

いはマテリアルの置換がおこる。

組織の損傷では、上記の過程が巧妙に調整されているため、組織は再生し、治癒していくが、異物であるマテリアルを移植する場合には、マテリアルの何らかの因子が過大な炎症を引き起こすことにより、カプセル化に至ったり、組織が再生しないうちに全て貪食されてしまったりするため、生体応答をいかに制御するかについては、多くのバイオマテリアル研究者が取り組む大きな課題である。

本研究で用いた脱細胞化心筋スキヤフォールドは、完全に細胞成分を除去できていなかったため、移植することにより生体異物応答を誘起すると予測できた。しかし、逆に炎症反応を誘発させることにより、スキヤフォールド内部への血管新生の誘導が可能となり、厚みのある組織を再生するための血管床をあらかじめ形成でき、心筋のような大量の酸素や栄養の供給を必要とする組織の再生には、弱度の炎症が必要であると考えられる。また、血中や骨髄に存在する幹細胞が、スキヤフォールドにできた血管に集まって、血管外へ遊走し、組織を再生できる可能性も考えられる。

本研究では、スキヤフォールドの組織再生誘導能を調べるために、われわれの研究室で開発された脱細胞化処理法で処理した心筋を用い、ヒトでの応用も考慮して同種異系統ラット間移植を行なった。移植後早期に炎症による血管新生が観察され、スキヤフォールド内部に多数の毛細血管と、血球細胞の浸潤

が確認できたことから、まずはホストの炎症反応を誘起することに成功したといえる。長期経過を観察した結果、スキヤフォールドの骨格は徐々に貪食されて減少し、反対に、ホスト細胞の増加が確認できた。ホストの細胞は、早期ではマクロファージと考えられる血球であったのに対し、長期経過後には、マクロファージが融合した巨細胞、そして、血球以外の線維芽細胞様の細胞が観察された。スキヤフォールド内部の細胞の構成に関しては、現在も解析中で、免疫染色による細胞種の確認を進めているため、スキヤフォールドが単に線維化していくか、あるいは心筋のような収縮性のある組織へと置換されるかについては未解決であるが、今後明らかとなる。

また、ここまでの研究では、スキヤフォールドのみを移植していたのに対し、本研究のもうひとつの目的でもある、細胞の足場としての利用に関しても検討する必要がある。すなわち、間葉系幹細胞などの心機能を改善できる細胞をスキヤフォールドに播種・接着させたのちに移植し、術後の細胞の滞在性や、心筋細胞への分化、あるいは心筋梗塞モデルラットを利用し、心機能回復に及ぼす効果を調べる必要がある。これまでの結果から、健康ラットの心筋外壁に固定することによる心機能への妨害は認められなかったものの、梗塞部位への利用の場合には、心臓への負担も大きくなる可能性があるため、幹細胞などの細胞と組み合わせた場合の方が治療効果

があると考えられる。

E. 結論

本研究は、心筋梗塞などの重篤な心疾患患者の組織再生を目指す、脱細胞化スキャフォールドを利用した新規治療法のための基礎的検討である。完全な細胞成分の除去ができなかったことが、生体の異物に対する応答を誘導し、スキャフォールドへの血管新生や細胞浸潤を促進できた。組織を再生・治癒させるために、ある程度の炎症反応が必要であるため、本研究で確認した炎症の程度は適当であると考えられた。したがって、本研究で用いたスキャフォールドは、組織再生を誘導能があることが示唆された。

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) Kimura T, Iwai S, Moritan T, Nam KW, Mutsuo S, Yoshizawa H, Okada M, Furuzono T, Fujisato T, Kishida A. Preparation of PVA/DNA hydrogels via hydrogen bonds by ultra high pressure treatment and controlled release of DNA from hydrogels for gene delivery. *J Artif*

Organs. 2007; 10: 104-8.

- 3) 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.* 2007; 63(5): 120-4.
- 4) 藤里俊哉, 北村惣一郎. 心臓弁. 篠 義人監修. *再生医療工学の技術.* シーエムシー出版. 2007; 142-7.

2. 学会発表

- 1) Fujisato T, Funamoto S, Yoshida K, Yamaoka T, Kimura T, Kikuchi M, Kobayashi Y, Kishida A, Nakatani T. Regenerative Tissue Scaffolds Prepared by Gamma Ray Irradiation. The 2007 Annual meeting of The Society for Biomaterials. Chicago, USA. 2007年4月18日～21日. *Transactions of the 32nd Annual Meeting of Society for Biomaterials* 2007; 860.
- 2) 江橋 具, 永谷憲歳, 橋本成広, 藤里俊哉. 脱細胞化筋スキャフォールドを用いた骨髓由来間葉系幹細胞の筋分化誘導. 第46回日本生体医工学会. 仙台. 2007年4月25～27日. *生体医工学* 2007; 45(Suppl 1): 108.
- 3) 寺田堂彦, 澤田和也, 緒方裕之, 江橋 具, 平工香織, 鎌田和加子, 吉田謙一, 船本誠一, 永谷憲歳, 岸田晶夫, 藤里俊哉, 中谷武嗣. 生体内で自己組織化するバイオ人工血管の開発. 第46回日本生体医工学会. 仙台. 2007年4月25～27日. *生体医工学* 2007; 45(Suppl 1): 191.

- 4) 寺田堂彦, 澤田和也, 江橋 具, 平工香織, 鎌田和加子, 永谷憲歳, 藤里俊哉, 中谷武嗣, 吉田謙一, 船本誠一, 岸田晶夫. 生体内で再細胞化する無細胞バイオ人工血管の開発. 第56回高分子学会年次大会. 京都. 2007年5月29-31日. *Polymer Preprints, Japan 2007*; 56(1): 2111.
- 5) Terada D, Sawada K, Ogata H, Ehashi T, Hiraku K, Kamata W, Yoshida K, Funamoto S, Nagaya N, Kishida A, Fujisato T, Nakatani T. Development of the vascular graft having an in situ repopulation. *Tissue engineering international and regenerative medicine society - North America Chapter 2007 Annual Conference & Exposition*. Toronto, Canada. 2007年6月13日～16日.
- 6) Ehashi T, Nagaya N, Hashimoto S, Fujisato T. Effect of stretch culture of mesenchymal stem cells on their differentiation into skeletal muscle cells. *Tissue engineering international and regenerative medicine society - North America Chapter 2007 Annual Conference & Exposition*, Toronto, Canada. 2007年6月13日～16日.
- 7) Fujisato T, Terada D, Niwaya K, Minatoya K, Kishida A, Nakatani T, Kitamura S. Regenerative vascular graft for aortic root reconstruction in porcine model. *The Society for Heart Valve Disease 4th Biennial Meeting*. New York, USA. 2007年6月15日～18日. *Abstract book of The Society for Heart Valve Disease 4th Biennial Meeting 2007*; 323.
- 8) 寺田堂彦, 藤里俊哉. 移植用生体弁の力学評価. 平成19年度繊維学会年次大会第9回生命工学材料とバイオテクノロジーに関するシンポジウム. 東京. 2007年6月20～22日. *Fiber Preprints, Japan 2007*; 62(2 Symposia): 15.
- 9) 藤里俊哉, 菊地正博, 坂下哲哉, 舟山知夫, 小林泰彦, 船本誠一, 木村 剛, 岸田晶夫, 山岡哲二. 放射線照射による脱細胞バイオスキャフォールドの調製. 第2回高崎量子応用研究シンポジウム. 高崎. 2007年6月21～22日. 第2回高崎量子応用研究シンポジウム要旨集 2007; 185.
- 10) Terada D, Sawada K, Ogata H, Ehashi T, Hiraku K, Kamata W, Yoshida K, Funamoto S, Nagaya N, Kishida A, Fujisato T, Nakatani T. Development of the Regenerative Vascular Graft having in *In vivo* Repopulation. *Tissue engineering international and regenerative medicine society - Europe Chapter 2007 Annual Meeting*. London, UK. 2007年9月4日～7日. *2007Tissue Eng 2007*; 13(7): 1673.
- 11) Ehashi T, Somekawa S, Udagawa H, Fujisato T. Novel cell seeding method for the tissue-derived acellular scaffolds. *Tissue engineering international and regenerative medicine society - Europe Chapter 2007*

- Annual Meeting. London, UK, 2007年9月4日～7日. *Tissue Eng* 2007; 13(7): 1735.
- 12) 船本誠一, 橋本良秀, 佐々木秀次, 南広祐, 望月 學, 藤里俊哉, 木村 剛, 小林尚俊, 岸田晶夫. 超高压処理技術を応用した人工角膜の作製と評価. 第15回生物関連高压研究会20周年記念シンポジウム. 横浜. 2007年9月6～7日. 第15回生物関連高压研究会 20周年記念シンポジウム要旨集 2007; P-1.
- 13) 寺田堂彦, 藤里俊哉, 中谷武嗣, 北村惣一郎. 再生型生体弁の特性評価. 日本機械学会2007年度年次大会. 吹田. 2007年9月9日～12日. 日本機械学会2007年度年次大会講演論文集 2007; 5: 291-2.
- 14) 林 宏行, 山崎健一, 小林裕之, 宇戸禎仁, 江橋 具, 近藤英雄, 橋本成広, 藤里俊哉. 電気パルスによる骨格筋細胞収縮の制御. 第5回生活支援工学系学会連合大会. つくば, 2007年10月1日～3日. 第5回生活支援工学系学会連合大会講演予稿集 2007; 103.
- 15) 山崎健一, 林 宏行, 小林裕之, 宇戸禎仁, 近藤英雄, 橋本成広, 藤里俊哉. 電気パルスを用いた筋管細胞の収縮制御. 第18回バイオフィロンティア講演会. 福岡. 2007年10月6日～7日. 第18回バイオフィロンティア講演会講演論文集 2007; 23-4.
- 16) Fujisato T, Terada D, Niwaya K, Minatoya K, Kishida A, Nakatani T, Kitamura S. Tissue Regeneration by Acellular Scaffolds by Detergent-Free Treatment. Joint meeting of The 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Artificial Organs and The 2nd International Federation for Artificial Organs. Osaka. 2007年10月28日～31日. *J Artif Organs* 2007; 36(2): S-14.
- 17) Yamasaki K, Hayashi H, Uto S, Ehashi T, Hashimoto S, Tsutsui H, Mochizuki S, Kondo H, Yoshiura M, Fujisato T. Control of skeletal muscle cell contraction by electrical pulse. Joint meeting of The 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Artificial Organs and The 2nd International Federation for Artificial Organs. Osaka. 2007年10月28日～31日. *J Artif Organs* 2007; 36(2): S-37.
- 18) Ehashi T, Somekawa S, Udagawa H, Fujisato T. Novel Method for Interspersed Cell Inoculation into the Tissue-derived Scaffold. Joint meeting of The 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Artificial Organs and The 2nd International Federation for Artificial Organs. Osaka. 2007年10月28日～31日. *Artif Organs* 2007; 36(2): S-99.
- 19) 山崎健一, 寺田堂彦, 近藤英雄, 橋本成広, 藤里俊哉. 無細胞生体由来組織を用いた筋芽細胞の3次元培養. 第10回日本組織工学会, 東京, 2007年11月8～9日. 第10回日本組織工学会抄録集 2007; 62.
- 20) 近藤英雄, 北 孝之, 寺田堂彦, 山崎健

- 一, 橋本成広, 藤里俊哉. 生体高分子ゲルを用いた電気インピーダンス法の基礎的検討. 第29回日本バイオマテリアル学会大会. 豊中. 2007年11月26~27日. 第29回日本バイオマテリアル学会大会予稿集 2007; 286.
- 21) 奈良雅尚. 山崎健一. 寺田堂彦. 澤田和也. 近藤英雄. 橋本成広. 藤里俊哉. ポリプロピレン繊維を用いた筋芽細胞の三次元培養. 第29回日本バイオマテリアル学会大会. 豊中. 2007年11月26~27日. 第29回日本バイオマテリアル学会大会予稿集 2007; 335.
- 22) Fujisato T, Yoshida K, Terada D, Niwaya K, Minatoya K, Kishida A, Nakatani T, Kitamura S. Tissue-derived Scaffold for Aortic Root Reconstruction. Tissue engineering international and regenerative medicine society - Asia Pacific Chapter Meeting 2007. Tokyo, Japan. 2007年12月3日~5日. TERMIS-AP 2007 Program & Abstract 2007; 124.
- 23) Fujisato T, Terada D, Sawada K, Yoshida K, Kishida A, Miyamoto K, Niwaya K, Nakatani T, Kitamura S. Evaluation of Acellular Scaffolds for Heart Valve Regeneration. 1st Asian Biomaterials Congress. Tsukuba, Japan. 2007年12月6日~8日. 1st Asian Biomaterials Congress Abstract, 2007; 112.
- 24) Ehashi T, Hashimoto S, Fujisato T. Acellular Skeletal Muscle Scaffold as an Inducer of Muscular Differentiation. 1st Asian Biomaterials Congress. Tsukuba, Japan. 2007年12月6日~8日. 1st Asian Biomaterials Congress Abstract 2007; 264.
- 25) 林 宏行, 山崎健一, 宇戸禎仁, 小林裕之, 江橋 具, 近藤英雄, 橋本成広, 藤里俊哉. 培養筋管細胞の収縮動態の定量評価. 第20回バイオエンジニアリング講演会. 東京, 2008年1月25~26日. 第20回バイオエンジニアリング講演会講演論文集 2008; No.07-49: 297-8.
- 26) Fujisato T, Terada D, Funamoto S, Minatoya K, Kishida A, Yamaoka T, Nakatani T, Kitamura S. Tissue Regeneration by Decellularized Biological Scaffold Prepared by Detergent-free Treatment. Biologic Scaffold for Regenerative Medicine 5th Symposium. Phoenix, USA. 2008年2月14日~18日. Biologic Scaffold for Regenerative Medicine, 5th Symposium 2008; 12.
- 27) 藤里俊哉, 寺田堂彦, 湊谷謙司, 山崎健一, 林 宏行, 江橋 具, 小林尚俊, 岸田晶夫, 山岡哲二, 中谷武嗣, 北村惣一郎. 異種組織をテンプレートとする組織再生技術の開発. 第11回日本異種移植研究会. 吹田. 2008年2月23日. 第11回異種移植研究会プログラム・抄録集 2008; 19.
- 28) 藤里俊哉, 寺田堂彦, 湊谷謙司, 山崎健一, 林 宏行, 近藤英雄, 江橋 具, 小

- 林尚俊, 岸田晶夫, 山岡哲二, 中谷武嗣, 北村惣一郎. 生体由来素材スキヤフォールドを用いた臓組織再生. 第36回人工心臓と補助循環懇話会. 湯沢. 2008年3月7日～8日. 第36回人工心臓と補助循環懇話会プログラム・抄録集 2008; 78.
- 29) 寺田堂彦, 澤田和也, 緒方裕之, 平工香織, 鎌田和加子, 吉田謙一, 船本誠一, 藤里俊哉, 岸田晶夫, 山岡哲二, 中谷武嗣. 脱エラスチン化血管組織をスキヤフォールドとして用いた動脈組織再生. 第7回日本再生医療学会総会. 名古屋. 2008年3月13～14日. 日本再生医療学会雑誌 2008; 7(Suppl): 280.
- 30) 奈良雅尚, 山崎健一, 寺田堂彦, 澤田和也, 近藤英雄, 橋本成広, 藤里俊哉. ポリプロピレン繊維-コラーゲン複合体を用いた筋芽細胞の三次元培養. 第7回日本再生医療学会総会. 名古屋. 2008年3月13～14日. 日本再生医療学会誌 2008; 7(Suppl): 285.
- 31) 山崎健一, 寺田堂彦, 奈良雅尚, 近藤英雄, 橋本成広, 藤里俊哉. 脱エラスチン組織-コラーゲン複合体を足場としたC2C12細胞の3次元培養. 第7回日本再生医療学会総会. 名古屋. 2008年3月13～14日. 日本再生医療学会誌 2008; 7(Suppl): 285.
- 32) 林 宏行, 山崎健一, 小林裕之, 宇戸禎仁, 近藤英雄, 橋本成広, 藤里俊哉. 電界に対する培養筋管細胞の異方性. 第7回日本再生医療学会総会. 名古屋. 2008年3月13～14日. 日本再生医療学会誌 2008; 7(Suppl): 286.
3. 新聞報道等
- 1) 他人の頭皮で毛髪再生. 朝日新聞. 2008年2月1日.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
- 1) 岸田晶夫, 藤里俊哉, 木村 剛, 船本誠一. 脱細胞処理液、脱細胞化組織の調製方法、移植片、及び培養部材. 特許出願2007-217099. 2007年8月23日.
- 2) 岸田晶夫, 木村 剛, 南 広祐, 藤里俊哉. 機能性DNAの製造方法、形質転換体及び疾患治療剤. 特許出願2007-263704. 2007年10月9日.
- 3) 藤里俊哉, 岸田晶夫, 船本誠一, 中谷武嗣, 北村惣一郎. 超高静水圧印加による移植用生体組織の処理方法. 特許第4092397号、2008年3月14日.

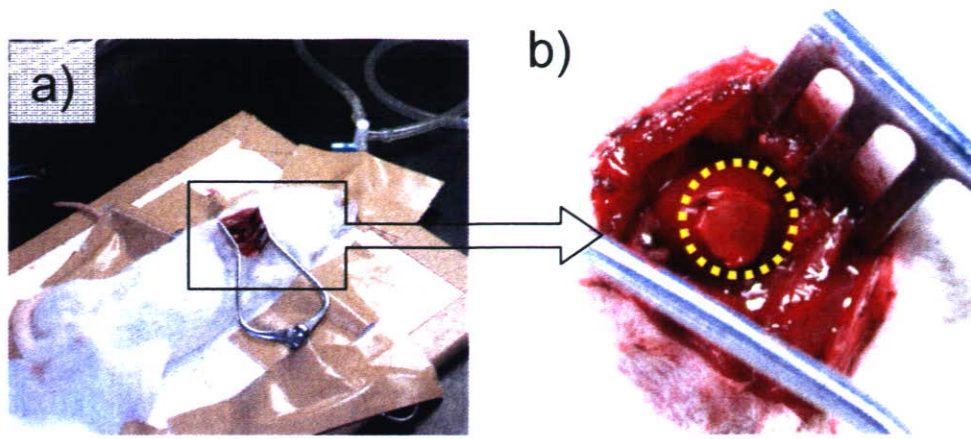


図 1. ラット心臓表面へのスキャフォールドの移植. a) 手術のため開胸されたラット. b) 心臓表面に移植されたスキャフォールド (黄色の囲み線). スキャフォールドは三角形なので、その頂点を心筋との縫合部とした.

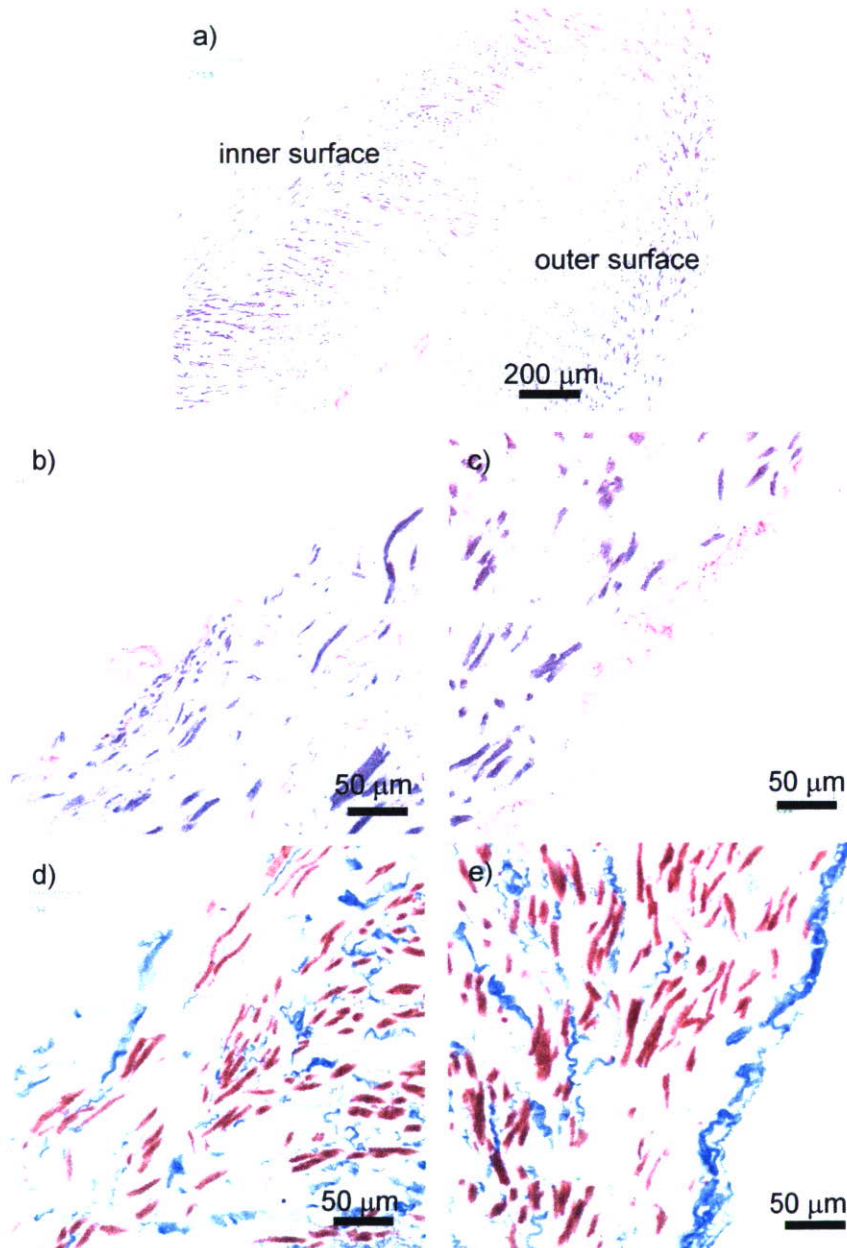


図 2. 脱細胞化心筋スキャフォールドの組織染色像. a~c; HE 染色. d~e; Masson's Trichrome (MTC) 染色. a; スキャフォールド断面全体像. a; スキャフォールド断面全体像. b, d; 心筋内腔側, c, e; 心筋外壁側. 心臓の外壁側はコラーゲン性の膜が覆っていた(HE染色, 桃色; MTC染色, 空色) のに対し、内壁はほとんど結合繊維は存在していなかった.

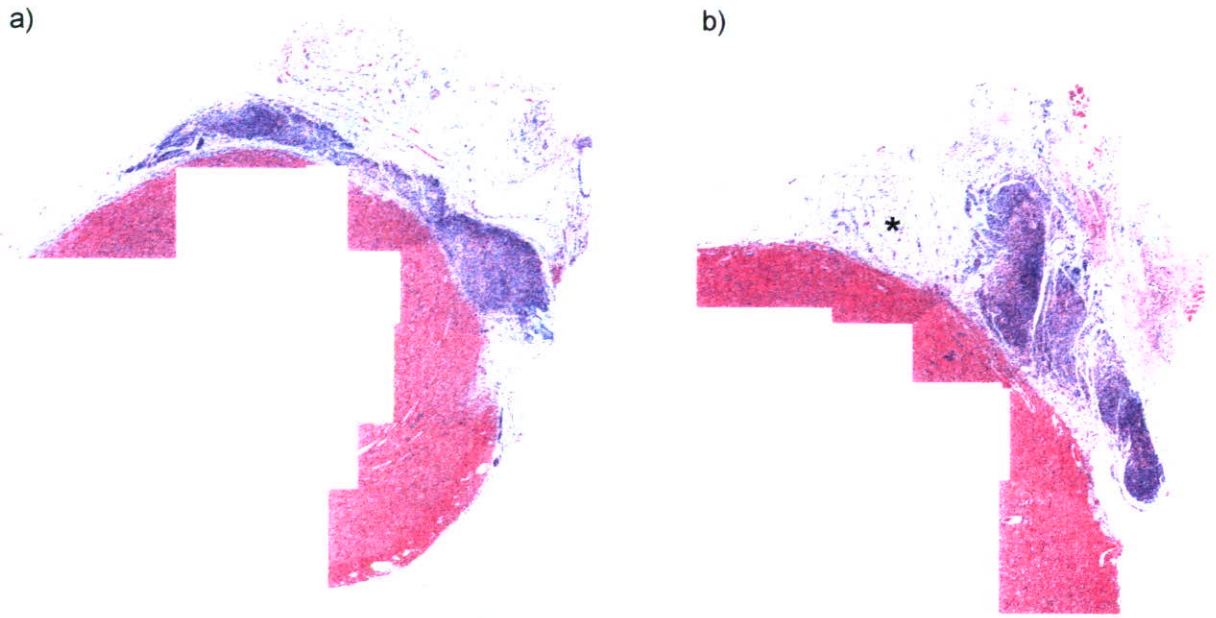


図 3. 移植スキャフォールド表面特性と心筋との親和性. スキャフォールドの心臓内壁側を宿主心臓と密着させると, 移植後 4 週間後, スキャフォールドは良好に定着した. 一方, 外壁側を密着させた場合には, ホスト心臓から離れてコラーゲンなどの結合組織が間を埋めた (b, *部分).

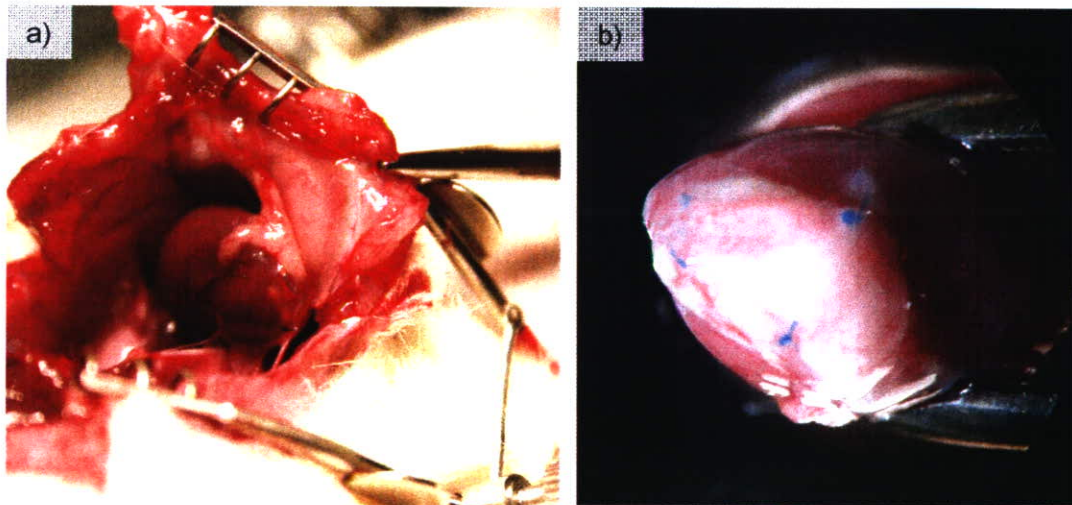


図 4. 心臓摘出時の様子 (4 週間目). a, ラット胸腔内での心臓; b, 摘出した心臓のスキャフォールド移植部. 心臓のスキャフォールド移植部は通常の癒着が見られたが, 心機能には影響がないと考えられる程度であった.

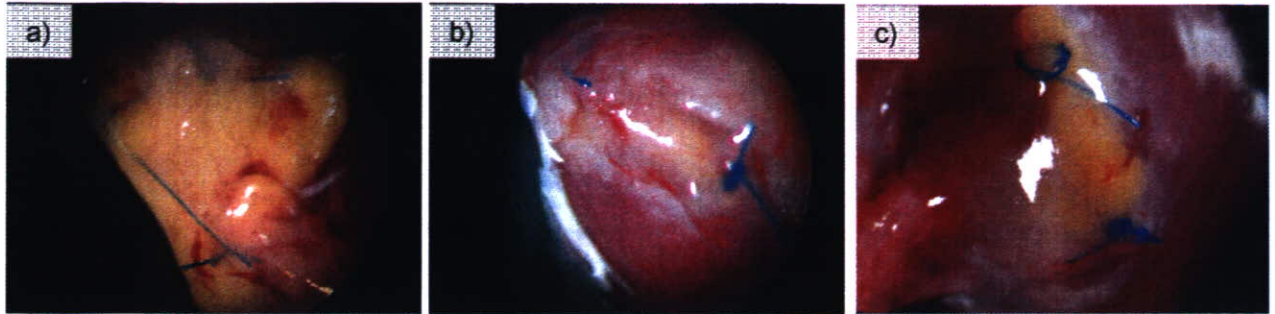


図 5. 心臓摘出時のスキャフォールド外観. a, 2 weeks; b, 4 weeks; c, 12 weeks. 心臓に移植したスキャフォールドの外観はいずれの摘出時でも、ほぼ同様であった. すべての場合に、スキャフォールド表面や結合組織に毛細血管が侵入しているのが観察された.

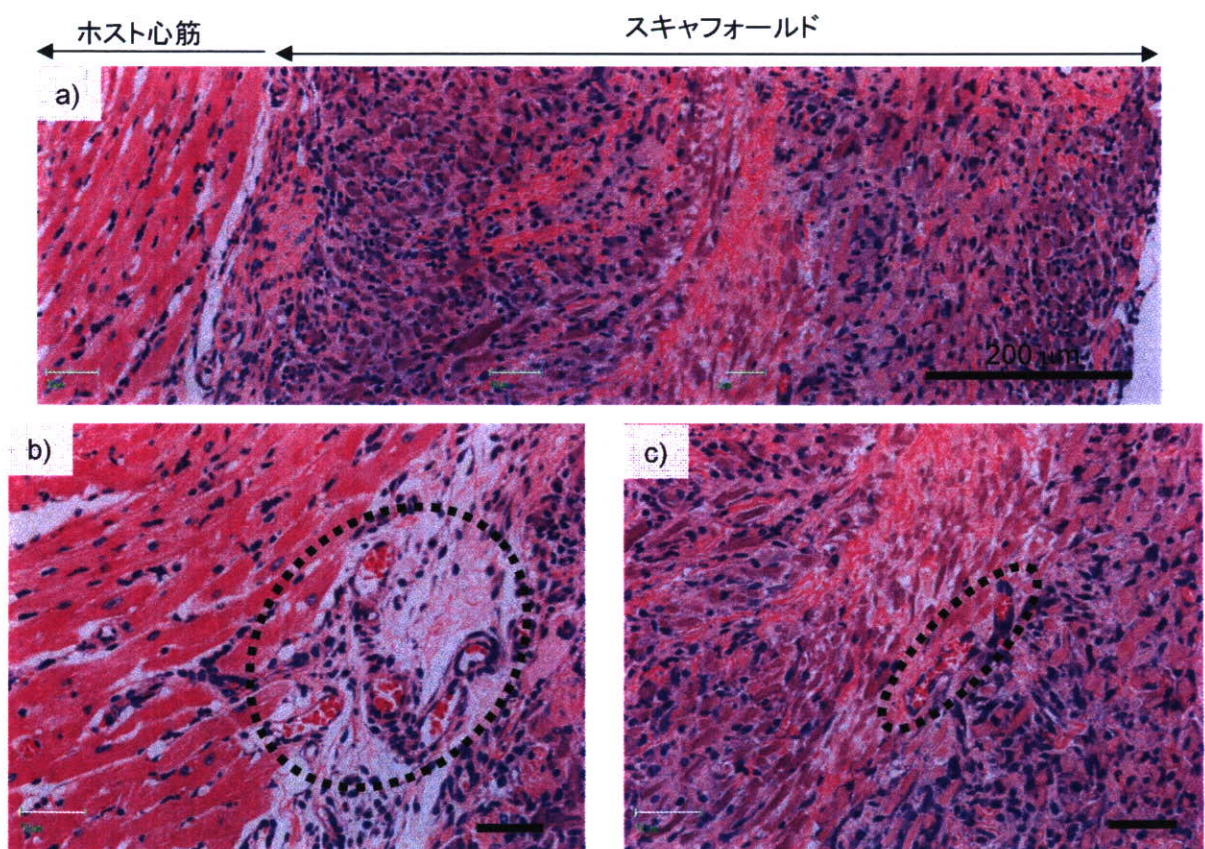


図 6. 移植後 2 週目の組織の HE 染色像. a, スキャフォールド全体横断面; b, ホスト心筋との接触部; c, スキャフォールド中心部. スキャフォールドに大量の細胞が侵入していたが、中心部分にはまだ及んでいなかった. 心臓との密着面やスキャフォールド中心部の細胞浸潤の先頭には毛細血管が観察された.

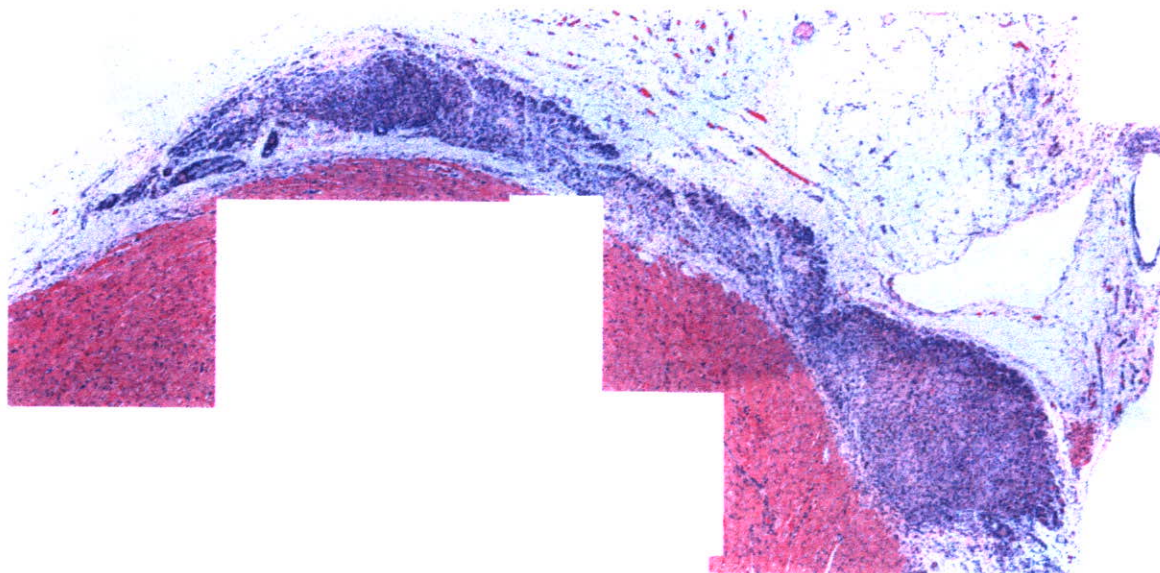


図 7. 移植後 4 週目の組織の HE 染色像. スキャフォールド全体に細胞の浸潤が認められたものの, 毛細血管の量は 2 週目の組織と比較すると減少していた.

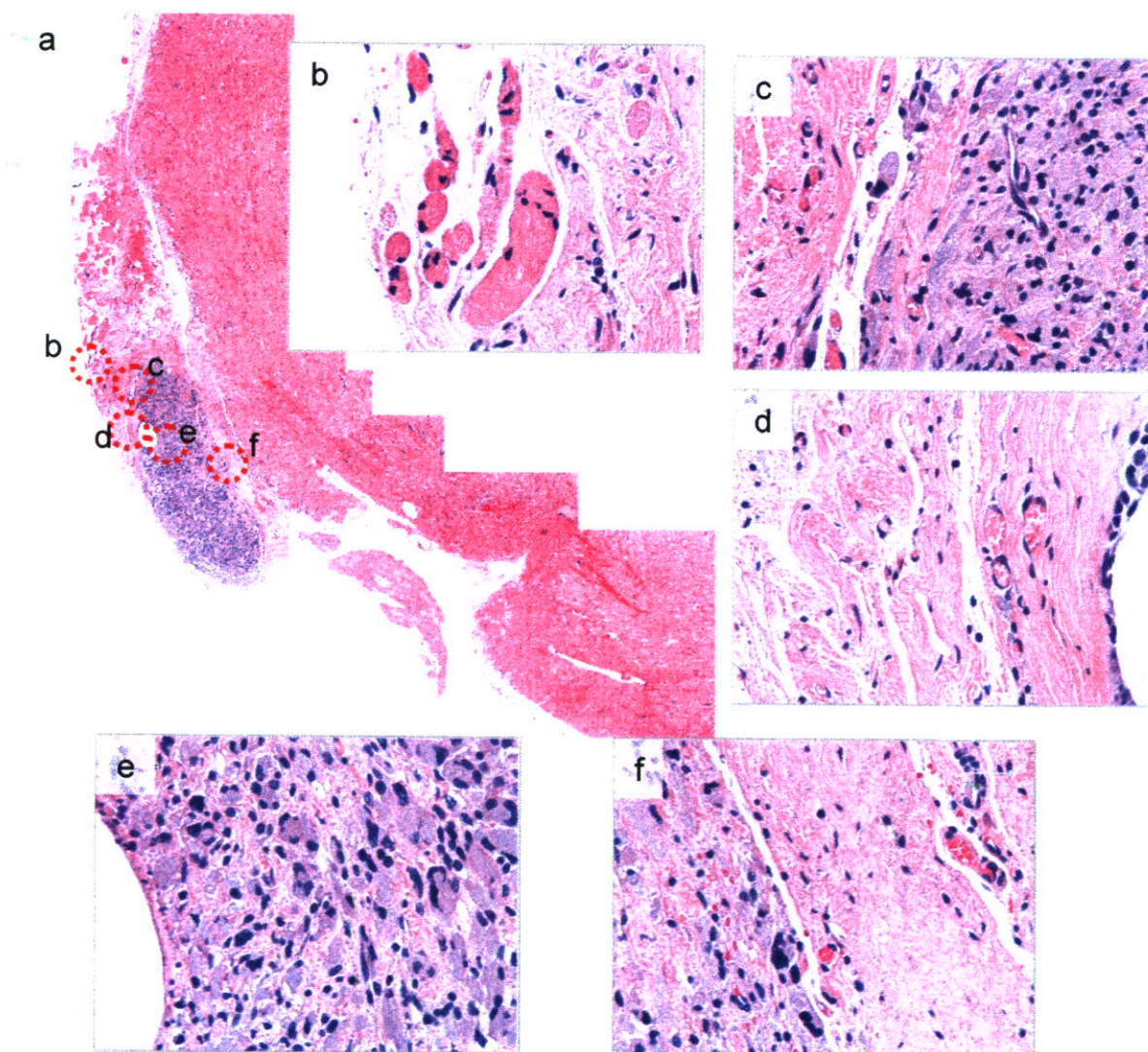
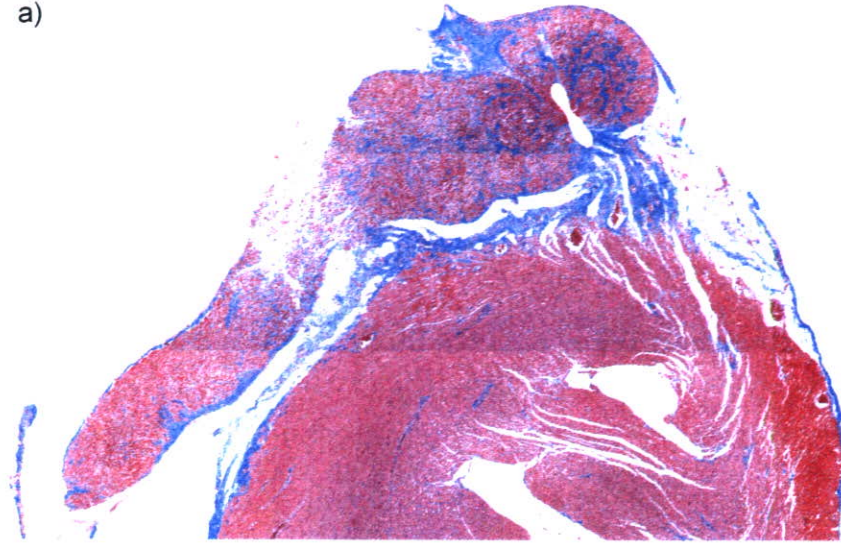


図 8. 移植後 12 週目の組織の HE 染色像. **a**, スキャフォールド全体横断面; **b~f**, スキャフォールド内部および周辺部の浸潤細胞. スキャフォールドに浸潤している細胞は, 移植後初期の細胞と比べるとさまざまな種類の細胞が観察された. また, カプセル化のようにスキャフォールド周囲を覆うコラーゲン様の組織が観察された.

a)



b)

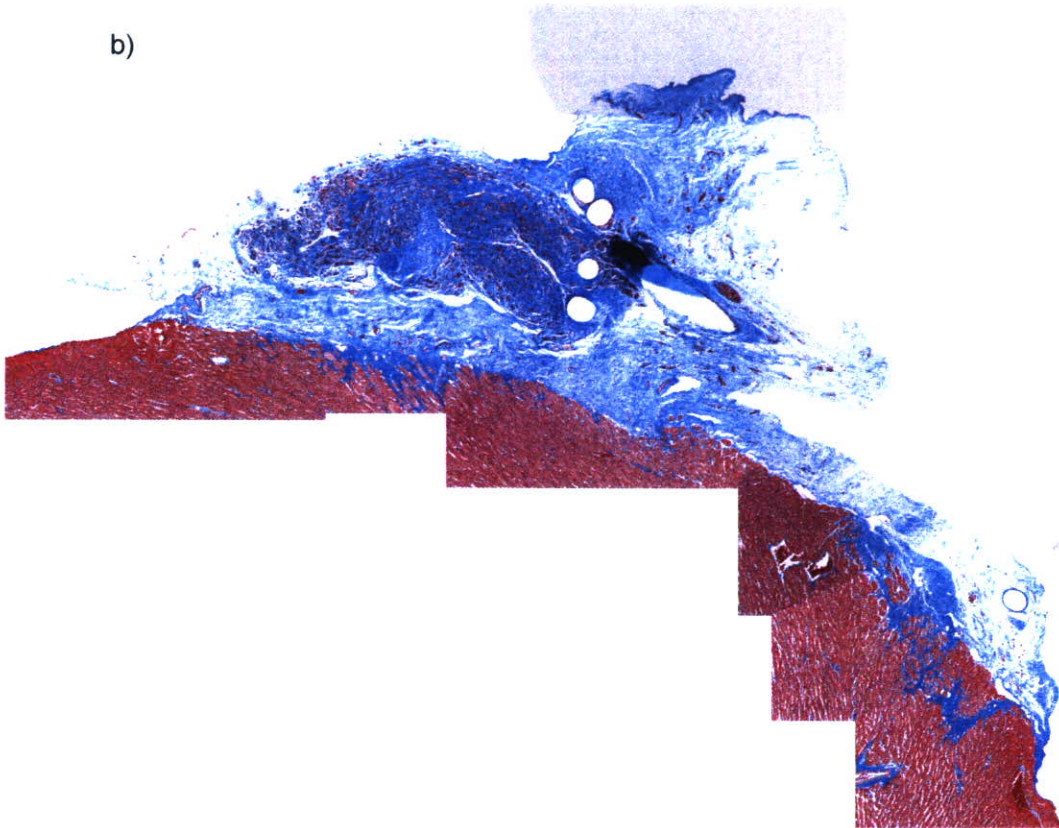


図 9. スキャフォールド周辺結合組織量の変化. a, 2 weeks; b, 12 weeks. 移植後 2 週目では、スキャフォールド周囲の結合組織は少なかったものの、期間が長くなると厚みを増すことがわかった。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	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
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 監 修	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	187-197
藤里俊哉 北村惣一郎	心臓弁	筏 義人 監修	再生医療工学 の技術	シーエム シー出版	東京	2007	142-147

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
江橋 具、山岡哲二	血液の細胞：宿敵か救世主か	バイオマテリアル	26	47-54	2008
江橋 具、永谷憲歳、橋本 成広、藤里俊哉	脱細胞化筋スキャフォール ドを用いた骨髄由来間葉系 幹細胞の筋分化誘導.	生体医工学	Vol.45, Suppl.1	108	2007
Ehashi T, Nagaya N, Hashimoto S, Fujisato T	Effect of stretch culture of mesenchymal stem cells on their differentiation into skeletal muscle cells	TERMIS-NA,			2007
Ehashi T., Somekawa S., Udagawa H., Fujisato T.	Novel Cell Seeding Method for the Tissue-derived Acellular Scaffolds	Tissue Eng	13	1735	2007
Ehashi T, Somekawa S, Udagawa H, Fujisato T	Novel Method for Interspersed Cell Inoculation into the Tissue-derived Scaffold	人工臓器	36(2)	S-99	2007
Ehashi T, Hashimoto S, Fujisato T	Acellular skeletal muscle scaffold as an inducer of muscular differentiation	1st Asiam Biomaterials Congress Abstract		264	2007
江橋 具、馬原 淳、寺田 堂彦、藤里俊哉、山岡哲二	毛細血管の再構築を誘導で きる新規スキャフォールド の開発	日本再生医療学 会雑誌	7,Suppl	237	2008
寺田堂彦、澤田和也、緒方 裕之、江橋 具、平工香織、 鎌田和加子、吉田謙一、船 本誠一、永谷憲歳、岸田晶 夫、藤里俊哉、中谷武嗣	生体内で自己組織化するバ イオ人工血管の開発	生体医工学	Vol.45, Suppl.1	191	2007

寺田堂彦、澤田和也、江橋具、平工香織、鎌田和加子、永谷憲歳、藤里俊哉、中谷武嗣、吉田謙一、船本誠一、岸田晶夫	生体内で再細胞化する無細胞バイオ人工血管の開発	Polymer Preprints, Japan	56(1),	2111	2007
K Yamasaki, H. Hayashi, S. Uto, T. Ehashi, S. Hashimoto, H. Tsutsui, S. Mochizuki, H. Kondo, M. Yoshiura, T. Fujisato	Control of skeletal muscle cell contraction by electrical pulse	Artificial Organs	Vol.31 No.10	65-66	2007
西垣戸麻美、江橋具、山岡哲二、藤里俊哉	超高静水圧印加処理による脱細胞神経グラフトの作製	第29回日本バイオマテリアル学会大会予稿集		339	2007
Terada D., Sawada K., Ogata H., Ehashi T., Hiraku K., Kamata W., Yoshida K., Funamoto S., Nagaya N., Kishida A., Fujisato T., Nakatani T.	Development of the Regenerative Vascular Graft Having an In Vivo Repopulationality	Tissue Eng	13	1673	2007
Miskon A, Terada D., Ehashi T., Fujisato T., Mahara A., Uyama H., Yamaoka T	Preliminary Study of In Vitro Niche Effect on Differentiation of Rat Bone Marrow Stem Cells to Cardiomyocytes-Like Cells	Tissue Eng	13	1746	2007
林宏行、山崎健一、小林裕之、宇戸禎仁、江橋具、近藤英雄、橋本成広、藤里俊哉	電気パルスによる骨格筋細胞収縮の制御	第5回生活支援工学系学会連合大会講演予稿集		103	2007
林宏行、山崎健一、宇戸禎仁、小林裕之、江橋具、近藤英雄、橋本成広、藤里俊哉	培養筋管細胞の収縮動態の定量評価	第20回バイオエンジニアリング講演会講演論文集	No.07-49	297-298	2008
西垣戸麻美、江橋具、藤里俊哉、森反俊幸、山岡哲二	超高圧印加処理により作製した脱細胞化神経の移植	日本再生医療学会雑誌	vol.7, Suppl.2008.2	204	2008
T Ehashi, H Hashimoto, T Fujisato.	Elongation of bone marrow cells stimulates differentiation into skeletal muscle cells cultured in the acellular scaffold.				In preparation
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	1(1)	161-5	2007

Kimura T, Iwai S, Moritan T, Nam KW, Mutsuo S, Yoshizawa H, Okada M, Furuzono T, Fujisato T, Kishida A.	Preparation of PVA/DNA hydrogels via hydrogen bonds by ultra high pressure treatment and controlled release of DNA from hydrogels for gene delivery	J Artif Organs	10	104-08	2007
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)	120-24	2007
Fujisato T, Funamoto S, Yoshida K, Yamaoka T, Kimura T, Kikuchi M, Kobayashi Y, Kishida A, Nakatani T	Regenerative Tissue Scaffolds Prepared by Gamma Ray Irradiation	The 2007 Annual meeting of The Society for Biomaterials		860	2007
内田 翔、藤里俊哉、小堀哲生、村上章、山岡哲二	オリゴ乳酸-ペプチドコンジュゲートを用いたポリ乳酸スキャホールドの表面修飾	Polymer Preprints, Japan	56(1)	2104	2007
Terada D, Sawada K, Ogata H, Hiraku K, Kamata W, Yoshida K, Funamoto S, Nagaya N, Kishida A, Fujisato T, Nakatani T	Development of the vascular graft having an in situ repopulationality	TERMIS-NA,			2007
Fujisato T, Terada D, Niwaya K, Minatoya K, Kishida A, Nakatani T, Kitamura S.	Regenerative vascular graft for aortic root reconstruction in porcine model	The Society for Heart Valve Disease 4th Biennial Meeting		323	2007
寺田堂彦、藤里俊哉	移植用生体弁の力学評価	Fiber Preprints, Japan	62(2)	15	2007
藤里俊哉、菊池正博、坂下哲哉、舟山知夫、小林泰彦、船本誠一、木村剛、岸田晶夫、山岡哲二	放射線照射による脱細胞バイオスキャホールドの調製	第2回高崎量子応用研究シンポジウム			2007
船本誠一、橋本良秀、佐々木秀次、南祐広、望月学、藤里俊哉、木村剛、小林尚俊、岸田晶夫	超高压処理技術を応用した人工角膜の作製と評価	第15回生物関連高压研究会20周年記念シンポジウム		P-1	2007
寺田堂彦、藤里俊哉、中谷武嗣、北村惣一郎	再生型生体弁の特性評価	日本機械学会 2007年度年次大会		291-2	2007
山崎健一、林宏行、小林裕之、宇戸禎仁、近藤英雄、橋本成広、藤里俊哉	電気パルスを用いた筋管細胞の収縮制御	第18回バイオフロンティア講演会		23-24	2007
Fujisato T, Terada D, Niwaya K, Minatoya K, Kishida A, Nakatani T, Kitamura S	Tissue regeneration by acellular scaffolds prepared by detergent-free treatment.	人工臓器	36(2)	S-14	2007

T Kimura, S Iwai, T Moritan, K Nam, S Mutsuo, H Yoshizawa, M Okada, T Furuzono, T Fujisato, A Kishida	Preparation of PVA/DNA hydrogels via hydrogen bonds by ultra high pressure treatment and controlled release of DNA from hydrogels for gene delivery	Journal of Artificial Organs	10	104-108	2007
T Kimura, S Funamoto, Y Hashimoto, S Sasaki, M Mochizuki, K Nam, T Fujisato, S Kitamura, H Kobayashi, A Kishida	Preparation and preliminary animal study of decellularized cornea using high hydrostatical pressurization				In preparation
T Fujisato, S Funamoto, K Yoshida, T Yamaoka, T Kimura, M Kikuchi, Y Kobayashi, A Kishida, T Nakatani	Regenerative Tissue Scaffolds Prepared by Gamma Ray Irradiation	The 2007 Annual Meeting of the Society For Biomaterials		No.860	2007
H Kobayashi, T Kimura, S Funamoto, Y Hashimoto, S Sasaki, M Mochizuki, K Nam, T Fujisato	A Kishida, Preparation of decellularized cornea by chemical and physical methods	TERMIS-NA,			2007
寺田堂彦、藤里俊哉	移植用生体弁の力学評価	Fiber Preprints	62(2)	15	2007
Murakoshi A., Kimura T., Funamoto S., Fujisato T., Nakatani T., Kitamura S., Kishida A.	Effect of the Pressurizing Process on the Decellularized Aortic Tissue Using Ultra High Hydrostatic Pressurization	Tissue Eng	13	1680	2007
H Kobayashi, T Kimura, S Funamoto, Y Hashimoto, S Sasaki, M Mochizuki, T Fujisato, A Kishida	Implantation of porcine cornea decellularized by ultra high pressurization to rabbit cornea	Tissue Eng	13	1709-10	2007
Kimura T, Funamoto S, Hashimoto Y, Sasaki S, Mochizuki M, Fujisato T, Kobayashi H, Kishida A	Preparation and characterization of cornea decellularized by ultra high pressurization	Tissue Eng	13	1746-47	2007
寺田堂彦、藤里俊哉、中谷武嗣、北村惣一郎	再生型心臓弁の特性評価	日本機械学会 2007年度年次大会講演論文集	No.07-1, vol.5	291-292	2007
Fujisato T, Terada D, Niwaya K, Minatoya K, Kishida A, Nakatani T, Kitamura S	Tissue Regeneration by Acellular Scaffolds by Detergent-Free Treatment,	人工臓器	36(2)	S-14	2007
T. Kimura, S. Funamoto, Y. Hashimoto, S. Sasaki, M. Mochizuki, K.W. Nam, T. Fujisato, T. Nakatani, S. Kitamura, H. Kobayashi, A. Kishida	Acellular porcine cornea via ultra-high pressurization as a scaffold for regeneration of cornea	人工臓器	36(2)	S-86	2007

船本誠一、橋本良秀、南広祐、佐々木秀次、望月學、藤里俊哉、木村剛、小林尚俊、岸田晶夫	組織工学的手法による人工角膜の開発	第29回日本バイオマテリアル学会大会予稿集		126	2007
近藤英雄、北孝之、寺田堂彦、山崎健一、橋本成広、藤里俊哉	生体高分子ゲルを用いた電気インピーダンス法の基礎的検討	第29回日本バイオマテリアル学会大会予稿集		286	2007
奈良雅尚、山崎健一、寺田堂彦、澤田和也、近藤英雄、橋本成広、藤里俊哉	ポリプロピレン繊維を用いた筋芽細胞の三次元培養	第29回日本バイオマテリアル学会大会予稿集		335	2007
T. Kimura, S. Funamoto, Y. Hashimoto, S. Sasaki, M. Mochizuki, K.W. Nam, T. Fujisato, T. Nakatani, S. Kitamura, H. Kobayashi, A. Kishida	Characterization of acellular porcine cornea by ultra-high pressurization as artificial cornea	TERMIS-AP			2007
T. Fujisato, D. Terada, K. Sawada, K. Yoshida, A. Kishida, K. Miyamoto, K. Niwaya, T. Nakatani, S. Kitamura	Evaluation of Acellular Scaffolds for Heart Valve Regeneration	1st Asiam Biomaterials Congress		112	2007
Y. Saitoh, M. Katanoda, H. Yamada, T. Fujisato, T. Kimura, K. A. Kishida, K. Takakuda	Reconstruction of small diameter arteries using acellular vessel scaffold	1st Asiam Biomaterials Congress		250	2007
S. Funamoto, Y. Hashimoto, S. Sasaki, M. Mochizuki, T. Kimura, T. Fujisato, H. Kobayashi, A. Kishida	Development of Acellular Cornea as an Artificial Cornea	1st Asiam Biomaterials Congress		263	2007
Fujisato T, Terada D, Funamoto S, Minatoya K, Kishida A, Yamaoka T, Nakatani T, Kitamura S	Tissue Regeneration by Decellulitized biological scaffolds prepared by detergent-free treatment	Biologic Scaffold for Regenerative Medicine, 5th Symposium,		12	2007
山崎健一、林宏行、小林裕之、宇戸禎仁、近藤英雄、橋本成広、藤里俊哉	電気パルスを用いた筋管細胞の収縮制御	第18回バイオフロンティア講演会講演論文集		23-24	2007
山崎健一、寺田堂彦、近藤英雄、橋本成広、藤里俊哉	無細胞生体由来組織を用いた筋芽細胞の3次元培養	第10回日本組織工学会抄録集		62	2007
近藤英雄、北孝之、山崎健一、寺田堂彦、橋本成広、藤里俊哉	電気インピーダンス法を用いた骨格筋の評価	第18回バイオフロンティア講演会講演論文集		29	2007
橋本良秀、船本誠一、佐々木秀次、望月學、藤里俊哉、木村剛、小林尚俊、岸田晶夫、	脱細胞化角膜の組織適合性評価、日本再生医療学会雑誌、7、Suppl、260、2008	日本再生医療学会雑誌	7,Suppl	260	2008
村越彩子、木村剛、船本誠一、藤里俊哉、岸田晶夫、	力学特性の制御を目指した脱細胞化血管の調製	日本再生医療学会雑誌	7,Suppl	280	2008

寺田堂彦、澤田和也、緒方裕之、平工香織、鎌田和加子、吉田謙一、船本誠一、藤里俊哉、岸田晶夫、山岡哲二、中谷武嗣	脱エラスチン化血管組織をスキヤフォールドとして用いた動脈組織再生	日本再生医療学会雑誌	7,Suppl	280	2008
玉井克明、藤里俊哉、岸田晶夫、山岡哲二、	血管組織の新規脱細胞化処理法の検討、	日本再生医療学会雑誌	7,Suppl	280	2008
山崎健一、寺田堂彦、近藤英雄、橋本成広、藤里俊哉	無細胞生体由来組織を基材としたバイオアクチュエータの開発	第20回バイオエンジニアリング講演会講演論文集	No.07-4 9	313-314	2008
近藤英雄、北 孝之、山崎健一、寺田堂彦、橋本成広、藤里俊哉	電気インピーダンス法による骨格筋損傷度の評価の試み	第20回バイオエンジニアリング講演会講演論文集	No.07-4 9	173-174	2008
山崎健一、寺田堂彦、奈良雅尚、近藤英雄、橋本成広、藤里俊哉	脱エラスチン組織-コラーゲンゲル複合体を足場としたC2C12細胞の3次元培養	日本再生医療学会雑誌	vol.7, Suppl.20 08.2	285	2008
近藤英雄、北 孝之、寺田堂彦、山崎健一、橋本成広、藤里俊哉	生体高分子ゲルを用いた電気インピーダンス法の検討	日本再生医療学会雑誌	vol.7, Suppl.20 08.2	291	2008
林 宏行、山崎健一、小林裕之、宇戸禎仁、近藤英雄、橋本成広、藤里俊哉	電界に対する培養筋管細胞の異方性	日本再生医療学会雑誌	vol.7, Suppl.20 08.2	286	2008
奈良雅尚、山崎健一、寺田堂彦、澤田和也、近藤英雄、橋本成広、藤里俊哉	ポリプロピレン繊維-コラーゲンゲル複合体を用いた筋芽細胞の三次元培養	日本再生医療学会雑誌	vol.7, Suppl.20 08.2	285	2008
北 孝之、近藤英雄、寺田堂彦、山崎健一、橋本成広、藤里俊哉	電気インピーダンス法を用いた培養筋成熟度の評価の試み	日本再生医療学会雑誌	vol.7, Suppl.20 08.2	285	2008
西山慶子、川北悠介、林宏行、山崎健一、宇戸禎仁、近藤英雄、橋本成広、藤里俊哉	細胞への電気刺激を目的とした電位分布の測定	日本再生医療学会雑誌	vol.7, Suppl.20 08.2	286	2008

第1章 医療用バイオベースマテリアル

山岡哲二*¹, 木村良晴*², 藤里俊哉*³

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では、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。性能と安全性が達成されれば、高額であっても十分な付加価値としては、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、とは限らない。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多くある。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。我が国においても、江戸時代には実用に耐える木製義歯が存在していた。また、外科用縫合糸として絹糸が利用されたのは11世紀のことである。羊腸や牛腸が縫合糸として利用された歴史は古く1800年代に優れた滅菌法が開発されて、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 Yoshiharu Kimura 京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科 生体分子工学部門 教授
バイオベースマテリアル研究センター長

* 3 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、スキヤホールド(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¹⁾。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)。スキヤホールド材料は、細胞増殖のための接着足場として機能し、細胞が増殖して組織が構築されるとともに分解吸収される。

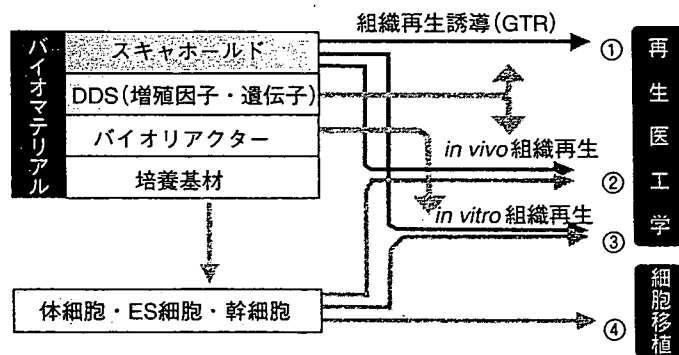


図1 再生医療の戦略

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ぎ、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

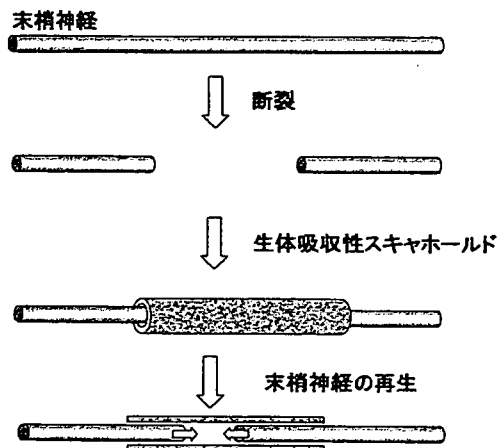


図2 GTRによる組織再生

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
		2.2 タンパク質	コラーゲン・血漿アルブミン
	3. 微生物産生	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
合成高分子	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 ポリラクトド類	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
			ポリビニルアルコール (低分子量体)
	2. ポリオール		ポリエステルカーボネート
	3. ポリカーボネート		ポリ酸無水物・ポリシアノアクリレート
	4. その他		ポリオルソエステル・ポリフォスファゼン