

バイオマテリアルを設計することができると期待できる。生体とバイオマテリアルの相互作用を分子レベルで理解するために、分子生物学の成果を利用した新しい評価法が提案されている。下に、これらの新しい技術の一端を紹介する。

材料と生体との相互作用は大別すると次のように分類できる。分子レベル（界面物性）、タンパク質レベル（吸着および変性）、細胞レベル（接着、増殖、機能発現）および生体レベル（動物実験）の4つである。多くの研究のうち、材料に生理活性物質（タンパク質やペプチド）を結合させた材料についての生体との相互作用、いわゆる特異的な相互作用の研究は一応の成果をあげているが、大多数の材料で問題となる非特異的相互作用を主とする細胞の認識については、細胞の接着や形態変化などの初歩的な評価にとどまっている。

生体との相互作用を検討する一手法として、材料表面上への細胞の接着・増殖について観察する方法がある。これは表面の物理化学的性質が細胞接着や増殖におよぼす影響を、表面処理技術を用いて種々の表面性状の材料を調製し、細胞を播種して接着細胞数の計測や形態を観察して材料のおよぼす影響を明らかにしようとするものである。これまでに、細胞の接着・増殖について大まかに材料表面の物理化学的特性で整理できることが明らかになっているが、一方で例外的な結果が得られる場合もあり、結果の解釈が困難なことも多い。生理学的な立場からは、細胞接着はフィブロネクチンなどの接着タンパク質を仲介して説明される。一方、それらの接着タンパク質に依存しない細胞接着も存在している。いわゆる無血清培養における細胞培養はすべてそのようであるが、接着性タンパク質の存在しない環境でも細胞は多種多様な接着を行う。それらはいわゆる「非特異的相互作用」として説明されていた。「非特異的相互作用」とは、物理化学的相互作用が代表的なもので、例えば同じ表面自由エネルギーの材料であれば、同じタンパク質の吸着量、細胞接着を示すというものである。これはコロイド科学的な解釈であり、接着の初期（30分～120分）では比較的適合する。しかし、必ずしも表面自由エネルギーで整理できるとは限らず、その場合には他の非特異的相互作用の影響（例えば電荷など）を組み合わせ、現象の説明を行っている。

このような「非特異的相互作用」を理解するためには単純な表面を作成して細胞の反応を調べることが必要である。しかし、表面自由エネルギーを一定にして電荷量を変化させるなどの改質は非常に難しい。一方、材料ではなく細胞に着目すると、細胞が材料をどのように認識しているかを直接調べた例はほとんどない。細胞の反応を接着や増殖などのマクロな解析だけでなく、最新の細胞生物学の手法を用いてミクロな反応を検討できれば、生体側の材料認識のメカニズムを明らかにできる可能性がある。それを用いて材料設計の指針が得られれば、新規材料設計も容易に行える。細胞が材料と接触すると、情報収集（レセプターの活性化）-状況認識（細胞内カスケードの活性化）-対応策策定（転写因子活性化）-対応準備（転写・タンパク質合成）-対応策実施（タ

機能発現・接着)の一連の反応が細胞内で起こる。細胞の接着や増殖というのは最終の  
 実施段階を観察しているわけであるが、その前段階の情報についての研究はほとんどな  
 くては材料と生体との相互作用のうち、特に非特異的相互作用について、細胞内の細胞の  
 レベルで理解することを目的とした評価法を検討した。

### 6 遺伝子発現評価について

材料に対する細胞の反応を遺伝子発現で評価するためにはいろいろな手法が考えられる。直接  
 遺伝子を知るにはノーザンブロット法が適している。しかし、ノーザンブロット法は大量  
 の細胞を必要とするため、大表面積の細胞接着用材料が必要である。材料開発のための基礎検討  
 では、簡便に大量のサンプルを処理できることを第一に考える必要がある。このような条件に適  
 合する逆転写酵素を用いたポリメラーゼ連鎖反応法 (RT-PCR 法) による遺伝子発現評価法を  
 用いた。

PCR 法は Polymerase Chain Reaction の略で、Mullis らによって 1985 年に発表された技法で  
 ある<sup>9)</sup>。PCR の原理は DNA ポリメラーゼ反応を利用した DNA の増幅反応の繰り返しであり、  
 DNA の熱変性、プライマーとのアニーリングおよび伸長反応を 1 サイクルとして、この DNA  
 ポリメラーゼ反応を n 回繰り返すことで  $2^n$  倍に DNA を増幅する。このため非常に高感度であり、  
 微量量のサンプルからでも検出が可能である。mRNA 発現を PCR 法によって解析するには、  
 mRNA を逆転写酵素で変換した cDNA を鋳型にする。この方法は、reverse transcription-poly-  
 merase chain reaction (RT-PCR) 法と呼ばれる<sup>9-11)</sup>。

また、解析対象としては、熱ショックタンパク質 (Heat-Shock-Protein (HSP)) に注目した。  
 HSP は、生物がそれぞれの育成温度より高温の環境にさらされると (熱ショック) 特異的に発  
 現量が多くなる一群のタンパク質として発見された。しかしその後、熱ショックばかりでなく、  
 遷移金属・酸化的ストレス・生体内での虚血・炎症・分化誘導試薬などのさまざまなストレス因  
 子によっても誘導されることがわかり、より一般的にストレスタンパク質と呼ばれている。HSP  
 には多くの種類があり、その分子量に由来した命名がされている。HSP70 は最も一般的な HSP  
 であり、熱ショックをはじめとするさまざまなストレスに対応して発現する。HSP47 は近年、  
 細胞接着や組織修復に重要な役割を果たしているコラーゲンの特異的分子シャペロンであること  
 が明らかにされた。これらの HSP はそれぞれの刺激に対して迅速に発現されることから、材料  
 と接触した細胞の応答を見積るために有用と考えた。

## 7 HSP mRNA 発現評価<sup>12~17)</sup>

HSP 発現評価では、HeLa 細胞を用い、種々の材料上の播種した HSP 遺伝子の発現を評価した。図 1 に各高分子材料上で 24 時間培養後の HSP70B の相対的な発現量を示す。HSP70B のようなストレスに対する細胞の応答の指標を表す最も一般的な熱ショックタンパク質である HSP70B の発現量は組織培養用ポリスチレン (TCPS, No.7) を境として発現量に大きな差を生じており、TCPS より親水性の材料では発現が大きく誘導され、ポリエチレン (PE)、シリコン膜 (Silastic<sup>TM</sup>)、フッ素系高分子 (6F) などの疎水性の高い材料では TCPS とほぼ同程度の発現量を示した。

これより HSP70B は親水・疎水の異なる材料に対して、それぞれ異なる発現挙動を示すことが分かる。TCPS 上に接着した細胞に熱処理 (45°C, 20min) した場合の発現量と比較するに親水性の材料に接着した細胞は、熱処理時と同程度の刺激を受けていることがわかる。また、疎水性の材料では TCPS や疎水性の材料と比較して細胞の接着数は少ないにも関わらず、細胞に対して HSP70B 発現の刺激を与えていると考えられる。さらに細胞接着数 (性) と HSP70B の発現結果を比較すると、NaSS-g-PE (p-styrenesulfonic acid sodium salt (NaSS) を表面にグラフト重合した PE) と TCPS、ナイロンと疎水性材料 (PE, Silastic<sup>TM</sup>, 6F) は同じような細胞接着数を示しているにも関わらず、HSP70B 発現挙動には明らかな差異がみられ、両者の間に相関関係は見られなかった<sup>12)</sup>。

このように高分子材料に接着・接触した細胞の HSP 発現評価では、疎水性の材料で発現が低

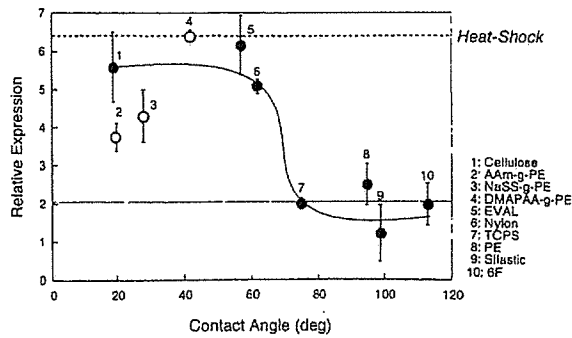


図 1 Evaluation of HSP 70B mRNA expression in HeLa S3 cells as a standard of  $\beta$ -actin by RT-PCR method. (mean  $\pm$  S. D., n = 3)  
 ● : Solid Surfaces ○ : Grafted Surfaces

第3章 生体適合性評価法

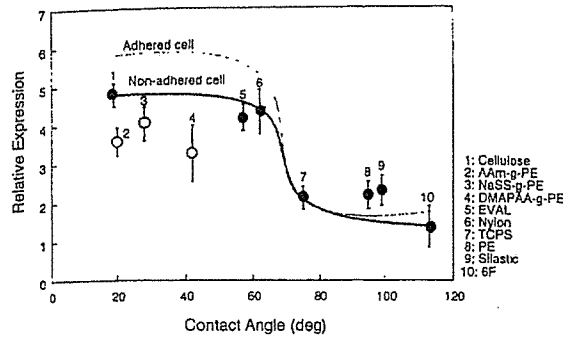


図2 Evaluation of HSP 70B mRNA expression in non-adhered cells as a standard of  $\beta$ -actin by RT-PCR method. (mean  $\pm$  S.D., n=3)  
 ● : Solid Surfaces ○ : Grafted Surfaces

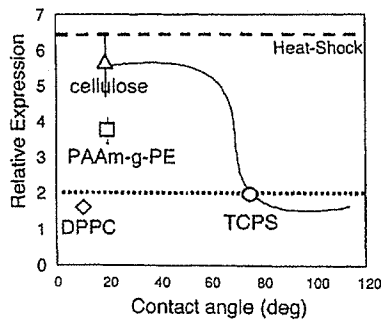
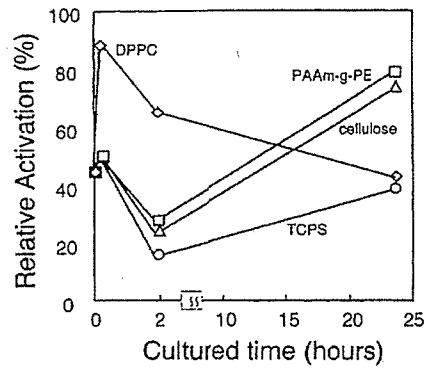
親水性の材料で発現が高い結果が得られた。しかし、これら一連のHSP発現のシグナルがどのような経路で細胞内に伝達されているかは明らかでない。考えられる要因の一例として、親水性材料表面は動的な状態にあると想定した場合、血清タンパク質の吸脱着と細胞の膜タンパク質の吸脱着などが動的な環境に置かれ、材料表面と直接接したり離れたりを繰り返す、周りの環境が刻々と変化していることが刺激になっているとも考えられる。同様の考察が由井らによって報告されている<sup>18)</sup>。これより、材料上の吸着タンパク質と同様に、材料表面の物理化学的性質もHSP発現に直接的な役割を果たしていると考えられる。

また、同じ時間だけ材料と接触していても接着しない細胞が存在する。特に非電荷親水性材料では大多数の細胞が接着していない。これらの非接着細胞のHSP70BのmRNA発現を調べた結果が図2である。一見して、接着細胞と同様の傾向を示していることが分かる。すなわちHSP70B遺伝子の発現と細胞接着は直接には関係がなく、細胞は材料に触れただけでも認識を行っていることになる。

図1、2では材料の水濡れ性(対水接触角)で材料を整理しているため、物理化学的性質がHSP70B遺伝子発現のパラメータのように思われる。表面自由エネルギーでHSP70B遺伝子の発現が制御されているならば、これはある種の特異的相互作用と考えることもできる。事実は単純ではないだろうが、このような材料の性質が複数の非特異的相互作用を同時に発揮するのであれば、ここで観察された細胞の反応もそれぞれの材料に対して特異的なものと考えられることを著者らは提案している。

8 転写因子発現評価<sup>19)</sup>

上記のような仮説を確かめるため、mRNA発現より早期の細胞反応を解析するために転写因子に注目した。代表的な転写因子であるNF- $\kappa$ Bは、外界刺激を受けた際の一次反応のスイッチとして機能していると考えられており、細胞と材料の相互作用解析に有用であると考えられた。図3にNF- $\kappa$ B発現の時間変化を示す。脂質(DPPC)膜上では初期に発現が見られるが、その後減少し、正常レベルに戻る。一方、脂質膜と同じ親水性表面であるセルロースやアクリルアミドグラフト表面では、経時的に発現量が増加していることが分かる。この結果から、同じ親水性表面を持つ材料でもそれを構成する分子種の違いにより、生体反応が異なることが示され



PAAm-g-PE  
TCPS DPPC cellulose  
Evaluation of HSP70B mRNA expression

図3 Gel shift assay of NF- $\kappa$ B in HeLa cells adhered to various surfaces.  
(□) PAAm-g-PE, (○) TCPS, (◇) DPPC, (△) cellulose

### 第3章 生体適合性評価法

高分子材料に接着・接触した細胞のHSP発現評価では、疎水性の材料で発現が低く、親水性材料で発現が高い結果が得られた。一方、同じ親水性材料でも脂質膜と他の高分子では細胞の発現が異なることがNF- $\kappa$ B発現評価から示された。これらのシグナルがどのような経路で細胞内に伝達されているかは明らかでない。考えられる要因の一例として、親水性材料表面は動的状態にあると想定した場合、血清タンパク質の吸脱着と細胞の膜タンパクの吸脱着などが動的環境におかれ、材料表面と直接に接することや、周囲の環境が刻々と変化していることが刺激になっているとも考えられる。今後、より詳細な検討が必要である。

#### 9 おわりに

遺伝子発現評価および転写因子発現評価の他にも細胞機能発現によって生体適合性の指標とすべしみが報告されている<sup>20, 21)</sup>。これは材料に接触した細胞が細胞-細胞間連絡のためのギャップジャンクションを形成するか否かによって判定するものである。遺伝子およびタンパク質を用いたこれらの新しい方法が、生体内での適合性とどのように相関しているかはこれからの研究の重要な課題が必要である。そのためには、ゲノム、プロテオーム解析の進展による情報を常に参照し、また動物を用いた適切な評価系を構築する努力が必要である。非毒性が最低の必要条件であった医用材料について「生体適合性」がそれに加わる日が遠からず来ると考えられる。わが国医用材料・バイオマテリアルを国際的に通用するものにするために不断の努力が必要である。

#### 文 献

- 筏義人, バイオマテリアル-人工臓器へのアプローチ, 日刊工業新聞社 (1988)
- 筏義人, 医用高分子材料, 共立出版 (1989)
- D. F. Williams ed. Fundamental Aspects of Biocompatibility, Vols. I, II, CRC Press, Boca Raton (1981)
- D. F. Williams, Definitions in Biomaterials, Elsevier, Amsterdam (1987)
- J. H. Boss, Biomaterials and Bioengineering Handbook, D. L. Weiss (Ed.), Marcel Dekker, Inc., New York (2000)
- Guidelines for Basic Biological Tests of A Medical Materials and Devices. Unofficial translation of Japanese guideline.  
<http://www.iso.ch/iso/en/ISOOnline.frontpage>.

医療用マテリアルと機能膜

<http://www.deviceink.com/mpb/archive/97/05/001.html>

- 8) K. Mullis, and F. Fallona, in *Methods in Enzymology*, Academic Press, 155 (1987)
- 9) D. A. Rappolee, C. A. Brenner, R. Schultz, D. Mark, and Z. Werb, *Science*, 241, 1823 (1988)
- 10) 石川冬木, 実験医学, 8, 1117 (1990)
- 11) 船渡忠男, 刀祢毅, 宮地勇夫, 石森章, 臨床病理, 41, 197 (1993)
- 12) A. Kishida, S. Kato, K. Ohmura, K. Sugimura, M. Akashi, *Biomaterials*, 17, 1301 (1996)
- 13) S. Kato, T. Akagi, A. Kishida, K. Sugimura, M. Akashi, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 8, 809 (1997)
- 14) S. Kato, T. Akagi, A. Kishida, K. Sugimura, M. Akashi, *Biomaterials*, 19, 821 (1998)
- 15) A. Kishida, T. Serizawa, K. Sugimura, M. Akashi, *et al.*, *Chem. Lett.*, 1267 (1999)
- 16) S. Kato, T. Akagi, K. Sugimura, A. Kishida, M. Akashi, *Biomaterials*, 21, 521 (2000)
- 17) S. Kato, A. Kishida, M. Akashi, I. Maruyama, *J. Biomater. Sci., Polym. Chem. Ed.*, 11, 333 (2000)
- 18) N. Yui, K. Suzuki, T. Okano, Y. Sakurai, C. Ishikawa, K. Fujimoto, and H. Kawaguchi, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 7, 253 (1995)
- 19) A. Kishida, T. Matsuyama, I. Kitajima, I. Maruyama, M. Akashi, *Biomaterials*, 22, 541 (2001)
- 20) R. Nakaoka, T. Tsuchiya, K. Kato, Y. Ikada, A. Nakamura, *J. Biomed. Mater. Res.*, 35, 391 (1997)
- 21) T. Tsuchiya, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 11, 947 (2000)

## 第3章 人工心臓膜

岸田晶夫\*

### 1 はじめに

心臓移植はこれまでに世界で6万例以上が実施されており、また我が国でも致死性の心疾患の治療法として、成功を納めつつある。世界での例では80%以上の人が1年以上、半数の人が9年以上生存するなど高い成績を残している。しかし、日本だけでなく欧米でもドナー（提供者）の不足が問題となっており、また移植実施時期を決めることもできないなどの問題もある。これらを解決する手段として人工心臓が考案され、心臓移植に代わり得るシステムの開発が進められている。人工心臓については長年の研究が続けられており、我が国もその開発の一翼を担っている。これまでの開発の過程や臨床応用について、素材の一つである膜素材の観点から紹介する。

### 2 人工心臓と血液ポンプ

心臓の機能は、全身の血行を制御することである。この機能を代行するためには血液（液体）を輸送するためのデバイスが必要であり、これらは「(血液)ポンプ」と呼ばれている。一般的な開心術では、回転するローラーがその円周上に配置されたチューブをしごくことによってチューブ内の血液を送り出す「回転ローラー式血液ポンプ」が用いられている。ローラー式血液ポンプは取り扱いが簡単で広く用いられているが、血液に与える損傷が大きく、また体外に取り出す血液量も多いため長期の循環に用いることはできない。人工心臓は開心術のような数時間ではなく、より長期の血液循環維持を目的とした血液ポンプシステムの総称である。すなわち、人工心臓は、血液ポンプ、心臓弁（無い場合もある：後述）、駆動装置、制御装置などから構成されており、材料工学、電気電子工学、情報工学、流体力学、機械工学などの工学技術が結集されている。狭義では血液ポンプを指して人工心臓と呼称する場合もある。

---

\* Akio Kishida 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 教授



### 3. 人工心臓の分類

人工心臓には多くの分類法がある。まず、患者の心臓を取り去るか否かによって、二つに分けられる。心臓の働きが落ち、重い心不全となった患者の心臓を取り除き、同所性に埋め込んで心臓の働きを代行する「全置換型人工心臓 (total artificial heart : TAH)」と、重症の心不全になった患者の心臓はそのまま残し、その働きを助ける「補助人工心臓 (ventricular assist system (VAS) あるいは~device (VAD))」である。VASもしくはVADは主として左心室を補助する機会が多く、この場合 Left ventricular assist system (LVAS) あるいは~device (LVAD) と呼ばれる。

また、用いるポンプの型によってもいくつかの種類がある。図1に示すように、大きく分けるると生体の心臓と同じように鼓動を生じる「拍動型」と、拍動を生じない「無拍動型」の2つがある。拍動型の場合、体積変化を生じるための仕組みと血流の方向を定める弁からなっており、ポンプを2つに分割する膜が、一方の空間の圧力変化により他方の空間の血液を弁によって定められた方向に押し出すことでポンプとしての機能を果たす。このタイプには「ダイアフラム型」「バック型」「チューブ型」「プッシャープレート型」などがある。さらに、これらの体積変化を駆動する方式によって「空気圧方式」、「電気-機械方式」および「電気-流体方式」に分類される。「空気圧方式」は、空気圧の差を利用して膜やチューブを動かし、血液を送り出す。「電気-機械方式」は、モーターの回転運動を往復運動に変えて血液の拍出を行う。この方式には電磁石を利用して往復運動を作り出す「ソレノイド駆動法」もある。「電気-流体方式」は、電動ポンプによる油圧で動作させる。用いるオイルとしてはシリコンオイルなどが使用される。一

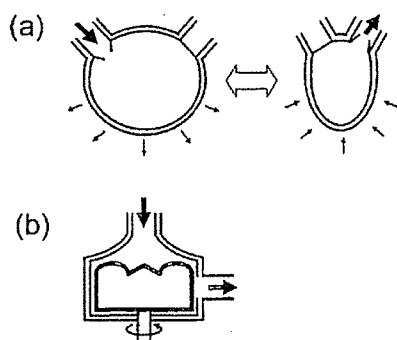


図1 (a)拍動型血液ポンプの概念図  
(b)無拍動型血液ポンプの概念図

方、無拍動型の場合、回転するらせん型スクリューによる「軸流ポンプ型」と、フィン付きローターが回転し、遠心力によって円周方向のポートから外部に血液を送り出す「遠心型」がある。無拍動型では人工弁が必要ないので、拍動がなく、さらに小型化が可能である。

血液ポンプが設置される位置による分類法もある。血液ポンプだけでなく、駆動部、制御部およびバッテリーなどすべてのシステムを体内に埋め込み、電気エネルギーを外部からアンテナで供給しバッテリーに充電させる仕組みを備え、体の内外をつなぐものが何もない「完全埋め込み型」、バッテリーなど一部を体外に置くものそれらを体に携帯できる「携帯型」、血液ポンプだけを埋め込んでその他のシステムは体外に置く「体外設置型」がある。完全埋め込み型以外は、生体の内と外をつなぐデバイスが必要であり、これを「経皮デバイス」という。人工心臓のこれまでの臨床例では、経皮部からの感染が原因で循環補助ができなくなる場合が非常に多く、優れた経皮デバイスの開発が望まれている。

#### 4 開発の歴史<sup>1, 2)</sup>

1957年に日本の阿久津博士と米国のコルフ博士によって、米国において「全置換型人工心臓」の動物実験が行われた。翌年には米国のクセロー博士が「補助人工心臓」の実験を行った。1962年には、ローラーポンプを用いた左心室の補助が行われ、1963年には、補助人工心臓による左心室補助の臨床応用が行われた。また、全置換型人工心臓は1969年、心不全の患者に対し、心臓移植が実施できるまでの期間を補助する“ブリッジ”（つなぎ）として臨床応用が開始された。これが現実的な臨床応用となったのは、1980年代に開発されたジャービク博士のJarvik-7型である。この最初の試みは620日間の補助に成功したが、最終的には患者の体内のポンプユニットと体外の駆動ユニットをつなぐデバイスを通したバクテリアによる感染症が原因で終結した。そして、1988年には電気駆動の完全埋込型人工心臓の研究がAbiomed社で開始され、2001年にFDAはAbioCor™の臨床応用を承認した。これは患者と体外のコンポーネントを結ぶチューブ類がない、完全な埋込型の人工心臓である。この人工心臓の血液接触部分であるダイアフラム膜と心臓弁はポリウレタンエラストマーであるAngioflex™で作られている。さらに、2004年にはJarvik-7から発展したCardioWest TAHがFDAから認可を受け臨床への応用が始まっている。補助人工心臓も軸流ポンプの改良型であるJarvik-2000型が臨床試験の段階である。

我が国においては、1970年代後半から本格的に人工心臓の開発が進められ、1980年代初頭には「東大型（日本ゼオン-アイシン）」と「国循環型（東洋紡）」の臨床応用が心臓手術後の心不全<sup>心不全</sup>の患者を対象に開始された。その後、両タイプとも1986～1988年に臨床応用する試験が行われ<sup>試験が行われ</sup>1990年に製造承認を得て本格的な臨床応用が開始され現在に至っている。国循環型はダイアフラム<sup>ダイアフラム</sup>

東大型はサック型のいずれも拍動型のポンプである。また、米国で開発された携帯型の拍動型補助人工心臓の「NovaCor™」「HeartMate™」も臨床試験が行われ、優れた成績を収めている。NovaCor™はソレノイド駆動プッシャープレート型、HeartMate™はプッシャープレート型血液ポンプを用いた空気圧駆動装置体外設置型とモーター駆動携帯型の2種がある。これらに代わすべく、現在、テルモ株式会社の「DuraHeart™」とサンメディカル株式会社の「EvaHeart™」が臨床試験の段階に入っている。これら2種の国産補助人工心臓はいずれも遠心ポンプ型である。

### 5. 人工心臓膜について

人工心臓のうち膜部分が存在するのは拍動型のものであり、いずれもダイアフラムが該当する。ほとんどの拍動型人工心臓の血液接触部分の材質は、ポリウレタンである。ポリウレタンは、出発原料のイソシアナートとアミンの種類によってさまざまなものが合成できる。その中でも、特に抗血栓性に優れたセグメント化ポリウレタン (SPU) が人工心臓用に用いられている<sup>3)</sup>。これらは、表面特性を考慮して分子設計された医用材料の実例である。図2にこれまで開発されてきた医療用ポリウレタンの構造を示す。中にはすでに開発が終了しているものもあるが、SPUの開発の一端を示すものとして参考として記載する。これらのポリウレタンは、表面組成が不均質で、異種のドメインが分散するモルフォロジーを有する特徴的な表面層を有している。このようなネネロ構造が、抗血栓性を発現するには、血漿タンパク質の迅速な吸着層形成による界面不活性化が寄与していると言われている。ホモポリマーによる均一材料表面での抗血栓性獲得は、1970年代半ばまでに均一材料のみではなし得ないことが結論づけられ、それに代わる新しい概念として提案された2種類以上の異なるポリマー鎖を有する、いわゆる多相性高分子材料の考え方が広がっている。SPUはエラストマーとしての優れた弾性係数に加えて高い耐疲労性を示し、人工心臓用の素材に要求される機能の1つを充分満たす<sup>4)</sup>。この特性は、分子中のハードセグメントが凝集してクラスターを作り、それがソフトセグメントの連続相に分散した構造をとるミクロ相分離構造によって発現されている(図3)。Lymanらの研究では、ソフトセグメントの主成分であるポリエーテルの鎖長を変えると血液適合性も大幅に変化し、最適値が存在する<sup>5)</sup>。同様の結果が、村山らによっても報告されている<sup>6)</sup>。ポリエーテルとしては、比較的疎水性のポリテトラヒドロフラン(PTHF)が用いられるが、他にわずかに親水性度の強いポリプロピレングリコール(PPG)<sup>5)</sup>や、極めて親水性の高いポリエチレングリコール(PEG)によって親水性表面が形成される<sup>7, 8)</sup>。一方、両末端にアミノ基や水酸基を有する反応性ポリジメチルシロキサン(PDMS)をソフト成分として使用すると、PTMGよりも強い疎水性のセグメント化ポリウレタ



### 第3章 人工心臓膜

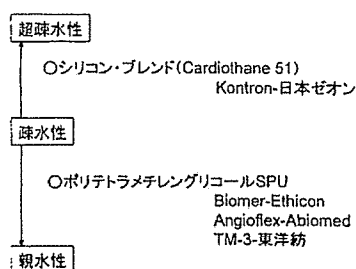


図4 親水性から疎水性までのセグメント化ポリウレタンの分類

が合成できる。また、A-B-A ブロック型のポリエーテル (PEG-PPG-PEG) や PEG-PDMS-PEG を用いることができる。PEG などの親水性のポリエーテルをベースとするセグメント化ポリウレタンでは、界面張力が極めて小さく、またゼータ電位もほぼゼロであり、水和された PEG の溶解鎖が界面に濃縮された構造をとっている可能性が示唆され、血液適合性の発現が期待された。しかしながら図4に市販レベルのSPUを表面特性にまとめたが、これを見て明らかのように、疎水的なSPUが実用的であることがわかる。これは分子間凝集による強度の保持については、疎水的なブロックのほうが有利であるためであると考えられる。上で述べた親水的なSPUについては、表面とバルクにおける分子の局在のコントロールが困難なため、血液など水中においては親水的ブロックに水分が進入し、全体の強度を低下させることが問題となっている。強度を必要としない部分への応用は可能であるが、繰り返し疲労に対する耐久性が要求される人工心臓用ダイアフラム膜への応用については、分子レベルでの改良が必要であると考えられる。

SPUの研究は1980年代に数多くの報告がなされ、多種多様なSPUが一般用、工業用に応用された。医療用途としては、これまでにあげたSPUが人工血管や人工心臓用として検討し続けられた。そのうちのいくつかは、現在、人工心臓用として用いられている。しかし、人工心臓用SPUの研究は現在では沈静化しており、部分的な改良が続けられている状況である。これは、これまでに開発されたSPUが一定の性能を有していることと、超長期の応用の実例が少ないためである。人工心臓用膜に対する要求よりも、ポンプデザインや血液状態維持のための内科療法の併用などの効果の判定に主眼が移っているためと考えられる。しかしながら、人工心臓の研究の現状では、抗血栓性および血液適合性などの材料に対する要求は依然として高く、材料研究者の対応が望まれている。

## 6 おわりに

人工心臓の開発は、世界的な状況では臨床応用段階に移行しつつあり、技術的な成熟度は一定のレベルに達している。そのために、人工心臓の個々の要素（ポンプや制御など）についての基礎研究については一段落している状況であるが、現在の臨床応用の成果が積み重ねられるにつれて、さらに高機能的な性能が要求されることは必須である。このうち、血液ポンプについては、TAHの半永久的使用に耐える耐久性と血液適合性が、また心筋再生などの再生医療技術との併用として低侵襲補助のためのポンプなどへの関心が高まっている。これまでに多相系医用材料の開発など、人工心臓が医用材料研究に与える目標値は研究の発展を促進してきた。人工心臓の臨床成績の動向について、今後の進展が注目される。

## 文 献

- 1) J. G. Copeland, F. A. Arabia, P. H. Tsau, P. E. Nolan, D. McClellan, R. G. Smith, M. J. Slepian, *Cardiol Clin*, 21, 101 (2003)
- 2) F. A. Arabia, J. G. Copeland, R. G. Smith, M. Banchy, B. Foy, R. Kormos, A. Tector, J. Long, W. Dembitsky, M. Carrier, W. Keon, A. Pavie, D. Duveau, *Artif Organs*, 23, 204 (1999)
- 3) M. C. Belanger, Y. Marois, R. Roy, Y. Mehri, E. Wagner, Z. Zhang, M. W. King, M. Yang, C. Hahn, R. Guidoin, *Artif Organs*, 24, 879 (2000)
- 4) 鶴田禎二 (今西幸男, 櫻井靖久, 妹尾学, 竹本喜一編), 医用材料と生体, 講談社サイエンスティフィク, 262 (1982)
- 5) D. J. Lyman, K. Knuston, B. McNeil, *Trans. ASAIO*, 21, 49 (1975)
- 6) 村山健, 生体材料, 2, 25 (1984)
- 7) V. Sa da Costa, D. B-Pussell, E. W. Salzman, E. W. Merrill, *J. Colloid Interface Sci.*, 80, 445 (1980)
- 8) T. Matsuda, T. Akutsu, *ACS Preprints*, 48, 48 (1983)

# 第1章 医療用バイオベースマテリアル

山岡哲二\*1, 藤里俊哉\*2

## 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年以上前のようである。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

## 2 再生医療

### 2.1 歴史

1988年に、米国のシンポジウムのタイトルとしてTissue Engineering（組織工学）という用語が初めて使用された。大きな損傷を受けた組織や器官（臓器）は、もはや正常に自然修復されることはなく、その治療は、人工臓器や臓器移植に頼ることとなる。従来の人工臓器では、材料に対する生体反応の制御が不十分であり、また、臓器移植ではドナー不足や免疫反応による拒絶反応に加えて倫理的な問題が残る。そこで、組織工学の検討が始まり、1980年頃、皮膚組織の再建が試みられた。フィーダーレイヤーなる細胞層の上で表皮組織が重層化することを利用して表皮シートが作製され、続いて、真皮の再生や、コラーゲンゲルと線維芽細胞、表皮細胞を組み合わせた皮膚の再生が相次いで報告された。1993年、R. Langerらは、スキャホールド（Scaffold、足場材料）と呼ばれるポリグリコール酸（PGA）不織布に軟骨細胞を播種してヌードマウスの皮下に埋入することで、異所的な軟骨の再生が誘導できること、さらに、この手法が、肝臓、腸、尿管、骨などへ展開できる可能性を示唆した<sup>2)</sup>。再生が困難と考えられていた軟骨組織を対象にしたことと、異所的な組織の再構築に成功したことで、組織工学は世界的な注目を集めた。さらに、ヒト胚性幹細胞の単離が報告され、組織幹細胞が続々と発見されると、組織工学の最大の問題であった細胞源の問題が解決すると期待され、ますます研究が盛んになった。

### 2.2 再生医療

近年注目されている再生医療は、再生医工学と細胞移植に大別できる（図1）。再生医工学の中心は、生分解性マトリックスに細胞を播種して組織再生を狙うタイプの戦略であり、上述の組織工学と同等の概念である（図1-②、③）。スキャホールド材料は、細胞増殖のための接着足場として機能し、細胞が増殖し組織が構築されるとともに分解吸収されることが期待されている。

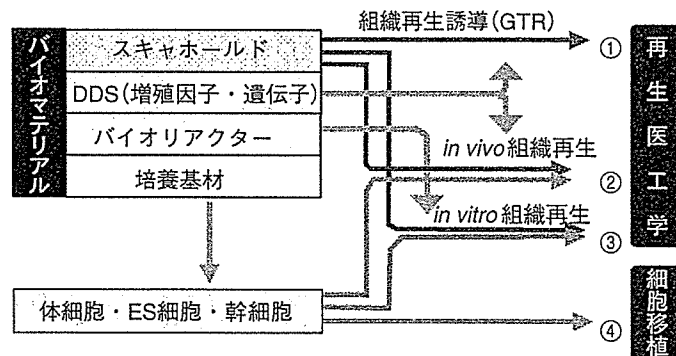


図1 再生医療の戦略



図1の①は、スキャホールドのみを使って、*in vivo*で、組織再生を試みる戦略であり、組織再生誘導法（GTR, Guided Tissue Regeneration）と呼ばれる。例えば図2のように、断裂した末梢神経を生体吸収性チューブでつなぐことで、ある期間、末梢神経が再生する空間を確保することで、神経細胞の再生を妨げる周囲組織の浸潤を防ぐことができる。また、図1の④に示した細胞移植は、マトリックスを利用することなく体外に取り出した細胞を欠損部位に注入することで治療効果をねらう方法である。1994年に、患者の膝関節から採取した軟骨細胞を増幅し、その細胞分散液を膝関節の軟骨欠損部に注入することで、関節軟骨が再生できることが示された。最近では、自己の幹細胞などを移植することによる心疾患の治療、あるいは、ドーパミン分泌細胞を移植することによるパーキンソン病の治療などが報告されている

### 2.3 生体吸収性スキャホールド材料

再生医工学の一つの重要要素である生体吸収性材料（生分解性材料）は、その由来により天然

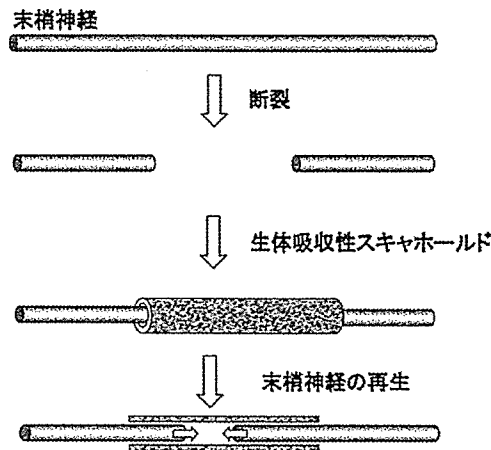


図2 GTRによる組織再生

表1 種々の生分解性高分子

天然高分子	1. 植物産生	1.1 多糖	デンプン・アルギン酸
	2. 動物産生	2.1 多糖	キチン・キトサン・ヒアルロン酸
	3. 微生物産生	2.2 タンパク質	コラーゲン・血漿アルブミン
合成高分子		3.1 ポリエステル	ポリ(3-ヒドロキシアルカノエート)
		3.2 多糖	ヒアルロン酸
	1. 脂肪族 ポリエステル	1.1 重縮合系	ポリブチレンサクシネート
		1.2 ポリラクチド類	ポリグリコール酸・ポリ乳酸
		1.3 ポリラクトン類	ポリ(ε-カプロラクトン)
		1.4 その他	ポリブチレンテレフタレート・アジペート
	2. ポリオール		ポリビニルアルコール(低分子量体)
3. ポリカーボネート		ポリエステルカーボネート	
4. その他		ポリ酸無水物・ポリシアノアクリレート	
		ポリオルソエステル・ポリフォスファゼン	

高分子と合成高分子とに分けられる(表1)<sup>2)</sup>。天然高分子に対しては、生体自身が分解酵素を用意していることが多く、酵素分解型生分解性材料として利用できる。酵素分解型の場合、分解速度がきわめて速いために架橋などの化学処理が必要となる欠点があり、また、生体由来の免疫原性などの問題も懸念される。一方、セルロースやデキストランのように、対応する分解酵素が生体内にない場合や結晶性が高い場合には、極めて分解速度は遅く、例えば、酸化再生セルロースのように化学修飾して<sup>3)</sup>、生分解性の癒着防止膜<sup>4)</sup>や止血剤<sup>5)</sup>として臨床応用されている。いずれにしても、その安全性確保と分解速度の調節は容易ではなく、これらの材料の代替となる合成材料に対する期待が高い。

合成高分子の場合、モノマー単位の化学構造とその結合様式で生体分解性を調節することが出来る(表1)。さまざまな脂肪族ポリエステルが開発されているが、生体内で完全に水と二酸化炭素に代謝され、かつ、十分な力学強度と適度な分解速度を有する、PLAやPGAに代表されるポリ- $\alpha$ -ヒドロキシ酸の誘導体が最も有望である。その応用範囲は多岐にわたり、例えば、高分子量で高強度のポリ-L-乳酸(PLLA)は生分解性の骨プレートや骨固定ピンとして応用されている(図3)。高い強度を得るために、光学純度の極めて高いPLLAから高い結晶化度のロッドを調製した後に、切削により成形加工されており、顔面や骨頭の骨折など、比較的荷重の小さな部位では十分に使用可能である。グリコリドやラクチドを他の環状モノマーと共重合体することで得られる柔軟な共重合体は、吸収性の外科用縫合糸として用いられている(図4)。合成の生分解性縫合糸としては1962年にアメリカンシアナミド社がPGA繊維を開発し、1970年にDexon<sup>TM</sup>として上市し、その後、次々と開発が進んだ。

しかしながら、再生医工学用材料としての利用を目指した場合、このような特性のみでは十分とは言えず、さらに、高い機能性を有したPLA系誘導体が期待されている。次項では、我々のグループが進めている、PLA製人工皮膚材料と、PLA系温度応答性ゲル化材料(インジェクタブルスキャホールド)に関して紹介する。

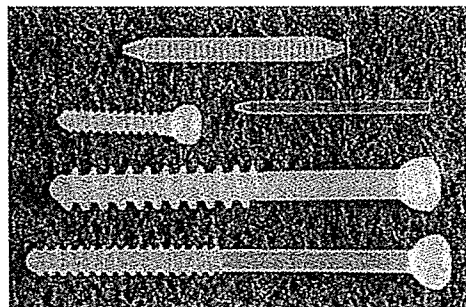
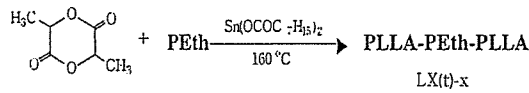


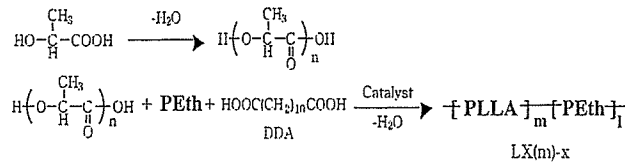
図3 ポリ乳酸製の骨固定ピン



*Synthesis of Triblock Copolymers*



*Synthesis of Multiblock Copolymers*



PEth:	PEG	$\text{HO}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x\text{H}$
	PPG	$\text{HO}-(\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{O})_y\text{H}$
	Pluronic F68	$\text{HO}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x(\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{O})_y(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x\text{H}$

図5 従来型のトリブロック共重合体(上)とマルチブロック共重合体(下)の合成スキーム

ことがDSC測定およびX線散乱より確認されている。PEGドメイン中に隔離されたPLAドメインを生分解性架橋点として、PEG成分が膨潤するために、これまでにない生分解性ハイドロゲルを形成する。PEG組成の上昇とともに含水率が上昇し、含水率の向上とともに*in vivo*組織反応は飛躍的にマイルドになり、ほとんどカプセル化も認められず、また炎症細胞の浸潤も有意に抑制されていた。我々は、このバイオイナートなPLA/PEGマルチブロック共重合体ハイドロゲルに対して軟組織親和性を付与することで人工皮膚への応用を進めた。

ハイドロキシアパタイト(HAp)は、骨再生用マトリックスとしてのみならず、軟組織との親和性も古くから知られている。我々は、上述のマルチブロック共重合体ハイドロゲルに組織親和性を付与するために、交互浸漬法<sup>7)</sup>を用いてマルチブロック共重合体ハイドロゲル/HAp複合体を作製した。交互浸漬サイクル数とともにHApが析出し、さらに、PEGドメインを33%含有するために膨潤率が高いLE(m)-33の場合、ゲル内部でもHApが析出していることがEPMA分析の結果から確認された。図6は、マルチブロック共重合体の凍結乾燥により作製したスポンジ構造に対してHApを複合化し、さらに、シリコン薄膜を重層した構造の人工真皮の断面SEM写真である。ラット皮膚全層欠損モデルに対する移植試験を行い、所定期間後に組織修復性と拘縮の程度を定量化した結果、炎症反応は極めてマイルドであり、カプセル化も軽微であった(図7)。また、周囲組織が速やかに浸潤することで皮膚組織の再生を誘導することが明らかとなった。これらの優れた組織修復性は、多孔質材料の微細孔内への組織の浸潤のみならず、ハイドロゲルマトリックス中への周囲細胞の進入現象が大きく影響している。この速やかな皮膚組織修復は、治癒に伴う組織の拘縮を有効に抑制した。何れの指標も、ポリ乳酸スポンジとコラーゲンと