

Netherlands, Oct. 8-11, 2006.

- 3) 船本誠一、江橋 具、菊池正博、小林泰彦、山岡哲二、岸田晶夫、藤里俊哉、中谷武嗣.  
コバルト60による $\gamma$ 線を用いた生体由来組織の脱細胞化処理. 第44回日本人工臓器学会大会、横浜、10月31日-11月2日、2006年.

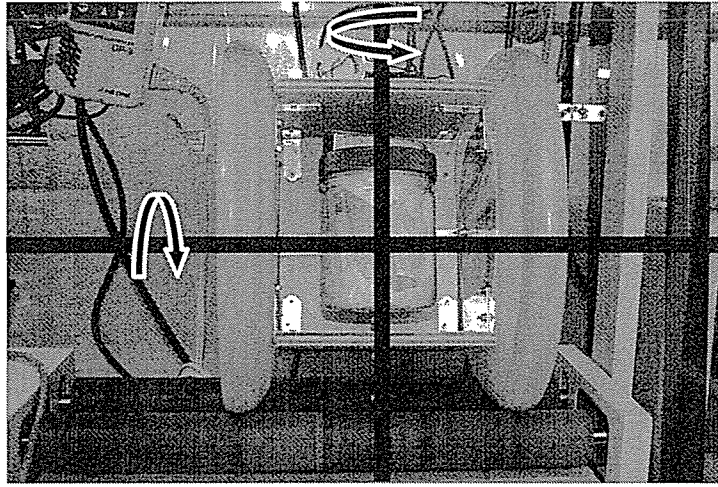


图 1. 回轉型細胞播種裝置

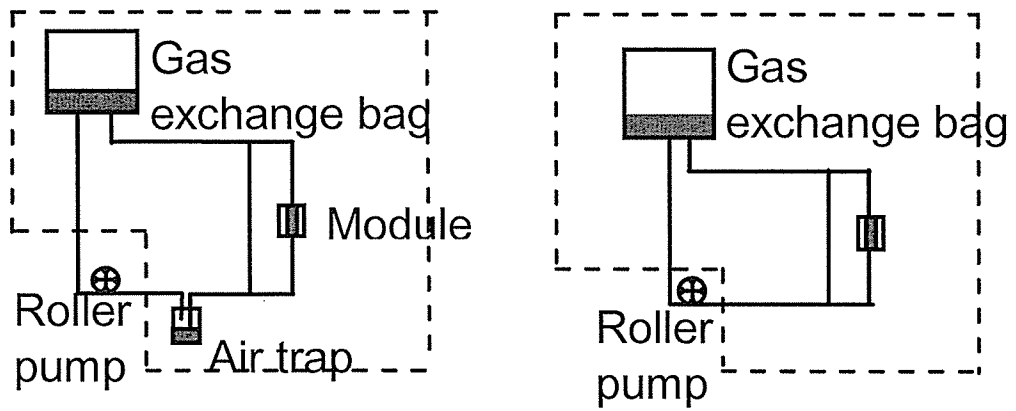


图 2. 循環培養回路（左：定常流（血管）、右：拍動流（弁））

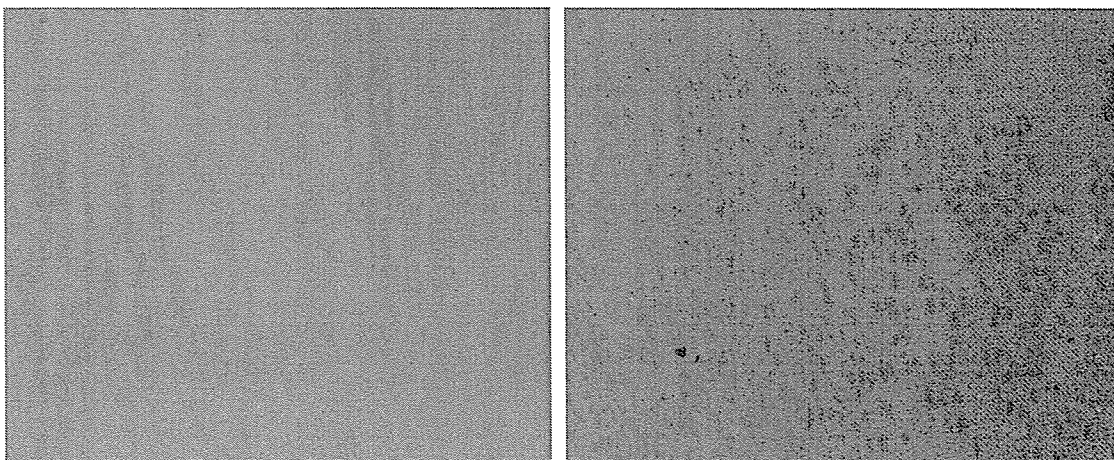


图 3. 血管壁內膜表面（左：細胞未播種、右：細胞播種後）

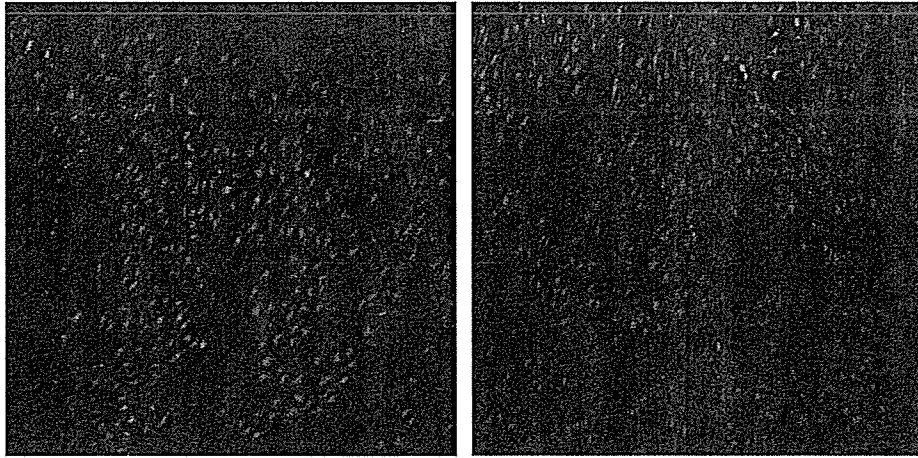


図4. 血管壁内膜表面（左：循環培養、右：静置培養）

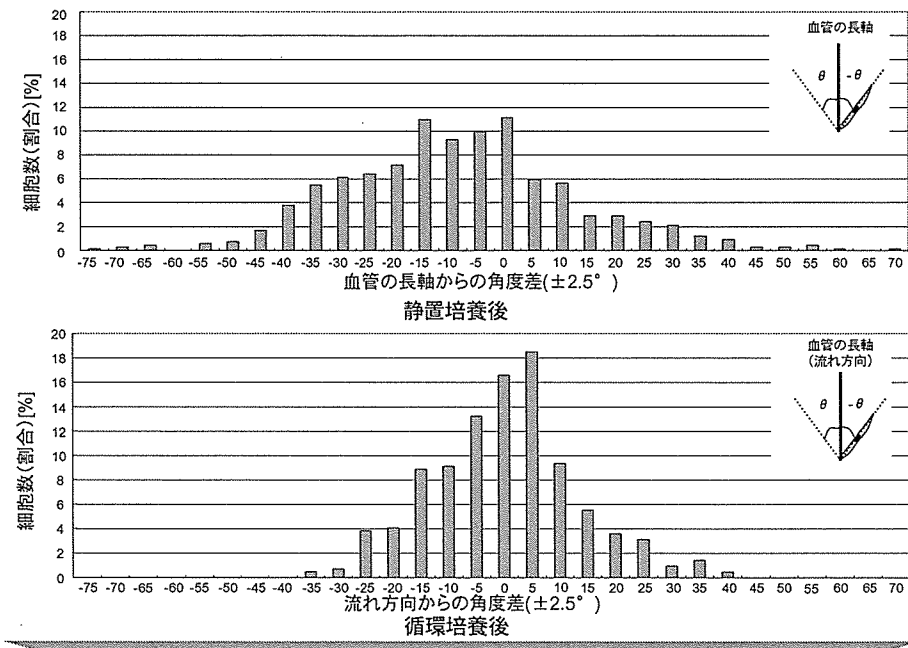


図5. 血管壁内膜表面での細胞の配向

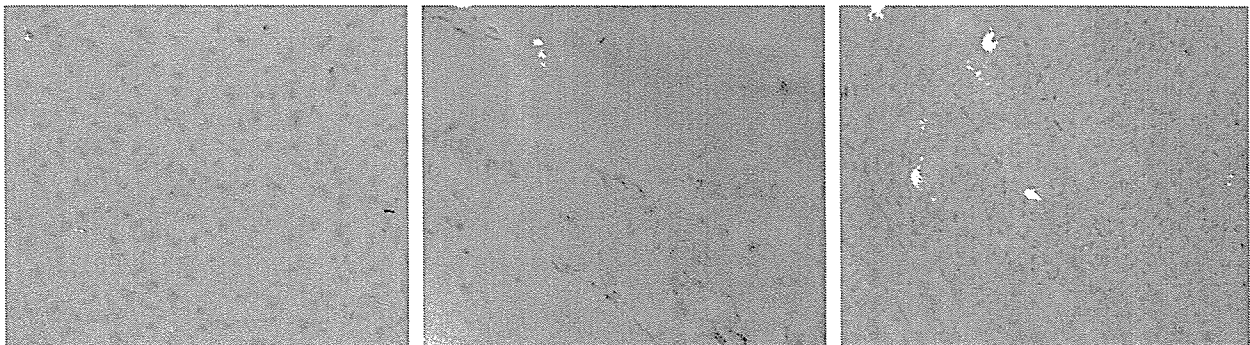


図6. 大動脈弁表面（左：導管部、中：弁膜上部、右：弁膜下部）

再生医療型素材の動物実験（ヒト組織の脱細胞化処理）

分担研究者 庭屋和夫 国立循環器病センター心臓血管外科医長

研究要旨 昨年度までに開発した脱細胞化処理条件（パワーグラフト処理）をヒト組織に適用し、ブタ組織と同様に脱細胞化できるかどうかを検討した。その結果、ブタ組織と同様に力学特性を維持しつつ、完全に脱細胞化できることが確認できた。また、細菌感染によって移植に適さないとされた組織であっても、脱細胞化処理過程において細菌を除去できることがわかった。

A. 研究目的

我が国では、現在年間1万件を越える心臓弁置換術が行われている。使用される置換弁の内訳として、約7割を占めるのが機械弁である。現在主流となっているパイロライトカーボン製二葉弁タイプの機械弁は、心臓弁としての血行動態に優れており、一生の使用に耐え得るだけの耐久性を有している。しかし、血栓形成を抑制するための抗凝固剤を服用し続けなければならない、定期的な血液検査や食事制限といったQOLの低下は避けられない。機械弁以外の置換弁として約3割で使用されているのが、ブタ心臓弁をグルタルアルデヒドで化学処理した異種生体弁である。異種生体弁は優れた血行動態を有しており、血栓も形成されにくいことが利点である。しかし、石灰化などにより弁葉が破断するなど耐久性に問題があり、一般的に置換後10年から15年での再手術を必要とする。第3の選択肢として、死体や脳死患者から提供され凍結保存されているヒト生体弁、所謂、同種生体弁がある。近年、組織バンクの整備が進み、徐々にではあるが優れた成績が報告されている。しかしながら、同種生体弁の日本国内における提供量は絶対的に少なく、その使用割合は現在のところ1%以下に留まっており、今後も提供量が増大することは考えにくい。現在使用されているこれらの置換弁は、いずれも不全弁の機能を代行することのみを目的としているため、患者の体内では永久的に異物として存在し続ける。また、置換弁には患者の成長に合わせた成長能が備

わっていないため、小児患者への適応には問題が残る。近年、これらの問題を解決するために、組織工学的手法を用いた再生型移植用生体弁の研究が盛んに行われている。患者自身の自己弁組織を再構築し、その機能を回復させることを目的としており、再生弁組織には成長性の獲得も期待されている。一般的には、脱細胞化したブタ弁組織、あるいはポリマー製人工弁組織を用いた様々な研究が行われている。

我々は、同種あるいは異種心臓弁組織から細胞成分を除去した脱細胞化組織に、患者の細胞を組み込んだテーラーメイド型組織移植を目指している。自己以外の生体組織から細胞成分を除去して残存した組織の骨格を、自己細胞の足場（スキャフォールド）として利用し、自己組織に近い移植用組織を予め生体外で作製することにより、移植後、生体内で完全に自己組織化することが期待出来る。昨年度までの研究から、ブタ心臓弁組織に超高静水圧を印加して、ブタ由来細胞を破壊した後に洗浄することで、界面活性剤を用いずに組織から細胞成分を除去し得ることを確認した（パワーグラフト法）。さらに、この技術により得られた脱細胞化ブタ心臓弁組織の引張り特性は、脱細胞化前の生体組織とほぼ同等であることも確認した。本研究では、パワーグラフト法をヒト組織に適用することにより、脱細胞化ヒト組織を臨床応用することを目標としている。

## B. 研究方法

ブタ心臓弁: 屠殺直後(株) ジャパンファーム) に採取した食用ブタの心臓を、保冷下で輸送し、解体して大動脈弁組織を分離した。生理食塩水で洗浄した後、試験実施までの間、4℃のPBS(5%ペニシリンおよびストレプトマイシン含有)中で保存した。

ヒト心臓弁: 国立循環器病センター組織保存バンクより、凍結保存された移植用ヒト心臓弁組織の提供を受けた。組織保存バンクより凍結状態で輸送された組織を、臨床で使用される場合と同じ手順で解凍し、試験に供した。

脱細胞化処理(パワーグラフト法): 解凍したヒト組織から保存液を洗浄除した後、冷間等方圧加圧装置(株)神戸製鋼所製Dr. CHEF)を用いた10分間の低温下超高圧印加処理(4℃、980MPa)によってドナー細胞を破壊し、PBSをベースとする洗浄液およびエタノールで2週間攪拌洗浄した。

DNA定量: 解凍直後の組織および脱細胞化組織から組織小片を採取し、DNA抽出キット(Qiagen, DNeasy Tissue Kit)を用いてDNAを抽出し、分光光度計(株)島津製作所製、UV-1650PC)を用いて紫外領域(230~280nm)の吸収スペクトルを測定した。

組織観察: 解凍直後の弁葉組織および脱細胞化処理後の弁葉組織に対して、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、光学顕微鏡下で組織観察を行った。

細菌学的検査: 解凍直後の組織および脱細胞化組織から組織小片を採取し、シェドラー培地に接種して増菌培養試験を行った。また、別組織小片を滅菌生理食塩水中でホモジナイズし、血液寒天培地(CO<sub>2</sub>培養)、チョコレート寒天培地(CO<sub>2</sub>培養)、ブルセラHK培地(嫌気培養)、シェドラー培地にそれぞれ接種し培養試験を行った。

引張り試験: 解凍直後および脱細胞化処理後の大動脈弁組織を解体し、引張り試験片形状に切り出して試験に供した。各弁葉の円周方向および半径方向に対して引張り試験(株)オリエンテック製万能試験機)を行った(図1、2)。試験片幅は3mm、クロスヘッドスピードは20mm/min、チャック圧は150g/mm<sup>2</sup>とし、試験片-チャック間には、滑り防止のために耐水ペーパーを使用した。デジタルマイクロメータを用いて試験片の長、短軸方向

の長さを測定した後、試料表面の水分を濾紙で拭き、重量と比重を測定して断面積を算出し、真力-歪み曲線を求めた。

(倫理面への配慮)

動物実験における動物愛護上の配慮は、「動物の愛護及び管理に関する法律」(平成17年6月22日公布)及びこの法律を受けた「実験動物の飼育及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(平成18年4月28日環境省告示)、実験動物の適正な実施に向けたガイドライン(平成18年6月1日日本学術会議)等に基づき、当施設の実験動物委員会で承認された方法で行った。具体的には、上記法律及び基準に則った国立循環器病センター実験動物管理施設の指針に従い、適切な麻酔剤及び鎮痛剤を用いて動物の苦痛の軽減に努めるとともに、実験計画を綿密に練ることにより、不要な動物実験を避け必要最低限の頭数で目的を達成するように努めた。

研究に利用されるヒト組織は、厚生労働省の指針に沿って、臨床応用に適さない場合の研究目的の使用に関して「屍体からの人組織採取・保存・利用に関する取扱い基準」に従い、組織提供の際の説明(インフォームドコンセント)により文書での同意を得ることで、施設内倫理委員会から承認を得た。さらに、今回本研究に用いるヒト組織では、提供時に「医学的問題で移植に使用することができない組織は、組織移植医療推進のための教育・研究にも用いられることを併せて承諾します」とされている組織について、日本組織移植学会の「ヒト組織を利用する医療行為の倫理的問題に関するガイドライン」(平成18年7月29日改訂)に沿って倫理委員会の承認を得て、使用した。

## C. 研究結果

DNA定量: 図3に、パワーグラフト処理前後のヒト大動脈弁組織から抽出した溶液の吸収スペクトルを示した。解凍直後の組織から抽出した溶液のスペクトルには、明らかにDNAの吸収が認められるのに対して、パワーグラフト処理後にはDNAの吸収は認められなかった。

細菌学的検査: 表1に、細菌培養検査結果を示した。パワーグラフト処理前において、組織小片、ホモジナイズ試料ともに細菌(*Streptococcus constellatus*)が検出されたのに対し、パワーグラフト処理後にはいずれの場合も細菌は検出さ

れなかった。

引張り試験：図4に、ネイティブブタ心臓弁の円周方向と半径方向における代表的な応力-歪み曲線を示した。円周方向と半径方向とで大きな異方性が存在していることがわかった。図5には、円周方向断面と半径方向断面のエラスチカ・ワン・ギーソン（E V G）染色写真を示した。円周方向には配向したコラーゲン線維が多く見られるのに対して、半径方向には連続した線維が見られず、このことが応力歪み曲線に顕著な異方性として現われたものと考えられる。この異方性は、大動脈弁の3弁葉（右冠尖、左冠尖、無冠尖）のいずれにも同様に認められ、弁葉の力学特性を評価する上で試験方向の重要性を示唆する結果である。図6に、ネイティブヒト心臓弁とネイティブブタ心臓弁の、円周方向における応力-歪み曲線を示した。ヒト弁葉の破断応力はブタ弁葉のそれよりも若干低かった。生体組織の力学特性を評価する際、個体差の影響を無視することは出来ず、また、同一個体であっても年齢によって組織の物性は変化するため、さらに試料数を増やして検討する必要がある。図7に、再生型心臓弁とネイティブブタ心臓弁の円周方向における応力-歪み曲線を示した。再生型心臓弁の破断応力は、ネイティブの結果と比較して大幅に上昇していた。しかし、破断荷重で比較した場合、ネイティブ心臓弁と再生型心臓弁はほぼ同等の値を示したことから、破断応力の差は脱細胞化処理による弁葉の厚さの減少を意味していると考えられる。超高静水圧印加処理とその後の洗浄処理過程において、グリコサミノグリカンなど保水性成分が喪失したものと推察された。しかしながら、先述のように破断荷重に顕著な差は認められず、弁葉の強度に寄与するコラーゲン線維は脱細胞化処理後も保存されていると考えられる。

#### D. 考察

米国では凍結保存した同種組織移植が商業化されており、例えば代表的企業であるクライオリフ社（ジョージア州）では、1年間に心臓弁を2,800個、血管を3,200本も出荷し、30億円以上を売り上げている（2003年度、同社年次報告）。それでもなお提供数が足りないとして、同社は抗原性除去処理（SynerGraft®処理）したブタ組織を商品化した。しかし、患者の死亡事故や処理方法

の安全性への疑念から、米国食品医薬品局の指導によって現在は製造中止状態にある。再生血管としては、既に生体内分解吸収性材料を基材とし、東京女子医科大学大学院の新岡教授（現、米国エール大学教授）らが小児患者の静脈再建において優れた臨床結果を報告している。しかし、臨床現場で使用できる吸収性材料は限られており、かつ加水分解によって非生物学的に分解するため、分解速度の制御が容易ではなく、動脈を対象とした場合では分解に伴う強度不足による破断の恐れがあり、臨床応用は未だに為されていない。我々が用いている脱細胞化組織は、移植後に浸潤してきた細胞によって分解・置換されると考えられるため、吸収性材料とは異なり、自己組織化が達成される以前の強度低下が抑制される。我々の脱細胞化心臓弁では、左心系への移植では全ての移植例で組織の破断等の所見は見られなかった。また、組織内への細胞浸潤も良好であった。肺動脈弁では弁機能を含め、特に問題が認められなかったが、大動脈弁では石灰化が認められた。昨年度は、肺動脈弁と大動脈弁における石灰化の相違について検討するため、脱細胞化肺動脈の大動脈位への置換移植を行った。その結果、大動脈組織と比較して、細胞の浸潤は良好で、内膜肥厚や石灰化もほとんど認められなかった。これらの大動物実験の結果から、肺動脈弁と大動脈弁の組成や厚みの違いにより細胞浸潤速度が異なること、また、石灰化の開始点となりうるエラスチン含有量の差も石灰化に起因していると考えられた。

本年度は、脱細胞化異種組織に求められる材料物性面の移植基準についての検討と、脱細胞化同種組織移植の可能性を検討することを目的として、我々の開発した脱細胞化処理（パワーグラフト処理）をヒト組織に対して適用した。そして、得られた脱細胞化ヒト大動脈組織の材料物性試験、および安全性試験として細菌学的検査を行った。その結果、脱細胞化ブタ大動脈組織は、引張り特性から判断してヒト大動脈位への移植に耐えうるだけの物性を有していると考えられた。さらに、細菌への感染が認められる組織を、パワーグラフト処理によって滅菌出来得ることを確認した。

組織バンクでは、細菌感染を理由に移植適応外と判断された組織が存在しており、さらには、感染しているにも関わらず検出されなかった細菌

類が、移植後に不全の原因となった事例も報告されている。我々の開発したパワーグラフト処理によって、細菌感染組織を滅菌することが可能であり、高い安全性を確保することが可能である。さらに、パワーグラフト処理によって脱細胞化したヒト大動脈弁組織は、脱細胞化ブタ大動脈弁組織と同様に、移植に耐えうる物性を保持出来ていることから、再生型置換弁として臨床応用出来る可能性は高いと示唆された。

## E. 結論

我々の開発した再生型心臓弁は移植に耐えうる強度を有していると判断できた。再生型心臓弁を臨床試験へ進めるため、さらに疲労耐久試験など他の試験も検討中である。

### 研究協力者

寺田堂彦 国立循環器病センター再生医療部

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Fujisato T, Niwaya K, Minatoya K, Kishida A, Nakatani T, Kitamura S. Reduction of Antigenicity and Risk of Infection in Regenerative Tissue Transplantation by Cold Isostatic Pressing. High Press Biosci Biotech 2007; 1(1): 161-5.

### 2. 学会発表

- 1) 藤里俊哉、岸田晶夫、湊谷謙司、庭屋和夫、中谷武嗣、北村惣一郎. 生物組織の再生医療への応用. 第45回日本生体医工学会大会、福岡、5月15-17日、2006年.
- 2) 藤里俊哉、寺田堂彦、湊谷謙司、吉田謙一、庭屋和夫、永谷憲歳、岸田晶夫、中谷武嗣、北村惣一郎. 脱細胞化組織を用いた再生型動脈移植における石灰化抑制の試み. 第5回日本組織移植学会総会・学術集会、東京、8月
- 3) 藤里俊哉、寺田堂彦、吉田謙一、湊谷謙司、庭屋和夫、中谷武嗣、北村惣一郎、木村 剛、岸田晶夫、澤田和也. 生体組織構造を利用した再生型人工血管. 第55回高分子討論会、富山、9月20-22日、2006年.
- 4) Fujisato T, Niwaya K, Minatoya K, Kishida A, Nakatani T, Kitamura S. Reduction of

antigenicity and risk of infection in regenerative tissue transplantation by cold isostatic pressing. The Fourth International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology, AIST, Tsukuba, Japan, Sept. 25-29, 2006.

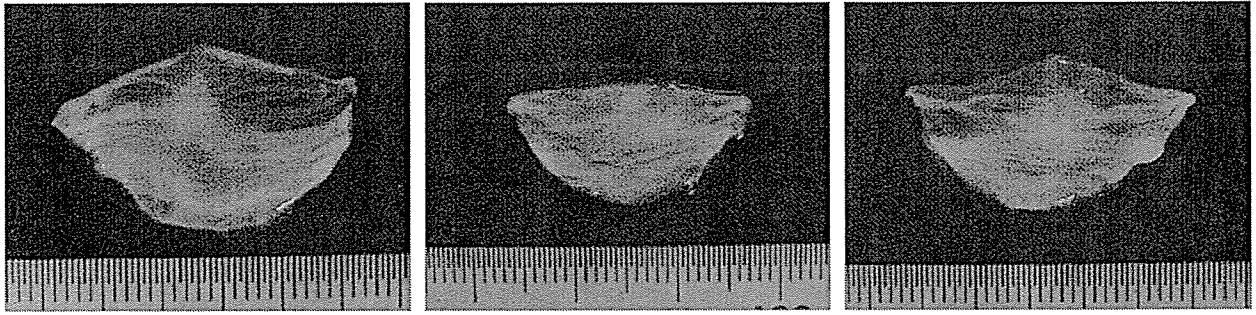


図1. ネイティブのブタ大動脈弁（左：右冠尖、中：無冠尖、右：左冠尖）

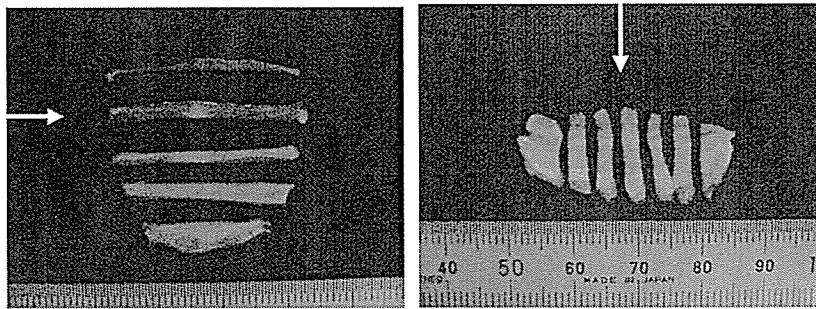


図2. 引張試験片（左：円周方向、右：半径方向）

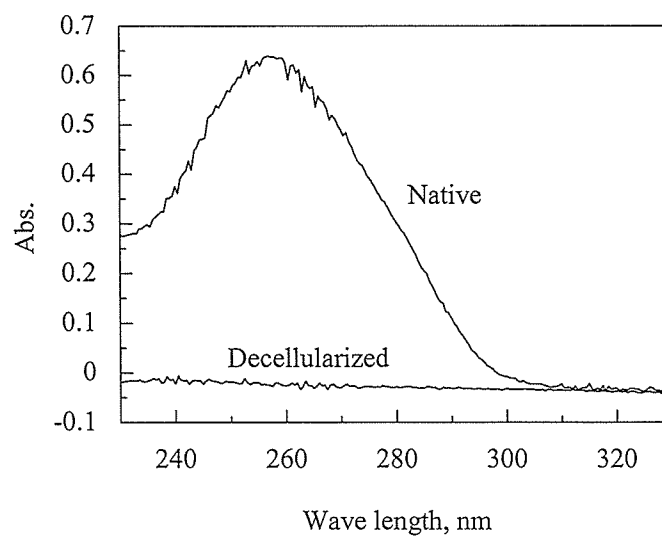


図3. 組織抽出液の吸収スペクトル



表 1. 細菌培養検査結果

<i>Streptococcus constellatus</i>		
	fragment sample	homogenized sample
Native tissue	(+)	2+
Decellularized tissue	not isolated	not isolated

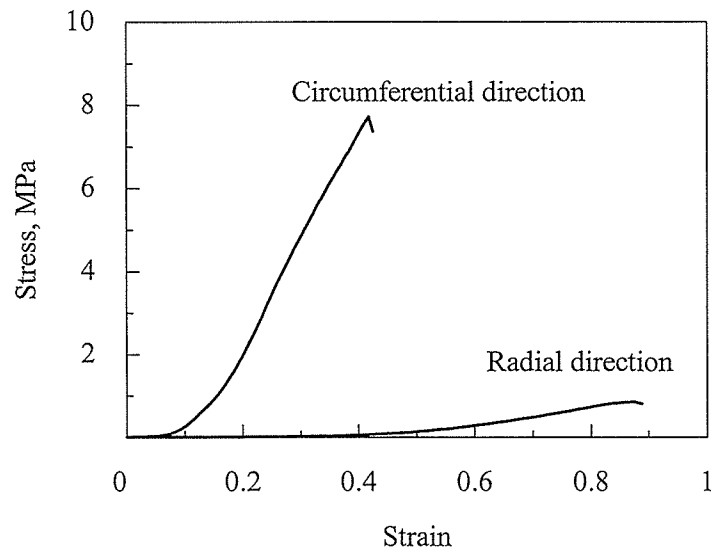


図 4. ネイティブブタ心臓弁の応力-歪み曲線

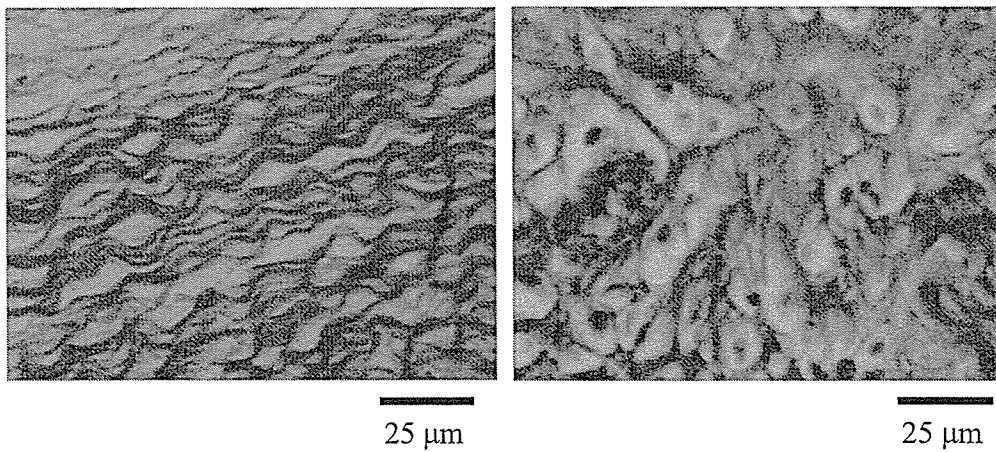


図 5. ネイティブブタ心臓弁のEVG染色（左：円周方向、右：半径方向）

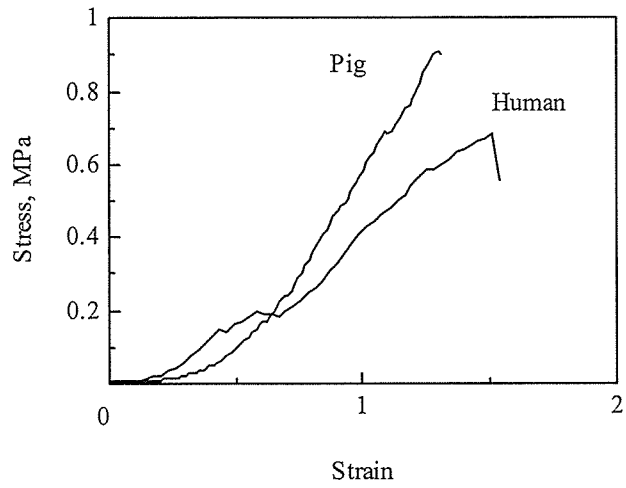


図6. ネイティブ心臓弁の円周方向の応力-歪み曲線

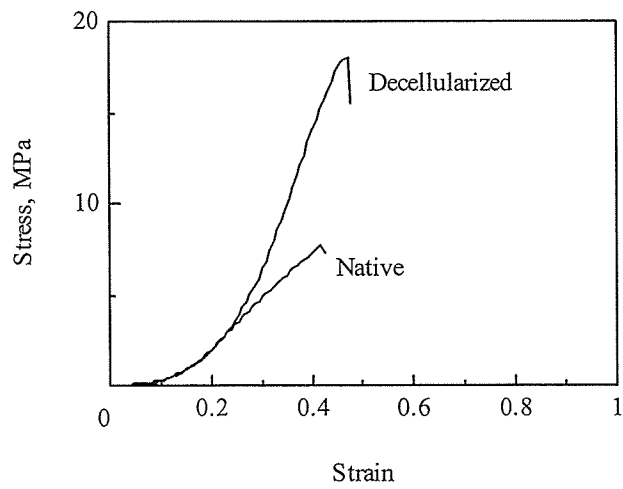


図7. ブタ心臓弁の円周方向の応力-歪み曲線

厚生労働科学研究費補助金（基礎研究成果の臨床応用推進研究事業）  
分担研究報告書

再生医療型血管の動物実験（細胞・エラスチン除去組織の移植）

分担研究者 湊谷謙司 国立循環器病センター心臓血管外科医師

研究要旨 真空熱架橋と酵素処理を組み合わせることによって、ブタ下行大動脈組織から力学特性を有効に維持したまま細胞およびエラスチンを除去することができた。得られた移植片を同種ミニブタに同所性に移植したところ、脱細胞化組織と比較して移植後の再細胞化を促進し、石灰化も顕著に抑制できることがわかった。

#### A. 研究目的

人工血管は、内径4mm以上の中大口径のものに限れば既に完成された技術であり、我が国では年間約5万本が使用されている。しかし、移植後も異物のままであり、自己細胞の浸潤による自己組織化が達成されないため、移植後の成長性がなく、感染に対しても非常に弱い。近年、我が国においても組織バンクネットワークが整備され、脳死あるいは心停止者から提供された血管や心臓弁、皮膚等組織の臨床使用が開始された。提供された同種動脈は、人工血管感染における大動脈・動脈の再建や、感染性大動脈瘤における大動脈・動脈の再建、あるいは生体肝移植等の臓器移植時における動脈再建などに使用される。また、冠動脈や末梢血管等で小口径の場合では、人工血管が使用できないため、自己血管を用いたバイパス術や同種血管の使用が第一選択肢となっている。しかしながら、米国では組織バンクが商業ベースで行われており、年間数千件以上の提供組織が臨床使用されているのに対し、我が国では年間数十件に留まっており、圧倒的に提供数が不足している。本研究では同種動脈の不足を補うべく、再生型素材を用いた再生型血管移植技術を開発する。本分担研究では、ミニブタを用いた動物実験によって、無細胞化した下行大動脈を、同種ミニブタの下行大動脈と置換手術をすることによって、移植後の自己組織化について検討している。これまでの同種移植実験では、移植後組織内の石灰化が認められ、その原因として組織内に残存したリン

脂質や、エラスチンの変性が考えられた。これを解決すべく、昨年度はコラーゲン成分や生体力学特性を保持したまま、エラスチンを除去する方法について検討した。本年度は、細胞およびエラスチンを除去した下行大動脈の動物移植実験の結果について報告する。

#### B. 研究方法

脱細胞化処理：クラウン系ミニブタ（株）ジャパンファーム）から清潔下にてブタ心臓を摘出し、大動脈弁を採取した。凍結乾燥後、真空オーブン内で120℃にて24時間静置することで熱架橋処理を施した。続けてエラスターゼ溶液（0.57 μg/ml、pH8）中で37℃にて振盪処理することによって、エラスチンを分解除去した。洗浄後、さらに80%エタノール水溶液中で37℃にて振盪処理することによって、リン脂質を抽出除去した。得られた大動脈を組織学的に観察するとともに、組織内の残存DNA量及びリン脂質量を定量した。また、引張試験によって生体力学特性を検討した。

移植実験：クラウン系ミニブタを用い、左側臥位第4肋間開胸下行大動脈置換術にて、脱細胞化同種大動脈弁導管による大動脈置換手術を行った。術後3ヶ月及び6ヶ月において、それぞれ3頭ずつから移植組織を摘出し、HE染色、抗vWF（血管内皮細胞）、及びvon Kossa染色（石灰化）等によって組織学的所見を検討した。

#### (倫理面への配慮)

動物実験における動物愛護上の配慮は、「動物の愛護及び管理に関する法律」(平成17年6月22日公布)及びこの法律を受けた「実験動物の飼育及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(平成18年4月28日環境省告示)、実験動物の適正な実施に向けたガイドライン(平成18年6月1日日本学術会議)等に基づき、当施設の実験動物委員会で承認された方法で行った。具体的には、上記法律及び基準に則った国立循環器病センター実験動物管理施設の指針に従い、適切な麻酔剤及び鎮痛剤を用いて動物の苦痛の軽減に努めるとともに、実験計画を綿密に練ることにより、不要な動物実験を避け必要最低限の頭数で目的を達成するように努めた。

#### C. 研究結果

図1に示したように、本処理を施したブタ大動脈組織内では、エラスチン繊維が完全に除去され、コラーゲン繊維のみが残存していた。これに伴って組織内の空隙の増加も観察された。空隙の増加は、移植後の細胞浸潤及び自己組織化を促進することが期待できる。また、組織内の残存DNA及びリン脂質量は、いずれも未処理組織の10%以下であった。

一方、図2に示したように、エラスチンの分解に伴って破断強度は未処理大動脈よりも低下したが、未処理肺動脈よりは大きかった。弁膜症患者で施行されるロス手術では肺動脈弁を大動脈位に移植するが、肺動脈導管の破断等は認められないため、肺動脈以上の強度を有していれば、移植用組織として用いることができると考えられる。

ミニブタ大動脈から作成した再生型人工血管を同所性に置換移植したミニブタは、全例で死亡を認めなかった。図3に、移植6ヶ月後に摘出した移植片の所見を示した。組織の拡張や瘤化を認めず、内腔面にも血栓は認めなかった。また、石灰化の所見も認めなかった。

図4に、移植6ヶ月後に摘出した移植片の組織像を示した。全ての領域が再細胞されており、昨年度までの脱細胞化組織と比べて、より早期の細胞浸潤が認められた。しかし、エラスチン線維の再生はほとんど認められなかった。また、石灰化は軽微であった。

#### D. 考察

生体組織を用いた再生型組織移植では、組織内の細胞成分を界面活性剤にて除去した脱細胞化組織の臨床応用例が海外のグループにて既に報告されている。我々も、超高静水圧処理にて脱細胞化処理した心臓弁や血管の動物実験を行ってきた。ミニブタ同種移植実験の結果から、肺動脈組織では優れた成績を認めたものの、大動脈組織では移植後の石灰化を認めた。この原因について検討したところ、脱細胞化処理後のリン脂質の残存及びエラスチン線維の変性の可能性が考えられた。本研究では、生体組織内からのエラスチン線維の除去について検討した。昨年度は、酵素処理の前段階としてグルタルアルデヒドによる架橋を実施したが、グルタルアルデヒド自体が石灰化を誘発する因子との報告もある。そこで本年度は、前段階として真空熱架橋を実施した。その結果、グルタルアルデヒドと同様に、適切な条件を選択することによって、生体力学特性を有効に維持したまま、組織内のエラスチンを除去することができた。得られた移植片を同種移植したところ、移植後の石灰化を顕著に抑制できることがわかった。しかし、エラスチンは血管組織の力学特性を担う重要な成分であり、移植後の早期の再生が望まれる。本年度の移植実験結果からは、エラスチン線維の再生は確認できなかったが、吸収性材料をスキャフォールドとする他の研究グループからは、エラスチンの再生も報告されている。石灰化抑制および再細胞化の促進の目的のためには、細胞およびエラスチンを除去した血管組織は極めて有効であると考えられる。

#### E. 結論

石灰化の原因であると推定されたエラスチンを除去する方法について検討したところ、真空熱架橋処理後にエラスターゼ処理することで、組織内のエラスチンを完全に除去することが可能であった。同種移植の結果から、石灰化を顕著に抑制しうることがわかった。

#### 研究協力者

汪 黎明 国立循環器病センター臓器移植部  
吉田謙一 (財)先端医療振興財団  
玉井克明 鈴鹿医療科学大学  
染川将太 鈴鹿医療科学大学

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Fujisato T, Niwaya K, Minatoya K, Kishida A, Nakatani T, Kitamura S. Reduction of Antigenicity and Risk of Infection in Regenerative Tissue Transplantation by Cold Isostatic Pressing. High Press Biosci Biotech 2007;1(1): 161-5.

2. 学会発表

1) Fujiasto T, Sasayama N, Minatoya K, Yoshida K, Funamoto S, Kishida A, Shirasu A, Nakatani T, Takano H, Hattori H. Host Cell Infiltration to Implanted Vascular Grafts Made of Collagen Fibers in Porcine Model. Society For Biomaterials 2006 Annual Meeting, Pittsburgh, USA. Apr26-29, 2006.

2) 藤里俊哉、岸田晶夫、湊谷謙司、庭屋和夫、中谷武嗣、北村惣一郎. 生物組織の再生医療への応用. 第45回日本生体医工学会大会、福岡、5月15-17日、2006年.

3) 藤里俊哉、寺田堂彦、湊谷謙司、吉田謙一、庭屋和夫、永谷憲歳、岸田晶夫、中谷武嗣、北村惣一郎. 脱細胞化組織を用いた再生型動脈移植における石灰化抑制の試み. 第5回日本組織移植学会総会・学術集会、東京、8月26日、2006年.

4) 藤里俊哉、寺田堂彦、吉田謙一、湊谷謙司、庭屋和夫、中谷武嗣、北村惣一郎、木村 剛、岸田晶夫、澤田和也. 生体組織構造を利用した再生型人工血管. 第55回高分子討論会、富山、9月20-22日、2006年.

5) Fujisato T, Niwaya K, Minatoya K, Kishida A, Nakatani T, Kitamura S. Reduction of antigenicity and risk of infection in regenerative tissue transplantation by cold isostatic pressing. The Fourth International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology, AIST, Tsukuba, Japan, Sept. 25-29, 2006.

6) 湊谷謙司、藤里俊哉、吉田謙一、船本誠一、荻野 均、中谷武嗣、北村惣一郎. 脱細胞化処理した下行大動脈並びに肺動脈同種移植実験の検討. 第59回日本胸部外科学会定期学

術集会、東京、10月1-4日、2006年.

7) Fujisato T, Yoshida K, Terada D, Sawada K, Funamoto S, Minatoya K, Kishida A, Nakatani T, Kitamura S. Residual phospholipids may cause calcification in acellular aortic tissue transplantation. Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society European Chapter Meeting 2006, Rotterdam, The Netherlands, Oct. 8-11, 2006.

8) 湊谷謙司、藤里俊哉、吉田謙一、船本誠一、中谷武嗣、北村惣一郎. 脱細胞化による新しい動脈グラフトの開発; プタ同種移植実験における石灰化軽減のための方策. 第44回日本人工臓器学会大会、横浜、10月31日-11月2日、2006年.

9) 玉井克明、染川将太、湊谷謙司、吉田謙一、藤里俊哉、森反俊幸、永谷憲歳、岸田晶夫、中谷武嗣. 脱細胞化大動脈組織内の残存リン脂質除去によるミニプタ同種移植での効果. 第6回日本再生医療学会総会、横浜、3月13-14日、2007.

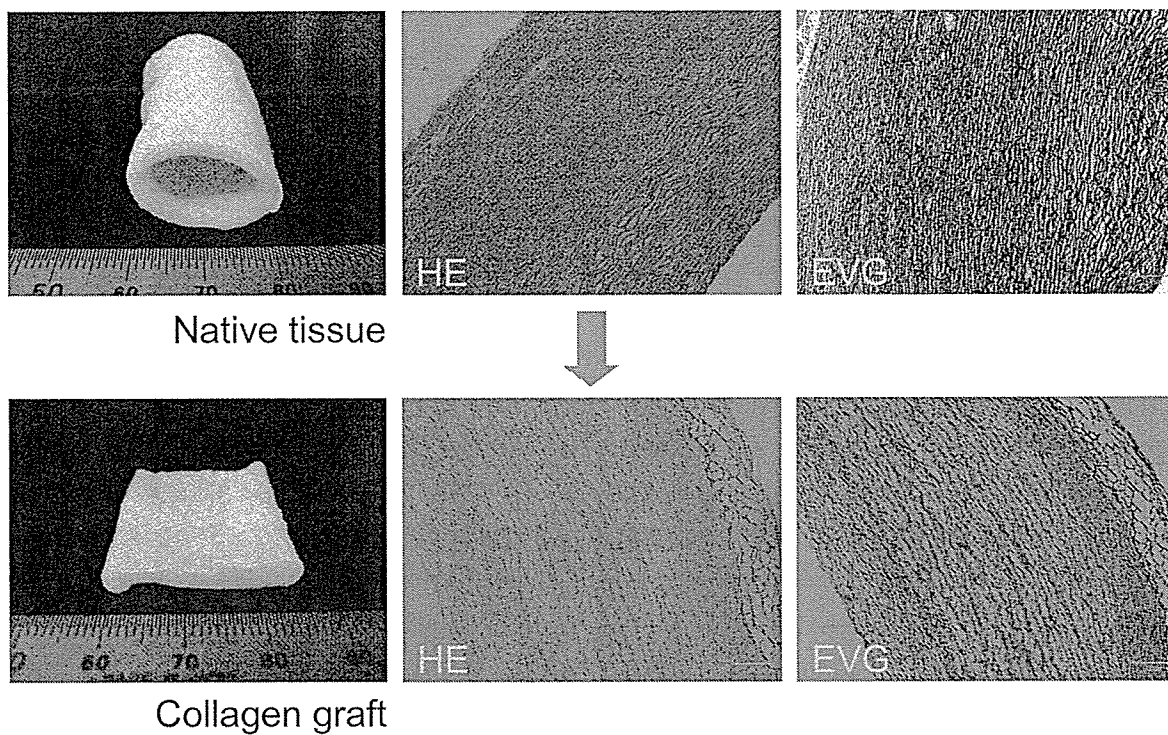


図1. 細胞・エラスチン除去大動脈

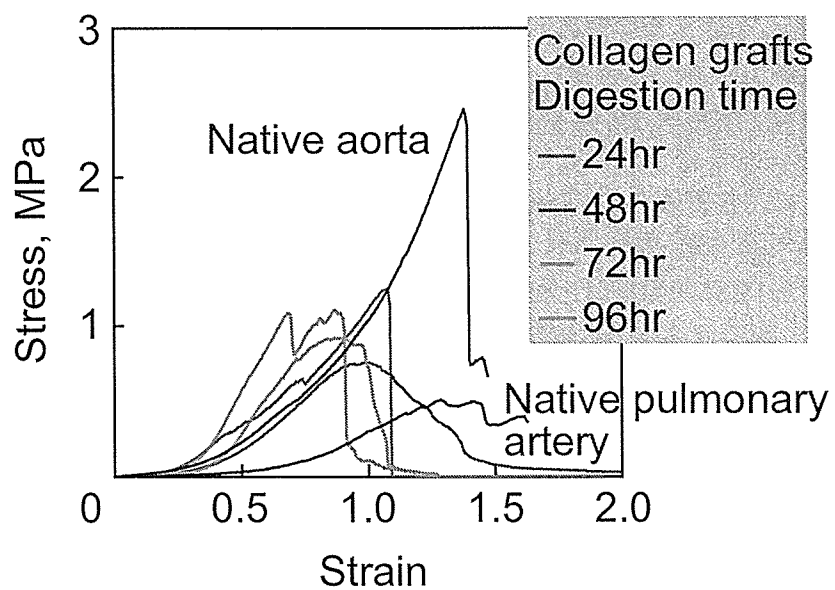


図2. 細胞・エラスチン除去大動脈の力学特性

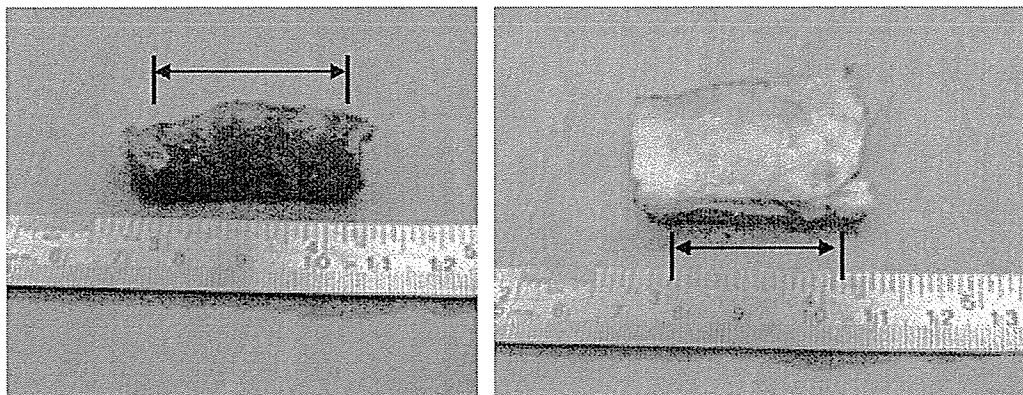


図3. 同種移植6ヶ月後摘出時の細胞・エラスチン除去大動脈

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

	著者氏名	論文タイトル	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
1	山岡哲二、 木村良晴、 藤里俊哉	医療用バイオ ベースマテリ アル	木村良晴、 小原仁実	バイオベースマテ リアルの新展開	シーエム シー出版	東京	2007	279 (187-97)
2	藤里俊哉、 北村惣一郎	心臓弁	筏 義人	再生医療工学の技 術	シーエム シー出版	東京	2007	251 (142-7)

## 雑誌

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
1	澤田和也、寺田堂彦、 藤里俊哉	繊維と線維（生体繊維の洗浄 と再生医療への展開）	繊維と工業	63 (5)	120-4	2007
2	Fujisato T, Niwaya K, Minatoya K, Kishida A, Nakatani T, Kitamura S	Reduction of Antigenicity and Risk of Infection in Regenerative Tissue Transplantation by Cold Isostatic Pressing	High Pressure Bioscience and Biotechnology	1 (1)	161-5	2007
3	Kimura T, Iwai S, Moritan T, Nam K, Mutsuo S, Yoshizawa H, Okada M, Furuzono T, Fujisato T, Kishida A	Preparation of poly(vinyl alcohol)/DNA hydrogels via hydrogen bonds formed on ultra-high pressurization and controlled release of DNA from the hydrogels for gene delivery	J Artif Organs	10 (2)	104-8	2007



## 学会発表

	演者	演題名	学会名	場所	開催年月日
1	Fujiasto T	Host Cell Infiltration to Implanted Vascular Grafts Made of Collagen Fibers in Porcine Model	Society For Biomaterials 2006 Annual Meeting	ピッツバーグ(米)	2006年4月26~29日
2	藤里俊哉	生物組織の再生医療への応用	第45回日本生体医工学会大会	福岡	2006年5月15~17日
3	戸川祐一	パイオリクターを用いた脱細胞化ブタ大動脈血管への細胞播種	第45回日本生体医工学会大会	福岡	2006年5月15~17日
4	寺田堂彦	生体由来コラーゲン製人工血管の開発	第45回日本生体医工学会大会	福岡	2006年5月15~17日
5	藤里俊哉	$\gamma$ 線照射による移植用生体組織の開発	第55回高分子学会年次大会	名古屋	2006年5月24~26日
6	木村 剛	遺伝子導入能を有する超高圧誘起ナノ無機粒子/高分子/DNA複合体の調整	第55回高分子学会年次大会	名古屋	2006年5月24~26日
7	仁部洋一	エンドソーム遊離促進を目指したナノHap/PVA/DNA複合体による遺伝子導入	第55回高分子学会年次大会	名古屋	2006年5月24~26日
8	三浦義之	PEG/多糖の水性二相系への超高圧処理による新規構造体の調整	第55回高分子学会年次大会	名古屋	2006年5月24~26日
9	寺田堂彦	生体由来組織を用いた再生型人工血管の開発	第55回高分子学会年次大会	名古屋	2006年5月24~26日
10	澤田和也	生体由来組織の超臨界流体処理	平成18年度繊維学会年次大会	東京	2006年6月12~14日
11	寺田堂彦	コラーゲン構造を保存した生体由来スキャフォールドの作製	第35回医用高分子シンポジウム	東京	2006年8月1~2日
12	藤里俊哉	脱細胞化組織を用いた再生型動脈移植における石灰化抑制の試み	第5回日本組織移植学会総会・学術集会	東京	2006年8月26日
13	橋本良秀	三次元細胞培養担体としての脱細胞化骨の作製とin vitro評価	第9回日本組織工学会	京都	2006年9月7~8日
14	村越彩子	脱細胞化血管調製における超高静水圧印加処理の最適条件の検討	第9回日本組織工学会	京都	2006年9月7~8日
15	伊藤由樹子	細胞分化への機械的微振動刺激の影響に関する検討	第9回日本組織工学会	京都	2006年9月7~8日
16	田頭保彰	生体スキャフォールドの保存に関する研究	第9回日本組織工学会	京都	2006年9月7~8日
17	澤田和也	生体由来組織の脱細胞化のための超臨界流体抽出	日本機械学会2006年度年次大会	熊本	2006年9月18~22日
18	藤里俊哉	生体組織構造を利用した再生型人工血管	第55回 高分子討論会	富山	2006年9月20~22日
19	木村 剛	DNA/RNA構造制御を目指した超高圧印加処理とその応用	第55回 高分子討論会	富山	2006年9月20~22日
20	Fujisato T	Reduction of antigenicity and risk of infection in regenerative tissue transplantation by cold isostatic pressing	The Fourth International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology	つくば	2006年9月25~29日
21	菅 理晴	再生型気管移植法の開発 - 間葉系幹細胞導入による脱細胞化気管グラフトの再細胞化 -	第59回日本胸部外科学会定期学術集会	東京	2006年10月1~4日
22	湊谷謙司	脱細胞化処理した下行大動脈並びに肺動脈同種移植実験の検討	第59回日本胸部外科学会定期学術集会	東京	2006年10月1~4日

	演者	演題名	学会名	場所	開催年月日
23	Ehashi T	Preparation of a decellularized tissue as a scaffold for reconstructing skeletal muscle in vitro	Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society European Chapter Meeting 2006	ロッテルダム	2006年10月8～11日
24	Terada D	Development of bioscaffold preserving collagenic structure in biological tissue	Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society European Chapter Meeting 2006	ロッテルダム	2006年10月8～11日
25	Kimura T	Influence of nano-vibration stimuli on cell differentiation for tissue engineering	Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society European Chapter Meeting 2006	ロッテルダム	2006年10月8～11日
26	Yamaoka T	Three-dimensional cell seeding and growth in radial-flow perfusion bioreactor	Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society European Chapter Meeting 2006	ロッテルダム	2006年10月8～11日
27	Fujisato T	Residual phospholipids may cause calcification in acellular aortic tissue transplantation	Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society European Chapter Meeting 2006	ロッテルダム	2006年10月8～11日
28	村越彩子	種々の超高静水圧印加条件にて調製した脱細胞化血管の特性検討	第44回日本人工臓器学会大会	横浜	2006年10月31日～2日
29	南 広祐	リン脂質ポリマーで修飾した脱細胞化血管組織作製	第44回日本人工臓器学会大会	横浜	2006年10月31日～2日
30	船本誠一	コバルト60による $\gamma$ 線を用いた生体由来組織の脱細胞化処理	第44回日本人工臓器学会大会	横浜	2006年10月31日～2日
31	江橋 具	脱細胞化筋スキャフォールドを用いる筋芽細胞の伸長培養	第44回日本人工臓器学会大会	横浜	2006年10月31日～2日
32	湊谷謙司	脱細胞化による新しい動脈グラフトの開発；ブタ同種移植実験における石灰化軽減のための方策	第44回日本人工臓器学会大会	横浜	2006年10月31日～2日
33	寺田堂彦	高圧流体下における生体由来組織からの細胞抽出	第47回高圧討論会	熊本	2006年11月9日～11日
34	戸川祐一	バイオリアクターを用いた血管scaffoldへの細胞播種	第17回バイオフィロンティア講演会	上田	2006年11月11日～12日
35	江橋 具	再生骨格筋作製を目的とした間葉系幹細胞の伸長培養	第28回日本バイオマテリアル学会	東京	2006年11月27日～28日
36	寺田堂彦	生体組織内コラーゲン構造を利用したバイオスキャフォールドの開発	第28回日本バイオマテリアル学会	東京	2006年11月27日～28日
37	澤田和也	バイオサーファクタントを用いた生体由来スキャフォールド調製	第28回日本バイオマテリアル学会	東京	2006年11月27日～28日
38	木村 剛	超高圧誘起PVA/DNA遺伝子ベクターへの無機塩付加による遺伝子導入促進	第28回日本バイオマテリアル学会	東京	2006年11月27日～28日
39	橋本良秀	超高圧印加法を用いた脱細胞化角膜の作製と物性解析	第28回日本バイオマテリアル学会	東京	2006年11月27日～28日
40	山田康貴	高圧印加処理による脱細胞化組織を用いた膝関節再建術用の新しいScaffoldの検討	第28回日本バイオマテリアル学会	東京	2006年11月27日～28日

	演者	演題名	学会名	場所	開催年月日
41	斉藤由紀	脱細胞血管スキャフォールドによる小口径血管の再建	第19回バイオエンジニアリング講演会	仙台	2007年1月7日～8日
42	Wang L	Regenerative small-diameter vascular graft using acellular tissue	第6回再生心臓血管外科治療研究会	東京	2007年2月21日
43	江橋 具	注射器を用いる新規細胞播種法の開発	ライフサポート学会専門研究会 第2回細胞制御工学研究会	東京	2007年2月28日
44	船本誠一	ブタ脱細胞化角膜による角膜移植用組織の開発とin vitro評価	第10回日本異種移植研究会	東京	2007年3月10日
45	江橋 具	骨格筋再生を目指した骨髄由来間葉系幹細胞の静的伸長培養	第6回日本再生医療学会総会	横浜	2007年3月13～14日
46	玉井克明	脱細胞化大動脈組織内の残存リン脂質除去によるミニブタ同種移植での効果	第6回日本再生医療学会総会	横浜	2007年3月13～14日
47	戸川祐一	バイオリアクターを用いた脱細胞化scaffoldへの細胞播種と培養	第6回日本再生医療学会総会	横浜	2007年3月13～14日
48	田頭保彰	生体スキャフォールドの保存に関する検討	第6回日本再生医療学会総会	横浜	2007年3月13～14日
49	船本誠一	超高压処理法により作製された脱細胞化骨の細胞培養担体への応用	第6回日本再生医療学会総会	横浜	2007年3月13～14日
50	高瀬 潤	筋芽細胞に対する磁場の影響	第6回日本再生医療学会総会	横浜	2007年3月13～14日
51	木村 剛	高压凝縮DNAの構造・機能解析と遺伝子導入への応用	第6回日本再生医療学会総会	横浜	2007年3月13～14日
52	染川将太	スキャフォールドへの新規細胞播種方法の検討	第6回日本再生医療学会総会	横浜	2007年3月13～14日

# 第1章 医療用バイオベースマテリアル

山岡哲二\*<sup>1</sup>, 藤里俊哉\*<sup>2</sup>

## 1 はじめに

本章で取り扱うバイオベースマテリアルの医療用途は、他章とは趣きが異なる。環境調和やゼロエミッションを気にすることはなく、あらゆるエネルギーを惜しみなく注ぎ込んで、最高の性能（治癒効果）と安全性を確保することが目的である。20年以上ものあいだ、ポリ乳酸（PLA）の応用分野として外科用縫合糸が際だっていた。この理由も、性能と安全性が達成されれば、十分な付加価値として認められるからである。では、医療分野で用いる場合、“バイオベース”であることは、どのような印象であろうか。生体由来だから安心、あるいは、自然環境に存在しているから安心、とも限らない。様々な毒素や、ウイルス、プリオンなど、生命を奪う危険性は自然界にある。そのような環境の中で、人類は安全なバイオベースマテリアルを選択して医療に利用してきた。紀元前5世紀頃にはエジプトに歯科医がいたようで、このころの義歯らしきものが実際に出土している。我が国に於いても、木製の義歯がいくつも出土しており、江戸時代には実用に耐える木製義歯が使用されていた。また、外科用縫合糸として絹糸が利用されたのは11世紀のことであり、羊腸や牛腸が縫合糸として利用されたのは1000年以上前のものである。1800年代に優れた滅菌法が開発され、カットガットと呼ばれる羊や牛の腸の漿膜に撚りをかけた生体吸収性縫合糸が実用されるに至った。まさに、医療用バイオベースマテリアルである。

近年、さまざまなバイオベースの材料を組織再生の足場（スキャホールド）として利用する再生医療が注目を集めている。本章では、再生医療で主要な働きをするスキャホールド材料として検討されている生体吸収性材料について、PLAなどの化学合成材料と、動物組織そのものを用いる生体スキャホールドについて紹介する。

---

\* 1 Tetsuji Yamaoka 国立循環器病センター研究所 生体工学部 部長

\* 2 Toshiya Fujisato 国立循環器病センター研究所 再生医療部 室長