

形状の機能Ⅲ：ナノファイバー

(物材研生体材料センター) 小林 尚俊

TEL 029-860-4495 FAX 029-860-4715 e-mail Kobayashi.hisatoshi@nims.go.jp

バイオマテリアルの研究は、治療用医療器具に使用される適合性部材、再生医療用足場材料、DDS担体材料、臨床検査関連材料など非常に多岐に渡る展開がなされており、材料に求められる要求特性はその用途毎に千差万別である。しかし、すべてに共通する概念は生体適合性を持つ材料開発であり、開発される材料は、クローン化技術等を駆使して個体とまったく同等の組織、材料を作り上げない限り、生体に対しては異種材料（生物由来材料であろうが、合成材料であろうが）である。このことはつまり、生体材料研究は、宿命的に生体とのコンプライアンスマッチングの技術およびそれを評価する手法を作り上げる研究に他ならないことを意味している。生体材料開発では、バイオマテリアルと生体の相互作用を材料用途に応じて多角的に解析し、生体とのコンプライアンスを構築することが求められているわけである。

われわれは、蛋白や糖といった生体分子を介した材料の表面・構造・組成、に対する細胞認識が材料の生体適合／不適合を決める大きな要素となっている点を考慮し、細胞への情報をコントロールする技術としてナノテクノロジーの技術的意義は極めて高いと考えている。本講座では、ナノバイオ材料の中で特に再生医療用足場材料の開発に関して、現在我々が取り組んでいるナノファイバー関連材料の研究の一端を紹介し、生体の相互作用の観点を中心に材料の持つポテンシャルと実応用に向けた課題、将来展望などを考察したい。組織工学技術を用いた再生臓器の開発が進んでいるが、この研究においては、生物学や基礎医学に支点をおいた発生・再生・分化の研究から生体適合性の高いスキャフォールド材料開発に至る、幅広い医工学融合技術の開発が求められている。In vivo tissue engineering, In vitro tissue engineering いずれのアプローチにおいても、細胞、組織の機能発現（生物学的機能、形態維持や機械的強度等の物理化学的機能）を維持しつづけることが可能な人工細胞外マトリックスとしてのバイオマテリアルの開発が必要である。生体と材料の共存系においては、細胞と材料の相互作用、つまり蛋白や糖といった生体分子や材料の組成・構造などが細胞に与える情報が重要となる。情報の経路では、材料と細胞の界面における分子のナノ構造・クラスタリングした結果としてのマイクロレベルの構造などに対する細胞膜表面の様々な認識機構が働く。その結果として細胞の認識が各種遺伝子発現を通じて材料の生体適合／不適合を決める要素となっていることは想像に難くない。ナノテクノロジーの進展が生体材料の研究開発に与えた影響は計り知れないが、この中で最も重要な点は、材料学的な意味で制御可能なスケールの穴を一つ埋めた点にあると考える。同一材料でもその大きさや形態によりその特性が劇的に変化し、高機能化に役立つことは周知の事実である。ナノテクノロジー研究の成果が乏しかった段階では、規格化した構造制御技術がマイクロメートル以下のレベルでは、いきなり原子、分子のレベルに飛んでしまい、10ナノからサブミクロンにかけての領域のコントロールができる材料はごく僅かであった。バイオマテリアルが相手にする生体は、細胞を介してバルクとしての材料特性、マイクロメートルオーダーでの相互作用、蛋白やイオンといった分子原子レベルでの相互作用の情報を認識している。その細胞は、それらの周囲環境情報をセンスして状況に応じて各種機能を発現する。このセンシングのスケールがまさにナノオーダーの領域にあり、この情報をコントロールするためのツールがこれまで欠落していた。ナノテクノロジーが生体材料

研究者に提示してくれたナノレベルでの形態制御技術から、2つの大きな成果が期待される。一つは、言うまでもないが、新たに材料やデバイスとして実現可能な設計の領域を広げる点であり、もう一つは、ナノメートルレベルで規格化された材料表面や構造体を作り上げるにより、これまで不明確であった細胞へのシグナルの入り方からその結果として生ずる細胞や生体の反応に関してより正確な解析が可能になるため、材料と細胞の適合性をこれまで以上に詳細に検討できるようになる点にある。ゲノミクス、プロテオミクス等の手法との組み合わせにより生体材料の網羅的な適合性評価の中でバイオマテリアルの遺伝子、蛋白発現ライブラリーの構築が可能になるであろう。我々は、ナノファイバー形成技術と有機-無機複合化、自己組織化、生体適合性材料の微細加工、界面科学などをベースとして新規生体適合性材料の開発を行っている。以下にナノファイバーを用いた機能化再足場材料のアプローチを紹介する。

血管誘導足場

ナノファイバーはバルクに比して広大な表面積を有するため各種生体由来因子の吸着サイトを多数設計でき、ゲルなどと比較すると生体物質の透過性に優れ細胞や生体成分の浸潤が容易に起こることが想定できるなど、再生医療用足場材料としての要件を具備している。我々はこのナノファイバーの特性を考慮し、新規再生医工学足場材料の研究に取り組んでいる。細胞-材料複合体を生体内に埋入して早期生着、長期機能維持をさせるには血管網の構築が必須であり血管誘導能を有する足場材料が求められている。

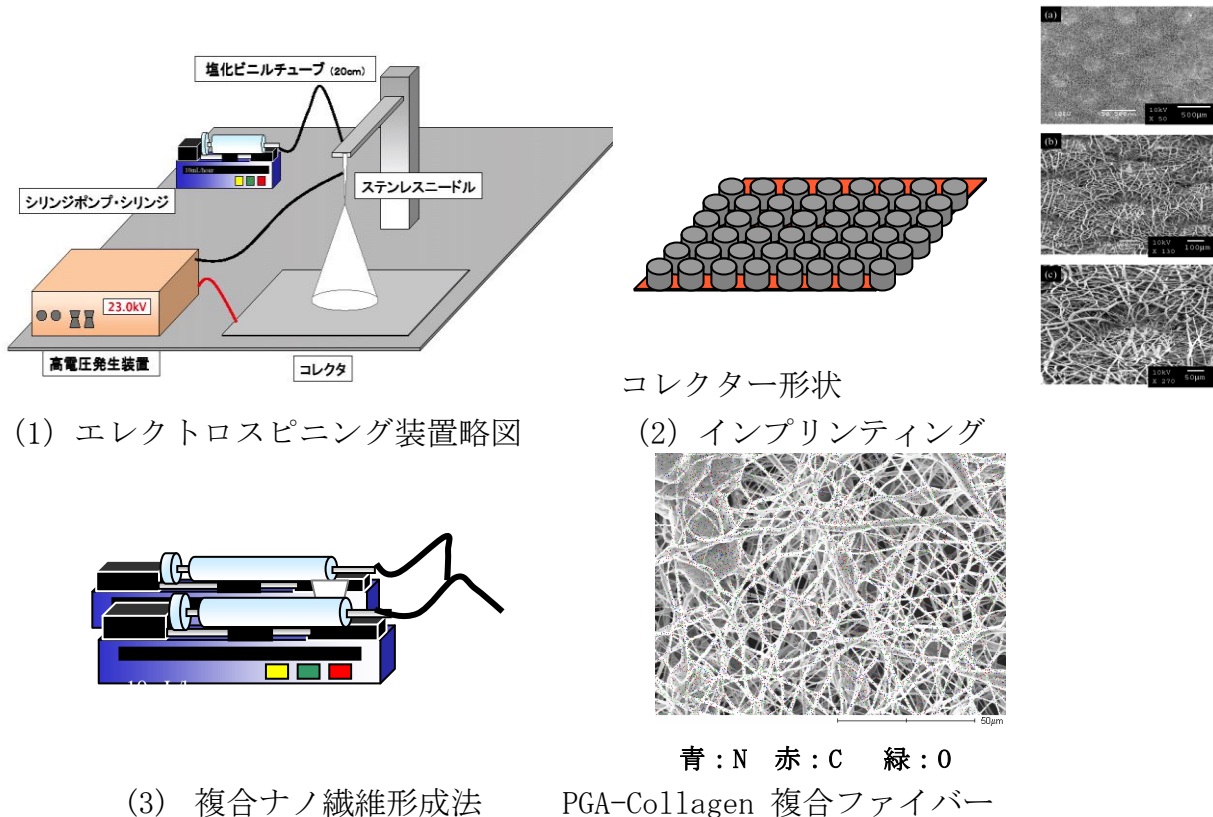
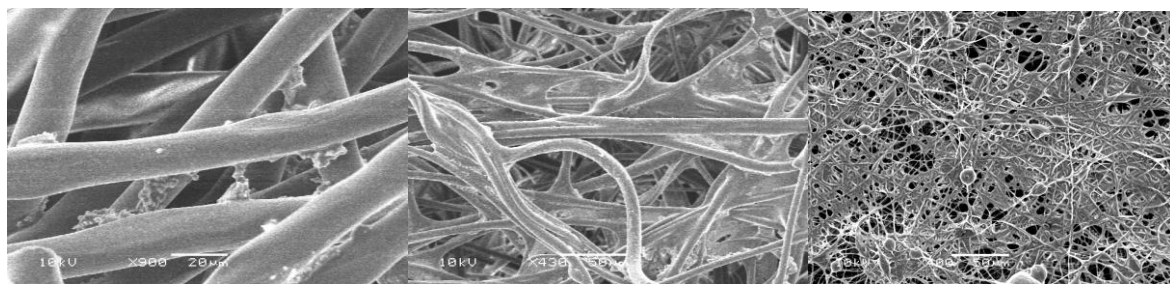


図1. エレクトロスピンニング法によるナノファイバー集合体の組成及びマイクロストラクチャー制御法

組織再生足場材料を開発する上で、既存材料の組み合わせで足場材料を機能化するアプローチが最も実現性も高く、臨床への近道と考えられる。これまで我々は、エレクトロスピン

ニング法を用いて各種材料のナノファイバー形成技術とマイクロストラクチャーの付与技術等を検討し、組織足場としての可能性を検討してきた。エレクトロスピニング法（電解紡糸法）は近年、直径がナノメートルスケールの高分子のファイバー、ナノファイバーを作製する技術として利用されている。組織再生用足場材料を考える上では、適応組織臓器ごとに最適な形状が存在し、形の要素も成功、失敗を分かち大きな要因となることから、エレクトロスピニング法を用いて各種材料のナノファイバー形成技術とマイクロストラクチャーの付与技術等を検討している。図1に示すような比較的平易な装置で、比較的容易にナノファイバーを紡糸することが可能で、紡糸条件、装置に各種工夫を施すことでナノファイバーから構成される材料の最終形態をマイクロ、マクロレベルで制御することも可能である。図1(2)に示すようにマイクロストラクチャーを有するコレクターを使用して紡糸することで、紡糸プロセス中でミクロンレベルの形状をインプリンティングする方法を考案した。また、エレクトロスピニング法と湿式紡糸法を組み合わせることでナノファイバーの形状、風合、繊維径など様々な形態を制御する技術を検討中である。

既存材料の組み合わせで足場材料を機能化するアプローチとして、生体適合性、機械的強度に優れ臨床現場で使用実績のあるポリグリコール酸 (PGA) の血管誘導材料としての機能化に取り組んでいる。再生医療用の足場材料として最も広範に使用されている天然の細胞外マトリクス (ECM) であるコラーゲンをPGAと複合化し、コラーゲンの持つECMとしての特性とPGAの持つ物性面での優位性を兼ね備えたナノファイバーを合成しその機能検索を行っている。(図1(3)) PGAやポリ乳酸などのポリエステル系の生体内分解吸収性高分子は、分解の素過程でグリコール酸や乳酸などが放出されるため局所のpHの上昇により炎症が惹起される。過度の炎症は再生遅延や組織破壊を引き起こすが、コントロールされた局所的炎症は、その場に血管を誘導し組織治癒を促進する。我々の取り組んでいる複合化ファイバー(同一のナノファイバー内に2つの材料成分を含む)は、PGAとコラーゲンの含有率をコントロールすることでPGAの引き起こす局所炎症を抑え分解産物であるグリコール酸に由来する血管誘導能を最大限に利用し、コラーゲンの持つECMの特性を維持しつつ、コラーゲン足場材の抱える物性面の弱さを改良することを目指している。



(1) 平均繊維径 20-30 μm (2) 平均繊維径 5-10 μm (3) 平均繊維径 0.1-1 μm

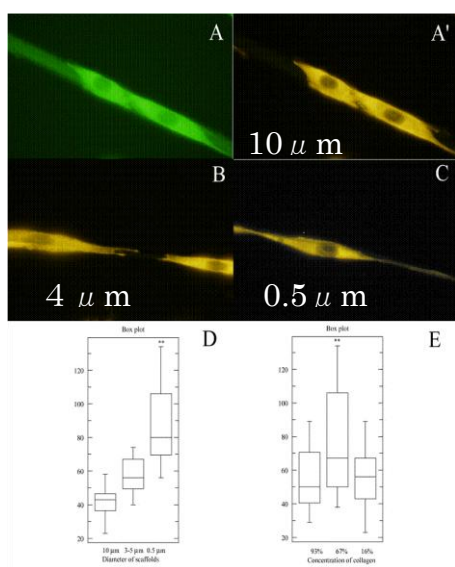
図2 PGAファイバー上に播種した血管内皮細胞の付着状態

(1) (2) 10日後の細胞接着状態 (3) 播種1日後

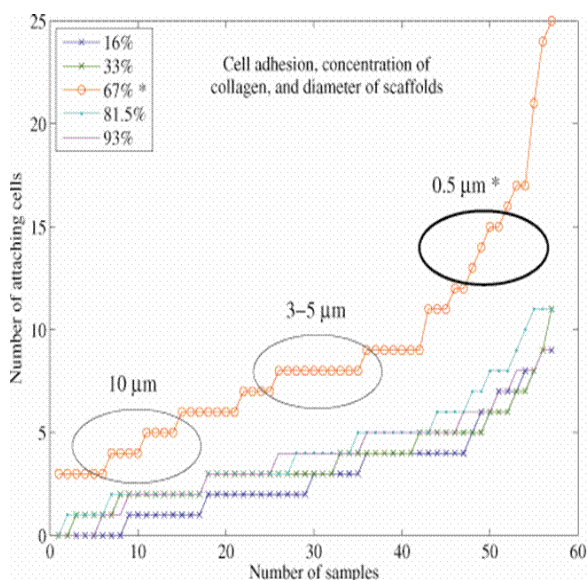
ナノファイバー上では同一材質でも短期間に非常に良好な細胞接着が認められる

図2にはファイバーサイズによる細胞挙動の変化を端的に表した例を示した。系を単純にするためにPGAファイバーに関する例を示してあるが、平均繊維径がミクロンオーダーのPGA繊維と比較すると平均繊維径 500nm のファイバー上では血管内皮細胞が短期間でよ

り伸展した形で付着することが判明した。この傾向は、PGA-コラーゲン混紡型ナノファイバーでも同様であった。細胞の接着性と繊維径、組成の関係をより明確にするために単一繊維に対する細胞の付着状態の検証を行った結果を図3に示す。コレクター部分に回転装置を導入して繊維を配列させる手法を用いて、初期的に生成する繊維密度の低いサンプルを調整して細胞とファイバーの相互作用を検証する手法を用いた。コラーゲンとポリグリコール酸 (PGA) の含有率を変化させた3種類繊維径を持つ複合繊維を調製し、細胞の接着・伸展長を検証した。この結果を見ると、細胞の接着と伸展に関して組成比のコラーゲンとPGAの組成比が大きな影響を与えることがわかる。また、いずれの組成比のナノファイバーにおいても繊維径の減少に従って細胞の接着数、伸展長が増加する傾向にあることがわかる。



(1) 細胞伸展



(2) 細胞接着

図3 コラーゲン-PGA 複合ナノファイバーに対する細胞付着挙動

これらの結果は、細胞と材料と相互作用を考察する上で組成的な要因のみならず材料形状が大きく影響する事実を示しているわけであるが、ファイバーのみならずナノパーティクルなどにおける材料のサイズ効果は、材料機能を制御する上で注意深く取り扱うべき要素である。生体は、まさにナノのレベルサイズの繊維状物質であるECMや糖、蛋白質が自己組織化のメカニズムのもとマイクロからマクロへとつながって出来上がる高次構造体であるから、ECMの主体である繊維状物質を再生の足場材料とすることは生体組織の再生をサポートする材料としての必然であるのか？ 詳細な検討が今後の課題である。