

機関番号：12602

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20300153

研究課題名（和文） 最適力学設計3次元デバイスによる生体組織の再建

研究課題名（英文） Tissue Regeneration with 3D Devices of Optimum Biomechanical Design

研究代表者

高久田 和夫（TAKAKUDA KAZUO）

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号：70108223

研究成果の概要（和文）：組織再建用のデバイスの3次元構造について、力学的に最適に設計するための設計原理を明らかにするための基礎的研究を実施した。具体的には、末梢神経、靭帯、歯周組織、小口径血管などの再建を取り上げ、足場構造、血管侵入構造、保護構造などの3次元構造について力学的な最適設計を行ない、ポリ乳酸などの生体材料などを利用して再生用デバイスを製作した。そしてラットなどの実験動物を用いて組織再生実験を行ない、デバイスの機能を実証した。

研究成果の概要（英文）：Fundamental investigations were performed to establish the design principles for the optimum mechanical characteristics of the tissue-regeneration devices. Specifically, the scaffold structures, the vascularizable structures, and the protective structures were developed for the regeneration of peripheral nerves, ligaments, periodontal tissues, and small caliber blood vessels. Experimental devices were created with the usages of bioabsorbable polymers as PLLA and their performances were examined in animal experiments.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2009年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2010年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
年度			
年度			
総計	11,400,000	3,420,000	14,820,000

研究分野：生体工学

科研費の分科・細目：人間医工学 医用生体工学・生体材料学

キーワード：バイオメカニクス

1. 研究開始当初の背景

最近になって、生体組織の再建について数多くの研究成果が発表されるようになるとともに、臨床応用への社会的な期待も高まってきている。このような生体組織工学の提唱においては、生体外で組織の再構築を行ない、完成した組織を患部に移植することを想定して研究が進められた。しかしながら、ある程度の大きさの組織の生存には血管などの

導入が必須である。したがって動静脈血管を備えた組織を培養技術で再構成し、これらの血管をマイクロサージャリーにより患部周囲組織の動静脈血管と吻合して移植することが必要になる。さらに高度の機能を期待するならば、神経系の再建も必要になる。しかし、血管を備えた組織を培養系で作製することは非常に困難である。また作製出来たとしても、そのために要するコストは膨大なもの

となり、保健医療制度の枠内で臨床応用することは極めて難しくなる可能性が高い。そのため組織再建の臨床応用を進展させるには、新たな研究の方向性を見出す必要がある。

2. 研究の目的

ある程度の大きさを持つ3次元的な組織を再生するために用いられるデバイスには、(1) 組織が再建するための足場となるための構造、(2) 組織が再生するまでの間にわたり幼弱な組織を保護するための構造、(3) 再生しつつある組織を栄養するための組織液の交換や血管侵入を可能とする構造、が要求される。対象とする組織に応じて要求事項は様々であるが、申請者のこれまでの研究により、これらについて力学的な視点からある程度まで統一的に考えられるようになってきた。すなわち、細胞接着を支配するナノ構造、細胞が侵入するためのマイクロ構造、血管が侵入するためのサブミリ構造、デバイス全体の力学特性を決定するマクロ構造である。

そこで本研究では、組織再建用のデバイスの3次元構造について、力学的に最適に設計するための設計原理を明らかにするための基礎的研究を実施した。

3. 研究の方法

本研究では、具合的な適用例として末梢神経、靭帯、歯周組織、小口径血管などの再建を取り上げ、足場構造、血管侵入構造、保護構造などの3次元構造について力学的な最適設計を行ない、ポリ乳酸などの生体材料などを利用して再生用デバイスを製作する。そしてラットなどの実験動物を用いて組織再生実験を行ない、デバイスの機能を実証する。

4. 研究成果

脳硬膜の再建や骨再建のためのデバイスについても同様な発想のもとで研究を遂行したが、特に注力した末梢神経、靭帯、歯周組織、小口径血管の再建についての成果は次のとおりである。

(1) 末梢神経再建

長い末梢神経欠損部位においても神経再生を可能にするために、再生組織に対して酸素および栄養を供給する血管侵入が可能な構造として、ポリ乳酸系生体吸収性ポリマーにエキシマレーザーによる孔あけ加工を施した蛇腹型生体吸収性神経再建チューブを開発した。そして作製されたチューブについて、圧縮試験、屈曲試験を実施し、その力学特性を確認した。

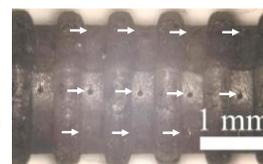


図1 孔あき蛇腹型生体吸収性神経再建チューブ

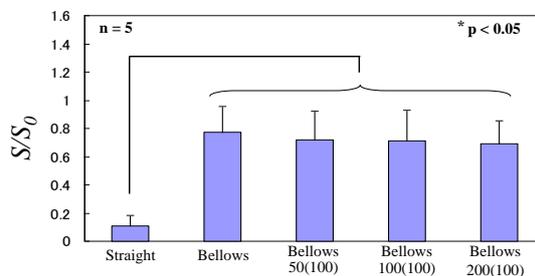


図2 圧縮後の空間保持率

さらにラット坐骨神経の欠損モデルを利用して神経再建実験を行った。その結果、エキシマレーザーによる孔がない場合についてはほとんど再生が生じないのに対し、孔を設ければ速やかな再生が生じることが示された。さらに再生に適する孔径および孔密度を定量的に明らかにした。

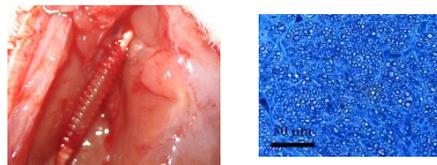


図3 移植実験および再生神経組織

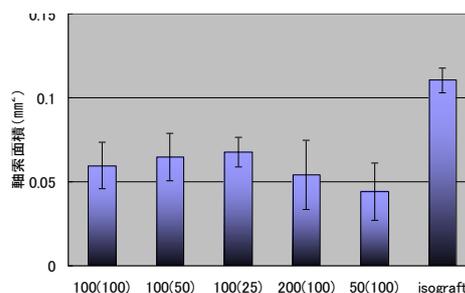


図4 再生神経の軸索面積

(2) 靭帯再建

不織布を用いた靭帯組織再建用デバイスを試作した。また骨への付着組織の再生を評価するために家兎を利用して膝前十字靭帯の再建実験を行ない、キチン・キトサンを不織布に併用することにより、良好な骨との接合が実現できることを確認した。

また不織布をラット大腿骨および頭蓋骨に設けた骨欠損部内に移植し、骨形成を評価する実験系においてキチンの用量などを変化させて実験を行い、最適なキチンの適用法を検討した。そして骨形成に有効なキチン・キトサンの脱アセチル化度および適用量について検討した結果、脱アセチル度が小さい材料の方が、より骨形成を有効に促進することを示すことが出来た。

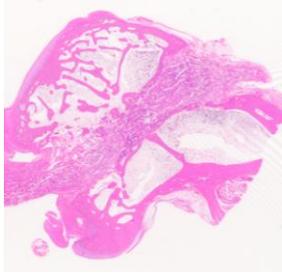


図5 骨と靭帯再建デバイスとの接合

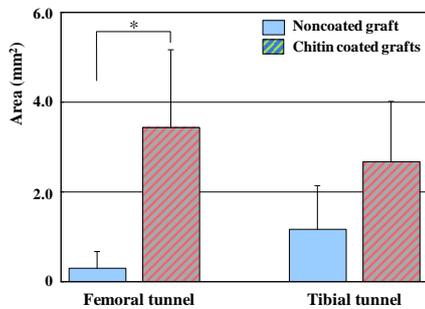


図6 キチンによる骨接合の促進効果

(3) 歯周組織再建

線維組織と接合することの可能なメッシュ構造を試作した。そしてアクリル樹脂製のモデル試験片を製作して、ラット背部皮下組織に埋植したところ、コラーゲン線維がメッシュ構造にアンカリングし良好な線維結合を確認することができた。またメッシュ間隔としては100から200ミクロン程度が適切であることを示した。また採取試料

の接合強度測定により基本設計の有効性を確認した。さらにラット頭頂骨に試料を固定する皮膚貫通インプラント埋植実験系を開発し実験を行ない、上皮を貫通する場合でも皮下線維組織と試験片を接合できること、また上皮のダウングロースを抑制することができることを確認した。



図7 軟組織接合試験用試験片

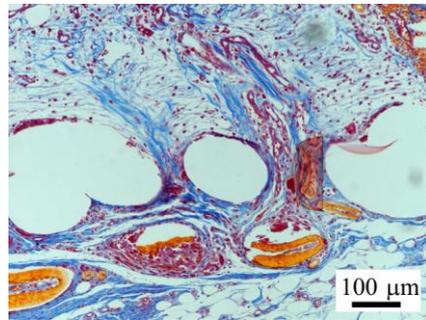


図8 コラーゲン線維のアンカリング

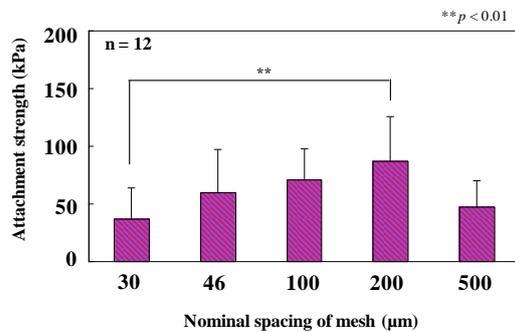


図9 軟組織の接合強度

(4) 小口径血管再建

小口径血管の再建手術においては、マイクロサージェリーの手技が困難であることから、まず血管グラフトを簡易に接合するための生体吸収性デバイスの開発を行った。カフ法に基づくデバイスをPLLA系のポリマーで作製し、直径1mm程度のラット頸動脈の吻合実験を行ったところ、吻合部での塞

栓などは生じず，良好な成績を得た．また生体吸収性であることから，血管の成長を阻害しない利点も確認できた．

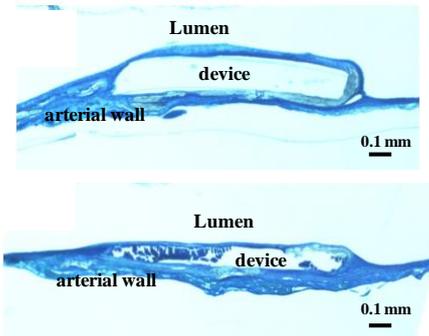


図 10 生体吸収性による血管吻合部の平滑化

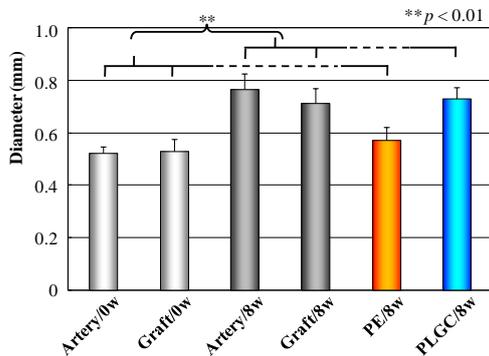


図 11 生体吸収性による成長阻害の解消

ついで脱細胞グラフトによる小口径血管の再建実験を実施した．そしてグラフトに対する内皮細胞と平滑筋細胞の浸潤状況の時間的な経過を確認するために，移植後に経時的に試料を採取して免疫染色を行ない，細胞浸潤速度の定量的な評価を行った結果，吻合部を介して内皮細胞の浸潤が速やかに生じ，血管組織が再生することにより，血管の開存が可能になっていることが明らかとなった．更に実験系を改良し，シャントを設置して血流量を人為的に増加させることにより，再生血管において血管リモデリングが生じるかどうかについての検討を開始した．その結果，再生血管においては顕著な血管リモデリングは観察されないことが示された．

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

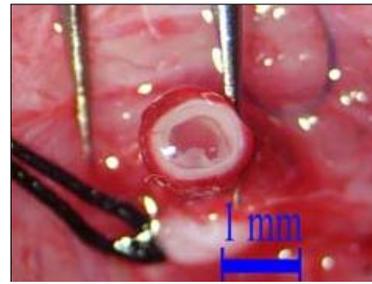


図 12 血管再建グラフトの開存性

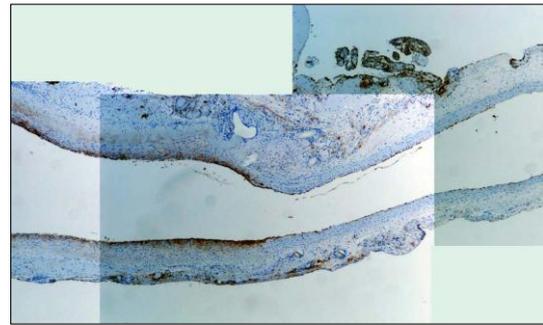


図 13 血管再建グラフトの内皮化

[雑誌論文] (計 7 件)

- ① Ueda K, Mukai T, Ichinose S, Koyama Y, Takakuda K. Bioabsorbable device for small-caliber vessel anastomosis. *Microsurgery*. 2010 Sep;30(6):494-501.
- ② Arita T, Asoda S, Koshitomae H, Katakura H, Takakuda K. Collagen fiber anchoring platforms for percutaneous devices. *ASAIO J*. 2010;56(3):235-240.
- ③ Kawai T, Yamada T, Yasukawa A, Koyama Y, Muneta T, Takakuda K. Anterior Cruciate Ligament Reconstruction Using Chitin-coated Fabrics in a Rabbit Model. *Artif Organs*. 2010;34(1):55-64.
- ④ Kawai T, Yamada T, Yasukawa A, Koyama Y, Muneta T, Takakuda K. Biological fixation of fibrous materials to bone using chitin/chitosan as a bone formation accelerator. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*. 2009 Jan;88(1):264-270.
- ⑤ Yanagida H, Okada M, Masuda M, Ueki M, Narama I, Kitao S, Koyama Y, Furuzono T, Takakuda K. Cell adhesion and tissue response to hydroxyapatite nanocrystal-coated poly (L-lactic acid) fabric. *J Biosci Bioeng*. 2009 Sep;108(3):235-243.
- ⑥ Asoda S, Arita T, Koshitomae H, Takakuda

K. Mechanical attachment of soft fibrous tissues to implants by using mesh structures.

Clin Oral Implants Res. 2008 Nov;19(11):1171-1177.

⑦Mukai T, Shirahama N, Tominaga B, Ohno K, Koyama Y, Takakuda K. Development of watertight and bioabsorbable synthetic dural substitutes.

Artif Organs. 2008 Jun;32(6):473-483.

〔学会発表〕（計 8 件）

①川原雄一, 辻友章, 高久田和夫, 八木原淳. 骨/材料界面に及ぼす荷重負荷の影響. 日本機械学会第 21 回バイオフロンティア講演会（金沢）, 2010 年 11 月.

②福田豊, 高久田和夫. 微小孔つき生体吸収性蛇腹管による末梢神経再生. 日本機械学会第 21 回バイオフロンティア講演会（金沢）, 2010 年 11 月.

③Takakuda K. Structural Tissue Regeneration with Biomaterials. The 4th International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics STAC-4 (Yokohama, Japan), 2010 June.

④桑崎雄揮, 山口隆平, 岡田直人, 村上功成, 高久田和夫. 小口径血管、尿道を吻合するためのデバイス. 日本機械学会第 20 回バイオフロンティア講演会（和歌山）, 2009 年 11 月.

⑤小山富久, 菊池正紀, 高久田和夫. ハイドロキシアパタイト/コラーゲン複合体膜から作製した連通性多孔体による骨再生. 第 54 回日本歯科理工学会学術講演会（鹿児島）, 2009 年 10 月

⑥川合智行, 宗田大, 吉田俊一, 安川明夫, 山田武喜, 小山富久, 高久田和夫. キチン/キトサンを塗布した繊維不織布を用いた兎前十字靭帯再建. 日本機械学会第 19 回バイオフロンティア講演会（東京）2008 年 9 月

⑦小山富久, 菊池正紀, 高久田和夫. 生体吸収性骨再生材料の開発. 第 23 回日本歯科産業学会学術講演会（東京）, 2008 年 7 月

⑧高久田和夫, 上田一徳, 桑崎雄揮, 小山富久. 生体吸収性カフによる小血管の吻合. 第 16 回顎顔面バイオメカニクス学会学術講演会（佐賀）, 2008 年 11 月.

〔産業財産権〕

○出願状況（計 1 件）

①名称：神経再生チューブ及び神経再生チュ

ーブの製造方法

発明者：高久田和夫

権利者：東医歯大・川澄化学工業

種類：特願

番号：2010-075955

出願年月日：2010.03.29

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高久田和夫 (TAKAKUDA KAZUO)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号：70108223

(2) 研究分担者

小山富久 (KOYAMA YOSHIHISA)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・助教

研究者番号：70361714

(H20→H21)

永井正洋 (NAGAI MASAHIRO)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・特任助教

研究者番号：10013971

(H20)

(3) 連携研究者

松本裕子 (MATSUMOTO HIROKO)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・技術補佐員

研究者番号：70420263