研究論文

高齢化社会に適した再生医療普及のための安価な培養システムの開発

明歩谷　英樹*

Development of Low Priced Culture System for Regenerative Medicine Spread that is Appropriate for Aging Society

MYOUBUDANI Hideki*

抄　　録

再生医療に使用するための細胞培養用の柔らかい足場の開発を行った。ニット産地の持つ編み技術を用いて，編み組織を変化させた足場やエレクトロスピニング法を用いた複合足場など複数の足場を試作することができた。また，培養細胞との親和性をあげるため，ぬれ性を付与する加工方法を検討した。

1.　緒　　言

高齢化社会に向けて疾病や事故などで失われた身体の一部の機能を回復するための再生医療をより容易に普及させるため，細胞培養，足場，増殖因子のそれぞれに新たな工夫を凝らし，低コストの培養システムの開発を行う。当センターでは，ポリ乳酸やポリグリコール酸などの生体内分解吸収性繊維を用いた柔らかい足場を開発することを分担目標とする。

本研究は新潟大学，HOYA(株)，(株)ジュース，(株)佐文工業所，(株)ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング，新潟県工業技術総合研究所がそれぞれテーマを分担し進めている JST 育成研究による。

2.　軟素材用足場について

ポリ乳酸やポリグリコール酸などの生体内分解吸収性として知られている繊維を用いて，細胞を培養する足場の開発を行っている。図 1 は培養足場の概略図を示す。これまでに商品化されている足場にはコラーゲンなどを用いたゲル状のものやポリ乳酸やキトサンなどを用いたスポンジ状のものなど，様々なタイプのものが登場してきている。しかし，それぞれに一長一短

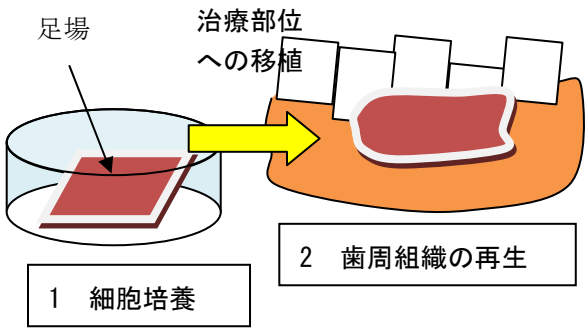

図 1　細胞培養足場

があるといわれ，より使い勝手のよいものへの要求が強まってきている。我々は生体内分解吸収性繊維を新潟県のニット産地が持つ技術を用い編み立てることで，編み地状の足場を開発することとした。足場開発においてはこれまでに多くの論文などで紹介されている必要条件として，以下の 3 つがあげられている。①生体内にアレルギー反応などの害を及ぼさない生体適合性があること。②培養後の移植の際に破断することがなく手術後体内に埋入し，ある一定期間後には体内で分解吸収されること。③細胞自体が足場から滑り落ちていかない細胞との親和性を持つこと。

*　素材応用技術支援センター

表 1　生体内分解吸収性合成素材

高分子	構　造
ポリ（グリコール酸）	$-(O-CH_2-C)-$ ‖ O
ポリ乳酸	$-(O-CH-C)-$ | ‖ CH_3 O
ポリグラクチン	ポリ(ｸﾞﾘｺｰﾙ酸)／ポリ乳酸 ＝９／１
ポリジオキサノン	$-[O-(CH_2)_2-O-CH_2-C]-$ ‖ O
ポリカプロラクトン	$-[O-(CH_2)_5-C]-$ ‖ O

2.1　生体内分解吸収性素材 [1) 2) 3)]

この項では，一般的に使用されている，生体内で分解し最終的に吸収されてしまう素材について紹介する。表 1 はその分子構造と特徴を示す。これら高分子材料は触媒や酵素により分解され，最終的には二酸化炭素や水に分解される。

2.2　試料

生体内での安全性が確認されている点から縫合糸として上市されている素材を入手し，これを編み立てることで足場を作成することとした。表 2 は，入手した縫合糸の商品名および物性値を示した。比較試料として，工業用に使用されているポリ乳酸についても試験用試料とした。

試料を検討していく中で，組紐タイプの縫合糸材料にはウイルスなどの異物の侵入を避けるため，糸表面にステアリン酸カルシウムなどをコーティング処理している。図 2 はコーティング処理を施した組紐の拡大写真を示す。この処理を施した試料を培養班へ提供したところ，培養中に細胞が死滅してしまう結果となった。よって，細胞培養にはコーティング処理は適さないことがわかり，足場用素材としては未コーティング素材を使用することとした。

	商品名	太さ	構造	熱収縮温度
ポリグリコール酸繊維 (PGA)	ケイセイ医科工業（株）製 「クレイヨン」	２３０dTex.	組紐	１２２℃
ポリグリコール酸／ポリ乳酸共重合体繊維 (PGA/PLA)	ｼﾞｮﾝｿﾝ&ｼﾞｮﾝｿﾝ（株）製 「バイクリル」	２８０dTex.	組紐	９３℃
ポリジオキサノン繊維 (PDO)	ケイセイ医科工業（株）製 「PDO 5－0」	１０６dTex.	モノフィラメント	８３℃
ポリ乳酸繊維 (PLA)	ユニチカファイバー製 「テラマック」	８４dTex.	マルチフィラメント	８４℃

表 2　試料一覧

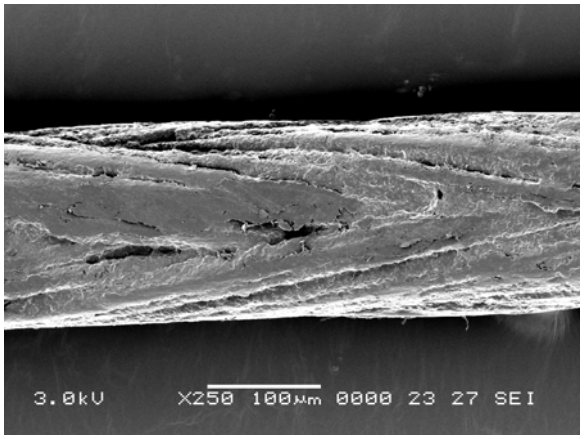

図 2　組紐のコーティング状況

3.　細胞培養用軟足場開発

先の項で紹介した試料を用いて，編み立てによる足場開発を行った。

3.1　編み組織による開発

編み立て技術では「ループを作る／ニット」と「ループを作らない／ミス」の繰り返しや，それぞれを組み合わせることによって立体的な構造を作成することができる。この編み立て技術を使って，天竺編み地，ゴム編み地，2/2 切り替え編み地，ニット・デニット編み地などを試作した。図 3 は天竺編み地，図 4 はニット・デニット編み地を示す。

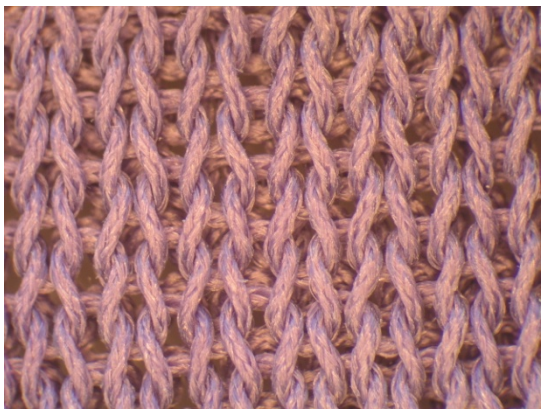

図 3　天竺編み地（PGA）

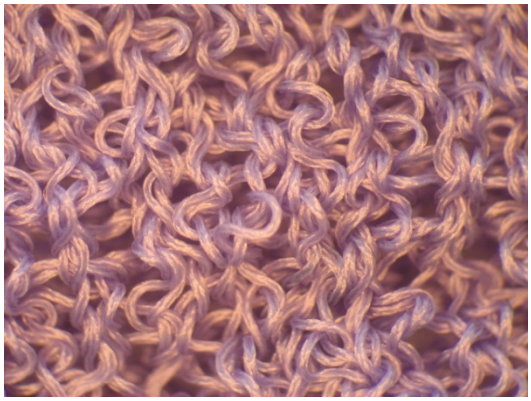

図 4　ニットデニット編み地（PGA）

糸素材：PGA（ポリグリコール酸繊維　以降 PGA と示す）

天竺編み地は編み目がはっきりわかり，比較的隙間が多いのに対し，ニット・デニット編み地は，不規則な糸の転びによって隙間が少ない構造となった。このような立体的効果の異なる編み地足場を作成することができた。この足場によって，細胞の付き易さや栄養や酸素，排出物の行き来など細胞培養時に及ぼす影響については今後培養班と連携し調査を進めていく。

3.2　エレクトロスピニング法による複合化

細胞培養用足場において，エレクトロスピニング法と呼ばれる数 μm～数 nm の直径を持つ糸または不織布を作成する技術が近年注目されている[4) 5)]。この項ではこのエレクトロスピニング法を用いた複合化技術による足場の開発について示す。図 5 は複合足場のモデルを示す。

皮膚組織自体も厚さ方向によって表皮細胞，真皮細胞などのように特徴が変化することが知られている。このような厚さ方向への構造変化を足場の段階で加えることで，細胞培養への良い影響が出ることを期待し，編み立てによって作成した母材の上にエレクトロスピニング法による不織布を積層させた複合足場を開発した。

母材：PLA（ポリ乳酸繊維　以降 PLA と示す）
　　天竺編み地
エレクトロスピニング層：PLA

試作したエレクトロスピニング足場の拡大写真を図 6 に示す。今回は工業用の PLA を使用し

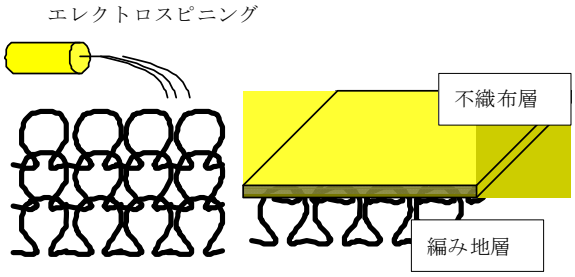

図 5　エレクトロスピニング足場

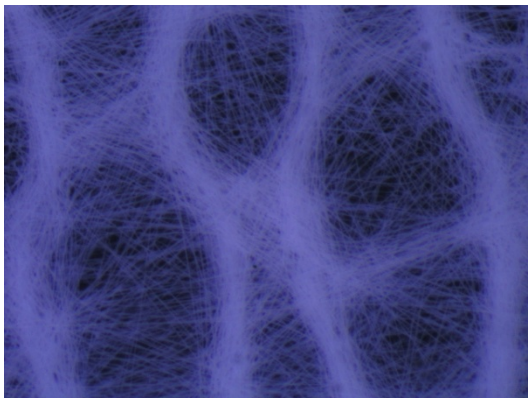

図 6　エレクトロスピニング複合足場

たため，培養実験までには至っていないが，このような複合足場の効果についても，今後素材を変えて試験を実施していく。

3.3　ぬれ性向上

細胞培養用足場で必要とされている事項の一つとして，2.の項で示した③細胞との親和性があげられる。しかし，栄養素や老廃物の堆積などを考えると，一概にぬれ性がよいだけでは細胞培養に適した足場とはいえないとの議論もあり，未だ適正な数値（接触角など）がわかっていない。そこで，電子線照射などの処理によってぬれ性を変化させた試料を試作し，足場のぬれ性と細胞培養への影響を調べる試料を試作した。

足場：・PDO（ポリジオキサノン繊維　以降 PDO と示す）　天竺編み地
　　・PLA　天竺編み地
電子線照射装置：岩崎電気（株）製
　　LIGHTBEAM-L　EC110/15/70L
熱水処理：80℃温水中で 30 秒間浸漬
熱プレス処理：100℃　30kgf/cm^2 加重で 5 分間保持

図 7 は編み地足場へ電子線を照射した試料，熱水処理した試料，熱プレスした試料を作成し，各試料の接触角を測定した結果を示す。PDO，PLA ともに電子線照射で接触角が微増する傾向（ぬれ性が悪くなる）にある。PDO については，熱水処理やプレス処理によって接触角が低下した。

また，図 8 は各素材の電子線照射量と引張り強度の試験結果を示す。電子線量増加とともに破断強度（最大点荷重）は低下し，PLA については，270kGy ではさわるだけで破断するほど強度低下してしまった。過度な電子線照射は取り扱いを悪くするため，適度な照射が必要であることがわかった。以上のように、ぬれ性の異なる試料を多数試作することができた。

3.4　編み目空隙率について

細胞培養用足場へのもう一つの要望として，栄養分や排泄物の出入りが可能である空隙が存在することもあげられる。この項では足場の空隙を制御する方法について示す。今回は，天竺編み地，およびその編み地を熱水収縮させることで目を詰める方法，その後熱プレスをする方法の 3 種類の処理を行った。

素材：PDO　天竺編み地

熱水処理：80℃温水中で 30 秒間浸漬

熱プレス処理：100℃　30kgf/cm^2 加重で 5 分間保持

図 9 は未処理の編み地を，図 10 は熱水収縮後の編み地を，図 11 は熱プレス後の編み地の拡大写真を示す。また，図 12 には各処理後の糸の直径を示し，さらには表面から見たときの穴の割合（空隙率）を示した。今回試験を行った各処理によって，条件を適宜選択することで希望する編み目の大きさに調整できることが確

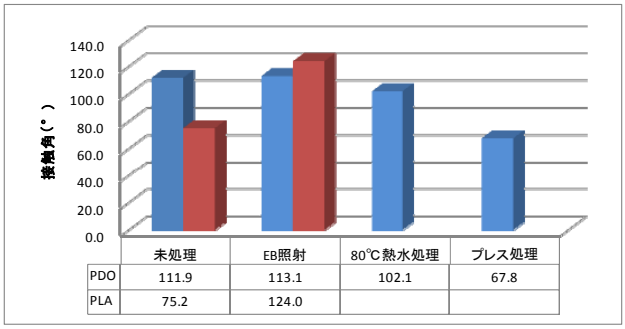

図 7　各種処理とぬれ性の関係

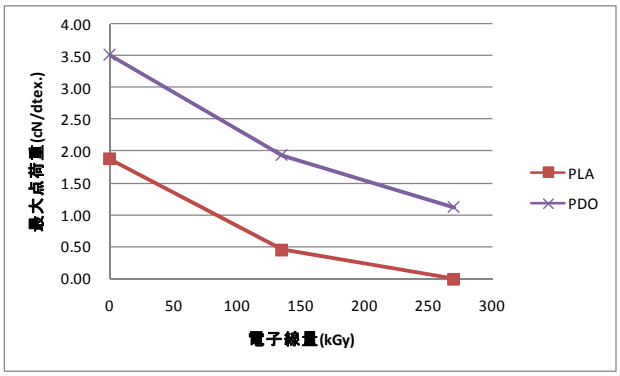

図 8　電子線量と強度の関係

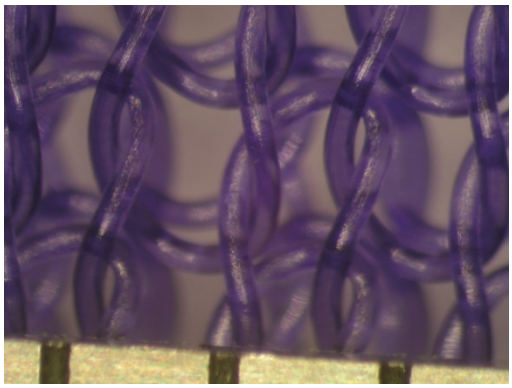

図 9　PDO 編み地

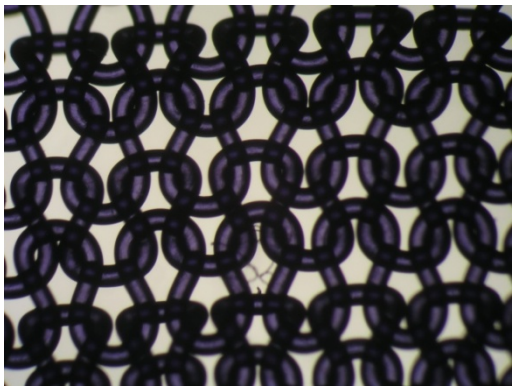

図 10　PDO 編み地を熱水処理後

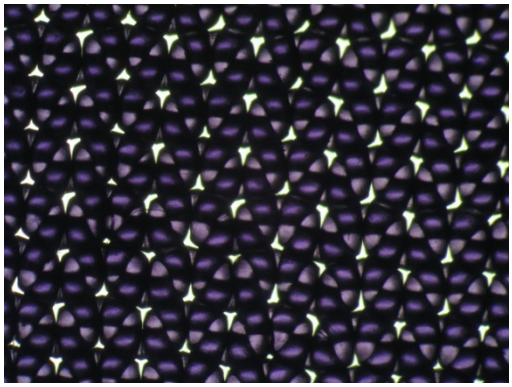

図 11　PDO 編み地を熱プレス

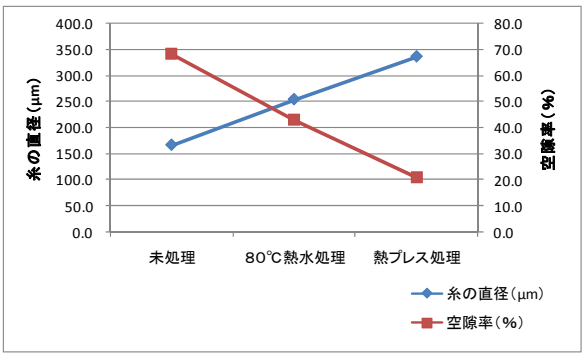

図 12　各処理による編み目の大きさ

認できた。

4.　結　　言

（1） 各種縫合糸を入手し，これを用いた編み地足場を試作した。その中で，コーティング処理を施した縫合糸については細胞培養用足場に適さないことがわかった。

（2） 編み組織を変えた足場，エレクトロスピニング法を用いて複合化した足場，ぬれ性を変化させた足場などを試作した。

（3）編み地足場による栄養や排出物の行き来を可能にする，空隙の大きさを制御するための方法を示した。

参考文献

1）玄丞烋，“バイオプラスチックの利用事例 医療用としての応用事例”，バイオプラスチックの高機能化・再資源化，2008，p290-298.

2）澤田和也，“再生医療用バイオスキャフォールド作成のための生体繊維処理技術の開発”，繊維と工業，Vol.62，No.5，2006，p155-156.

3）陳国平，“生体組織工学のための新しい基盤材料”，AIST Today，2，2002，p8.

4）谷岡明彦，“進展するナノファイバー技術”，工業材料，Vol.56，No.8，2008，p29-33.

5）Zheng-Ming Huang，Y.-Z. Zhang，M. Kotaki，S. Ramakrishna，“A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites”，Composites Science and Technology，63，2003，p2223-2253.