生体組織代替材料

森 有一

Yuichi Mori, 東レ(株)基礎研究所

1. はじめに

生体組織、器管の構造は種々の細胞およびそれを取り巻く結合組織、基底膜などの細胞間物質から形成されていて、一定の秩序をもって細胞-細胞、細胞-細胞間物質の接触が認められている。組織、器管の細胞をばらばらにしてしまうと、多くの場合にその細胞は機能を失うばかりでなく、生命の維持さえも困難になることが実験で示されている。このように細胞は社会を形成することによってはじめて複雑かつ高度な機能を発揮することができると考えられていて、この意味で生体組織、器管は種々の細胞と細胞間物質から形成されている典型的なハイブリッド材料ということができ

る。一方、近年の医学の進歩とあいまって損傷を受け機能を失った組織、器管を人工的に代替するという治療が行なわれるようになってきた。このような人工的代替材料に要求される特性はそれぞれの組織、器管のもつ機能を発揮できることと、生体と共存共栄できる良い生体適合性を有することであり、単なる構造材料としての特性から高度の機能性（選択的物質透過性、機械的耐久性など）に至るまで多岐にわたっている。さらに生体内に一時的に留置されるものから半永久的に移植されるものなど種々さまざまである。したがって人工材料のみでその高度の機能と生体適合性を同時に満足させることは現状では難しく、生体由来の生理活性物質、あるいはさらに高度の機能を有する細胞自身を利用することが不可欠である。本稿では生体組織、器管の功妙なハイブリッド化をお手本として、特に生体由来の生理活性物質および細胞を組み込んだ生体組織、器管代替材料のいくつかを紹介する。

2. 生理活性物質を組み込んだ材料

人工材料を生体内に移植した時にみられる最も重篤な拒絶反応は血液が人工材料表面に接触することによって引き起こされる血栓形成反応である。したがって臨床医学の場で望まれているのは、血栓をつくらぬような血液適合性材料で、今日その開発が精力的に行なわれている¹⁾。血栓形成のメカニズムは図1に示すように血液凝固因子、線溶系因子および血小板が相互にからみ合っていて非常に複雑である。また材料表面の性質とこれらの因子との相互作用は完全には解明されていない。材料設計の確固たる指針がない現状では、生体内で血栓形成を制御している血管内皮細胞をお手本にすることが得策であろう。血管内皮の血栓形成制御のメカニズムとしては1)凝固系が亢進すると血管の結合組織中の肥満細胞からヘパリンが分泌される、2)血栓を溶解する線溶系酵素を活性化する組織プラスミノゲンアクチベーター (TPA) が血管内皮細胞から分泌される、3)血小板の凝集作用と拮抗するプロスタサイクリン (PGI₂) が内皮細胞から分泌される、4)凝固因子と拮抗作用をするプロテイン C を活性化するトロンボモジュリン (TM) が内皮細胞膜表面に存在する、などがあげられ、これらの生理活性物質が凝固系、線溶系および血小板系をバランス良く制御しているものと考えられる。これらの血管内皮に由来する生

森 有一 東レ(株)基礎研究所
(248 鎌倉市手広 1-111) 主任研究員 工博
昭和40年早大理工学部応用物理学科卒、40年東レ(株)基礎研究所入社、現在に至る。現在の研究は生医学材料、人工臓器など。
＜趣味＞テニス、スキー、ウィンドサーフィン

カット＝超極細繊維人工血管の治療過程
(野一色泰晴氏提供)

Tissue Replacement

図 1 血栓形成のメカニズム

理活性物質を人工材料に組み込み、抗血栓性を付与する試みが行なわれている。以下にその典型的な材料について紹介する。

2-1. ヘパリンを徐放化する材料²⁾

ポリマー基材に塩基性基を導入しヘパリンのスルホン酸基とイオン結合させると同時に基材に親水性基を導入し基材内部のヘパリンの拡散速度を制御し、表面から血流中へヘパリンを徐放する材料である。この材料は血管壁からのヘパリンの分泌現象を模倣したものであり、ヘパリンの溶出速度が $0.01 \text{ U} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ 以上になると血栓形成が抑制されるという³⁾。これは、この溶出速度でヘパリンが溶出しつづけると材料と血液との界面層に蓄積されるヘパリン濃度は約 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ となり、凝固因子であるトロンビンの活性を阻止するためと考えられている⁴⁾。

2-2. ウロキナーゼ (UK) 固定化材料⁵⁾

TPA と類似の酵素活性を有する UK をポリマー基材表面に化学結合させ、材料表面に形成された血栓を溶解する材料である。材料表面の UK 活性が $0.2 \text{ U} \cdot \text{cm}^{-2}$ 以上の場合には血栓形成が阻止されるという。血栓形成阻止のために化学量論的に消費されるヘパリンと異なり UK は酵素であるためその作用は固定化しても損なわれないものと考えられる。また動静脈血栓性塞症の治療として使用される UK は数万～数百万 $\text{U} \cdot \text{日}^{-1}$ 、患者という莫大な量であり、この全身投与量と比較して著しく少量の UK を固定化することによって血栓形成を有効に阻止できることは酵素固定化法の有用性を物語っている。

2-3. プロスタサイクリン (PGI_2) 固定化材料⁶⁾

血栓形成に関与するもう一つの因子である血小板の

凝集作用を抑制する PGI_2 を固定化した材料である。 PGI_2 は非常に不安定なため、 $\text{PGF}_2\alpha$ を固定化し、高分子反応により PGI_2 に変換させる方法がとられている。固定化量が $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ polymer}$ 以上になると血小板付着および凝集能が顕著に抑制されるという。固定化された PGI_2 が血小板膜上のレセプターに反応し、血小板のトロンボキサン A_2 合成能を阻止するものと考えられ、必ずしも遊離の PGI_2 のみが抗血小板作用を示すとはいえないことを示唆している。これは UK 固定化材料の場合と同様に TPA, PGI_2 などを分泌することによって血栓形成を制御している血管内皮細胞のメカニズムと異なり大変興味深い。これらの生理活性物質を組み込んだ材料の抗血栓性のメカニズムを図 2 に模式的に示す。しかしこれらの材料は生体内に留置されるとヘパリンの潤滑、UK, PGI_2 の失活などのため比較的短期間の寿命しかもたない。また、これらの材料に組み込まれた生理活性物質の量は生体内の生理的濃度と比較して莫大な量である。生理活性物質は薬効をもつと同時に強い副作用をもつ両刃の剣であるから、これらの材料を大表面積が血液と接触するような用途（透析膜、酸素付加膜、吸着剤のコーティング膜など）に使用すると、溶出する莫大なヘパリン量が血中の凝固因子に重大な影響を与えるだろう。また、UK は血中の線溶系酵素を著しく活性化し、 PGI_2 は血中の血小板の凝集作用を阻害してしまうというような重大な副作用が考えられる。したがって生理活性物質を組み込んだ材料は血液との接触面積が小さく、かつ生体内留置期間が比較的短い一時的代用血管などの用途に適していて臨床にも使用されているが、半永久的に生体内に移植されるような用途には不向きであ

図 2 各種生理活性物質組み込み材料の模式図

る。このような問題点を解決するためには 1) すでに述べたように血管内皮細胞がもつ複数の機能を同時に付与し、各機能の相乗効果を利用して、それぞれの有効生理活性物質濃度を減少させ副作用を減らす方法、2) 内皮細胞などを組み込む方法、3) 1) と 2) を組み合わせる方法、などが考えられる。例えば小口径人工血管の移植初期の血栓形成による閉塞をヘパリンの徐放化により防止し、ヘパリンの潤滑後に血管内皮細胞を増殖させ、長期間の血液適合性を獲得しようという試みも行なわれ、満足な結果を得ている⁷⁾。このように長期間の機能性および適合性が要求される生体組織、器管代替材料の開発には細胞とのハイブリッド化が有利であり、以下に 2, 3 の試みについて紹介する。

3. 細胞を組み込んだ材料

今日、細胞産生物を生産させる目的の細胞培養技術の開発が精力的に行なわれ、培養条件、環境因子などの細胞増殖、機能発現などへの影響についての知見が集積されつつある。一方、細胞を組み込んだ材料の場合には再び患者に移植されるために 1) 培養中に細胞の悪性化が生じない、2) 移植可能程度の構造安定性がある、3) できるだけ短期間内に培養する、などの条件が満たされねばならない。

3-1. 表皮細胞などを組み込んだ皮膚代替材料

細胞を組み込んだ材料の中で今日、最も進歩しているものが培養皮膚代替材料である。コラーゲンを基材としてレシピエントの繊維芽細胞を培養し、人工真皮を形成させ、その上にレシピエントの表皮細胞を培養すると表皮細胞は生体の表皮層とほぼ同様に分化し多層構造を形成するという⁸⁾。これは skin equivalent tissue と呼ばれ、そのままレシピエントに移植が可能であり、臨床応用も始まっている。この方法の問題点は、培養皮膚をすべて *in vitro* で作製するために 20 日以上かかり、その間の患者の維持が困難であるということである。この問題点を改善するために、レシピエントの表皮細胞を移植したコンドロイチン硫酸を含有するコラーゲンスポンジを、直接レシピエントに移植する方法が開発されている⁹⁾。スポンジの外表面には細菌感染防止のためと同時に適当な酸素および水分透過性をもつシリコンラバーの薄膜が貼り付けられている。スポンジ中の表皮細胞は *in vivo* で培養され、生体の表皮層とほぼ同様に分化し多層構造を形成すると同時に繊維芽細胞、毛細血管がスポンジ中に侵入し真皮層を形成するといわれている。これは skin template と呼ばれ、患者の皮膚欠損と同時に移植が可能で、skin equivalent tissue よりもより実用的であり、臨床応用が進んでいる。図 3 に両方法を模式的に示す。

3-2. 血管内皮細胞を組み込んだ血管代替材料

現在、臨床に広く使用されている人工血管はポリエステル繊維製の織物あるいは編物であり、血液適合性が低く 6 mm 以上の大口径動脈用人工血管にしか使用できず、小口径あるいは静脈用人工血管としては血栓性閉塞のため使用できない。特に心筋梗塞の治療としての冠動脈バイパス用の 3~4 mm の人工血管の開発が切望されている。小口径人工血管には高度の血液適合性が半永久的に要求されるため、すでに述べたような材料では実現が難しいと考えられる。レシピエントの血管内皮細胞を移植直前に従来の人工血管内面に植え付け、培養せずに再びレシピエントに移植すると小口径人工血管の場合でも血栓性閉塞率が改善されるという¹⁰⁾。すでに述べたように血管内皮細胞は血栓形成を最も効果的に制御でき、いかに早期に均一に内皮細胞を人工内面に形成させるかが鍵である。内皮細胞を植えた人工血管の場合は、コントロールと比較して血管内面の内皮細胞付着が早期にかつ均一に生じていることが確認されている¹¹⁾。これは *in vitro* であらかじめ内皮細胞を培養すればより完全な代用血管が得られることを示唆している。しかし患者からの血管内皮細胞の採取が難しいことと内皮細胞の *in vitro* 培養が困難なため実現されていない。その他、脾臓の β 細胞、肝実質細胞を組み込んだ人工脾臓、肝臓の研究も

図 3 培養皮膚の製造法

skin equivalent tissue

skin template

行なわれているが内皮細胞同様、*in vitro* における増殖、機能発現を効率良く行なわせることが難しく今後の研究に待つところが多い。

4. 今後の展望

培養細胞の増殖、分化、脱分化といった現象は1)生体内からの細胞の単離方法、2)培養細胞の足場である人工基質の性状、3)栄養補給、老廃物除去の効果、4)細胞接着因子、成長因子、分化因子の効果など、培養環境因子に負うところが多い。生体内の細胞の足場であるコラーゲンは細胞の増殖、分化に大きな影響を与えることから人工基質としての応用が始まっている。また、将来は細胞とコラーゲンの仲介をする接着タンパクであるフィブロネクチン、ラミニン、コンドロネクチンなどを人工基質とハイブリッド化することも行なわれるであろう¹²⁾。一方、培養細胞への栄養補給、老廃物除去を効率良く行なうシステムとして選択的物質透過性をもつ中空糸を用いた培養システムが開発され、生体内と同程度の高密度培養を行なうことにより細胞機能を発現させようという試みも行なわれている¹³⁾。また細胞成長因子である fibroblast growth factor (FGF), endothelial GF, epidermal GF, platelet-derived GF などの培養細胞への応用も試みられている¹⁴⁾。今後、これらの環境因子を最適化することにより現在、難しいと考えられている血管内皮、脾、肝細胞の増殖、分化などを *in vitro* で制御することが可能になって初めて生体の機能に近い本格的な組織、代替材料が実現するものと思われる。

引用文献

- 1) 森 有一: 80 年代の医用材料, テクマート (1980)
- 2) Y. Mori, S. Nagaoka, Y. Masubuchi, M. Itoga, H. Tanzawa, T. Kikuchi, Y. Yamada, T. Yonaha, H. Watanabe, Y. Idezuki: *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs.*, **24**, 736 (1978)
- 3) Y. Mori, S. Nagaoka, M. Itoga, H. Tanzawa, Y. Yamada, H. Watanabe, Y. Idezuki: *Artif. Organs.*, **2**(Suppl), 66 (1978)
- 4) D. Basmadjiam, M.V. Sefton: *J. Biomed. Mater. Res.*, **17**, 509 (1983)
- 5) 大城 孟, 城戸良和, 小川嘉春, 神前五郎, 高木邦彦: 人工臓器, **10**(6), 989 (1981)
- 6) C.D. Ebert, E.S. Lee, S.W. Kim: *J. Biomed. Mater. Res.*, **16**, 629 (1982)
- 7) 野一色泰晴, 山根義久, 宮田暉夫: 第 23 回日本人工臓器学会大会予稿集, 120 (1985)
- 8) E. Bell, H.P. Ehrlich, D.J. Buttle, T. Nakatsuji: *Science*, **211**, 1052 (1981)
- 9) I.V. Yannas, J.F. Barke, D.P. Orgill, E.M. Skrabut: *Science*, **215**, 174 (1982)
- 10) T.A. Belden, S.P. Schmidt, L.J. Falkow, W.V. Sharp: *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs.*, **28**, 173 (1982)
- 11) W.E. Burkell, D.W. Vinter, J.W. Ford, R.H. Kahn, L. M. Graham, J.C. Stanley: *J. Surg. Res.*, **30**, 305 (1981)
- 12) H.K. Kleinman, R.J. Klebe, G.R. Martin: *J. Cell. Biology.*, **88**, 473 (1981)
- 13) 西沢真治, 小林 明, 石田正夫, 赤池敏宏, 宮田暉夫: 人工臓器, **14**(1), 224 (1985)
- 14) 最新医学, **40**(3), 1985