

組織再生機能に優れた複合足場材料の開発研究

研究代表者 山崎 淳司
(創造理工学部 環境資源工学科 教授)

1. 研究課題

再生医療において、特に組織再生を安全かつ高効率に行うためには、生体適合性に優れ、抗感染性細胞との親和性と構造的・機械的特性を両立した、細胞活性因子の複合足場材料基材が不可欠である。本研究では、アパタイト系物質、非晶質ケイ酸、窒化物、酸化物、金属、高分子などの適切な物性を有する基材を選択・創成し、これに細胞活性化因子、DNA などの有機シグナル物質や光熱変換などの機能性物質を複合化して、目的細胞の増殖・分化や局所的高選択死滅を設計でき、かつ組織再生やがん治療に有効な機能を付与した足場材料の開発を行う。

2. 主な研究成果

表面修飾したジルコニア上における脂肪由来間葉系幹細胞の細胞挙動評価

細胞の足場となる生体材料の表面性状は、細胞の接着、増殖、分化などの基本的な細胞挙動に影響を与えることがわかってきており、それらの相関関係やそのメカニズムを明らかにすることで、高機能生体材料の開発の促進が期待されている。またこれまでに我々は、足場材料の表面性状が骨髄由来間葉系幹細胞(BMDMSC)の初期細胞接着に影響を与え、初期細胞接着面積と骨分化能に逆相関があることを見出している。そこで今年度は、イットリウム安定化正方晶ジルコニア多結晶体(以下、3Y-TZP)の表面性状が由来の異なる間葉系幹細胞においても、その初期細胞接着とその後の骨分化能に影響を及ぼすかを検証するため、脂肪由来間葉系幹細胞(ADMSC)を用いて、フェムト秒レーザーで表面修飾した 3Y-TZP 基板上での初期細胞接着挙動について評価した。

足場材料として 3Y-TZP 成型基板(東ソー製 TZ-3YB-E(イットリア添加量 3mol%)粉体を焼結)にフェムト秒レーザー(中心波長 810 nm、パルス幅 80 fs)を数十パルス照射してレーザー誘起表面周期構造を形成させ、レーザー光や衝撃による劣化の無いものを細胞実験に使用した。ADMSC は F344/NSIc ラット(7 週令、オス)より単離し、脂肪細胞への分化能を Oil Red O 染色により確認したものを使用した(図1)。

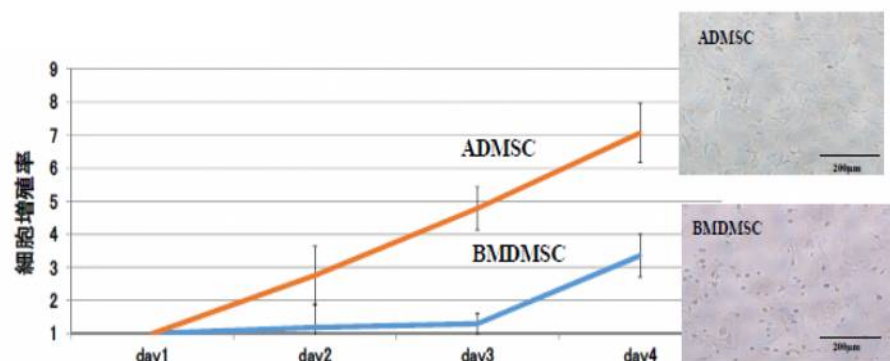


図1 ADMSC および BMDMSC の拡大培養による細胞増殖率(左)と細胞形態(右)

ADMSC の 3Y-TZP 成型基板上への初期細胞接着の影響を解析するため、表面修飾しない 3Y-TZP(FS (-))、表面修飾した 3Y-TZP(FS (+))および Tissue Culture Polystyrene(TCPS)上に ADMSC を播種し、3 時間培養後、細胞を固定し、細胞骨格を rhodamine phalloidin、核を CYTO 16 green fluorescent nucleic acid stain で二重染色した。そして得られた蛍光顕微鏡画像を用いて、画像解析ソフトにより、細胞接着面積を測定した。また、骨芽細胞マーカー評価として、オステオカルシン産生量を測定した。

その結果、FS (-)上での細胞接着面積は、TCPS 上と比較して優位に大きく、初期細胞接着は材料による影響を受ける可能性が示唆された。また、FS (+)上での細胞接着面積は FS (-)上および TCPS 上と比較して、優位に小さくなることを見出した (図 2)。ここで、FS (+) 上の細胞を観察すると、細胞がレーザー誘起表面周期構造の底面から約 9 μm 高い場所を足場に接着している様子が観察された。さらに、オステオカルシン産生量を測定した結果、FS(+)上では優位に ADMSC の骨分化が促進されることがわかった (図 3)。

以上の結果より、BMDMSC と同様に、由来の異なる ADMSC においても足場材料の表面性状が初期細胞接着に影響を与える可能性が示唆された。

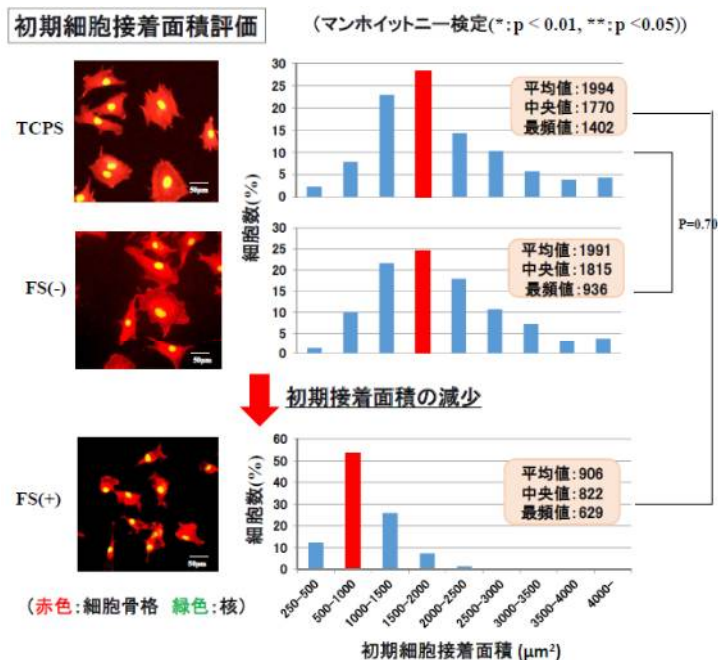


図 2 異なる足場材料 (TCPS, FS(-), FS(+)) 上での初期接着細胞の形態および面積比

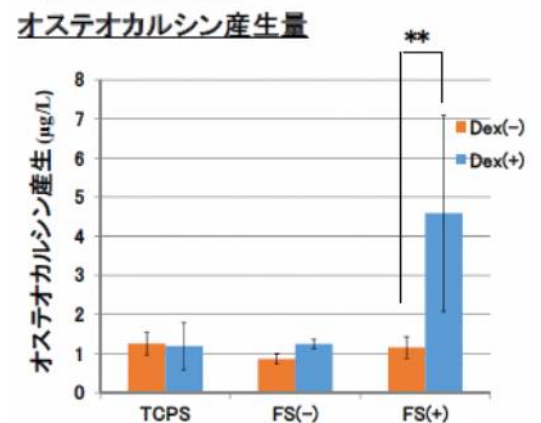


図 3 異なる足場材料 (TCPS, FS(-), FS(+)) 上での初期接着細胞のオステオカルシン産生量
分化誘導培地:

Dex(-): デキサメタゾン無

Dex(+): デキサメタゾン有

3. 共同研究者

一ノ瀬 昇 (理工学術院総合研究所 顧問研究員)

安井 万奈 (理工学術院総合研究所 客員次席研究員)

4. 研究業績

4.1 学術論文

4.2 総説・著書

4.3 招待講演

4.4 受賞・表彰

4.5 学会および社会的活動

日本ゼオライト学会 編集委員

日本粘土学会 会長

無機マテリアル学会 理事

5. 研究活動の課題と展望

我々の研究グループは、再生医療において不可欠とされる、目的細胞の増殖・分化や局所的高選択死滅を設計でき、かつ組織再生やがん治療に有効な機能を付与した足場材料の開発と、由来の異なる間葉系幹細胞の目的細胞への分化・増殖能の早期評価技術の構築を目的に研究を展開している。そのうち成果が十分得られたものについては、動物実験および臨床実験へのステップアップを計画している。