

## [最近のトピックス]

3Dコラーゲン・グリコサミノグリカン複合体スキャフォールドを使った  
再生医療研究

田巻 玉器

北海道医療大学歯学部口腔構造機能発育学系組織学分野

Tamaki YOKOHAMA-TAMAKI

Division of Histology, Department of Oral Growth and Development, Health Science University of Hokkaido

損傷した組織を回復する再生医療の一手段として、細胞の分化・誘導を促す細胞足場材料の開発が進められている。筆者は2010年から2012年までアメリカ合衆国イリノイ大学アーバナ・シャンペーン校へ海外研究員として勤務し、Dr. Brendan Harley研究室において様々なスキャフォールドの開発とその応用研究について学ぶ機会を得たので、近年の生体スキャフォールドを用いた再生医療研究について紹介する。Dr. Harley研究室では主にコラーゲンとグリコサミノグリカン複合体スキャフォールド (Collagen-glycosaminoglycan scaffolds: 以下CGスキャフォールド) を中心とした以下の4つのプロジェクトを進めている: 1. 損傷によって失われた硬組織・軟組織の人工構築 2. 細胞動態の観察モデルとしてのスキャフォールドの応用 3. 幹細胞ニッチの人工構築 4. 人工細胞材料としてのスキャフォールドの応用<sup>1)</sup>。彼らの研究室でターゲットとする組織は骨・腱・造血系幹細胞ニッチ・心筋・血管・ガン細胞転移モデルなど多岐にわたっており、それらの組織に最適なスキャフォールドの形状と構成成分が検討されている。

スキャフォールドの主な構成成分はウシ真皮由来コラーゲンとサメ軟骨由来コンドロイチン硫酸で、それに酢酸を添加したものがベースとして使用されている。形状はメンブレン型、スポンジ型、両者を組み合わせた複合型と自在に成形できる<sup>2)</sup>。さらにリン酸カルシウムなどミネラル成分の配合量を調節することにより1つのスキャフォールド上に、腱組織再生に適した足場層、骨組織再生に適した層、さらに両組織が移行的に混在する様に層成分を配置することで、複雑な生体内の組織配列を再現できるよう改良されている。主な構成成分であるタイプIコラーゲン線維の形状についてもフリーズドライ法による温度操作によって、線維の配列方向を調節できる点に特色がある。線維方向を異方向もしくは同一方向に配列することによってスキャフォールドの硬度と細胞の配列を調節することが可能となった。さらにコラーゲン線維間のポアサイズ (多孔性) の調節は細胞の初期接着と増殖に直接関与している事が、ウマ由来初代腱細胞やマウス由来心筋細胞を用いた実験からも明らかになっている<sup>2)</sup>。

細胞外マトリックス上で立体的に細胞を培養すること

によってこれまでIn vitroで観察できなかった細胞の応答が観察されつつある。特にCGスキャフォールド上に増殖シグナルなどのタンパク質やプラスミド、siRNAを人工的に結合させたデバイスの開発が進められている。生体内では生理的に配列した細胞が局所的にシグナル分子を放出し、パラクラインもしくはオートクライン作用を示す。スキャフォールド上に局所的に結合させたこれらの生体分子は、立体的かつ選択的に細胞を配列・増殖・分化させる可能性がある。フォトリソグラフィ (Photolithography) は光や電子線等を利用して平面基板様にパターンを転写する技術であるが、CGスキャフォールド上に生体分子を結合させるための応用技術として新たに注目されている<sup>3)</sup>。これまでにこの技術によってCGスキャフォールド上の400 $\mu$ mのスペースに100 $\mu$ m間隔のフィブロネクチンとN-カドヘリンが格子状に交差するパターンを転写する事に成功している<sup>3)</sup>。今後数種類のタンパク質や遺伝子とそれらの濃度勾配を組み合わせる事によって、生体内により近い培養条件下での細胞接着や遊走、増殖、分化、遺伝子発現、細胞外基質の分泌を検討することが可能となる。

iPS細胞やES細胞から様々な細胞の分化培養方法が確立されつつあり、体外で増殖・分化させた細胞を生体内へ効率的に移植する為の足場としてスキャフォールドは不可欠な材料である。また臓器の生理的な機能は細胞の組織学的な配列と密接に結びついており、細胞の立体培養とドラッグデリバリーシステムを組み合わせた新しい細胞培養技術としてのスキャフォールド研究に今後も注目したい。

## 参考文献

- 1) <http://www.scs.illinois.edu/HarleyLab/>.
- 2) Caliri SR, Harley BA. The effect of anisotropic collagen-GAG scaffolds and growth factor supplementation on tendon cell recruitment, alignment, and metabolic activity. *Biomaterials*. 2011, 32: 5330-40.
- 3) Martin TA, Caliri SR, Williford PD, Harley BA, Bailey RC. The generation of biomolecular patterns in highly porous collagen-GAG scaffolds using direct photolithography. *Biomaterials*. 2011, 32: 3949-57.