

P-367 ブタ皮下脂肪組織由来間葉系幹細胞シート
の作製と積層化

常 徳華¹, 清水 達也¹, 原口 裕次¹, 坂口 勝久²,
大和 雅之¹, 梅津 光生², 岡野 光夫¹

¹東京女子医科大学先端生命医学研究所, ²早稲田大学大学院
生命理工学研究科

【背景】近年、ラット及びマウス皮下脂肪組織由来の間葉系幹細胞 Mesenchymal Stem Cell (MSC) による一層細胞シートを移植することにより、心筋梗塞後の心機能が改善されることが報告されたが、今回我々は動物実験としてブタ皮下脂肪組織由来 MSC を用いて、細胞シートを作製し、積層化を試みた。

【方法と結果】生後 8 ヶ月クローン系ミニ豚 (体重 20-30kg) を用い、全身麻酔した後、腹部皮下組織 (3-5g) を採集した。コラゲナーゼタイプ I 25ml を加えて細胞を単離し、遠心操作で (3000rpm 10min 4°C) 細胞を回収した。培養皿 (直径 90mm) に培地 10ml を加え 37°C で 7 日間培養した。その間 2-3 回培地を交換することにより、培養皿に接着しない細胞は除去された。接着細胞は増殖して培養皿を広く覆い、殆どの細胞は MSC に特異的な表面マーカー CD29, CD90 を発現していた。この MSC を温度応答性培養皿 (直径 35mm) に再播種し、4 日間培養した。培地の温度を 37°C から 20°C に下げることにより、MSC は自発的に温度応答性培養皿から剥がれ、一層の MSC シートとして回収された。このようにして回収された二枚の MSC シートを重ねると、すみやかに二枚のシートは接着し、三次元的組織を構築した。

【結論】細胞シートの技術を用い、脂肪組織由来 MSC による重層化細胞シートを作製した。今後、この MSC シートの更なる積層化を行い、その構造と機能を評価する予定である。

P-369 脂肪組織由来 neurosphere のマウス胎児移植

長瀬 敬¹, 菊地 寿幸¹, 岩波 明生¹, 池上 健¹,
町田 正文¹, 岡野 栄之², 松本 大輔³,
吉村 浩太郎³, 村瀬 祥子⁴, 重浦 智邦⁴,
桑名 隆滋⁵, 井上 誠⁵, 長谷川 護⁵

¹独立行政法人国立病院機構村山医療センター臨床研究センター,
²慶應義塾大学生理学, ³東京大学形成外科, ⁴(株)バイオマスター,
⁵(株)ディナベック

【目的】本来中胚葉系臓器であるはずの真皮や心臓から回収した neurosphere が、外胚葉系の神経幹細胞であるとの報告が最近散見される。そこで幹細胞ソースとして最近注目されている脂肪組織に着目し、脂肪由来 neurosphere (以下 adiposphere: AS) も同様に神経堤の性質を持つかを検討する目的で以下の実験を行った。

【方法】ラット AS での神経幹細胞マーカー (Nestin, Musashi-1) および神経堤幹細胞マーカー (p75NTR, Slug など) の発現を RT-PCR で解析し、ラット胎生 14 日胎児中枢神経由来神経幹細胞 (NSC) におけるこれらの発現と比較検討した。またヒト AS にセンダイウイルスベクターにより GFP 遺伝子を導入し、これを胎生 7.8 日マウス胚頭部に移植して、40 時間前後全胚培養した後の GFP 陽性 AS の状態について観察を行った。

【結果】ラット AS はラット胎児 NSC と同程度の Nestin, Musashi-1 発現を認めたほか、p75NTR, Slug の発現は AS において NSC よりも増強していた。GFP 導入ヒト AS 移植を試みた胎児 9 体のうち 2 体において、移植細胞の第 2 鰓弓内での遊走を認めた。

【考察】AS は p75NTR, Slug 陽性に加え、マウス胎児内で遊走したことから、単なる神経幹細胞というよりむしろ神経堤幹細胞に近い性質を持つ可能性が示唆された。

P-368 低血清培養法による脂肪由来間葉系幹細胞
の急性腎不全に対する効果

尾崎 武徳¹, 丸山 彰一¹, 渡辺 達人¹,
岩島 重二郎², 安田 香³, 山本 徳則³, 北川 泰雄³,
後藤 百万³, 松尾 清一³

¹名古屋大学医学部腎臓内科, ²名古屋大学農学部, ³名古屋大学
医学部泌尿器科

【目的】近年、脂肪由来間葉系幹細胞 (ASCs) は様々な臓器において組織再生促進作用をもつことが報告されてきている。名古屋大学農学部の北川らは低血清培養 (2%血清) を行うことにより高血清 (20%血清) で培養したときより分化能の高い間葉系細胞集団が得られることを報告した。今回我々は低血清培養法にて分離培養した ASCs のサイトカイン分泌能について検討し、さらに急性腎不全に対する効果について検討した。【方法】12 週齢のヌードラットの右腎臓を摘出し、1 週間後に葉酸 200mg/kg を尾静脈より投与し、急性腎不全モデルを作成した。葉酸投与 7 時間後に低血清培養にて分離培養したヒト ASCs 4×10^6 個を左腎皮膜下に注入した。コントロールは生理食塩水のみを注入した。経時的に BUN, S-Cr を測定し、比較検討した。また、治療 14 日目にラットを屠殺し腎臓を採取し、ヒト特異的抗体にて免疫染色を行った。ASCs のサイトカイン分泌能については、培養上清中の VEGF, HGF など ELISA 法にて測定した。【結果】ASCs は in vitro で VEGF, HGF などのサイトカインを分泌していた。細胞治療群ではコントロール群に比べ有意に腎機能の改善を認めた。投与した ASCs は腎実質内への移動はみられず、腎皮膜下に生着していた。

【結論】低血清培養法にて分離培養した ASCs はサイトカイン分泌を介して急性腎不全を改善させる。

P-370 筋芽細胞に対する磁場の影響

高瀬 潤¹, 江橋 具², 藤里 俊哉², 橋本 成広¹
¹大阪工業大学大学院, ²国立循環器病センター

現在、腫瘍切除などにより欠損した筋組織部位を補填するための手段として、再生医療が注目されている。我々は、再生型筋マテリアルの作成を目標とする研究を行っている。ここで、骨組織や筋組織の維持には物理的刺激が必要不可欠であり、近年何種類かの物理的刺激による細胞への影響を調べる研究が行われている。本研究は、細胞に接触することなく刺激を与えることができる磁場刺激を筋芽細胞に与えることによる、細胞の増殖率や筋管細胞への分化への影響について検討した。ブタの大腿筋からトリプシン処理により採取した筋芽細胞を、コラーゲンコートディッシュに播種して、4 時間後から磁場曝露を開始した。筋芽細胞の同定には、デスミン染色を用いた。磁場曝露には、ソレノイドコイルを用いて磁束密度 2.0mT, 3.0mT 周波数 60Hz, 正弦波で行った。これまで用いてきた装置では、磁場曝露によりインキュベータ内での温度上昇が生じるため、磁束密度によりインキュベータの設定温度を変更し、培地の温度を 37°C 一定に保つようにした。曝露時間は、24, 48, 72 時間とし、それぞれの時間でディッシュから細胞を剥離、細胞数を数えて増殖率を計測した。また、分化誘導については、筋細胞の分化マーカーの mRNA 発現量や細胞の形態の変化を観察することにより調べた。その結果、本研究では曝露時間が短かったため、細胞形態に変化が認められなかったものの、分化発現への影響が多少あると考えられた。

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。

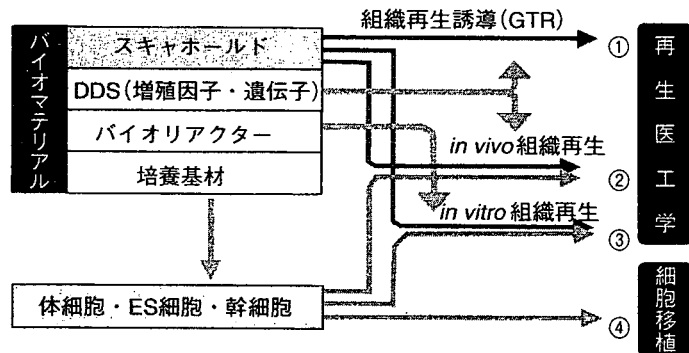


図1 再生医療の戦略

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

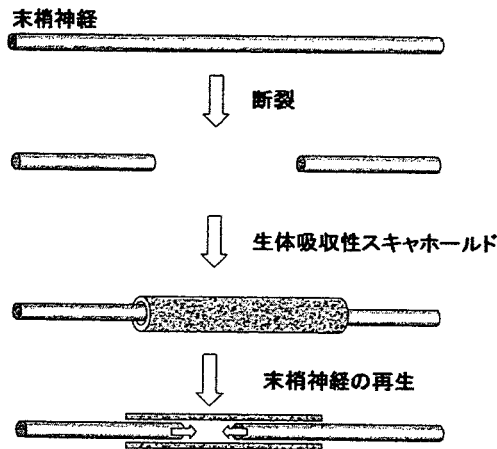


図2 GTRによる組織再生

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
		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・アジバート
	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)²⁾。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、分解速度がさ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³⁾、生分解性の癒着防止膜⁴⁾や止血剤⁵⁾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- α -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DexonTM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。

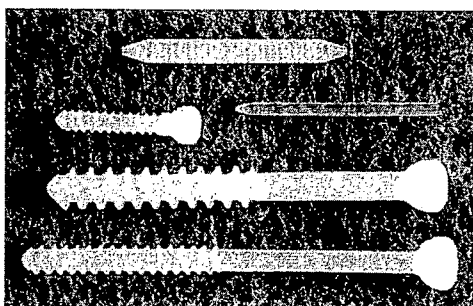


図3 ポリ乳酸製の骨固定ピン

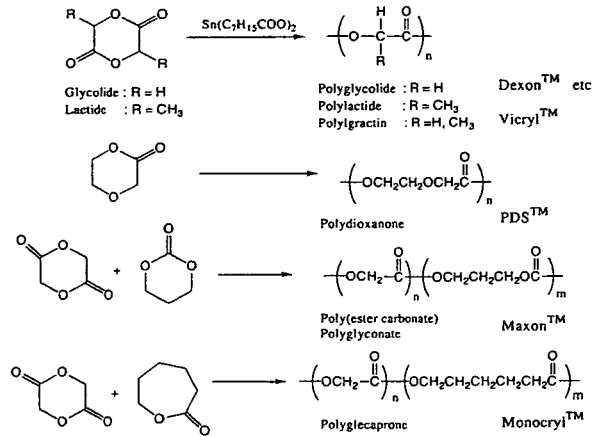


図4 さまざまな外科用縫合糸の構造

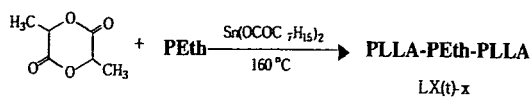
3 機能性ポリ乳酸誘導體

3.1 人工皮膚—ポリ乳酸系ハイドロゲル／ハイドロキシアパタイト複合体—

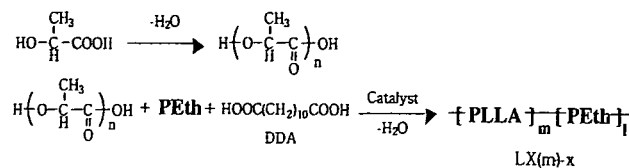
BSE問題など、コラーゲンの医療分野での利用が制限されつつある状況のなかで、コラーゲンが有する優れた生体適合性を合成材料で再現することは重要な課題である。我々のグループでは、コラーゲン製人工真皮の代替となる機能性PLA誘導體の開発を進めてきた。まず、細胞がマトリックス内部で増殖できる環境を与えるためには、含水ゲルであることが重要であると考え、PLAセグメントとポリエチレングリコール(PEG)セグメントからなるマルチブロック共重合体の新規合成方法を開発した(図5)⁶⁾。ここでは、生体内での蓄積性を回避できる分子量20000のPEGを利用した。所定量のデカンジカルボン酸を系中の水酸基とカルボキシル基を等モル量に調節するために添加し、さらに、ジフェニルエーテルを溶媒とした環流により脱水重縮合を加速させた。得られたマルチブロック共重合体のPEG組成は3～87%であり、何れの分子量も約10万であった。すなわち、マルチブロック共重合体の開発により、PLA-PEG-PLAトリブロック共重合体ではPEG組成の上昇とともに分子量が低下するという欠点を克服したことになる。なぜなら、PEGの組成が3～87%のトリブロック共重合体の理論分子量は、PEGの分子量が20000の場合、67万～2.3万となる。逆に考えれば、成形加工が可能な分子量10万程度を確保するには、PEG組成は20%が上限と云うことである。このマルチブロック共重合体の開発により、速い分解速度と含水性を有しながらも市販の外科用縫合糸と同等の初期破断強度を有する強い材料が調製でき、メッシュ、フィルム、不織布、スポンジなど様々な形状でスキャホールドとしての利用が可能となった。

マルチブロック共重合体のバルク内の構造は、その組成比に応じたマイクロ相分離構造を有する

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（図6）。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⁷⁾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7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。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の複合材

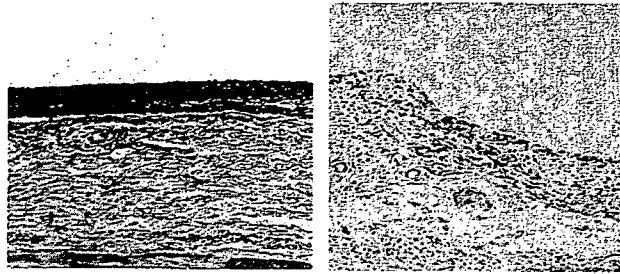


図6 ラット皮下2週埋入後の組織反応
(左: PLLA, 右: マルチブロック共重合体)

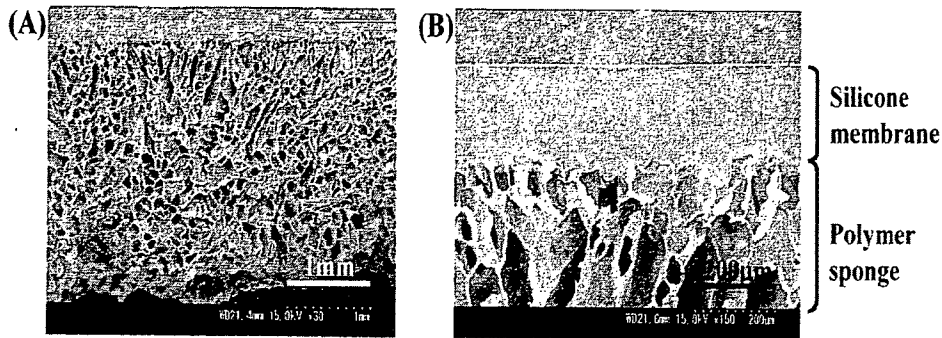


図7 マルチブロック共重合体スポンジとシリコン薄膜からなる、完全合成型人工皮膚のSEM写真

料をしのぐ特性であり、このマルチブロック共重合体ハイドロゲルスポンジ/HAp 複合体は、その柔軟な特性とマイルドな炎症反応を併せもつ皮膚組織修復材料として期待される。

3.2 細胞移植用インジェクタブルスキャホールド

近年、心筋梗塞部位への細胞移植などによる著効が報告されているが、移植した細胞を患部へ効率的に送達（固定）することは容易ではなく、細胞生着率は10%以下との報告もある。そこで、移植細胞を懸濁させるマトリックスとしてインジェクタブルスキャホールドが注目されている。インジェクタブルスキャホールドとは、生体外では溶液であり、患部に適応された後に何らかの刺激によりゲル化（固化）する相転移材料である。我々のグループでは、ポリ-L-乳酸（PLLA）、あるいはポリ-D-乳酸（PDLA）と、PEGとのABA型トリブロックコポリマーを利用して、低温では液状で32℃以上でゲル状に相転移するインジェクタブルスキャホールドの開発に成功した⁸⁾。まず、PLLA-PEG-PLLAトリブロック共重合体を水系中に分散してPLLAコアとPEGコロナからなる高分子ミセル（L体ミセル）を作製する。同様にPDLA-PEG-PDLAからD体ミセルを調製した。両者の10%懸濁液を混合し（図8，d）、37℃で処理すると透明なゲル

状に変化した (図 8, e)。このような相転移現象は, L 体ミセルのみの懸濁液では観察されないこと (図 8, a-c), および, X 線散乱解析の結果から, この相転移現象が PLLA と PDLA とのステレオコンプレックス形成に基づいてミセル間に架橋が生じるためであることが明らかとなっている。このインジェクタブルゲルは, 生体内で分解される PLA と生体内非蓄積性である PEG のみからなる, 含水率 90 % の完全生体吸収性のインジェクタブルスキャホールドである。

このゲルが細胞毒性を有さないこと, および, 細胞の生存と増殖を許容するかを見当するために, 緑色蛍光 (GFP) 発現マウス繊維芽細胞の移植実験を行った。L 体・D 体ミセル混合液に所定数の GFP 発現細胞を添加した懸濁液を, GFP(-) マウスの大腿部に注入し, 所定時間後に移植細胞の様子を蛍光顕微鏡下にて確認した (図 9)。その結果, ゲル中で細胞は正常に蛍光を発し, その毒性の低さと, 細胞移植用インジェクタブル材料として機能することが実証された。

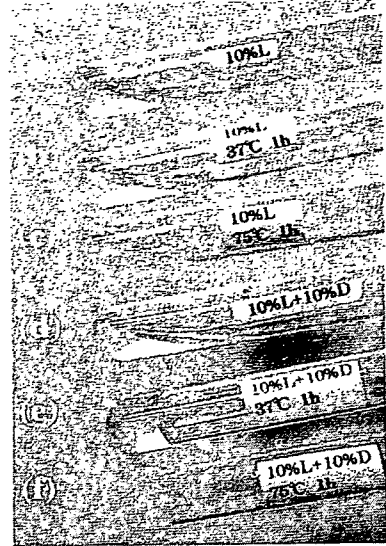


図 8 L 体ミセル懸濁液 (a) は 37 度ではゲル化しない (b) が, L 体・D 体混合ミセル溶液 (d) は, ステレオコンプレックス形成に基づいて, 37 度でゲル化する (e)

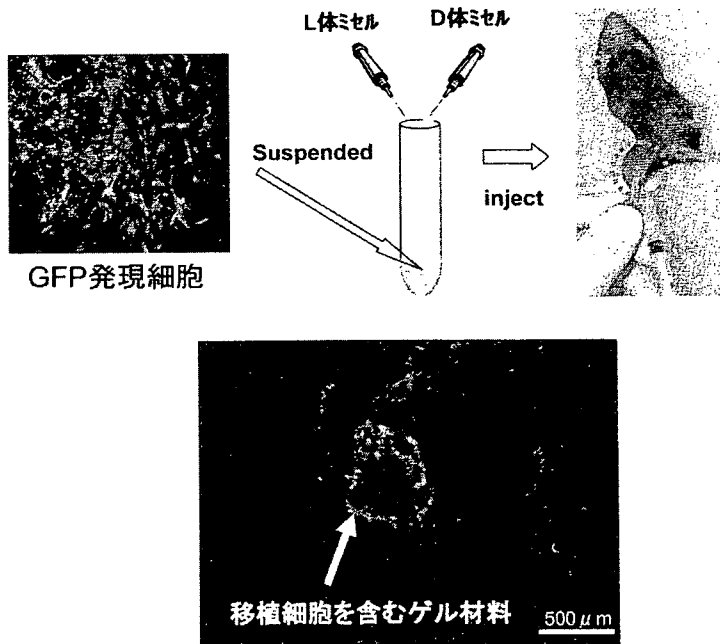


図 9 緑色蛍光タンパクを発現する細胞の移植実験

4 生体組織の利用

医療分野におけるバイオベース材料の究極の利用は臓器移植ではないだろうか。現代の技術では、完全な臓器を作製することは不可能であり、多孔質スキャホールドを利用した再生医学では、3次元構造を有する組織や器官への応用は容易ではない。そこで、我々は、さらに機能性に富んだスキャホールドとして、生体組織から細胞を除去して生体スキャフォールドとして利用するアプローチを試みている。ヒトあるいは動物から採取した心臓弁から、放射線照射及び洗浄処理によって細胞成分や細菌、ウイルス、DNAを完全に除去した脱細胞化組織は、移植後に自己細胞が侵入することでリモデリングされ、自己組織化されると期待される。さらに、この脱細胞化スキャフォールドに、*in vitro*において患者の自己細胞を播種するテーラーメイド移植によって、より早期の自己化を獲得できると考えられる（図10）。

生後4ヶ月、体重約10kgのクラウン系ミニブタから清潔下にて下行大動脈を採取し、PBSによる洗浄後、PBSを満した滅菌容器に封入して、10, 30, 100, 300, あるいは1000 Gyのガンマ線を照射して約2週間洗浄した。ガンマ線未照射の組織では洗浄後も組織内に核の残存が見られたが、照射線量が増えるにつれて洗浄後組織内の核の残存が減少し（図11）、さらに、残存DNAを測定したところ、300 Gy以上の照射で大幅に減少した（図12）。

一方、作製した脱細胞組織の破断強度並びに弾性率は、もとの組織とはほぼ同程度であった。すなわち、300 Gy以上のガンマ線を照射後、洗浄処理することによって、細胞外マトリックスの特性を保持したままで、循環器系組織内の細胞はほぼ完全に除去できる。

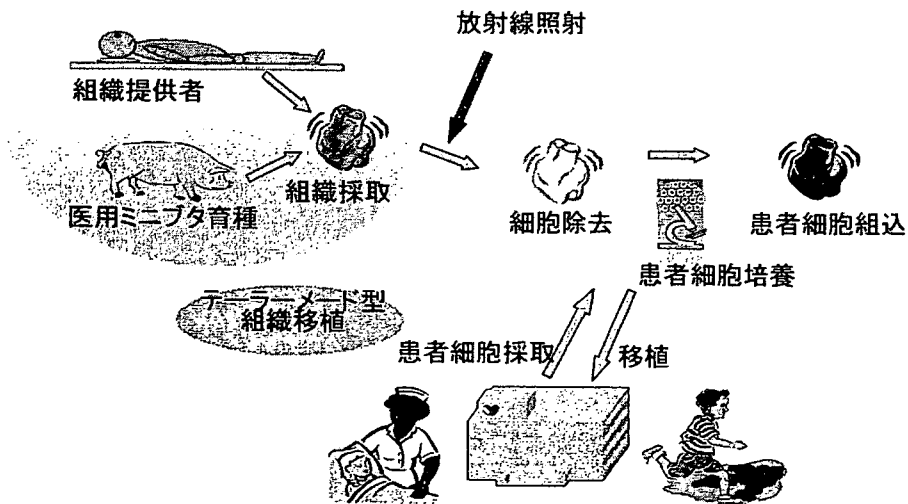


図10 テーラーメイド型組織移植

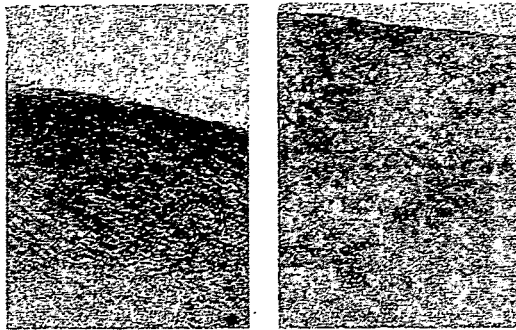


図11 ガンマ線照射（10kGy）及び洗浄処理によって脱細胞化したブタ心臓弁組織
（左：処理前，右：処理後）

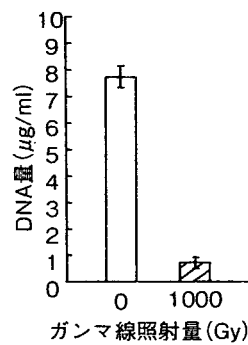


図12 ガンマ線照射及び洗浄処理によって細胞を除去したブタ血管組織の残存 DNA 量

Wister ラット（7週令）の皮下部位に上記脱細胞化ミニブタ大動脈を埋入し、2週間後に取り出して組織学的検討を行った。脱細胞化ミニブタ大動脈の場合では、血管新生が認められず、さらに、マクロファージ陽性を示す CD 68 陽性細胞数が優位に抑制されており、脱細胞組織のマイルドな炎症反応が証明された。上述したように、生体由来であるが故に懸念されるウイルスや感染性物質も、放射線処理により回避できる可能性も高く、今後、安全かつ優れた組織親和性を有するスキャホールド材料として期待できる。

5 おわりに

これまでに生分解性と分解生成物の安全性が確認されてきた PLA や PGA のみならず、生体由来の物質の高い機能性は計り知れない。今後も、様々な合成手技や化学修飾法を開発することで、その機能性はさらに向上するであろう。生物学的に優れた細胞外マトリックスの働きを少しでも再現できる機能性マトリックスにより、今後の組織再生医工学は新たなステージを迎えるこ

ととなる。

謝辞

本研究は、原子力試験研究費、厚生労働省循環器病研究委託費（18指—2）および京都ナノテク事業創成クラスターの補助により行われた。

文 献

- 1) R. Langer, J. P. Vacanti, *Science*, 260, 920–6 (1993)
- 2) 木村良晴, 山岡哲二, 生分解性高分子の基礎と応用 (筏 義人編著, アイピーシー出版), pp 7–63 (1999)
- 3) 筏 義人, 生体材料学, 産業図書 (1994)
- 4) Nishimura, K., Bieniarz, A., Nakamura, R., diZerega, G. S., *Jpn. J. Surg.*, 13, 159–163 (1983)
- 5) Lason, B., Nisell, H., Grandberg, I., *Acta Chir. Scand.*, 144, 375–381 (1978)
- 6) T. Yamaoka, Y. Takahashi, T. Ohta, M. Miyamoto, A. Murakami, and Y. Kimura, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, 37, 1513–1521 (1999)
- 7) Taguchi, T., Kishida, A., Akashi, M., *J. Biomater. Sci. Polym. Edn.*, 10, 331–339 (1999)
- 8) T. Fujiwara, T. Mukose, T. Yamaoka, H. Yamane, S. Sakurai, and Y. Kimura, *Macromol. Biosci.*, 1, 204–208 (2001)

CMC777-201677177777

再生医療工学の技術

監修 ◆ 笹 義人

biology
-generative
icine

CMC777-201677177777

再生医療工学の技術

監修 ◆ 笹 義人



9784882319375



1923047038005

ISBN978-4-88231-937-5
C3047 ¥3800E

定価(本体3,800円+税)(B0830)

CMO

通常は60歳以上の高齢者への適用とされる。また、BSE問題をきっかけに、ウシ心臓の使用は控えられる傾向にある。

欧米では1985年頃から、我が国でも、近年、凍結保存による組織バンクが整備されたことにより、死体から提供された凍結保存同種弁が臨床で使用されつつある。これは、機械弁に比べて抗血栓性で、異種生体弁に比べて耐久性で、そして両者に対して抗感染性で覆われているとされる。しかしながら、提供数が絶対的に不足しているのが大きな問題である。また、若年者では比較的早期に瓣膜不全をきたす症例も報告されており、免疫反応の関与が強く示唆されている。若年者に有効とされる Ross 手術では、自己肺動脈弁を大動脈弁位に置換移植し、欠損した肺動脈弁を凍結保存同種弁によって再建するが、大動脈弁位に移植された自己肺動脈弁は患者の成長とともに増大するという特徴がある。これに対して、機械弁や異種生体弁はもとより、凍結保存同種弁でも成長性を有しないため、小児患者の場合では再移植となる場合が少なくない。以上のように、再生医療心臓弁に求められる特性として、抗凝固性、耐久性、成長性などが挙げられよう。

4.3 再生医療心臓弁の世界動向

マサチューセッツ工科大学の Langer や Vacanti らによって提唱された組織工学の手法は、すでに米国で細胞を組み込んだ人工皮膚として製品化されている。同様の手法を用いた再生医療人工弁が、1995年以降、彼らのグループから報告されている⁹⁾。新聞にはヒツジを用いた実験で、末梢血管壁の細切によって血管内皮細胞、平滑筋細胞、および線維芽細胞を分離した後に8-10週間培養し、ポリグリコール微粒子のシート状メッシュ上にまず線維芽細胞と平滑筋細胞を、続けて1週間後に血管内皮細胞を播種することによって、再生医療心臓弁を作成した。ヒツジの肺動脈弁の一葉を再生医療心臓弁葉で置換したところ、6週後には正常組織と同様の組織が再生し、9週以降は力学特性も正常組織と同等であったと報告している⁹⁾。最近、彼らは弁葉だけでなく、三葉を有するバルサルバル付きの心臓弁組織 scaffold を開発し、細胞を播種することで *in vitro* で弁全体を組織工学的に作成し、臨床応用を開始する計画である。このような生体吸収性 scaffold を用いた再生医療心臓弁は、韓国ソウル大学などからも報告されている⁹⁾。

一方、米国の CryoLife 社は1992年から米国政府の補助を受けて動物組織から細胞を除去した異種組織移植法の研究開発に取り組み、詳細を明らかにしていないが、SynerGraft と称する細胞除去方法を発表している。同社は1999年から脱細胞化ブタ大動脈弁の臨床使用を開始し、2001年には世界初の再生医療心臓弁と称して欧州で市販を開始した。移植後数ヶ月間で自己細胞が組織内に浸潤し、自己組織化すると報告している⁹⁾。

ドイツ・ハノーバー医科大学の Haverich らのグループは、1998年から CryoLife 社と同様に異種生体弁から動物由来細胞を除去し、さらにレシビエントの自己血管内皮細胞を播種している。

4 心臓弁

藤里俊哉¹⁾、北村惣一郎²⁾

4.1 はじめに

日本人人工心臓学会の調査によると、我が国で心臓弁閉症によって置換を受けた患者は人工心臓弁と僧帽弁をあわせて1999年において年間8千人以上のほり、80%が機械弁、残り20%が異種生体弁である。また、米国胸外科学会の調査によると、大動脈弁置換術は1997年において年間約9千人であり、判明しているものうち約50%が機械弁、45%が異種生体弁、3%が同種弁、残りが自己弁である。術前診断や術中の体外循環技術の向上などもあり、大動脈弁置換術における死亡率は1998年において約4%とされている。このように、最も臨床的に使用される人工心臓弁の一つとして確立した感のある心臓弁置換術ではあるが、現在、どのような問題があり、これを解決するために再生医療心臓弁にはどのような特性が要求されるのだろうか。まず、心臓弁置換術の現状について述べた後、現在、開発されつつある再生医療心臓弁の動向、そしてその将来展望について述べる。

4.2 心臓弁置換術の現状

現在用いられている機械弁は、主にバイロフロイトカーボン製の2枚の半月状弁葉をもった二葉弁である。従来、弁葉部分の構造上の問題から弁閉後の圧差が無視できない大きさで、心臓能や手術に影響を与えたとされてきたが、最近、弁葉部分の改良によって有効弁口面積を広くしたものが開発され、弁閉が狭小の症例においても通常の弁置換術で対応可能である。また、独特の弁葉非動音を減少させたものも開発されている。機械弁はすでに十分な耐久性と血行動態を得ているが、依然として血栓性問題が解決されていない。抗凝固のため、術後は生涯にわたる低重なワーファリン服用のコントロールが必要であり、機械弁に血栓が付着した場合には急速な弁機能不全を招くとともに、脳塞栓症をきたす頻度も高くなる。また、ワーファリンが腫瘍形成を有することから、妊娠を希望する若年女性には使用できないという問題もある。

異種生体弁は、ブタ心臓弁あるいはウシ心臓弁を免疫賦活性の低下のためにグルタルアルデヒドで固定化したものである。従来、ステントへの固定のために有効弁口面積が減少するとともに、固定に伴うストレスが弁葉の石灰化や変成を促進するとされていたが、近年、後述の同種弁の成功をきっかけにステントを用いないステントレス異種生体弁が導入され、耐久性の向上が期待されている。異種生体弁は抗凝固性に優れているが、若年者では5-10年程度の耐久性は乏しく、

* 1 Toshia Fujisato 国立循環器病センター研究所 再生医療部 研究員

* 2 Soichiro Kitamura 国立循環器病センター 総長

彼らは界面活性剤である Triton X-100 やタンパク分解酵素であるトリプシン溶液を細胞除去に用いている⁹⁾。一方、英国リーズ大学の Ingham らは種々の液で細胞除去効果を検討し、SDS が最も細胞除去に適していると報告している¹⁰⁾。また、ドイツ・フランクフルト大学の Komertz らはのグループはヒツジを用いた6ヶ月間の動物実験で、脱細胞化ブタ肺動脈弁に自己内皮細胞を播種すると、弁の変形も石灰化も見られなかったと報告しており¹¹⁾、臨床使用を開始している。

4.4 我々の最新成果の紹介

我々は2000年から、Haverich らの方法を対照として、脱細胞化した異種生体弁を用いた再生医療研究を開始した。我々が生体組織を選んだのは、以前から視網膜(体同種弁)の臨床使用に取り組んできたことと、心臓弁のような複雑な形状を吸収性人工材料で造形することが容易でないこと、およびポリ乳酸などの生体吸収性人工材料は生体よりも硬いため生体と同等の力学特性をもたせるのが難しいと考えたためである。ミニブタあるいは食用ブタ肺動脈弁を採取し、Triton X-100溶液に浸漬して脱細胞化処理した。脱細胞化処理による生体力学特性への影響は力学試験機で測定した。ミニブタの大動脈から静脈処理によって採取した自己内皮細胞を2週間培養槽後に播種し、2日後に右心バイパス下にて肺動脈弁置換術を施行した。心エコーと圧測定による血行動態測定後に移植弁組織を摘出し、免疫染色などによって組織学的所見を検討した。

24時間の無細胞化処理によって表面から1mm以内の組織内細胞を除去できた(図1)。組織表面の血管内皮細胞は破壊されていたが、完全に脱落することはなく、他の物理的方法の併用が必要であった(図2)。また、Triton X-100は細胞毒性を示すため、組織から除去して細胞を播種するためには2週間以上の洗浄を要した。脱細胞化処理によって強度、弾性率ともに増加したが、コラーゲン繊維および弾性繊維の層内含有量と配列状態はほとんど変化なく、弁葉の厚さに

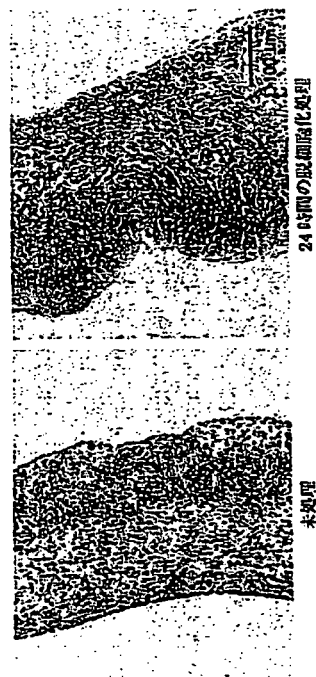
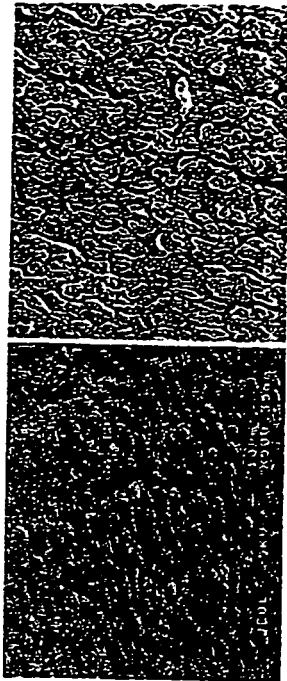


図1 Triton X-100によって脱細胞化された心臓弁葉の組織断面



24時間の脱細胞化処理

図2 Triton X-100によって脱細胞化された心臓弁葉の断面

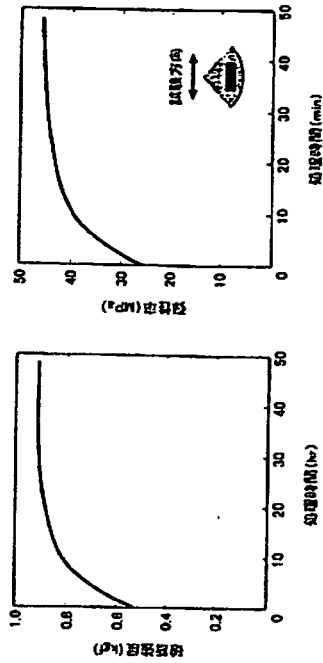


図3 Triton X-100によって脱細胞化された心臓弁葉の生体力学特性

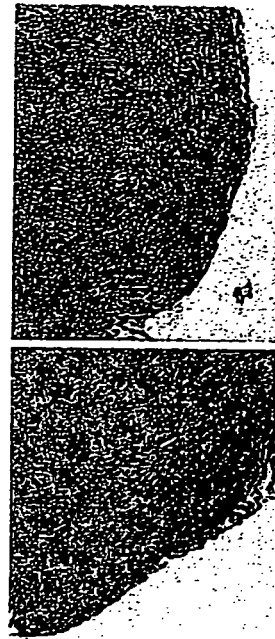


図4 ミニブタに1ヶ月間移植された再生医療用心臓弁

も変化は見られなかったため、置換術への影響はないと考えている (図3)。ミニブタ血管内皮細胞は分岐も容易で、内皮細胞培養地で平坦に増殖させることができ、静置下での培養で弁葉表面に内皮細胞を挿植できた。ミニブタへの移植実験では術後1ヶ月においても良好な弁機能を示しており、自己内皮細胞を挿植した再生医療弁では表面が完全に血管内皮細胞で覆われるとともに、組織内部への細胞浸透も見られたのに対し、細胞を挿植しないものでは、血管内皮細胞でほぼ覆われたものの、組織内への細胞浸透はわずかであった (図4)。

4.5 問題点と将来展望

以上のように、現在、再生医療心臓弁の scaffold には生体吸収性材料と脱細胞化生体組織とが研究されているが、現時点ではどちらが優れているかを見極めることは困難である。新聞らの再生医療心臓弁および CyoLife 社の SynerGraft とともに、肺動脈弁では良好な結果が得られているが、大動脈弁では力学強度の問題などから満足な結果が得られていないと報告されている。大動脈弁での血圧に耐えうる scaffold を得るために、吸収性材料の材質および造形方法の改良、あるいは細胞除去方法の改良などが必要であろう。また、脱細胞化処理については組織深部の細胞除去、動物組織からのウイルス除去などが課題であるが、我々はまったく新規な方法を開発しており、有望な結果を得つつある。一方、細胞の組み込み方法については、いくつかのグループは平滑筋細胞と線維芽細胞を先に播種し、後に血管内皮細胞を (播種) することで複数種の細胞を組み込んでいく。バイオリアクター装置を用いた細胞播種法の報告が参考となるが⁹⁾、弁葉部、弁葉基部、血管壁部のそれぞれに正常組織と同様に複数種の細胞を組み込むことは容易でないと思われる。細胞ソースをどこに求めるのかも検討すべき課題であるが、患者の負担をできるだけ下げるためには、骨髄細胞あるいは末梢血幹細胞などの利用が有効であろう。さらに臨床応用に際しては、GMP 基準に適合した細胞プロセッシング設備の設置も必要となる。

すでにいくつかの研究グループは臨床応用を始めつつある。いずれ、再生医療心臓弁が機械弁や異種生体弁に取って代わる日も近いと信ずる。

謝 辞

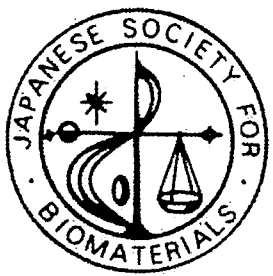
我々の研究の一部は、厚生労働省再生科学研究費ヒトゲノム・再生医療等研究事業 (H12-再生-005) 並びに新薬開発研究委託事業 (13公-1) の補助を受けて行われた。

文 献

- 1) Stock UA, Nagashima M, Khalil PN, Nollert GD, Herdson T, Sperling JS, Moran A, Lion J, Martin DP, Schoen FJ, Vacanti JP, Mayor JE Jr. Tissue-engineered valved conduits in the pulmonary circulation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000 Apr; 119 (4 Pt 1): 732-40.
- 2) Shinoka T, Ma PX, Shum-Tim D, Brauer CK, Cusick RA, Zund G, Langer R, Vacanti JP, Mayer JE Jr. Tissue-engineered heart valves: Autologous valve leaflet replacement study in a lamb model. *Circulation* 1996 Nov 1; 94 (9 Suppl): II164-8.
- 3) Kim WG, Cho SK, Kang MC, Lee TY, Park JK. Tissue-engineered heart valve leaflets: an animal study. *Int J Artif Organs* 2001 Sep; 24 (9): 642-8.
- 4) Elkins RC, Goldstein S, Howitt CW, Walsh SP, Dawson PE, Ollershaw JD, Black KS, Clarke DR, O'Brien MF. Recellularization of heart valve grafts by a process of adaptive remodeling. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2001 Oct; 13 (4 Suppl 1): 87-92.
- 5) Steinhoff G, Stock U, Karim N, Murlach H, Timke A, Melliss RR, Pechig K, Haverich A, Bader A. Tissue engineering of pulmonary heart valves on allogenic acellular matrix conduits: in vivo restoration of valve tissue. *Circulation*. 2000 Nov 7; 102 (19 Suppl 3): II150-5.
- 6) Korosis SA, Fisher J, Ingham E. Cardiac valve replacement: a bioengineering approach. *Biomed Mater Eng* 2000; 10 (2): 83-124.
- 7) Dohmen PM, Ozaki S, Yperman J, Flameng W, Konertz W. Lack of calcification of tissue engineered heart valves in juvenile sheep. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2001 Oct; 13 (4 Suppl 1): 93-8.
- 8) Zeltinger J, Landeen LK, Alexander HG, Kidd ID, Sibanda B. Development and characterization of tissue-engineered aortic valves. *Tissue Eng* 2001 Feb; 7 (1): 9-22.

バイオマテリアル -生体材料-

Journal of Japanese Society for Biomaterials



Vol.26
2008. JANUARY No.

1

Offprint

Title

Name

Department

Institution

Address

Postal Code

City

Country

Phone

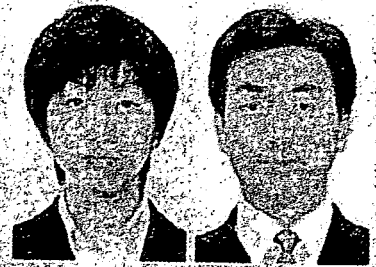
Fax

JJSIB

日本バイオマテリアル学会

**Journal of Japanese Society
for Biomaterials**

血液の細胞：宿敵か救世主か



江橋 具^{*1)} (写真左) 山岡哲三^{*2)} (写真右)

JJSB

Cells in the blood: friends or foes?

Blood transports oxygen and nutrients to the whole body and plays an important role in the immune system. Blood is therefore the huge internal organ with two extremely important functions for sustaining lives. It has been the biggest problem in biomaterial research to control the blood compatibility. So far, various artificial materials that substitute the blood elements have been studied. Recently various stem cells were discovered in the blood, and researchers started to use these cells as a tool for treating various diseases.

血液は、細胞の活動に必要な酸素と要素を体の隅々へと運搬し、さらに、外来の異物に対する生体防御反応の重要な役割を担っている。すなわち、生命維持のためにきわめて重要な一つの機能を持つ最大の臓器ともいえる。合成材料に対する血液の反応を制御することが、これまでのバイオマテリアル研究の最大の課題であり、その戦いはいまだつづいている。さらに、血液を構成している成分を代替する人工材料も積極的に研究されてきた。一方、血中にさまざまな幹細胞が発見され、これらを治療用のツール、すなわち、ある意味でのバイオマテリアルとして利用する研究もはじまっている。

Tsutomu Hasegawa^{*1)} Tetsuzo Yamaguchi^{*2)}

Key words: 人工血液, 血液適合性, 幹細胞移植, がん免疫療法, 再生医療

バイオマテリアル研究は、長年、血液と戦いつづけてきた。この戦いはいまだ終結をみず、多くの研究者がいまも立ち向かう難題である。体外循環、人工血管、人工肺などの人工臓器、あるいはバイオセンサーなどに用いられるマテリアルも、血液との接触が必須であり、血液凝固反応をいかに制御するかは力を尽くしてきたわけである。

本稿では、まず血液やその構成成分である血球についての基本的事項について概説し、血球にまつわる臨床応用を目指した“血液をつくる研究”と“血液を使う研究”¹⁾について紹介する。

血液

1. 成分

成人の血液量は体重の6~8%であり、全身の組織と器官への酸素や栄養素の運搬と熱配分を行うという、生命の恒常性を保つために最も重要な働きを担っている。一方では、生体内に異物が混入した際、血中に含まれる細胞(血球)がこれを除去する、生体防御反応というダイナミックな挙動も示す。血液は、液性成分と細胞性成分(血球)からなる(図1)。

血球の大部分を占める赤血球は、直径がおおよそ7 μmで、核を持たないお皿のような形の細胞である。細胞中の蛋白の95%は、グロビン蛋白と鉄イオンを含むヘム蛋白からなるヘモグロビンが占める。このヘモグロビンにより酸素と二酸化炭素の運搬を行う。

生体防御を担う白血球は、顆粒球(さらに好塩基球、好酸球、好中球に分別)、単球、ならびにリンパ球に分類できる。体内で炎症が起こると、炎症部位に生じた多糖類などにひきつけられて好中球が集積し、炎症に対する反応が開始する。好酸球は、後述の血液凝固に関与するフィブリン形成部位に集合す

^{*1)} Department of Regenerative Medicine and Tissue Engineering, National Cardiovascular Center Research Institute 国立循環器病センター 研究所 再生医療部
【略歴】(江橋 具) 1999年 京大第二学術院 医学部 卒業。2001年 同 医学部 研究科 修士課程修了。2005年 同 人間総合科学研究所 博士課程修了。博士(医学)。専門：再生医療、再生医療、再生医療、再生医療、再生医療。

^{*2)} Department of Biomedical Engineering, National Cardiovascular Center Research Institute 国立循環器病センター 研究所 生体工学部
【略歴】(山岡哲三) 1986年 京都大学工学部 高分子工学専攻 卒業。1991年 同 大学院工学研究科 博士(工学) 課程修了。同年 国立循環器病センター 研究科 再生医療部 助教授。1992年 京都大学 工学部 工学専攻 助教授。1995年 同 講師。1996年 京都大学 工学部 工学専攻 助教授。2002年 京都大学 工学部 工学専攻 助教授。2004年 同 工学部 工学専攻 助教授。2005年 同 工学部 工学専攻 助教授。2007年 同 工学部 工学専攻 助教授。2008年 同 工学部 工学専攻 助教授。2009年 同 工学部 工学専攻 助教授。2010年 同 工学部 工学専攻 助教授。2011年 同 工学部 工学専攻 助教授。2012年 同 工学部 工学専攻 助教授。2013年 同 工学部 工学専攻 助教授。2014年 同 工学部 工学専攻 助教授。2015年 同 工学部 工学専攻 助教授。2016年 同 工学部 工学専攻 助教授。2017年 同 工学部 工学専攻 助教授。2018年 同 工学部 工学専攻 助教授。2019年 同 工学部 工学専攻 助教授。2020年 同 工学部 工学専攻 助教授。2021年 同 工学部 工学専攻 助教授。2022年 同 工学部 工学専攻 助教授。2023年 同 工学部 工学専攻 助教授。2024年 同 工学部 工学専攻 助教授。2025年 同 工学部 工学専攻 助教授。

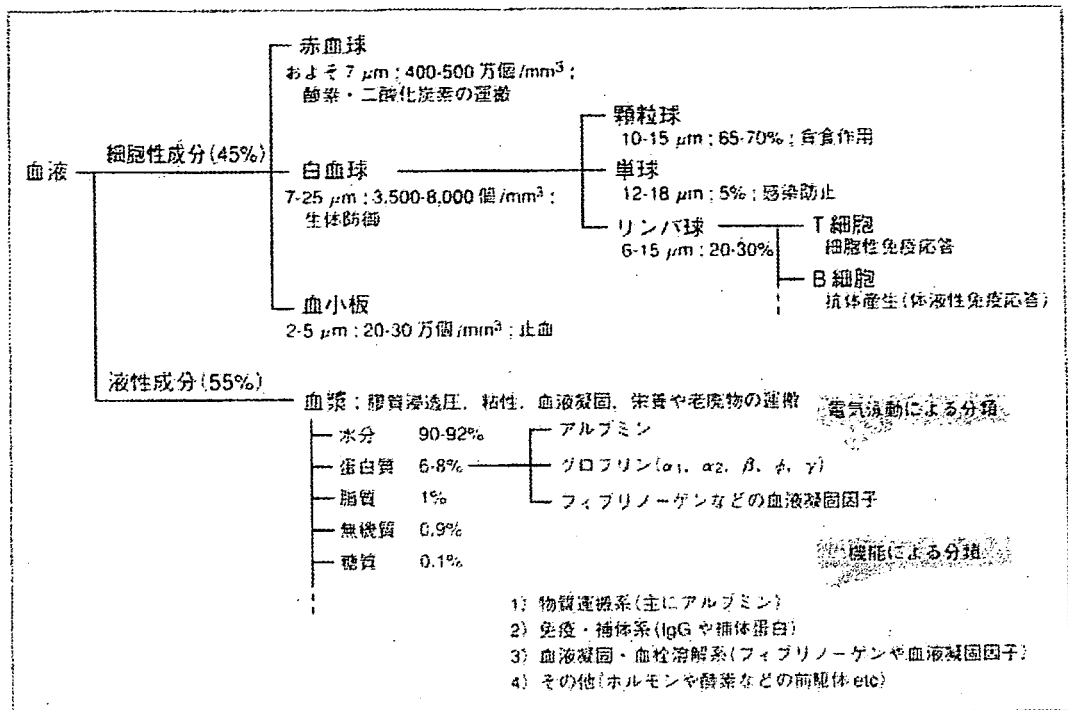


図1 血液の成分

る性質があるなど、それぞれの役割は大きく異なる。

単球は、感染部位や炎症部位の血管から漏れ出て組織へ移行し、組織マクロファージとよばれる細胞になる。マクロファージは、細菌や小さな異物を貪食する性質がある。マクロファージに貪食された細菌や異物は、細胞内の酵素により消化されて体外へと排出される。人工関節などのバイオマテリアルから生じる小さな材料片を処分するのもこのマクロファージであり、バイオマテリアルが引き起こす炎症の一つの原因である。

リンパ球は、さらにT細胞とB細胞に分類される。まず、T細胞は、組織および血中のリンパ球の60~70%と、B細胞よりはやや多い細胞で、細胞自身が異物を認識することで排除機構が引き起こされる。一方、B細胞は、抗体産生細胞の前駆細胞であり、抗原による刺激でさらに分化し、異物を攻撃するための抗体を産生する細胞へと成熟する。

最後に述べる血小板は、骨髄中の巨核球の細胞体からちぎられるように分離して血流に放出されたものであるため、通常の細胞と比較するとかなり小さく、核を持たない細胞である。血管壁が傷害を受けると、血小板が接着・凝集した血小板血栓を形成して物理

的に止血を行う。また、血小板は、傷害部に接着する過程で、後述の血液凝固を触媒的に促進する働きを持っている。

血漿は水と電解質の無機成分と、糖や脂質と血漿蛋白により構成される。血漿蛋白の60%を占めるのはアルブミンであり、血液の浸透圧を調整したり、イオンやビタミンあるいは薬剤などの外來物質を吸着して運搬したりする。さらに、組織にアミノ酸を供給するなど、多岐にわたる機能を持つ。別の血漿蛋白で、生体防御機構に大きく貢献する免疫グロブリンについては、のちほど詳しく述べる。その他、血液凝固因子や生体防御にも関与する補体系蛋白など、さまざまな可溶性成分が存在する。

2. 血液凝固

血液凝固には、内因性凝固と外因系凝固があるが、バイオマテリアルの観点からすると、内因性凝固が重要である。内因性凝固とは、血流量が低下したときや、ガラスのような陰性荷電を持った表面(異物)やコラーゲンなどと血液が接触したときに、高分子キニノーゲンとプレカリクレインとの協同的な反応により、血液凝固因子の一つ、第Ⅷ因子が活性化さ

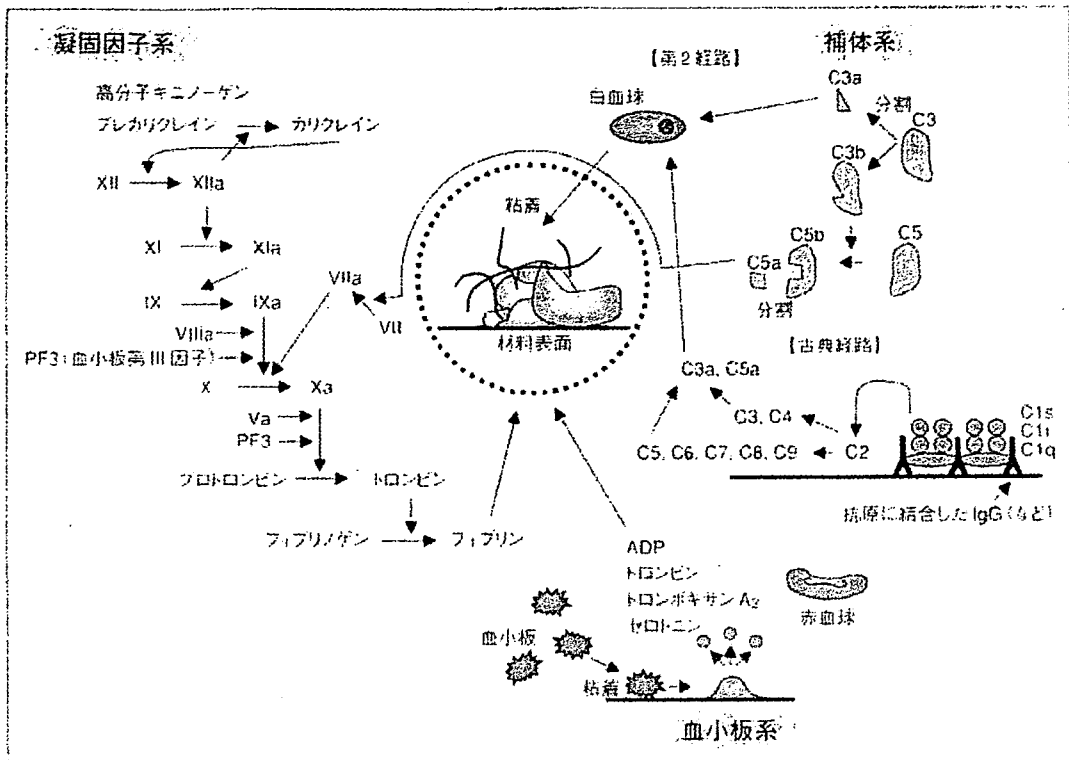


図2 血液凝固反応の機序
 (石原一彦・他：バイオマテリアルサイエンス、東京化学同人、2003)

れることにより引き起こされる。その後、図2に示したカスケードでつぎつぎと別の血液凝固因子を活性化し、最終的には血中蛋白のトロンビンが、フィブリノーゲンをフィブリンに転換して、生成されたフィブリン網により血液が凝固する。

一方、活性化された血液凝固因子の一部は、血中の補体成分をも活性化する。補体を介する血液凝固は、異物への白血球粘着を促進することもあり、生体防御反応として重要な役割を持つ。

3. 免疫

生体の“外側”と“内側”との境界は、体表層を覆う角質や、粘膜で形成され、これらの境界を越えて組織内に侵入してきた細胞やウイルスなどの異物は、生体の免疫反応により速やかに排除される必要がある。

免疫反応に関与する血球は、白血球である。異物、すなわち非自己の物質を排除するシステムは、二通りある。一つは、非特異的な反応であり、くしゃみや鼻水など、生体内に侵入しようとする微生物などを物理的に体外へと排出するシステムや、生体内に

侵入した異物がマクロファージの貪食作用により破壊されるシステムで、数時間以内の短期間に起こる反応である。もう一方は、獲得免疫反応とよばれ、こちらは生体内に侵入した異物に対して特異的に働き、異物侵入後、数日以上時間をかけて攻撃する反応である。バイオマテリアルが抗原性のある異物と認識された場合には、この獲得免疫反応が引き起こされる。

たとえば、ウイルス感染の場合、まずマクロファージにより貪食されて断片化される(図3)。その後、マクロファージ表面にある主要組織適合遺伝子複合体抗原(MHC 抗原：major histocompatibility complex)とよばれる蛋白質に結合して、細胞外へと提示されると、この情報は、ヘルパーT細胞のT細胞レセプターにより受け取られる。するとT細胞は活性化され、インターロイキンやインターフェロンなどのサイトカインを放出する。これらのサイトカインは、マクロファージを活性化してさらに貪食作用を高めるとともに、キラーT細胞に作用し、この細胞により異物が破壊、排除される。

一方、ヘルパーT細胞から放出されたサイトカイ