

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09434

研究課題名(和文) マイクロニードルアレイシートを用いた軟骨再生医療の開発

研究課題名(英文) Development a novel approach for articular cartilage repair/regeneration using microneedle array sheet

研究代表者

石川 正和 (Ishikawa, Masakazu)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：60372158

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、吸収性素材を基材としたマイクロニードルアレイシートを用いた軟骨修復・再生療法の開発およびドラッグデリバリーによる軟骨再生治療の開発を目指した。マイクロニードルアレイシートの調整が困難であったが、ヒト半月板組織を用いることで、軟骨組織を固定するマイクロニードルアレイシートの可能性が示された。また、関節軟骨欠損部を自己組織と充填・固定する新規医療機器の探索を行い、軟骨修復のための一段階手術開発につながる研究が実施できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

軟骨組織の被覆材の開発は日本においては遅れており、臨床で使用できる医療機器の選択肢は非常に限られている。本研究課題による挑戦は患者の侵襲を少なくするとともに、医師の負担を軽減するだけでなく、手術回数を減らすことで医療経済的にも重要なアプローチと考えている。また、医工連携の難しさも露呈しているが、新規遺伝子組み換えタンパクの応用にもつながったことから一段階手術による軟骨修復手術の可能性が広がったと意味でも社会的意義があると考えている。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to develop a cartilage repair and regeneration therapy using microneedle array sheets based on absorbable materials and drug delivery. Although it was difficult to develop and obtain the microneedle-array-sheet, the use of human meniscus tissue demonstrated the potential of the microneedle-array-sheet to fix cartilage tissue. In addition, a novel medical device for filling and fixing articular cartilage defects with autologous tissue was explored, leading to the development of a one-step surgery for cartilage repair.

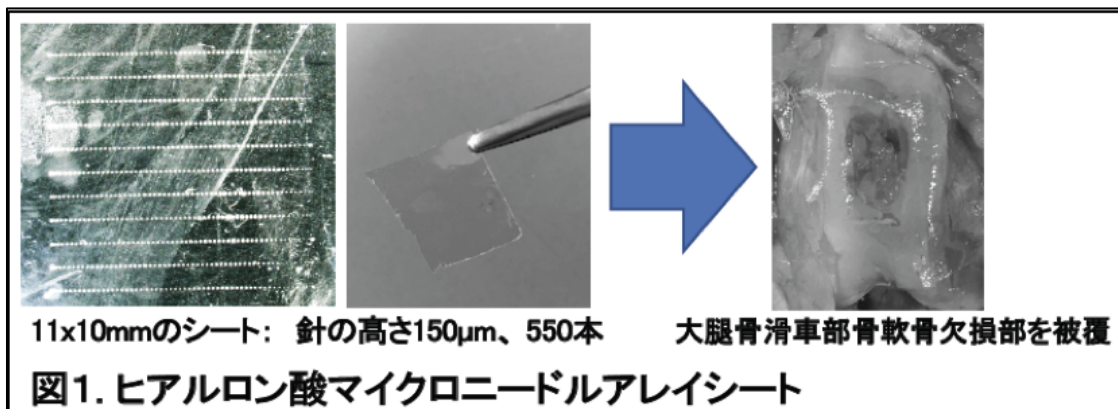
研究分野：整形外科

キーワード：軟骨再生医療 マイクロニードルアレイシート 医療機器開発

1. 研究開始当初の背景

軟骨組織は一度損傷されると修復不可能な組織として長く認識されてきたが (Hunter W. 1743)、1994 年に報告された自家培養軟骨移植術により大きな転機を迎えた (Brittberg MA et al. *NEJM* 1994)。日本においては、越智等 (申請者も参画) がアテロコラーゲンゲル包埋自家培養軟骨細胞移植術を開発しており (Ochi M et al. *Artif Organ* 2001)、本治療法は 2013 年に保険収載され、実用化に成功している。

しかし、自家培養軟骨移植では軟骨採取と移植で二度の手術が必要であることや医療経済的観点から、細胞培養によらない軟骨再生療法のための医療機器が開発されてきている (McCarthy HS, Roberts S, *Osteoarthritis Cartilage* 2013, Gobbi A et al., *KSSA* 2017)。申請者も一段階 (One-stage) 手術を目指して、細切軟骨組織を培養せず軟骨欠損部に移植した際の軟骨再生効果を明らかにしている (Tsuyuguchi Y, Nakasa T, Ishikawa M et al., *Cartilage* 2018)。これにより、細切軟骨移植では細胞培養が不要で One-stage 手術が可能となることが示されたが、移植時の関節切開による侵襲や移植軟骨を被覆する手技の煩雑さが次の課題となる。申請者はこの課題を解決する技術として、無痛針の開発技術であるマイクロニードルに着目した。これまでに、マイクロニードルを配列したヒアルロン酸シートで軟骨欠損部を被覆する研究を行ったが、ヒアルロン酸ではニードルの強度や長さが固着のために不十分であるなどの課題が明らかとなった (図 1)。

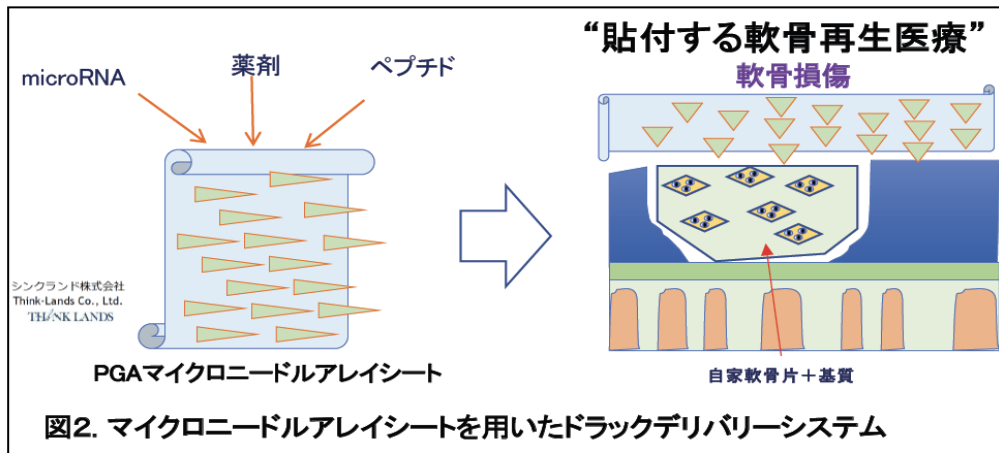


そこで新たに、ポリグリコール酸 (polyglycolic acid: PGA) を用いたマイクロニードルアレイシートを作製し、ニードルの強度と長さの問題を改善した。

本研究では、関節軟骨欠損部への細切軟骨移植と PGA マイクロニードルアレイシートによる被覆の有効性を明らかにする。さらに、無血管組織である軟骨組織へのドラッグデリバリーの難しさが、薬物による軟骨再生医療開発のボトルネックとなっている。そこで本研究では、PGA マイクロニードルアレイシートによる軟骨組織へのドラッグデリバリーシステムを開発し、軟骨再生治療への応用を目指す。

2. 研究の目的

本研究の目的は、細切軟骨組織移植術を行い、PGA マイクロニードルアレイシートを貼付、固定することで移植部を被覆し、その軟骨再生効果を確認することである。また、関節軟骨への PGA マイクロニードルアレイシート貼付によるドラッグデリバリー効果の検討も目的とした。



本研究から、自己細切軟骨組織片とPGAマイクロニードルアレイシートを用いた軟骨損傷の修復・再生効果がこれまでの細胞療法と同等もしくはその優位性が示せば、1) One-stage手術、2) 細胞培養不要、3) 縫合不要の軟骨修復技術の確立に繋がり、低侵襲で簡便な軟骨再生治療の開発となる。また、PGAマイクロニードルアレイシートによる軟骨へのドラッグデリバリーが可能となれば、これまでの薬物による軟骨再生研究の最大の課題が解決し、研究開発が一気に進む可能性がある(図2)。これにより、有病者数3000万人以上といわれる変形性膝関節症患者に対するブレイクスルーとなると考えた。

3. 研究の方法

(1) マイクロニードルアレイシートの組織固定性の検討

共同研究をしているシンクランド社から開発中のマイクロニードルアレイシートのサンプルを供給頂いた(図3)。

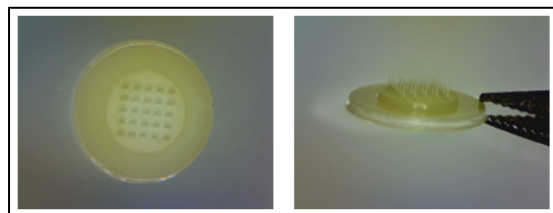
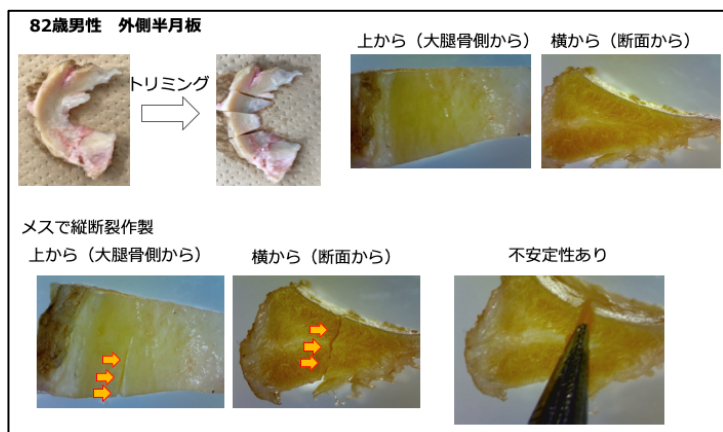


図3. 提供頂いたマイクロニードルアレイシート

しかし、頂いたサンプルは研究開発段階のものであり、マイクロニードルの作製は可能であったが、関節内に貼付可能な厚みのシートを作製することが困難であることが判明した。日本白色家兎の関節内への貼付が難しい状況であった。そのため、軟部組織で軟骨成分を有するヒト半月板の切除サンプルを用いてその固定性を確認した。ヒト半月板は人工膝関節置換術の際に廃棄されるものを使用し、縦断裂を作製した。縦断裂の作製を受けたマイクロニードルが多数配置されたプレートを断裂部をまたぐ形で刺入し、組織の固定性を肉眼的に評価した(図4)。



(2) 軟骨欠損部充填組織および基材の検討

研究期間中に関節内に留置可能なマイクロニードルアレイシートの開発が困難であったため、関節軟骨欠損部を充填する基材の検討を行った。日本白色家兎大腿骨滑車部骨軟骨欠損モデルを作製した。再現性のよいモデル作製を行うために、径 8mm の骨軟骨欠損を作製している (図 5)。

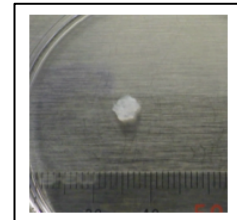


図 5. 家兎細切軟骨組織

One-stage 手術の開発を考慮し、欠損部に培養を行わない細切軟骨組織を充填している (図 6)。

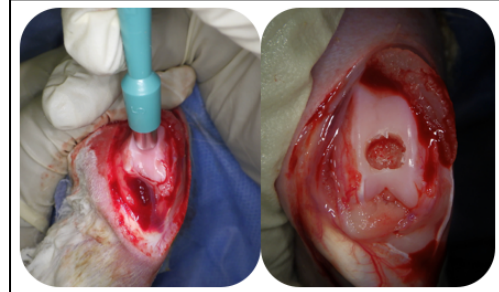


図 6. 家兎大腿骨滑車部に径 8mm、深さ 3mm の骨軟骨欠損作製

固定および充填する基材として、遺伝子組み換えタンパクであるシルクエラスチン (SE) と SE にクモの糸の成分を混合したシルクエラスチン—スパイダーシルク (SE-SS) を用いた軟骨修復術を検討している。実験群としては 1. 欠損のみ (Defect 群)、2. 細切軟骨組織のみ (minced cartilage, MC 群)、3. SE-SS のみ (SE-SS 群) および 4. 細切軟骨組織と SE-SS (MC-SE-SS 群) の 4 群を作製し、被覆材としてフィブリン糊を用いた固定した。術後 8 週および 24 週で組織を採取し、脱灰、パラフィン包埋後、組織切片を作製し、サフラニン O 染色を行い、Pineda スコアによる組織学的評価を行った。

4. 研究成果

(1) マイクロニードルアレイシートの組織固定性の検討

試作中のマイクロニードルアレイシートはヒト半月板組織において、ある程度組織内に刺入でき、限定した領域ではあるが、固定できることも明らかとなった (図 7)。

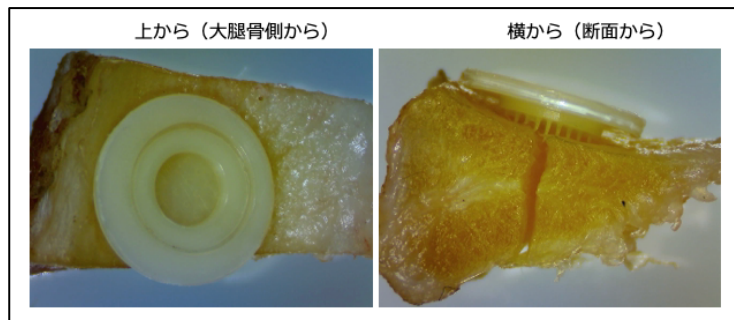


図 7. ヒト半月板縦断裂の断裂部のマイクロニードルによる固定

しかし、刺入した針が十分に刺入できず、途中で折れていることも確認でき、現状では十分な固定性が得られないことが示された (図 8)。

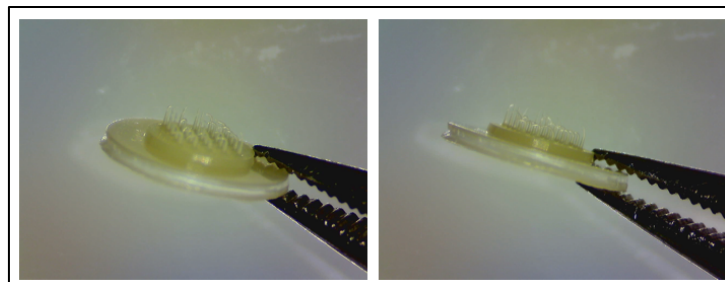


図 8. 固定後のマイクロニードルアレイシート。針の破損あり。

今後、軟骨の固定においては針の長さ、強度など改善が必要であることが理解できた。

(2) 軟骨欠損部充填組織および基材の検討

日本白色家兎大腿骨滑車部骨軟骨欠損モデルにおいては 8 週モデルでは、MC-SE-SS 群で良好な軟骨修復像が確認できた (図 9)。

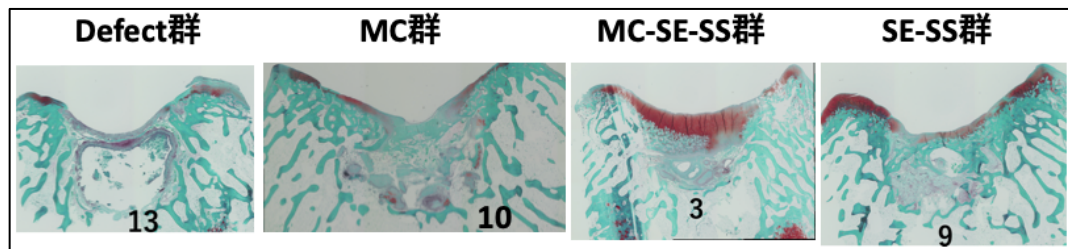


図 9. 術後 8 週の組織像。数字は Pineda スコア (良好な修復像 = 低値)

24 週モデルにおいては 8 週同様 MC-SE-SS 群で良好な修復組織像を認めたが、SE-SS 群にも良好な修復組織像が確認できた (図 10)。

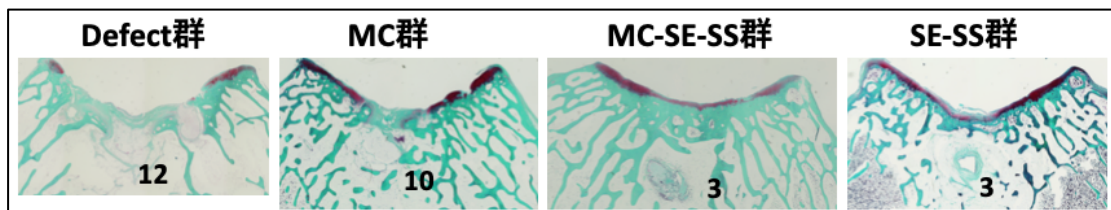


図 9. 術後 24 週の組織像。数字は Pineda スコア (良好な修復像 = 低値)

以上から短期では自家組織と特殊な基材を欠損部に充填することで良好な軟骨修復像が得られることが明らかとなった。また、SE-SS においては長期観察期間において自家組織を移植しなくても良好な修復像が確認でき、軟骨修復のための、これまででない新しい基材となる可能性が示された。

今後、詳細な比較検討が必要であるが、医療機器のみで実施できる軟骨修復手術の開発に繋がることが予想される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔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	味八木 茂 (Miyaki Shigeru) (10392490)	広島大学・病院(医)・講師 (15401)	
研究分担者	中佐 智幸 (Nakasa Tomoyuki) (60467769)	広島大学・病院(医)・講師 (15401)	
研究分担者	亀井 豪器 (Kamei Goki) (60633039)	広島大学・病院(医)・講師 (15401)	

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