惹起させることによって幼弱な細胞を積極的にかつ選択的に集積させることが可能となった。

このような装置で集めた細胞には、細胞分裂の活発な細胞に特有な PCNA 染色で陽性に染め出される細胞が多く含まれていることが判明しており、この装置で幼弱な細胞を選択的に集めることが可能であることが判明した。

ではこのようにして集めた細胞をどのようにすれば活用可能であろうか。我々は Blastogenesis はあらゆる組織で起きうるのではないかと考えている。たとえ神経細胞でも刺激によって細胞分裂がみ

られることは近年明らかとなってきた。そこでこのような刺激で必要な組織から幼弱な細胞を集めて、それを用いて組織構築を行わせると、ハイブリッド型人工臓器が *in vivo* で創製させることが可能となる。例えば、肝臓内部にその装置を置くことによって、幼弱な肝細胞を集めることも可能となるであろう。そうすると人工肝臓が効率よく作成できる可能性が出てくる。従って、工夫次第でこの Blastogenesis を活用した装置の応用範囲は広がると期待される。

#### 次の研究の方向性

これまでの研究の流れから、幼弱な細胞の活用、骨髄細胞の利用、腹腔内の幼弱な幹細胞の利用、成熟した組織から幼弱な細胞を集積する方法の開発、ときたので、今後は選択的に幼弱な細胞を選別して新たな組織を作成するつもりである。

我々は本研究の根底に血管壁の形成を掲げていることから、これまでの手法を改良して、選択的に血管壁を構成する細胞を集積させ、それらの細胞で幼弱な、しかも血管組織に近似した構造物を作り上げ、それを血管という場に移すことによって、ここの細胞がその場に応じた細胞分化を起こし、組織も全体として組織分化を起こすことによって、効率のよい血管壁の形成が行われる様な手法を確立してゆく予定である。