

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：34407

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09658

研究課題名(和文) 関節軟骨の患者固有の強度再現を目指した細胞含有ハイブリッド人工生体組織の製造

研究課題名(英文) Production of Cell-Containing Hybrid Artificial Bioprostheses for Reproducing Patient-Specific Strength of Articular Cartilage

研究代表者

花之内 健仁 (Hananouchi, Takehito)

大阪産業大学・工学部・教授

研究者番号：40711643

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、強度調節が可能な人工材料を支持組織とし、中に生体組織を充填させるハイブリッド人工生体組織の製造すること、また、に關して 定量的MR画像を用いてその組織の強度を予測する方法の探索と、研究代表者が開発したプローブ装置で軟骨表面の強度が予測できるかの調査をすることであった。残念ながら、の目的を達成するため材料選定の確立ができなかったが、その前段階であるバイオプリンタの印刷精度評価が行えた。および 關しては、軟骨の定量的MR画像上の値と機械特性との間に相関があることがわかった。また、プローブ機器による計測を行うことで、より正確に機械特性の予測しうることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

比較的新しい技術であるバイオプリンタがどんなものか、またどの程度の精度で印刷できるか等、基本的な事柄を、専門外の方々にもわかる手法で表現できたことは大きいと考える。また、軟部組織の機械特性が定量的MR画像によって、算出できる可能性を見いだせたことも学術的意義があると考える。さらに、この結果が社会実装されれば、どの程度運動をするべきかなど保存的治療の限界も明らかになるだろうし、ひいては日本健康寿命に貢献できると考える。

研究成果の概要(英文)：The objectives of this study were (1) to produce a hybrid artificial bioprosthesis in which a material with adjustable strength is used as a support tissue and filled with biological tissue, and in relation to (1), (2) to explore a method to predict the strength of the tissue using quantitative MR images, and (3) to investigate whether the probe device developed by the principal investigator can predict the strength of the cartilage surface. Unfortunately, we were unable to establish material selection to achieve the objective of (1), but we were able to evaluate the accuracy (i.e. printability) of the bioprinter, which was a preliminary step. With regard to (2) and (3), we found a correlation between the values on quantitative MR images of cartilage and mechanical properties. In addition, it was found that the mechanical properties could be predicted more accurately by using the above probe device.

研究分野：医工学、材料工学、整形外科、

キーワード：再生医療 定量的MR画像 3Dバイオプリンタ プローブ 軟骨

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体組織を一部採取し、外部で培養し、その後に移植するといった再生医療分野が注目を集めている。組織の形状、生物機能の探索はなされてきているものの、どれくらいの荷重を支える必要があるか、といった組織の強度の再現については検討の余地があった。例えば、関節運動中ないし荷重環境下で、組織自体が破綻しないように、生体同様の強度を再現することを目的とした研究はあまりなされていなかった。ターゲットとなる生体組織の細胞を含有し、生物機能を維持しながら、一方で関節運動中ないし荷重環境下では強度・硬さを人工材料で対応するといったハイブリッド人工生体組織の検討をする必要があると考えた。現状のように100%生体組織の再現を一から目指すのではなく、強度等生体組織ではすぐには対応できない部分を人工材料が補うという発想から今回の研究を考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、強度調節が可能な人工材料を格子状の支持組織としながら、中に生体組織を充填させる細胞含有ハイブリッド人工生体組織の製造すること、また、この目的のために、質的評価(日本語では“質的”とされるが、英語圏では単に定量的 Quantitative が使われるので以下後者で統一)が可能な MR 画像を用いてその組織の強度を予測する方法の探索、研究代表者が開発したプローブ装置で in vivo の状態で、生体組織の強度を予測できるかの調査をすることであった。

3. 研究の方法

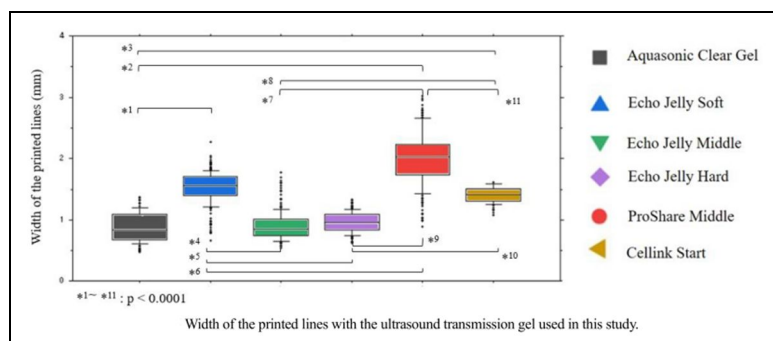
に関しては、市販のバイオプリンタ(空気圧押し出し式)で行うことを検討した。まずは、バイオプリンタの印刷の精度評価をすることにした。バイオプリンタで印刷するためには、印刷時の空気圧の微調節など勘所が必要になってくる。そこで、粘性があって積層可能な材料の中で、超音波診断装置を使用する際に、皮膚への伝搬を向上させるゼリーを数種類用意して精度評価を行った。

に関しては、定量的評価に使用される MRI シーケンスとして、UTE(超短エコー時間)の T2 star mapping と MTR(磁化飽和度)を選定した。計測箇所事前に決めておき、その箇所の上記 MRI から得られる値と機械特性を調べて関係性が示されれば、その画像の数値から機械特性を求めることができるのではないかと仮説を立てた。この仮説の下、膝蓋骨6個の関節軟骨の MRI 撮影と圧縮試験を実施した。各試料につき5mm四方の区画を24個設定し、各区画の画像値とその強度との関連性を調査した。機械特性は、古典的な圧縮試験器を用いて、1mm径の圧子を軟骨表面にあて、150 μ m 圧縮を加えたときの軟骨からの反力を計測して求めることにした。

に関しては、もしこのにおいて画像の値から機械特性が求められるということが成り立った状況においても、他のシーケンスから得られる画像の値によって、より詳細に機械特性を求められる可能性がある。また、術前までは、画像から求めた機械特性で、移植材料を準備していても、術中の状況が若干異なるかもしれない。そのような場合に、開発した3軸力覚センサ内臓のプローブで、組織の反力を計測すると、この反力の値によっても組織自体の機械特性がより正確に求められるかもしれない。以上の観点から、2種類の定量的 MRI 画像から得られる値、さらにプローブで関節軟骨表面をなぞることによって獲得できる反力、という3つを含めた多変量解析を実施した。

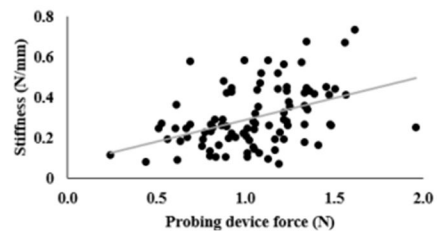
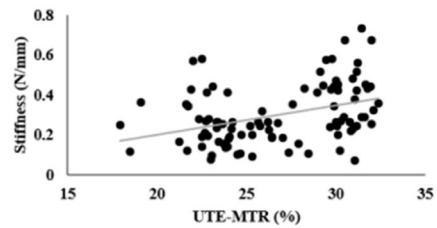
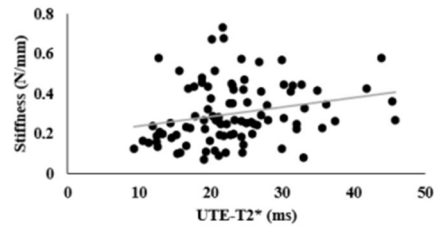
4. 研究成果

に関しては、市販バイオプリンタ(Inkredible, Cellink社)において、各種超音波ゼリーおよび試用バイオインクで印刷した形状物について線の中央幅を計測した結果、アクアソニッククリアゲルは、平均0.88mm(0.24mm(カッコ内は標準偏差))、エコーゼリーソフトは、1.52mm(0.27mm)、エコーゼリーミドルは、0.90mm(0.24mm)、エコーゼリーハード0.96mm(0.16mm)、プロシェア2.01mm(0.43mm)、試用バイオインク1.40mm(0.14mm)となった(下図)。バイオ3Dプリンタによって超音波検査用のゼリーがバイオインクのトライアル同等の材料であること、その粘性はある程度、印刷された線の幅などである程度評価できることが確認された。今後の展望としては、今回使用した空気圧押し出し式のプリンタだけでなく、光造形型のような新たなバイオプリンタも含めて検討していく必要がある。



に関しては、使用した MRI シーケンス 2 つ、UTE (超短エコー時間) の T2 star mapping と MTR(磁化飽和度)はいずれも機械特性と弱いながらも相関していた(下図の内、上から 2 つ)。また 2 つの変量を同時に採用し、機械特性をもとめる式の方が、より正確に機械特性が求められることもわかった。

に関して、結果として、プロービング機器にて膝蓋骨軟骨表面を斜めから押して、計測できる軟骨からの反力も、機械特性と相関していた(下図の内、下 2 つ)。の結果に追加して、プローブで関節軟骨表面をなぞることによって獲得できる反力も参考に、より正確に軟骨の機械特性を予測できることが分かった。との結果から、定量的 MR 画像を事前に撮影することで、標的部分周辺の軟骨の機械特性がわかり、その機械特性から、軟骨欠損部分を充填するために目指すべく再生医療材料の機械特性が予想できることになる。また、その後実際の手術において、プローブ機器による計測を行うことで、より正確な機械特性の予測ができることから、術中に介入操作の追加を行うかどうかの判断が可能となることが示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 Hananouchi T, Chen Y, Jerban S, Teramoto M, Ma Y, Dorthe EW, Chang EY, Du J, D'Lima DD | 4. 巻 11(2) |
| 2. 論文標題 A Useful Combination of Quantitative Ultrashort Echo Time MR Imaging and a Probing Device for Biomechanical Evaluation of Articular Cartilage | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Biosensors (Basel) . | 6. 最初と最後の頁 1-13 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/bios11020052 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 該当する |
| 1. 著者名 Hananouchi T | 4. 巻 159 |
| 2. 論文標題 A Probing Device for Quantitatively Measuring the Mechanical Properties of Soft Tissues during Arthroscopy | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 J Vis Exp | 6. 最初と最後の頁 1-8 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3791/60722 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Sakai S., Yoshii A., Sakurai S., Horii K., Nagasuna O. | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Silk fibroin nanofibers: a promising ink additive for extrusion three-dimensional bioprinting | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Materials Today Bio | 6. 最初と最後の頁 1-7 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mtbio.2020.100078 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |
| 1. 著者名 花之内 健仁、澤井 猛、内田 宗志、大槻 周平、森山 博由、森山 麻里子 | 4. 巻 131 |
| 2. 論文標題 3Dバイオプリンタ でつなく関節治療の再生医工学研究と関節鏡手術シミュレータ研究の融合 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 大阪産業大学論集 自然科学編 | 6. 最初と最後の頁 39-46 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Hananouchi T and Aoki SK | 4. 巻 30(3) |
| 2. 論文標題 Quantitative evaluation of capsular and labral resistances in the hip joint using a probing device. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Biomed Mater Eng. | 6. 最初と最後の頁 333-340 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/BME-191056 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 該当する |

[学会発表] 計8件(うち招待講演 3件/うち国際学会 2件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hananouchi T, Okuno N, Dorte E, D' Lima DD |
| 2. 発表標題 A preliminary trial of the use of a wireless portable ultrasound for hip arthroscopy. |
| 3. 学会等名 Annual Congress of Asia Society of Hip Arthroscopy & Preservation (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 花之内 健仁 |
| 2. 発表標題 +3SD! 診療の外でも活動する医師が経験した機器開発事例-国際共同研究を含めた医工連携を推進する立場から- |
| 3. 学会等名 第135回中部日本整形外科災害外科学会・学術集会(招待講演) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 花之内 健仁 |
| 2. 発表標題 工学好きの医師が思う医工連携の機器開発事例のポイント |
| 3. 学会等名 医療健康分野参入研究会 医療機器ビジネス参入のための人材育成プログラム(招待講演) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 花之内 健仁 |
| 2. 発表標題 ひざ関節・股関節のいたみの解消法について考えよう！ - 健康法から最新の診断・治療法まで - |
| 3. 学会等名 堺市「運動習慣見える化事業」(招待講演) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hananouchi T, Dorthe E, Chen Y, Du J, D' Lima DD |
| 2. 発表標題 A Probing Device for in-situ Mechanical Property Evaluation of Cartilage Tissue |
| 3. 学会等名 JOSKAS (Japanese Orthopaedic Society of Knee Arthroscopy and Sports Medicine) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shinji Sakai, Shota Yamamoto, Ayano Yoshii |
| 2. 発表標題 Horseradish Peroxidase-mediated Bioprinting in Air Containing Hydrogen Peroxide |
| 3. 学会等名 The 16th Pacific Polymer Conference (PPC16) (Singapore, Singapore) (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 山本翔太、中畑雅樹、境慎司 |
| 2. 発表標題 ポリシクロデキストリンを含有する擬塑性バイオインクの開発 |
| 3. 学会等名 第41回日本バイオマテリアル学会大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 花之内 健仁, 森山 麻里子, 佐竹 信爾, 阪尾 敬, 勝田 紘史, 森山 博由 |
| 2. 発表標題 膝関節周囲組織由来mesenchymal stromal/stem cell の分化能調査 |
| 3. 学会等名 再生医療学会 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|------------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 境慎司(監修) | 4. 発行年 2019年 |
| 2. 出版社 シーエムシー出版 | 5. 総ページ数 269 |
| 3. 書名 バイオ3Dプリント関連技術の開発と応用 | |

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------------------|--|------------------------------------|----|
| 研究 分 担 者 | 境 慎司 (Sakai Shinji) (20359938) | 大阪大学・基礎工学研究科・教授 (14401) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| | |
|---------|---------|
| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|