

第 39 回

日本バイオマテリアル学会大会

予 稿 集



JSB

■2017年11月20日～21日

■タワール船堀

第39回大会長 山下 仁 大

第 39 回日本バイオマテリアル学会大会

予 稿 集

テーマ バイオマテリアルが拓く人間環境医療工学

会 期 2017 年 11 月 20 日（月）～21 日（火）

会 場 タワーホール船堀

大会長 山下 仁大

東京医科歯科大学生体材料工学研究所

第 39 回日本バイオマテリアル学会大会開催にあたって 「バイオマテリアルが拓く人間環境医療工学」

この度、第 39 回日本バイオマテリアル学会大会を担当させていただくことになりました。会期は 2017 年（平成 29 年）11 月 20 日（月）、21 日（火）の 2 日間、タワーホール船堀（東京都江戸川区）において本学会を開催させていただきます。

日本バイオマテリアル学会は、生体に関するマテリアルおよびその応用に関する科学・技術を発展向上させることを目的として、1978 年 12 月 4 日に設立されました。医学、歯学、工学、理学、薬学、生物学などを連ねた学際領域の確立を目指し、約 1,500 名の会員もこれらの分野に携わる全国の大学、国公立研究機関、企業の研究者、さらには臨床に携わる医師・歯科医師を中心に広い専門分野の人たちで構成されています。2015 年の第 37 回大会では約 950 名の参加のもと、発表件数が 500 件を超えました。近年では医療分野が我が国の発展産業の最有力分野と位置付けられ、バイオマテリアルはその中核的役割が期待されています。創薬、ナノメディシン、DDS から人工臓器や医療デバイス、バイオセンサー、さらにはロボット医療までバイオマテリアルの応用範囲は拡大の途にあります。

今回はテーマを“バイオマテリアルが拓く人間環境医療工学”と決めました。人間環境学は“21 世紀の複合領域科学”とみなされ、医療はその中心的テーマであるものと考えます。環境に配慮しながら医工連携の元に発展する科学技術こそ人間環境医療工学の目指すところであります。ロゴマークは人（緑色）—医療（黄色）—環境（ブルー）—工学（紺色）の融合をデザイン化しています。

会員の研究者、学生、企業人、臨床家などの皆様はもちろん、バイオマテリアルに興味をもち、この分野の発展と推進を志す方々にも多数ご参加いただけますように、鋭意準備を進めて参ります。

皆様の学会参加を心よりお待ちしております。

平成 29 年 11 月 13 日

第 39 回日本バイオマテリアル学会大会
大会長 山下 仁大
（東京医科歯科大学学生体材料工学研究所・教授）

歴代学会大会の系譜（大会長名）

第1回(1979)	仙 台	横堀武夫	第20回(1998)	千 葉	中林宣男
第2回(1980)	東 京	三浦維四	第21回(1999)	京 都	岡 正典
第3回(1981)	京 都	中島章夫	シンポジウム'00	横 浜	川口春馬
第4回(1982)	東 京	伊丹康人	第23回(2001)	京 都	小久保正
第5回(1983)	大 阪	川原春幸	第24回(2002)	東 京	赤池敏宏
第6回(1984)	東 京	笹田 直	第25回(2003)	大 阪	大串 始
第7回(1985)	名古屋	榊原欣作	シンポジウム'04	つくば	田中順三
第8回(1986)	東 京	桜井靖久	第27回(2005)	京 都	堤 定美
第9回(1987)	東 京	中林宣男	第28回(2006)	東 京	岡野光夫
第10回(1988)	京 都		第29回(2007)	大 阪	明石 満
	3rd WBC	鶴田禎二	シンポジウム'08	東 京	片岡一則
10周年記念大会	東 京	桜井靖久	第31回(2009)	京 都	岩田博夫
第11回(1989)	京 都	山室隆夫	第32回(2010)	広 島	岡崎正之
第12回(1990)	つくば	立石哲也	第33回(2011)	京 都	中村孝志
第13回(1991)	京 都	筏 義人	シンポジウム'12	仙 台	新家光雄
シンポジウム'92	東 京	浜中人士	第35回(2013)	東 京	前田瑞夫
第15回(1993)	神 戸	山中昭夫	第36回(2014)	東 京	石原一彦
第16回(1994)	山 梨	赤松功也	第37回(2015)	京 都	田畑泰彦
第17回(1995)	東 京	中村晃忠	シンポジウム'16	福 岡	石川邦夫
シンポジウム'96	東 京	大井淑雄	第39回(2017)	東 京	山下仁大
第19回(1997)	大 阪	中村正明			

目 次

第 39 回日本バイオマテリアル大会開催にあたって	1
歴代学会大会の系譜（大会長名）	2
大会開催概要	4
発表要領	6
会場までのご案内	8
会場案内図	9
協力企業一覧と謝辞	10
第 39 回日本バイオマテリアル学会大会運営体制	11
日程表	13
プログラム	15
第 39 回日本バイオマテリアル学会大会 ハイライト講演	48
予稿集	
第 1 日 : 11 月 20 日 (月)	
特別講演 1	51
日本バイオマテリアル学会 科学奨励賞受賞講演	52
日本バイオマテリアル学会賞（科学）受賞講演	53
シンポジウム 1	55
一般演題（口頭発表）	58
日韓バイオマテリアル学会若手研究者交流 AWARD	103
一般演題（ポスター発表）	106
第 2 日 : 11 月 21 日 (火)	
シンポジウム 2	170
特別講演 2	173
教育講演	175
日本学術会議材料工学委員会バイオマテリアル分科会主催シンポジウム	178
一般演題（口頭発表）	181
一般演題（ポスター発表）	219
発表者索引（Index to Authors）	255

第 39 回日本バイオマテリアル学会大会開催概要

第 39 回日本バイオマテリアル学会大会

大会長 山 下 仁 大

(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)

1. テーマ

バイオマテリアルが拓く人間環境医療工学

2. 会 期

2017 年 11 月 20 日 (月), 21 日 (火)

3. 会 場

タワーホール船堀

〒134-0091 東京都江戸川区船堀 4-1-1

TEL: 03-5676-2211 (代) FAX: 03-5676-2501 URL: <http://www.towerhall.jp/>

4. 参加登録と参加費

正 会 員 : 10,000 円

学生会員 : 5,000 円 (学生証をご提示ください)

非 会 員 : 24,000 円

大会会場 5 階ホワイエに参加登録受付を設置いたします。参加申込用紙に必要事項をご記入のうえ、参加費を添えてお申し込みください。参加章 (兼領収書) をお渡ししますので、ホルダーに入れて会場内にお進みください。ホルダーは記入台に設置します。

* 事前参加登録手続きを済ませられた方は、事前に送付された参加章 (兼領収書) をホルダーに入れて会場内にお進みください。

* 第 39 回大会より、大会当日に冊子体で配布をしておりました予稿集は大会ホームページからのダウンロード版となります。ダウンロードは大会開催 1 週間前 (2017 年 11 月 13 日) より可能となりますので、パソコン・タブレット・スマートフォンから各自でダウンロードを行ってください。

大会ホームページ <http://www.kokuhoken.jp/jsb39/>



5. 懇親会

日時 : 2017 年 11 月 20 日 (月) 18 : 30 ~ 20 : 30

会場 : タワーホール船堀 2 階イベントホール (瑞雲・平安)

会費 : 6,000 円

5 階ホワイエに懇親会参加登録受付を設置いたします。

* 事前参加登録手続きを済ませられた方は、参加章 (兼領収書) に懇親会出席シールを貼付しております。参加章をお着けいただき、そのまま会場内にお進みください。

6. 企業展示

11 月 20 日 (月), 21 日 (火) の 2 日間, 5 階ホワイエにて行います。

7. 学会入会案内

11月20日(月)、21日(火)の2日間、5階ホワイエに「日本バイオマテリアル学会事務局デスク」を設置します。入会をご希望の方は、お申し込みください。

8. クローク

会期中、大会会場4階407室にクロークを開設いたします。

9. 休憩室

会期中、大会会場4階406室に参加者用の休憩室(フリードリンク設置)を開設いたします。

10. 託児施設

大会会場内には託児施設はございませんが、会場(船堀駅)周辺に一時預かり託児所が複数ございます。右記のサイトよりご確認ください。<http://funabori.net/>

11. 注意事項

会場内における写真・ビデオ撮影はご遠慮ください。また、動物を対象とした研究では、動物愛護の立場から適切な実験計画を立て全期間を通じて飼育および保管に配慮することが必要です。発表内容や掲載写真につきましても、動物愛護の精神に十分な配慮をお願いします。

12. 運営事務局(問合せ先)

(一財) 口腔保健協会コンベンション事業部内

第39回日本バイオマテリアル学会大会担当: 掃部関(かもんぜき), 山本

〒170-0003 東京都豊島区駒込1-43-9 駒込TSビル402

TEL: 03-3947-8761 FAX: 03-3947-8873 E-mail: jsb39@kokuhoken.jp

発表要領

1. 特別講演, シンポジウム, 教育講演, 日本学術会議シンポジウム, 受賞講演, 一般演題 (口頭発表)

(1) 発表時間

- ・一般演題の口頭発表は発表 8 分, 質疑応答 3 分, 交代時間 1 分です。発表終了 1 分前, 発表時間終了時にそれぞれ合図があります。
- ・特別講演, シンポジウム, 教育講演, 日本学術会議シンポジウム, 受賞講演につきましては, あらかじめ指定しております発表時間と質疑応答時間に従ってください。
- ・円滑なプログラム進行ができるよう, 時間厳守にご協力をお願いいたします。

(2) 発表者にてご用意いただくもの

- ・発表用ノートパソコンと発表データを保存した USB メモリー

(ご注意)

発表用ノートパソコンに映像出力用のミニ D-Sub15 ピン端子 (メス) がない場合, 液晶プロジェクターとの接続にノートパソコン付属(または別売り)のケーブル・アダプター類が必要となりますので, 必ずご持参ください (Windows8 および 10 搭載のノートパソコンを使用される方は, HDMI 端子から D-Sub 端子への変換アダプターが必要となりますので, 特にご注意ください)。

(3) 大会事務局にて準備するもの

- ・液晶プロジェクター
- ・接続ケーブル (ミニ D-Sub15 ピン端子 (オス))
- ・モニター切替器
- ・レーザーポインター

(4) 発表の手順

1. パソコンを起動し, プレゼンテーション用ファイルを開く
2. 発表前にケーブルを接続する
3. 外部映像出力へ切り替える
4. 自分の発表時間が来たらモニターを切り替える
5. 発表する
6. 発表終了後, 速やかにパソコンの接続ケーブルを取り外す
 - ・発表会場内前方に液晶プロジェクターに接続するモニター切替器を準備しています。前演者の発表中にご自身のノートパソコンの切替器への接続を行い, 次演者席で待機してください。
 - ・必ず発表時間の前に着席し, 時間に余裕をもって発表準備を行ってください。ご自身の発表の最大 2 件前から接続を行うことができます。

(5) 確認・注意次項

1. 口頭発表をされる方は, ご自身のスライドの 2 枚目(演題等の表紙の次頁)に利益相反の申告をご提示頂きますようお願いいたします。なお, 今回の発表に直接関係があるもののみ記載をお願い致します。
2. 以下の日本バイオマテリアル学会ホームページに COI 開示 (例) を掲載しておりますので, ご参照ください。 <http://kokuhoken.net/jsbm/about/coi.html>
3. パソコン画面の外部映像出力への切替方法を, お手持ちのパソコンのマニュアル等によりご確認ください。Windows 機と Mac OS 機、さらに機種や OS のバージョンによって切替方法が異なります。
4. パソコン画面の解像度 (XGA、SXGA、SXGA+、WXGA など) をご確認ください。今回使用できる液晶プロジェクターは XGA (1024×768 ピクセル) まで表示が可能です。SXGA 以上の高解像度やワイド型パソコンの WXGA ですと正確に表示されない場合があります。
5. プレゼンテーションソフト (パワーポイントなど) の操作方法をご確認ください。

6. パソコンの起動（あるいはスリープ状態の解除）前に液晶プロジェクターと接続しておかないと映像出力が認識されない機種がありますので、充分ご注意ください（MacOS 機の一部等）。
7. 音声の接続は行いません。発表あるいは準備中にパソコンから音声・サウンドが出ないように、予め設定してください。
8. 発表中にパソコンの画面が消えないよう電源や省電力機能の設定をご確認ください。
9. 大会事務局は発表用のパソコンを用意いたしません。
10. パソコンの接続・モニタ切替・操作等はすべて発表者側で行っていただきます。
11. パソコンのトラブルによる発表時間の延長は認めません。
12. 試写室は設置しません。各会場の空き時間（朝、昼休み、休憩時間帯など）に映写・接続確認を行ってください。

2. 一般演題（ポスター発表）

(1) ポスター会場

- ・ポスター会場は大会会場 1 階展示ホール（F 会場）となります。
発表当日、会場前のポスター発表受付にて発表者用リボンをお受け取りください。
- ・ポスター発表は 11 月 20 日（月）と 21 日（火）の日替わりで行います。
11 月 20 日（月）演題番号「1P-001」から「1P-125」までの演題
11 月 21 日（火）演題番号「2P-001」から「2P-072」までの演題

(2) ポスター貼付時間

- ・11 月 20 日（月）・21 日（火）ともに 9：00～9：30 の時間で行います。

(3) ポスター発表時間

- ・11 月 20 日（月）は 16：00～17：00、11 月 21 日（火）は 15：30～16：30 をポスター発表時間（討論時間）とします。
- ・上記の討論時間中は、発表者用リボンをつけてご自身のポスターの前で待機してください。

(4) ポスター撤収時間

- ・11 月 20 日（月）は 17：00～17：30、11 月 21 日（火）は 16：30～17：00 の時間で行います。
時間内に撤収されない場合は、大会事務局で処分します。

(5) パネルサイズ

- ・パネルサイズは、縦 180 cm、横 120 cm です（縦長サイズ）。
- ・パネルには大会事務局であらかじめ演題番号（10 cm×10 cm）を掲示しますので、該当パネルにポスターを掲示してください。押しピンは各自ご用意ください（両面テープでの掲示はできません）。

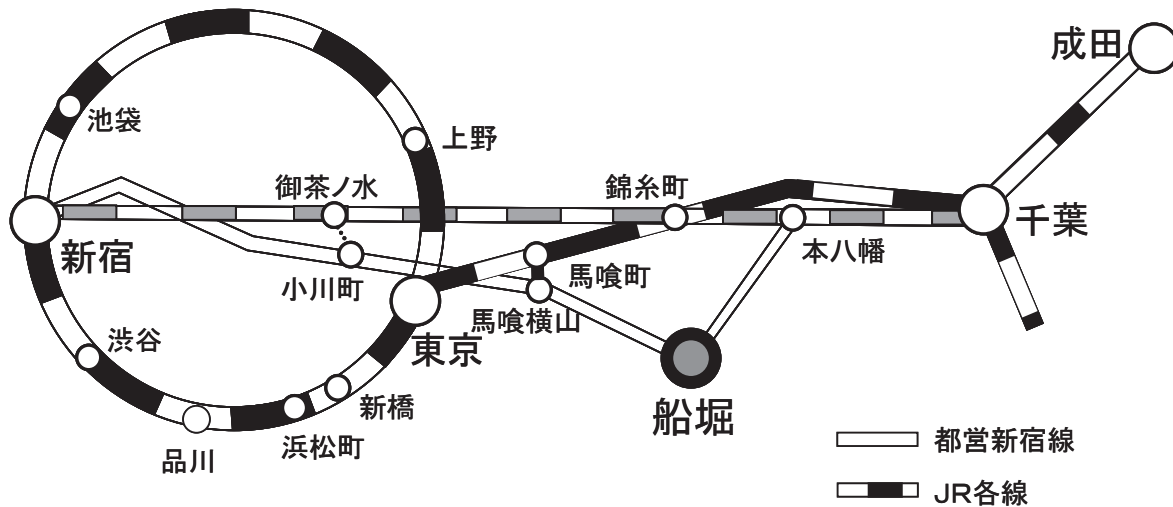
(6) 優秀研究ポスター賞に応募された方へ

- ・優秀研究ポスター賞に応募された演題の発表は、すべて 11 月 20 日（月）に行っていただきます。
上記のポスター発表要領にしたがって発表を行ってください。
- ・優秀研究ポスター賞の選考結果は 11 月 21 日（火）の閉会式において発表し、賞状を授与します。

3. 日韓バイオマテリアル学会若手研究者交流 AWARD

- ・日韓バイオマテリアル学会若手研究者交流 AWARD に選出された 6 名の若手研究者（日韓各 3 名）のポスター発表を行います。
- ・ポスター会場は一般演題ポスターと同様、大会会場 1 階展示ホール（F 会場）となります。
- ・ポスター発表は 11 月 20 日（月）に行っていただきます。
- ・パネルサイズ、ポスター貼付時間、ポスター発表時間、ポスター撤収時間についてもすべて一般演題ポスターと同様となります。

会場までのご案内



地下鉄都営新宿線「船堀」駅から徒歩1分

羽田空港から

① 京浜急行をご利用の場合

ほとんどの電車が地下鉄都営浅草線に直通します。地下鉄都営浅草線へ直通する電車（印西牧の原，印旛日本医大，成田空港，京成成田，京成佐倉，京成高砂，押上行きなど）に乗車し，約38分で都営浅草線「東日本橋」，下車後連絡通路徒歩4分で都営新宿線「馬喰横山」駅，都営新宿線「本八幡」行きに乗車，約14分で「船堀」着。

② 東京モノレールをご利用の場合

モノレール乗車約20分で浜松町。

(1) 徒歩4分で地下鉄都営浅草線「大門」駅へ，乗車11分で「東日本橋」，下車後連絡通路徒歩4分で都営新宿線「馬喰横山」駅，都営新宿線「本八幡」行きに乗車，約14分で「船堀」着。

(2) JR山手線，京浜東北線に乗車約6分で「東京」，総武線快速千葉方面に乗車し2つ目「馬喰町」下車，連絡通路徒歩2分で都営新宿線「馬喰横山」駅，都営新宿線「本八幡」行きに乗車，約14分で「船堀」着。

東京駅から

総武線快速千葉方面に乗車し2つ目「馬喰町」下車，連絡通路徒歩2分で都営新宿線「馬喰横山」駅，都営新宿線「本八幡」行きに乗車，約14分で「船堀」着。

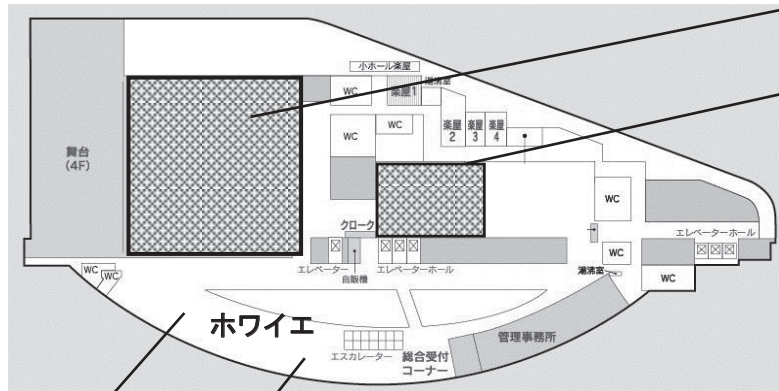
新宿駅から

都営新宿線「本八幡」行きに乗車，約30分で「船堀」着。



会場案内図

5 階



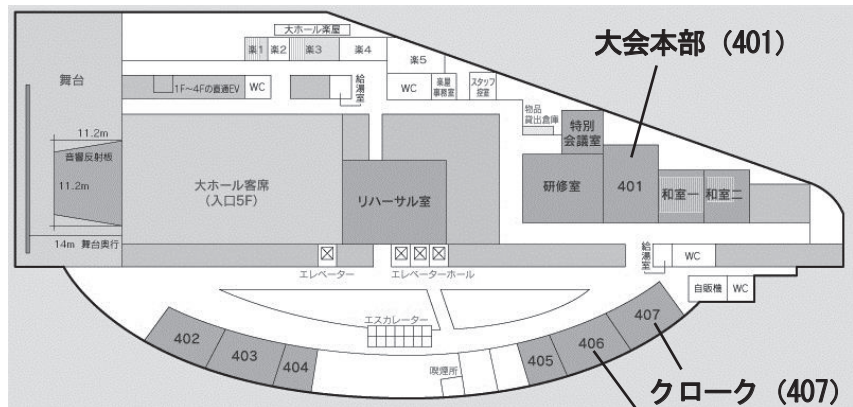
A会場（大ホール）

B会場（小ホール）

企業展示

総合受付

4 階



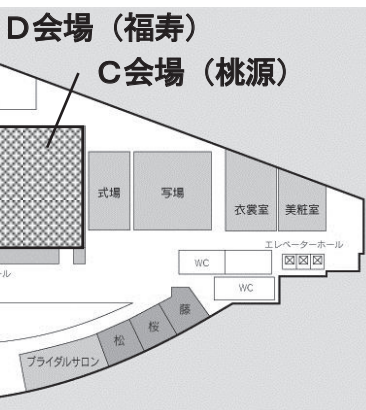
大会本部 (401)

クローク (407)

休憩室 (406)

2 階

E会場（平安）

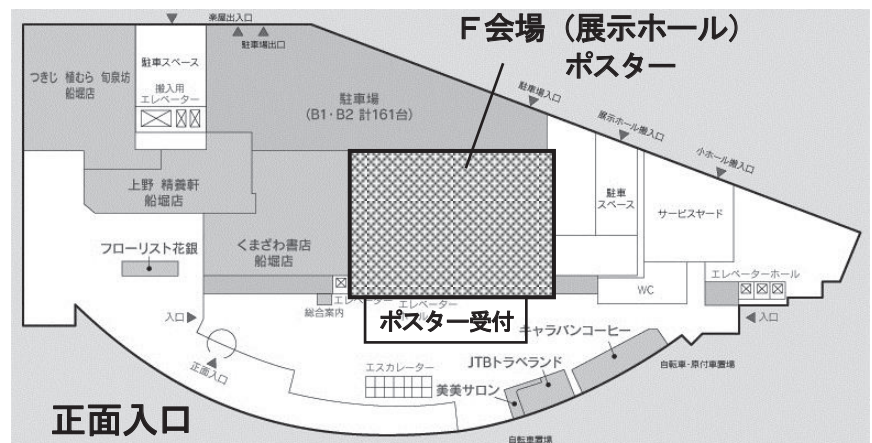


D会場（福寿）

C会場（桃源）

懇親会会場
(瑞雲・平安)

1 階



F会場（展示ホール）
ポスター

ポスター受付

正面入口

第 39 回日本バイオマテリアル学会大会 協 力 企 業 一 覧

商品展示企業（50 音順）

荏原実業 株式会社
株式会社 化合物安全性研究所
クラボウ
株式会社 クレハ分析センター
一般財団法人 材料科学技術振興財団
JSR 株式会社
JPK Instruments AG
株式会社 資生堂
株式会社 新組織科学研究所
株式会社 スクラム
東京化成工業 株式会社
フィルジェン 株式会社

協賛・Web 広告掲載企業（50 音順）

大阪冶金興業 株式会社
帝人ナカシマメディカル 株式会社
東京メディカルスクール 株式会社
株式会社 ニッピ

第 39 回日本バイオマテリアル学会大会の開催にあたり，上記の企業から多大なご支援を賜りました．ここに謹んで御礼申し上げます．

第 39 回日本バイオマテリアル学会大会
大 会 長 山 下 仁 大

第 39 回日本バイオマテリアル学会大会運営体制

大 会 長	山下 仁大 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
準備委員長	中村 美穂 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
組織委員会	塙 隆夫 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所／日本バイオマテリアル学会会長) 石川 邦夫 (九州大学大学院歯学研究院) 大槻 主税 (名古屋大学大学院工学研究科) 菊池 明彦 (東京理科大学基礎工学部) 中岡 竜介 (国立医薬品食品衛生研究所) 中野 貴由 (大阪大学大学院工学研究科) 山岡 哲二 (国立循環器病研究センター研究所) 由井 伸彦 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所) 吉川 秀樹 (大阪大学大学院医学系研究科)
運営委員会	相澤 守 (明治大学理工学部) 石原 一彦 (東京大学大学院工学系研究科) 宇尾 基弘 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科) 大川 淳 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科) 小野 卓史 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科) 影近 弘之 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所) 春日井昇平 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科) 川嶋 健嗣 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所) 岸田 晶夫 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所) 高橋 英和 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科) 田上 順次 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科) 玉村 啓和 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所) 永井亜希子 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所) 長崎 幸夫 (筑波大学大学院数理物質科学研究科) 塙 隆夫 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所) 原田 浩之 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科) 細谷 孝充 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所) 三浦 宏之 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科) 三林 浩二 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所) 宮原 裕二 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所) 森山 啓司 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科) 由井 伸彦 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所) 米山 隆之 (日本大学歯学部) 若林 則幸 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科)

実行委員会	蘆田	茉希	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	荒川	貴博	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	有坂	慶紀	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	菅野	貴皓	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	木村	剛	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	合田	達郎	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	田村	篤志	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	堤	祐介	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	土居	寿	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	當麻	浩司	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	西山	義剛	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	野崎	浩佑	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	野村	典正	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	野村	渉	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	橋本	良秀	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	平野	智也	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	堀内	尚紘	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	松元	亮	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	森	修一	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	湯浅	磨里	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)
	吉田	優	(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)

日程表 11月20日(月)

	A会場 5F 大ホール	B会場 5F 小ホール	C会場 2F 桃源	D会場 2F 福寿	E会場 2F 平安	F会場 1F 展示ホール
9:00	開場・参加受付					9:00～9:30 ポスター貼付
9:30	開会式					ポスター展示 JK-01～06 日韓若手研究者交流 AWARDポスター発表 1P-001～125 優秀研究ポスター賞 応募ポスター発表 1P-001～009 (金属・無機材料(1)) 1P-010～031 (高分子材料(1)) 1P-032～061 (マテリアルと細胞(1)) 1P-062～065 (血液とマテリアル(1)) 1P-066～094 (DDS, イメージング (1)) 1P-095～100 (医療用デバイス(1)) 1P-101～122 (再生医療・組織工学 (1)) 1P-123～125 (検査・診断法, バイオセンサー(1))
10:00	9:40～10:25 特別講演1 講師:田上 順次 座長:山下 仁大					
10:30	10:30～11:20 奨励賞受賞講演(1) 藤枝 俊宣	10:30～12:00 一般演題	10:30～12:00 一般演題	10:30～12:00 一般演題	10:30～12:00 一般演題	
11:00	奨励賞受賞講演(2) 田村 篤志	DDS, イメージング (1)	医療用デバイス(1)	金属・無機材料(1)	再生医療・ 組織工学(1)	
11:30	11:20～12:00 一般演題 マテリアルと細胞(1) 座長:田村 篤志	座長:岸村 顕広	座長:田口 哲志	座長:菊池 正紀	座長:麻生 隆彬	
12:00						
12:30						
13:00	13:00～15:00 シンポジウム1 「口腔から始める バイオマテリアル」 オーガナイザー: 米山 隆之, 今 里 聡 講師: 宇尾 基弘, 早 川 徹 菅 谷 勉, 興地 隆史	13:00～14:30 一般演題 マテリアルと細胞(2) 座長:嶋田 直彦	13:00～14:30 一般演題 DDS, イメージング (2) 座長:櫻井 和朗	13:00～14:00 一般演題 金属・無機材料(2) 座長:早乙女進一	13:00～14:30 一般演題 再生医療・ 組織工学(2) 座長:木 村 剛	
14:00				14:00～14:50 一般演題 金属・無機材料(3) 座長:松本 卓也		
14:30		14:30～16:00 一般演題 マテリアルと細胞(3) 座長:荏原 充宏	14:30～16:00 一般演題 DDS, イメージング (3) 座長:新留 琢郎	14:50～15:50 一般演題 金属・無機材料(4) 座長:相澤 守	14:30～16:00 一般演題 再生医療・ 組織工学(3) 座長:鈴木 郁郎	
15:00						
15:30						
16:00	ポスタービューイング/ポスターセッション					16:00～17:00 ポスター討論
16:30						
17:00	17:00～17:30 評議員会・総会					17:00～17:30 ポスター撤収
17:30	表彰式					
18:00	17:40～18:10 学会賞受賞講演 大矢 裕一					
18:30						
19:00	18:30～20:30 懇親会(2F 瑞雲・平安)					

日程表 11月21日(火)

	A会場 5F 大ホール	B会場 5F 小ホール	C会場 2F 桃源	D会場 2F 福寿	E会場 2F 平安	F会場 1F 展示ホール
9:00	開場・参加受付					9:00～9:30 ポスター貼付
9:30	9:30～11:30 シンポジウム2	9:30～12:00 日本学術会議 シンポジウム	9:30～10:30 一般演題	9:30～10:30 一般演題	9:30～10:30 一般演題	ポスター展示 2P-001～014 (金属・無機材料(2)) 2P-015～030 (高分子材料(2)) 2P-031～040 (マテリアルと細胞(2)) 2P-041～046 (血液とマテリアル(2)) 2P-047～051 (DDS, イメージング(2)) 2P-052～054 (医療用デバイス(2)) 2P-055～067 (再生医療・組織工学(2)) 2P-068～072 (検査・診断法, バイオセンサー(2))
10:00	「バイオマテリアルの 界面制御に挑む 次代のフロンティア」	「イノベーションプラット フォームとしてのバイオ マテリアル2017」	高分子材料(1) 座長:武田 直也	検査・診断法, バイオセンサー 座長:高井まどか	マテリアルと細胞(4) 座長:井上 祐貴	
10:30	オ-ガナイザ-: 前田 瑞夫、大槻 主税	座長: 塙 隆夫	10:30～11:30 一般演題	10:30～11:30 一般演題	10:30～11:30 一般演題	
11:00	講師: 京本 政之、橋詰 峰雄 川下 将一、金山 直樹	講師: 扇 谷 悟、岩崎 倫政 片岡 一則、岸田 晶夫 由井 伸彦	高分子材料(2) 座長:高橋 宏信	血液とマテリアル 座長:舘島 由二	マテリアルと細胞(5) 座長:秋 元 文	
11:30	11:30～12:15 特別講演2					
12:00	講師:春日 敏宏 座長:石川 邦夫					
12:30						
13:00	13:00～15:30 教育講演	13:00～14:00 一般演題	13:00～14:00 一般演題	13:00～14:00 一般演題	13:00～14:00 一般演題	
13:30	「バイオマテリアルの 基礎研究から製品化・ 薬事承認までの流れ」	DDS, イメージング (4) 座長:西山 伸宏	高分子材料(3) 座長:柿木佐知朗	再生医療・組織工学(4) 座長:寺村 裕治	マテリアルと細胞(6) 座長:長瀬 健一	
14:00	座長: 中野 貴由	14:00～15:30 一般演題	14:00～15:30 一般演題	14:00～15:30 一般演題	14:00～14:50 一般演題	
14:30	講師: 坂井 孝司、石坂 春彦 鈴木 由香	DDS, イメージング (5) 座長:大 谷 亨	高分子材料(4) 座長:小 林 純	金属・無機材料(5) 座長:鈴 木 治	マテリアルと細胞(7) 座長:松 元 亮	
15:00						
15:30	ポスタービューイング/ポスターセッション					15:30～16:30 ポスター討論
16:00						
16:30						16:30～17:00 ポスター撤収
17:00	16:45～17:00 閉会式・次年度大会案内					
17:30						
18:00						
18:30						
19:00						

プログラム

第1日 11月20日（月）

A会場（5F 大ホール）午前

9:30-9:40 開会式

大会長 山下仁大（東京医科歯科大学学生体材料工学研究所）

会 長 塙 隆夫（東京医科歯科大学学生体材料工学研究所）

9:40-10:25 【特別講演1】

座長：山下仁大（東京医科歯科大学学生体材料工学研究所）

1A-SL1 生体の機能を超える歯科材料による新しい歯科治療

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

○田上順次

10:30-11:20 【日本バイオマテリアル学会 科学奨励賞受賞講演】

座長：石川邦夫（九州大学大学院歯学研究院）

1A-SL2 生体計測・制御システムに向けたプリンテッドナノ薄膜の創製

早稲田大学高等研究所・JSTさきがけ

○藤枝俊宣

1A-SL3 ポリロタキサンによる細胞内脂質環境の調節と疾患治療への応用

東京医科歯科大学学生体材料工学研究所

○田村篤志

11:20-12:00 【一般演題】マテリアルと細胞（1）（Ⅰ 基盤マテリアル，Ⅱ 基盤技術，Ⅲ 基礎臨床）

座長：田村篤志（東京医科歯科大学学生体材料工学研究所）

1A-01-Ⅰ ポリアミンへのランダムなカルボキシル基導入による双性イオン型高分子の作製

¹東京大学大学院工学系研究科，²Uppsala University

○東 倫之¹，高井まどか¹，寺村裕治^{1,2}

1A-02-Ⅰ リン酸カルシウム被覆 Mg 合金表面の *in vitro* における骨形成能評価

¹物質・材料研究機構構造材料研究拠点，²物質・材料研究機構機能性材料研究拠点

○廣本祥子¹，野田なほみ¹，山崎智彦²

1A-03-Ⅰ 高分子／水界面に形成される温度応答性界面構造の細胞接着制御への応用

¹九州大学大学院工学府，²九州大学先端物質化学研究所，³山形大学有機材料システム研究推進本部

○北原洋子¹，村上大樹^{1,2}，田中 賢^{1,2,3}

A会場（5F 大ホール）午後

13:00-15:00 【シンポジウム1】

口腔から始めるバイオマテリアル

オーガナイザー：米山隆之（日本大学歯学部）

今里 聡（大阪大学大学院歯学研究科）

1A-S1-1 放射光を用いた口腔組織およびバイオマテリアル分析

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

○宇尾基弘

- 1A-S1-2 歯科用インプラントの表面改質**
鶴見大学歯学部歯科理工学講座
○早川 徹
- 1A-S1-3 歯周組織再生の材料**
北海道大学大学院歯学研究院
○菅谷 勉
- 1A-S1-4 MTA セメントの臨床展開**
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
○興地隆史

16:00-17:00 【ポスタービューイング/ポスター発表】（F会場）

17:00-17:30 評議員会・総会

17:30-17:40 表彰式

17:40-18:10 【日本バイオマテリアル学会賞（科学）受賞講演】

座長：石川邦夫（九州大学大学院歯学研究院）

- 1A-SL4 生分解性高分子の合成手法開拓と刺激応答型医用材料としての応用**
関西大学化学生命工学部
○大矢裕一

18:30-20:30 懇親会（2F 瑞雲・平安）

B会場（5F 小ホール）午前

10:30-12:00 【一般演題】DDS, イメージング (I)（I 基盤マテリアル, II 基盤技術, III 基礎臨床）

座長：岸村顕広（九州大学大学院工学研究院）

- 1B-01-II 温熱療法と paclitaxel 徐放の併用を可能にするナノファイバーの開発**
¹筑波大学大学院数理物質科学研究科, ²物質・材料研究機構 MANA, ³大阪大学医学部附属病院
未来医療開発部, ⁴東京理科大学大学院基礎工学研究科
○新山瑛理^{1,2}, 宇都甲一郎², 李 千萬³, 荏原充宏^{1,2,4}
- 1B-02-II がんイメージングと治療のための近赤外光励起型ナノセラノスティクス粒子**
¹東京理科大学基礎工学部, ²東京理科大学イメージングフロンティアセンター, ³台湾國立清華
大學生醫工程與環境科學系
○上村真生^{1,2}, 大本 歩¹, 関山翔太¹, 梅澤雅和¹, 邱 信程³, 曾我公平^{1,2}
- 1B-03-II 金ナノロッドのフォトサーマル効果を用いた経皮送達システム**
¹熊本大学大学院自然科学研究科, ²熊本大学大学院生命科学研究部, ³熊本大学大学院先端科学研究部
○宮本悠司¹, Aung Thu Haine¹, 橋本雄太¹, 古閑雄貴¹, 本山敬一², 有馬英俊², 新留琢郎³
- 1B-04-II 原子間力顕微鏡（AFM）を用いたリポソームの液中観察および粒子径分布解析**
東レリサーチセンター材料物性研究部
○村司雄一
- 1B-05-II マクロファージ検出のための磁性酸化鉄ナノ粒子含有リン酸カルシウム系粒子の作製**
¹産業技術総合研究所, ²首都大学東京, ³筑波大学
○中村真紀¹, 大矢根綾子¹, 黒岩輝代子¹, 三澤雅樹¹, 沼野智一^{1,2}, 小菅寿徳³

1B-06-Ⅱ がん細胞を標的とした高機能化タンパク質ナノ粒子の開発

東京工業大学生命理工学院

○池田裕介, 眞下泰正, 三重正和, 小島英理

1B-07-Ⅱ 再注入可能な持続性薬物徐放デバイスの開発と経強膜型網膜 DDS への応用

¹東北大学大学院医学系研究科, ²東北大学大学院工学研究科

○西條早純¹, 永井展裕¹, Song Yuanhui¹, 梶 弘和², 西澤松彦², 阿部俊明¹

B会場 (5F 小ホール) 午後

13:00-14:30 【一般演題】マテリアルと細胞 (2) (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)

座長: 嶋田直彦 (東京工業大学大学院生命理工学研究科)

1B-08-Ⅰ 再生医療への糖鎖含有高分子の応用

国際科学振興財団再生医工学バイオマテリアル研究所

○後藤光昭, 関 禎子, 赤池敏宏

1B-09-Ⅰ 弾性率可変型培養基材: 超生理学的弾性領域における動的変化の効果

¹物質・材料研究機構若手国際研究センター, ²日本大学理工学部物質応用化学科, ²ワシントン大学ケミカルエンジニアリング専攻, ⁴物質・材料研究機構国際ナノアーキテクトニクス研究拠点

○宇都甲一郎¹, 青柳隆夫², DeForest Cole A³, 荏原充宏⁴

1B-10-Ⅰ メカノバイオロジーによるがん細胞老化制御—Materials-induced Senescence (MIS)

¹物質・材料研究機構 (NIMS) 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点 (MANA), ²筑波大学大学院数理物質科学研究科, ³東京理科大学大学院基礎工学研究科

Sharmy S. Mano¹, 宇都甲一郎¹, ○荏原充宏^{1,2,3}

1B-11-Ⅰ ペプチド修飾 PEG 脂質を用いた流動性平面膜上における細胞接着挙動

東京大学大学院工学系研究科

○野入信人, 久代京一郎, 寺村裕治, 高井まどか

1B-12-Ⅰ 3次元血管ネットワーク形成を誘導する高機能タンパク質ハイドロゲルの構築

東京工業大学生命理工学院生命理工学系

○水口佳紀, 眞下泰正, 三重正和, 小島英理

1B-13-Ⅰ ラット頭蓋骨欠損モデルを用いたヒトデ骨由来 Mg 固溶β-TCP の骨形成能の評価

¹信州大学先鋭領域融合群バイオメディカル研究所, ²信州大学大学院総合理工学研究科生命医工学専攻, ³信州大学医学部運動機能学教室

○石田 悠^{1,2}, 田中 学³, 滝澤 崇³, 傍島 淳³, 鎌仲貴之³, 竹内あかり², 小林亜祐実², 金子雅之², 黒田千佳³, 上田勝也^{1,2}, 齋藤直人^{1,2}, 羽二生久夫^{1,2,3}

1B-14-Ⅰ Nanoarchitectures of Ti surface promote adhesion and differentiation of mesenchymal stem cells

¹Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University, ²Aisin Seiki Co., Ltd.

○Peng Chen¹, Toshihiro Aso², Ryuichiro Sasaki², Maki Ashida¹, Yusuke Tsutsumi¹, Hisashi Doi¹, Takao Hanawa¹

14:30-16:00 【一般演題】マテリアルと細胞 (3) (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)

座長: 荏原充宏 (物質・材料研究機構)

1B-15-Ⅰ 血管新生能と骨形成能を兼ね揃えた多孔質スキャフォールドの作製および生物学的評価

明治大学大学院理工学研究科

○針谷 諒, 本田みちよ, 相澤 守

1B-16-Ⅰ 感温性ロッド状微粒子の調製と細胞取り込み制御

¹東京理科大基礎工学部, ²大阪大学大学院工学研究科

○菊池明彦¹, 小助川陽太¹, 川瀬雅俊¹, 石原 量¹, 麻生隆彬²

- 1B-17-Ⅰ **新規 GlcNAc 糖鎖高分子を用いた Type3 中間径フィラメントの新機能の発見**
¹九州大学先端物質化学研究所, ²九州大学工学研究院科学工学部門
 ○伊勢裕彦¹, 三浦佳子²
- 1B-18-Ⅱ **血液適合性高分子材料を用いたがん細胞の認識性と運動性の制御**
¹九州大学先端物質化学研究所, ²山形大学大学院理工学研究科, ³山形大学有機材料推進本部
 ○荒津史裕¹, 蔡 孟諭¹, 小林慎吾^{1,2}, 田中 賢^{1,3}
- 1B-19-Ⅰ **酸化チタン薄膜を利用した光応答型細胞培養器の試作**
¹関西大学化学生命工学部, ²関西大学大学院理工学研究科
 ○上田正人¹, 山口莉嘉¹, 藤田智香², 池田勝彦¹
- 1B-20-Ⅰ **ウレイド高分子を使った細胞培養形態制御**
 東京工業大学生命理工学院
 ○嶋田直彦, 斎藤美奈子, 丸山 厚
- 1B-21-Ⅰ **光分解性高分子を利用した細胞パターンニング表面の開発**
¹富山大学大学院理工学教育部, ²富山大学工学部, ³富山大学大学院理工学研究部, ⁴富山大学大学院生命融合科学教育部, ⁵高分子-水界面研究所, ⁶大阪有機化学工業株式会社
 ○小川広晃¹, 奥山勇斗², 山澤由佳¹, 中路 正^{1,2,3,4}, 北野博巳⁵, 猿渡欣幸⁶

16:00-17:00 【ポスタービューイング/ポスター発表】（F会場）

C会場（2F 桃源）午前

- 10:30-12:00 【一般演題】医療用デバイス（Ⅰ）（Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床）
 座長：田口哲志（物質・材料研究機構）
- 1C-01-Ⅰ **繊維強化ナイロン MXD6 へのアパタイト形成能付与による低弾性率型骨修復材料の開発**
¹京都大学大学院エネルギー科学研究科, ²香川高等専門学校
 ○薮塚武史¹, 福島啓斗¹, 昼田智子¹, 高井茂臣¹, 八尾 健²
- 1C-02-Ⅰ **β型リン酸三カルシウムとシアノアクリレートを利用した新規な骨接着剤の物性評価**
 千葉工業大学大学院工学研究科¹, 株式会社福山医科²
 ○會田周平¹, 柴田裕史¹, 福山茂雄², 目黒 嵩², 橋本和明¹
- 1C-03-Ⅲ **表面改質したポリエーテルエーテルケトンの骨結合性評価**
¹日本特殊陶業株式会社技術開発本部, ²慶応義塾大学医学部
 ○毛利和磨¹, 北村昌大¹, 笠原真二郎¹, 宮本健史², 松本守雄²
- 1C-04-Ⅲ **ヒドロキシアパタイト/コラーゲンペーストおよび骨形成タンパク質-2 による骨折治癒の増強**
 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
 ○平井敬悟, 江川 聡, 松本連平, 早乙女進一
- 1C-05-Ⅱ **タンパク質を用いた多機能マイクロデバイスの創製**
 産業技術総合研究所
 ○山添泰宗
- 1C-06-Ⅱ **ポリマーグラフト化酵素からなるナノオブジェクトを用いた細胞環境操作ツールの開発**
 慶應義塾大学大学院理工学研究科
 ○松坂脩平, 福井有香, 藤本啓二
- 1C-07-Ⅱ **低侵襲手術器具のための相互誘導を用いたマイクロアクチュエータの開発**
 東京医科歯科大学学生体材料工学研究所
 ○宮寄哲郎, 菅野貴皓, 川嶋健嗣

C会場 (2F 桃源) 午後

13:00-14:30 【一般演題】DDS, イメージング (2) (I 基盤マテリアル, II 基盤技術, III 基礎臨床)

座長: 櫻井和朗 (北九州市立大学国際環境工学部)

10-08-I 経皮 DDS を指向した温度応答性ディスク状リン脂質集合体

¹理化学研究所, ²東京大学大学院工学系研究科

○内田紀之¹, 相田卓三^{1,2}, 石田康博¹

10-09-I ポリマー積層化リポソーム (リポナノカプセル) の酵素分解による機能発現

慶應義塾大学大学院理工学研究科

○大塚日加里, 福井有香, 藤本啓二

10-10-I Progressive Freeze Concentration based Model System for Delivery of Biomolecules

Japan Advanced Institute of Science and Technology

○Sana Ahmed, Kazuaki Matsumura

10-11-I 内在化受容体を標的とした生理活性ペプチド運搬体の合成と生体親和性評価

¹九州大学先端物質化学研究所, ²九州大学大学院工学府, ³山形大学有機材料推進本部

○柏崎亜樹¹, 上原広貴², 田中 賢^{1,2,3}

10-12-I 肺および脾臓への蓄積を回避する赤血球状ポリマー粒子の作製と肝硬変治療への応用

¹名古屋大学未来材料・システム研究所, ²九州大学大学院歯学研究科

○山田翔太¹, 林幸彦朗², 坂本 渉¹, 余語利信¹

10-13-I ペプチドナノファイバーの集合-解離制御に基づく抗原ペプチドの細胞内デリバリー

京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科

○出呂町剛大, 和久友則, 田中直毅

10-14-I ミネラル架橋・金属架橋を有するリン酸化キトサンナノ粒子の創製と機能化

慶應義塾大学大学院理工学研究科

○小門佳奈子, 福井有香, 藤本啓二

14:30-16:00 【一般演題】DDS, イメージング (3) (I 基盤マテリアル, II 基盤技術, III 基礎臨床)

座長: 新留琢郎 (熊本大学大学院先端科学研究部)

10-15-I ICG 誘導体結合マイクロバブルによる近赤外蛍光-超音波イメージングシミュレーション

¹千葉大学工学研究科人工システム科学専攻, ²千葉大学フロンティア医工学センター, ³東京大学大学院総合文化研究科

○江島将彦¹, 吉田憲司², 豊田太郎³, 林 秀樹²

10-16-I ハイブリッド中空ナノ粒子を用いた肝線維化治療

¹名古屋大学未来材料・システム研究所, ²九州大学大学院歯学研究院

○林幸彦朗^{1,2}, 丸橋卓磨¹, 坂本 渉¹, 余語利信¹

10-17-I プロテインコロナ組成を制御してステルス性を獲得する分子認識ナノ粒子

¹神戸大学大学院工学研究科, ²川崎市産業振興財団, ³東京大学大学院医学系研究科

○竹内俊文¹, 吉田碧衣¹, 木口健太郎¹, 山田託也¹, 藤加珠子², 松本 有³, 片岡一則^{2,3}, 北山雄己哉¹

10-18-III 免疫賦活化能を向上させた 2 本鎖メッセンジャーRNA ワクチンの開発

¹東京大学, ²川崎市産業振興財団, ³大阪府立大学工学院

○内田智士^{1,2}, 吉永直人¹, 柳原歌代子^{1,2}, 弓場奨司³, 位高啓史^{1,2}, 片岡一則^{1,2}

10-19-III 抗酸化ナノメディシンを用いた重度感染治療法の開発

¹筑波大学大学院数理工学物質科学研究科, ²筑波大学医学医療系, ³筑波大学大学院人間総合科学研究科, ⁴MANA-NIMS

○池田 豊¹, 庄司和弘¹, Chitho P. Feliciano¹, 斎藤慎二², 長崎幸夫^{1,3,4}

10-20-III ハイドロキシアパタイト・コラーゲン複合体 (HAp/Col) の抗菌剤担体としての評価

¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科整形外科学分野, ²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科整形外科先端治療開発学講座

○江川 聡¹, 松本連平¹, 平井敬悟¹, 早乙女進一², 大川 淳¹

10-21-Ⅲ 乳癌骨転移モデルラットに対するバクリタキセル含浸 HAp/Col による局所制御実験

¹東京医科歯科大学医歯学総合研究科整形外科学, ²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科整形外傷外科治療開発学講座

○松本連平¹, 江川 聡¹, 平井敬悟¹, 偉 雪濤¹, 吉井俊貴¹, 大川 淳¹, 早乙女進一²

16:00-17:00 【ポスタービューイング/ポスター発表】 (F会場)

D会場 (2F 福寿) 午前

10:30-12:00 【一般演題】金属・無機材料 (1) (I 基盤マテリアル, II 基盤技術, III 基礎臨床)

座長: 菊池正紀 (物質・材料研究機構)

1D-01-Ⅱ 過飽和液中レーザー照射によるフッ素担持リン酸カルシウム成膜と抗菌性評価

¹産業技術総合研究所ナノ材料研究部門, ²北海道大学大学院歯学研究院

A. Joseph NATHANAEL¹, ○大矢根綾子¹, 中村真紀¹, 薮佳奈子², 宮治裕史²

1D-02-Ⅰ 極薄フッ素ドーブ非晶質リン酸カルシウムシートによるエナメル質の修復効果

¹近畿大学生物理工学部, ²大阪歯科大学歯科理工学講座, ³大阪歯科大学歯科保存学講座

○本津茂樹¹, 平井瑞樹¹, 橋本典也², 吉川一志³

1D-03-Ⅰ ナノ秒パルスレーザー照射を施した純チタンの生体活性に及ぼす表面性状の影響

¹慶應義塾大学理工学部機械工学科, ²東北大学大学院工学研究科機械システムデザイン工学専攻

○倉科佑太¹, 村上 諒¹, 水谷正義², 小茂島潤¹

1D-04-Ⅱ 低ヤング率骨インプラント創製のための積層造形法によるβ型Ti合金の結晶集合組織形成

¹大阪大学大学院工学研究科マテリアル生産科学専攻, ²大阪大学大学院工学研究科知能・機能創成工学専攻

○石本卓也¹, 久本健太¹, 萩原幸司², 孫 世海¹, 中野貴由¹

1D-05-Ⅰ Effect of hot isostatic pressing on the microstructure of Zr-1Mo alloy builds fabricated by powder bed fusion process using fiber laser

¹Department of Materials Processing, Tohoku University, ²Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University

○Sun Xiaohao¹, Keiko Kikuchi¹, Naoyuki Nomura¹, Akira Kawasaki¹, Hisashi Doi², Yusuke Tsutsumi², Takao Hanawa²

1D-06-Ⅰ Evaluation of microstructure and mechanical properties of additively manufactured β-type Zr-Nb-Sn alloy

Department of Materials Processing, Tohoku University

○Torun Gözden, Kikuchi Keiko, Nomura Naoyuki, Kawasaki Akira

1D-07-Ⅰ Mechanical properties and magnetic susceptibility of swaged and heat-treated Zr-1Mo alloy

¹Department of Materials Processing, Tohoku University, ²Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University

○Zhou Weiwei¹, Kikuchi Keiko¹, Nomura Naoyuki¹, Kawasaki Akira¹, Doi Hisashi², Tsutsumi Yusuke², Hanawa Takao²

D会場 (2F 福寿) 午後

13:00-14:00 【一般演題】金属・無機材料 (2) (I 基盤マテリアル, II 基盤技術, III 基礎臨床)

座長: 早乙女進一 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科)

1D-08-Ⅰ 高い生体吸収性を備えたβ-リン酸三カルシウム粉体の調製とその粉体性状

¹明治大学, ²岡山大学, ³シンガポール国立大学

○永田幸平¹, 本田みちよ¹, 小西敏功^{2,3}, 相澤 守¹

- 1D-09-Ⅱ **酸および加熱処理を施したチタン合金のアパタイト形成能に合金元素が及ぼす影響**
中部大学生命健康科学部生命医科学科
○山口誠二, 橋本英樹, 中井隆介, 高玉博朗
- 1D-10-Ⅰ **アパタイト核との複合化によるセルロースナノファイバーへのアパタイト形成能の付与**
¹京都大学大学院エネルギー科学研究科, ²香川高等専門学校
○吉岡拓哉, 薮塚武史, 高井茂臣, 八尾 健
- 1D-11-Ⅰ **ケイ酸カルシウム水和物を基材とした元素徐放体の創製：アルキルアンモニウムの導入**
¹名古屋大学大学院工学研究科, ²名古屋大学工学部
○中村 仁¹, 生川涼介², 鳴瀧彩絵¹, 大槻主税¹
- 1D-12-Ⅰ **反応性スパッタリングでシリカを被覆したジルコニア基材の安定性**
¹大阪市立大学工学研究科, ²朝日大学歯学部歯学科
○横川善之¹, 森嶋大志¹, 宇野光乗², 倉知正和², 石神 元², 土井 豊², 川木晴美², 堀田正人²

14:00-14:50 **【一般演題】金属・無機材料 (3)** (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)
座長：松本卓也 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科)

- 1D-13-Ⅰ **血管内皮新生を目的としたチタン粒子焼結による多孔性チタン表面の軟組織癒合性評価**
徳島大学大学院医歯薬学研究部
○関根一光, 山下菊治, 浜田賢一
- 1D-14-Ⅰ **各種起泡剤を用いた骨充填材用β型リン酸三カルシウム多孔体の調製**
¹千葉工業大学大学院生命環境科学専攻, ²千葉工業大学生命環境科学科, ³株式会社福山医科
○竹田力哉¹, 佐々木捷利², 柴田裕史¹, 福山茂雄³, 目黒 嵩³, 橋本和明¹
- 1D-15-Ⅰ **無機・有機複合ビーズを用いた3次元多孔質構造体の開発**
¹九州大学大学院総合理工学府, ²福岡歯科大学, ³九州大学応用力学研究所
○今村勇氣¹, 中牟田侑昌¹, 荒平高章², 都留寛治², 東藤 貢³
- 1D-16-Ⅰ **ケイリン酸塩ガラス/ポリ乳酸ファイバーマットを用いた骨芽細胞の配向制御**
¹大阪大学, ²名古屋工業大学
○李 誠鎬¹, 春日敏宏², 中野貴由¹

14:50-15:50 **【一般演題】金属・無機材料 (4)** (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)
座長：相 澤 守 (明治大学理工学部)

- 1D-17-Ⅰ **抗菌性と骨芽細胞活性を兼ね備えた分散性アパタイトナノ粒子の開発**
¹近畿大学大学院生物理工学研究科, ²物質・材料研究機構機能性材料研究拠点
○古菌 勉¹, 岡田将典¹, 大下真璃¹, 東 慶直¹, 田口哲志²
- 1D-18-Ⅰ **ハイドロキシアパタイト メガ結晶合成の試み**
昭和大学歯学部保存学講座歯科理工学部
○成澤英明, 大和田弘幸, 片岡 有, 宮崎 隆
- 1D-19-Ⅰ **ナノアパタイト表面修飾における細胞取り込み向上が及ぼすトランスフェクションの効果**
¹東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科, ³東京医科歯科大学保健衛生学研究科
○小室博明^{1,2}, 笹野哲郎³, 山下仁大¹, 永井亜希子¹
- 1D-20-Ⅰ **Fundamentals of the theory of biodegradable metals**
¹International Research Organization for Advanced Science and Technology, Kumamoto University, ²Graduate School of Science and Technology, Kumamoto University
³Department of Materials Science and Engineering, Kumamoto University
○Yufeng Zheng¹, Liqun Ruan², Kazuki Takashima³
- 1D-21-Ⅰ **バイオミメティック法で作製したアパタイトカプセル表面における酵素吸着特性の評価**
¹京都大学大学院エネルギー科学研究科, ²香川高等専門学校
○山本雅也¹, 薮塚武史¹, 高井茂臣¹, 八尾 健²

16:00-17:00 【ポスタービューイング/ポスター発表】（F会場）

E会場（2F 平安）午前

10:30-12:00 【一般演題】再生医療・組織工学（1）（Ⅰ 基盤マテリアル，Ⅱ 基盤技術，Ⅲ 基礎臨床）

座長：麻生隆彬（大阪大学大学院工学研究科）

- 1E-01-Ⅰ セルロースナノファイバー・チキソトロピックゲルでの三次元培養による長大な筋管形成
¹早稲田大学大学院先進理工学研究科，²早稲田大学ナノ創新研究機構，³早稲田大学大学院ナノ理工学研究科
○米田憲司¹，今任景一¹，尹 棟鉉²，関口哲志²，庄子習一³，武田直也¹
- 1E-02-Ⅰ 細胞足場材料を目指した分解性感温性ハイドロゲルの合成と細胞接着評価
東京理科大学大学院基礎工学研究科¹，大阪大学大学院工学研究科²
○小松周平¹，麻生隆彬²，石原 量¹，菊池明彦¹
- 1E-03-Ⅰ フィブリン基質に対する CP フラクシオンの混合が軟骨細胞の移動挙動に与える影響
¹京都大学工学研究科，²京都大学工学部，³京都大学ウイルス・再生医科学研究所，⁴信州大学繊維学部
○建畠祥司¹，中村祐樹¹，福島慎之介²，有馬祐介³，玉田 靖⁴，富田直秀¹
- 1E-04-Ⅰ 生分解性繊維を用いたシート状足場材料の創製と評価
¹九州大学大学院総合理工学府物質理工学専攻，²九州大学応用力学研究所
○遠藤喜嗣¹，東藤 貢²
- 1E-05-Ⅰ 骨再生用材料としての2相連通多孔質構造体の創製と力学特性評価
¹九州大学大学院総合理工学府，²福岡歯科大学，³九州大学応用力学研究所
○井上朋美¹，中牟田侑昌¹，荒平高章²，東藤 貢³
- 1E-06-Ⅰ 血管内膜誘導活性と抗血栓性を併せもつ新たな機能性ペプチドの探索
国立循環器病研究センター研究所生体医工学部
○山岡哲二，Munisso Maria
- 1E-07-Ⅲ 血液適合性候補ペプチド分子の in situ スクリーニングシステムの構築
国立循環器病研究センター研究所生体医工学部
○山岡哲二，馬原 淳，Munisso Maria

E会場（2F 平安）午後

13:00-14:30 【一般演題】再生医療・組織工学（2）（Ⅰ 基盤マテリアル，Ⅱ 基盤技術，Ⅲ 基礎臨床）

座長：木村 剛（東京医科歯科大学生体材料工学研究所）

- 1E-08-Ⅲ 高圧処理による母斑組織の不活化・再移植と自家培養表皮を用いた皮膚再生臨床研究
¹関西医科大学形成外科学講座，²国立循環器病研究センター研究所生体医工学部
○森本尚樹¹，馬原 淳²，光井俊人¹，覚道奈津子¹，楠本健司¹，山岡哲二²
- 1E-09-Ⅲ 内皮系前駆細胞による血管修復過程を人工的に誘導するペプチド修飾脱細胞血管
¹国立循環器病研究センター研究所生体医工学部，²関西大学化学生命工学部
○馬原 淳¹，古島健太郎²，平野義明²，山岡哲二¹
- 1E-10-Ⅲ 生体内初期石灰化過程を模倣したミネラル形成に関する考察
¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科，²岡山大学歯学部先端領域研究センター
○ハラ エミリオ サトシ¹，長岡紀幸²，岡田正弘¹，松本卓也¹
- 1E-11-Ⅲ ケモカイン CCL21 を用いた軟骨再生のためのインテリジェントマテリアルの開発
北海道大学大学院医学研究院整形外科教室
○上徳善太，小野寺智洋，松岡正剛，馬場力哉，本谷和俊，宝満健太郎，岩崎倫政

1E-12-Ⅲ 椎間板再生治療における組織修復材の開発

¹北海道大学大学院医学研究院脊椎・脊髄先端医学分野, ²北海道大学大学院医学研究院整形外科学教室, ³北海道大学大学院工学研究院

○須藤英毅¹, 辻本武尊², 東藤正浩³, 山田勝久², 大西貴士², 岩崎倫政²

1E-13-Ⅲ テリパラチド酢酸塩によるリン酸オクタカルシウム・コラーゲン複合体の骨形成促進効果

¹東北大学大学院医工学研究科骨再生医工学分野, ²東洋紡株式会社, ³東北大学大学院歯学研究科顎顔面・口腔外科学分野

○梶井文彦^{1,2}, 岩井敦史², 田中秀典², 川井 忠³, 松井桂子³, 鎌倉慎治¹

1E-14-Ⅲ うろこコラーゲンを使用した培養口腔粘膜の開発

¹新潟大学大学院医歯学総合研究科小児歯科学分野, ²新潟大学大学院医歯学総合研究科生体組織再生工学分野, ³新潟大学大学院医歯学総合研究科高度口腔機能教育研究センター, ⁴新潟大学大学院医歯学総合研究科歯学教育研究開発学分野, ⁵多木化学株式会社

○鈴木絢子^{1,2}, 加藤寛子^{2,3}, 干川絵美², 塩見 晶⁴, 河上貴宏⁵, 兒玉泰洋⁵, 齋藤一誠¹, 早崎治明¹, 泉 健次²

14:30-16:00 【一般演題】再生医療・組織工学 (3) (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)

座長: 鈴木郁郎 (東北工業大学大学院工学研究科)

1E-15-Ⅱ 超音波振動刺激が軟骨前駆細胞 (ATDC5) の分化に及ぼす影響

¹慶應義塾大学理工学研究科, ²慶應義塾大学

○井田雄太¹, 岩永健太郎², 倉科佑太², 宮田昌悟², 小茂鳥潤²

1E-16-Ⅱ シングルファイバーを用いた神経膠芽腫細胞遊走におけるミトコンドリア動態の解析

¹福井大学大学院工学研究科繊維先端工学専攻, ²福井大学学術研究院医学系部門統合生理学分野

○河合佑介¹, 竹内綾子², 松岡 達², 藤田 聡¹

1E-17-Ⅱ 生分解性高分子を用いた細胞・ナノ薄膜複合体の電気化学的マニピュレーション

¹東北大学大学院工学研究科, ²東北大学大学院医学系研究科

○鈴木 仁¹, 永井展祐², 西澤松彦¹, 阿部俊明², 梶 弘和¹

1E-18-Ⅱ クローン性株細胞を用いた腔組織再構築系の開発

¹東京理科大学基礎工学研究科, ²神戸大学大学院工学研究科

○上妻 雅¹, 安富 諒², 中島忠章¹, 大谷 亨², 友岡康弘¹

1E-19-Ⅱ フィブリンゲルを用いた骨格筋組織の構築と組織モデルとしての応用

東京女子医科大学先端生命医科学研究所

○高橋宏信, 清水達也, 大和雅之, 岡野光夫

1E-20-Ⅱ 束状構造ゲルによる神経足場材料の開発

¹東京大学生産技術研究所, ²東京理科大学基礎工学部, ³東北工業大学大学院工学研究科

○高橋治子¹, 立澤彩佳^{1,2}, 小田原あおい³, 鈴木郁郎³, 菊池明彦², 松永行子¹

1E-21-Ⅱ 細胞外マトリックスを高密度に有する三次元がん間質組織体の構築

¹大阪大学大学院工学研究科, ²JST-さがけ

○松崎典弥^{1,2}, 米田美咲¹, 加藤菜津子¹

16:00-17:00 【ポスタービューイング/ポスター発表】(F会場)

第1日 11月20日(月) ポスター

F会場(1F 展示ホール) 討論時間: 16:00~17:00

【日韓バイオマテリアル学会若手研究者交流 AWARD セッション】

- JK-01 **Surface design of polyrotaxane-based materials with growth factors for enhancing cell differentiation**
Department of Organic Biomaterials, Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University
○Arisaka Yoshinori, Yui Nobuhiko
- JK-02 **Design of biomimetic polymer brush surfaces with autonomous property changes**
Department of Materials Engineering, School of Engineering, The University of Tokyo
○Masuda Tsukuru, Akimoto Mizutani Aya, Yoshida Ryo
- JK-03 **Development of oral redox nanomedicines for gastrointestinal disorders**
Department of Materials Science, University of Tsukuba
○Long Binh Vong, Nagasaki Yukio
- JK-04 **In situ direct formation of organic/inorganic hybrid hydrogels for tissue engineering**
¹Center for Biomaterials, Korea Institute of Science and Technology, ²Department of Nano-biomedical Science, Dankook University, ³Department of Biomedical Science, Cha Bio Complex
○Cheol-Min Han¹, Jun-Sung Oh², Jeong-Soon Park², Eun-Jung Lee², Yoon Ki Joung¹, Dong Keun Han³
- JK-05 **Photodynamic Therapy in Cancer Treatment via Stimuli-Responsive Polymeric Photosensitizers**
Department of Biotechnology, The Catholic University of Korea
○Hee Sook Hwang, Jeongdeok Seo, Kun Na
- JK-06 **Prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity and liver injury by systemic cellular delivery of protein nanoparticles**
School of Pharmacy, Sungkyunkwan University
○Min Sang Lee, Ji Hoon Jeong

【日本バイオマテリアル学会 優秀研究ポスター賞 応募ポスター】

【金属・無機材料 (I)】 (I 基盤マテリアル, II 基盤技術, III 基礎臨床)

- 1P-001-I **c面配向ハイドロキシアパタイトの結晶性に対するフッ化アパタイトバッファ膜質依存性**
近畿大学大学院生物理工学研究科
○岡田悠希, 楠 正暢
- 1P-002-III **ハイドロジンカイトとシモンコライト間の創傷治癒効果の比較**
¹山形大学大学院理工学研究科, ²JFE ミネラル株式会社
○永島美希¹, 中山賢典¹, 佐々木優¹, 中田圭美², 宇田川悦郎², 山本 修¹
- 1P-003-I **陽極酸化処理を施した Ti-Cu 合金の抗菌性**
¹名古屋大学大学院工学研究科, ²名古屋大学未来材料・システム研究所, ³北見工業大学工学部地球環境工学科
○北澤 丈¹, 黒田健介², 興戸正純², 大津直史³
- 1P-004-I **表面親水性を制御した Ti への Ag イオン吸着による抗菌性の付与**
¹名古屋大学大学院工学研究科, ²名古屋大学未来材料・システム研究所, ³北見工業大学工学部地球環境工学科
○大脇充裕¹, 黒田健介², 興戸正純², 大津直史³
- 1P-005-I **Ti へのタンパク質模擬物質吸着挙動**
¹名古屋大学大学院工学研究所, ²名古屋大学未来材料・システム研究所
○森 祐輔¹, 黒田健介², 興戸正純²

1P-006- I フッ化物溶液中における MDF チタンの腐食特性

¹ 鶴見大学歯学部有床義歯補綴学講座, ² 神奈川歯科大学口腔機能修復学講座, ³ 豊橋技術科学大学機械工学系, ⁴ 鶴見大学歯学部歯科理工学講座
○鈴木銀河¹, 星 憲幸², 木本克彦², 三浦博己³, 早川 徹⁴, 大久保力廣¹

1P-007- I マイクロアーク酸化によってチタン表面に導入した銀、銅、亜鉛、ガリウムの抗菌効果

¹ 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科, ² 東京医科歯科大学生体材料工学研究所
○島袋将弥¹, 堤 祐介², 山田理沙¹, 野崎浩介², 蘆田茉希², 陳 鵬², 土居 寿², 永井亜希子², 埴 隆夫²

1P-008- I 抗菌性を備えた銀含有リン酸カルシウム微小球の合成とその特性評価

¹ 明治大学大学院, ² オルソリバーズ株式会社, ³ 名古屋工業大学
○横田倫啓¹, 本田みちよ¹, 大坂直也², 牧田昌士², 西川靖俊², 春日敏宏³, 相澤 守¹

1P-009- I スパッタ製膜したチタン酸化物薄膜の結晶構造制御

¹ 成蹊大学大学院理工学研究科, ² 成蹊大学理工学部, ³ 東海大学
○竹内将人¹, 吉澤慶祐², 細谷和輝³, 大家 溪^{1,2,3}, 岩森 暁³, 中野武雄^{1,2}

【高分子材料 (1)】 (I 基盤マテリアル, II 基盤技術, III 基礎臨床)

1P-010- II Development of chemically applicable blood compatible materials using MPC copolymer and poly olefin elastomer

Department of polymer Science & Engineering, Sungkyunkwan University
○Seung Kyun Yoon¹, Dong June Chung¹

1P-011- I MPC ポリマーによる歯科用修復物の *in situ* 処理によるう蝕予防

¹ 自治医科大学歯科口腔外科学講座, ² 東京大学大学院工学系研究科
○小山 潤^{1,2}, 深澤今日子², 井上祐貴², 石原一彦², 森 良之¹

1P-012- I エレクトロスピンングを用いたコラーゲンゲルファイバーの創製と異方性組織への応用

¹ 福井大学大学院工学研究科繊維先端工学専攻, ² 福井大学大学院学術研究院工学系部門繊維先端工学分野
○和久田弓加¹, 末信一朗², 藤田 聡²

1P-013- I 創傷被覆材への応用を目指したキトサン-高分子ミセル複合化ゲルシートの開発

東京農工大学大学院工学府応用化学専攻
○伊藤朋紀, 高見 拓, 村上義彦

1P-014- I 溶液処理を用いたポリマー表面の親水化ならびにタンパク質吸着能評価

¹ 名古屋大学大学院工学研究科, ² 名古屋大学未来材料・システム研究所, ³ 東北大学大学院歯学研究科
○秋山洋輝¹, 黒田健介², 興戸正純², 金高弘恭³

1P-015- II Studies of core – shell type hyaluronic acid – chitosan particle for degradable tissue augmentation filler.

Department of polymer Science & Engineering, Sungkyunkwan University
○Seo Won Kim, Dong June Chung

1P-016- I 多糖複合フィルムが異なる細胞種へ与える影響の評価

¹ 東京理科大学大学院総合化学研究科, ² 東京理科大学薬学部
○栗城和泉¹, 辻 優奈¹, 柿本敦史¹, 二ノ宮理恵², 飯島一智¹, 伊豫田拓也², 深井文雄², 橋詰峰雄¹

1P-017- II *In vivo* 表面再修飾を目指した光反応性リン脂質ポリマーによる生体親和性表面の創出

東京大学大学院工学系研究科
○辻 和志, 深澤今日子, 井上祐貴, 石原一彦

1P-018- I 水溶液中で安定にパクリタキセルを保持するための水溶性・両親媒性ブロック型 MPC ポリマー

東京大学大学院工学系研究科
○牟 鳴薇, 金野智浩, 石原一彦

- 1P-019- I 新規生体素材の開発を指向したシクロデキストリンポリカテナンの one-pot 合成**
¹熊本大学大学院生命科学研究部, ²National University of Singapore, ³東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ⁴熊本大学リーディング大学院 HIGO プログラム
 ○森田健太郎¹, 東 大志^{1,2}, Xia Song², Jingling Zhu², Jun Li², 田村篤志³, 由井伸彦³, 本山敬一¹, 有馬英俊^{1,4}
- 1P-020- I ムチンとボロン酸含有合成高分子とのハイブリッドに基づいた糖刺激応答性ゲルの開発**
 大阪大学大学院基礎工学研究科
 ○谷野雄哉, 中畑雅樹, 境 慎司, 田谷正仁
- 1P-021- I 折り畳み様形状回復を発現する生分解性形状記憶ポリマー材料の作製**
¹関西大学化学生命工学部, ²関西大学 ORDIST, ³関西大学医工薬連携研究センター
 ○川岸弘毅¹, 能崎優太², 葛谷明紀^{1,3}, 大矢裕一^{1,3}
- 1P-022- I メトキシ基を有するメタクリレート系ポリマーの血小板適合性について**
 東海大学大学院工学研究科医用生体工学専攻
 ○小野 大, 望月 明
- 1P-023- I 三分岐型オリゴ(エチレングリコール)からなる温度変化により物質を濃縮可能な材料の設計**
¹東京理科大学大学院基礎工学研究科, ²大阪大学大学院工学研究科
 ○茅野英成¹, 麻生隆彬², 石原 量¹, 菊池明彦¹
- 1P-024- II 脂質とタンパク質からなる生体ナノ粒子のワンステップ再構成法**
¹富山県立大学工学部, ²富山県立大学大学院工学研究科, ³金沢大学新学術創成研究機構, ⁴京都大学物質-細胞統合システム拠点
 ○齊藤実央¹, 福田亮介², 角野 歩³, 村上達也^{1,2,4}
- 1P-025- II アフィニティーリガンド含有感温性ポリマーブラシ表面とタンパク質の相互作用**
 東京理科大学大学院基礎工学研究科
 ○上原功己, 石原 量, 菊池明彦
- 1P-026- I PEG グラフト鎖を有する polyallylamine による二酸化チタン基板への表面修飾**
 大阪府立大学大学院工学研究科
 ○戸田 樹, 青野圭剛, 弓場英司, 遠藤達郎, 原田敦史
- 1P-027- I 非球状会合体を形成する両親媒性ブロック共重合体が及ぼすスフェロイド培養への影響**
¹山形大学工学部, ²山形大学大学院有機材料システム研究科, ³山形大学大学院理工学研究科, ⁴山形大学有機材料フロンティアセンター (FROM), ⁵九州大学先端物質化学研究所
 ○藤村 望¹, 大治雅史², 松崎広大³, 土屋 遥⁴, 田中 賢^{4,5}, 福島和樹^{1,2,4}
- 1P-028- I 骨再生のための生分解性コアセルベート液滴を用いたピッカリングエマルジョンの調製**
¹東京理科大学大学院基礎工学研究科, ²大阪大学大学院工学研究科
 ○池戸佑衣¹, 小松周平¹, 麻生隆彬², 石原 量¹, 菊池明彦¹
- 1P-029- I カチオン性くし型共重合体/ペプチドナノ複合体による脂質膜形態の時限応答制御**
 東京工業大学生命理工学院
 ○落合拓郎, 嶋田直彦, 丸山 厚
- 1P-030- I がん選択的に相互作用するグルタミン担持高分子の創製と機能評価**
 東京工業大学科学技術創成研究院化学生命科学研究所
 ○山田直生, 本田雄士, 武元宏泰, 野本貴大, 松井 誠, 友田敬士郎, 西山伸宏
- 1P-031- I アゾベンゼンを有する UCST 型ウレイド高分子の合成と相転移の光制御評価**
 東京工業大学生命理工学院
 ○池内 尚, 嶋田直彦, 丸山 厚

【マテリアルと細胞 (1)】 (I 基盤マテリアル, II 基盤技術, III 基礎臨床)

- 1P-032- II 細胞培養基材としての増殖因子固定化ジスルフィド架橋型ハイドロゲルの設計**
¹九州大学工学研究院応用化学部門, ²九州大学未来化学創造センターバイオテクノロジー部門
 ○香川元気¹, 濱田祐成¹, 南畑孝介¹, 若林里衣¹, 後藤雅宏^{1,2}, 神谷典穂^{1,2}
- 1P-033- II 単層/スフェロイド培養における NT2 細胞の神経分化特性**
¹北九州市立大学大学院, ²北九州市立大学
 ○北野温女¹, 吉田詩朗¹, 宮本大輔¹, 中澤浩二²

- 1P-034- I 基板弾性率変化に伴う肝細胞特性の変動**
北九州市立大学大学院
○長谷川千裕, 中澤浩二
- 1P-035- I 上皮間葉転換における細胞周辺微小環境の影響**
¹福井大学大学院工学研究科繊維先端工学専攻, ²福井大学学術研究院工学系部門繊維先端工学分野, ³国際科学振興財団
○早水亮貴¹, 末信一朗², 赤池敏宏³, 藤田 聡²
- 1P-036- I 孔貫通型ポリウレタン多孔質薄膜による血管様構造構築を目指した HUVEC と AoSMC の共培養**
¹山形大学有機材料システム研究推進本部ソフトバイオマテリアル研究センター, ²豊田合成株式会社研究開発部, ³九州大学先端物質化学研究所
○土屋 遥¹, 高城誠太郎², 中川博之², 田中 賢^{1,3}
- 1P-037- II 高強度化アパタイトファイバースキャフォールドビーズによる株化肝細胞培養と肝機能評価**
¹明治大学理工学研究科, ²東京慈恵会医科大学
○森田恵里香¹, 本田みちよ¹, 中村まり子², 松浦知和², 相澤 守¹
- 1P-038- II ナノ周期構造による直交性骨基質配向化機構**
¹大阪大学大学院工学研究科, ²キャノンマシナリー株式会社
○中西陽平¹, 松垣あいり¹, 川原公介², 二宮孝文², 沢田博司², 中野貴由¹
- 1P-039- I 生細胞代謝の効率的制御を指向したレドックスリン脂質ポリマーの設計**
¹東京大学大学院工学系研究科, ²名古屋大学大学院工学研究科, ³産業技術研究所, ⁴大阪大学
○金子真大¹, 石川聖人², 加藤創一郎³, 石原一彦¹, 中西周次⁴
- 1P-040- I Hybrid ECM by MPC Polymer Network for Active Cell Immobilization**
The University of Tokyo
○Ren Zhang, Yuuki Inoue, Tomohiro Konne and Kazuhiko Ishihara
- 1P-041- II フェムト秒レーザーで表面修飾したジルコニア上における細胞挙動の評価**
¹早稲田大学理工学術院, ²産業技術総合研究所健康工学研究部門, ³産業技術総合研究所電子光技術研究部門
○橋本祥吾¹, 安永栄由², 廣瀬志弘², 欠端雅之³, 屋代英彦³, 山崎淳司¹, 伊藤敦夫²
- 1P-042- I 血管内皮細胞を活性化するための硫酸化ポリロタキサン表面の設計**
¹東京医科歯科大学学生体材料工学研究所, ²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
○兵頭克弥^{1,2}, 有坂慶紀¹, 山口 聡², 由井伸彦¹
- 1P-043- II 正電荷を有する温度応答性高分子を用いた細胞分離カラムの作製**
慶應義塾大学薬学部
○稲永大夢, 永田勇貴, 長瀬健一, 金澤秀子
- 1P-044- II アポトーシス抵抗性細胞に殺作用を示すオートファジー誘導性ポリロタキサンの機能評価**
東京医科歯科大学学生体材料工学研究所
○西田 慶, 田村篤志, 由井伸彦
- 1P-045- I 二種類の可逆的な架橋により形成された形状記憶ゲルのメカノバイオマテリアルへの応用**
大阪大学大学院基礎工学研究科
○前田純貴, 中畑雅樹, 境 慎司, 田谷正仁
- 1P-046- II 薬物を用いないがん治療戦略：がん細胞表面でのゲル形成による細胞死誘導**
甲南大学フロンティアサイエンス学部
○真田ゆか, 長濱宏治
- 1P-047- I 機械特性に優れる二成分系ファイバー基材への温度応答性ブラシ修飾と細胞分離**
¹早稲田大学大学院先進理工学研究科生命医科学専攻, ²東京女子医科大学先端生命医科学研究所, ³慶應義塾大学薬学部
○宿輪理紗^{1,2}, 長瀬健一^{2,3}, 高橋宏信², 武田直也¹, 岡野光夫²
- 1P-048- I 細胞培養基材への応用を目指した光・温度応答性ヒドロゲルの創製**
¹関西大化学生命工, ²関西大 ORDIST
○松田安叶¹, 河村暁文^{1,2}, 宮田隆志^{1,2}

- 1P-049- I **フジツボ由来ペプチドを用いた組織工学用ハイドロゲルの設計と機能評価**
¹ 関西大学化学生命工, ² 関西大学先端機構, ³ 製品評価技術機構
 ○藤井大輔¹, 紙野 圭³, 柿木佐知朗^{1,2}, 平野義明^{1,2}
- 1P-050- I **種々の陽イオンを置換した水酸アパタイトセラミックスの作製とそれらの細胞応答性**
 明治大学大学院理工学研究科
 ○伊東莉菜, 横田倫啓, 相澤 守
- 1P-051- I **免疫賦活剤を担持させた水酸アパタイトセラミックスの免疫細胞応答性**
¹ 明治大学大学院理工学研究科応用化学専攻, ² 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子免疫学分野
 ○加々見早苗¹, 木造理萌子¹, 永井重徳², 相澤 守¹
- 1P-052- I **血清存在下で分解されるゲルを作製可能な溶解性の高いアミロペクチン誘導体の開発**
 大阪大学大学院基礎工学研究科
 ○服部晃治, 境 慎司, 中畑雅樹, 田谷正仁
- 1P-053- I **リゾチーム金ナノクラスター/ローズベンガル複合体の創製と光線力学的評価**
¹ 北海道大学大学院歯学研究院歯周・歯内療法学教室, ² 関西大学化学生命工学部化学・物質工学科, ³ 北海道大学大学院歯学研究院生体材料工学教室
 ○岡本一絵¹, 宮治裕史¹, 宮田さほり¹, 薮佳奈子¹, 川崎英也², 赤坂 司³, 菅谷 勉¹
- 1P-054- I **Bacterial adhesion behavior influenced by environmental condition**
¹ Department of Bioengineering, School of Engineering, The University of Tokyo, ² LIXIL Corporation
 ○Zhou Lu¹, Aya Noguchi¹, Makoto Nakakido¹, Kohei Tsumoto¹, Norifumi Isu², Madoka Takai¹
- 1P-055- I **a面を多く露出した水酸アパタイトセラミックス上での間葉系幹細胞の細胞応答性**
 明治大学大学院理工学研究科
 ○山田祐大, 玉澤成記, 相澤 守
- 1P-056- I **高強度化アパタイトファイバースキャフォールドでの株化軟骨細胞の培養とその定量評価**
 明治大学大学院理工学研究科
 ○吉田友資, 本田みちよ, 相澤 守
- 1P-057- II **REDV 固定化表面上での血管内皮前駆細胞ホーミングの定量解析**
¹ 国立循環器病研究センター研究所生体医工学部, ² 龍谷大学大学院理工学研究科物質化学専攻
 ○北川和宜^{1,2}, 馬原 淳², 中沖隆彦¹, 山岡哲二²
- 1P-058- I **CaO-P₂O₅-SiO₂-B₂O₃系ガラスセラミックスと免疫細胞との相互作用**
¹ 明治大学大学院理工学研究科, ² 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
 ○木造理萌子¹, 本田みちよ¹, 永井重徳², 相澤 守¹
- 1P-059- I **温度応答性高分子ブラシ修飾シリカビーズを用いた細胞分離の検討**
¹ 慶應義塾大学大学院薬学研究科, ² 東京大学大学院工学系研究科
 ○永田勇貴¹, 長瀬健一¹, 秋元 文², 金澤秀子¹
- 1P-060- I **イノシトールリン酸を修飾した水酸アパタイト焼結体の免疫細胞に与える表面粗さの影響**
¹ 明治大学, ² 東京医科歯科大学
 ○上野太郎¹, 木造理萌子¹, 山田清貴¹, 永井重徳², 相澤 守¹
- 1P-061- II **AFS 内三次元培養時の Hypoxia が P19.CL6 cells 心筋分化に与える影響の解析**
 上智大学大学院理工学研究科
 ○高野宏基, 神澤信行

【血液とマテリアル (1)】 (I 基盤マテリアル, II 基盤技術, III 基礎臨床)

- 1P-062- I **PMEA 類似高分子/水界面の微細構造とタンパク質吸着挙動の相関性評価**
¹ 九州大学大学院工学府, ² 九州大学先端物質化学研究所, ³ 山形大学有機材料システム研究推進本部
 ○上田智也¹, 村上大樹^{1,2}, 田中 賢^{1,2,3}

- 1P-063- I 複数の血液凝固過程をブロックする抗血栓性 PEEK の創製**
 東京大学大学院工学系研究科
 ○矢野口聡, 井上祐貴, 石原一彦
- 1P-064- I 側鎖長およびその間隔を制御した水酸基導入高分子の合成と抗血栓性評価**
¹九州大学大学院工学府, ²九州大学先端物質化学研究所, ³山形大学有機材料システム研究推進本部
 ○藤田直輝¹, 小林慎吾², 田中 賢^{1,2,3}
- 1P-065- II 血管中膜異方性構造の部位依存性**
¹大阪大学大学院工学研究科, ²大阪大学大学院医学系研究科
 ○永石武流¹, 小笹良輔¹, 神崎万智子², 坂田泰史², 森井英一², 倉谷 徹², 中野貴由¹
- 【DDS, イメージング (I)】 (I 基盤マテリアル, II 基盤技術, III 基礎臨床)**
- 1P-066- II 細胞の生物機能可視化のためのモレキュラービーコン内包ゼラチンナノ粒子の作製**
 京都大学ウイルス・再生医科学研究所
 ○村田勇樹, 城潤一郎, 田畑泰彦
- 1P-067- II ケイ酸ゲル被覆ポリオンコンプレックスによるメッセンジャーRNA デリバリー**
¹東京大学大学院工学系研究科, ²東京大学大学院医学系研究科
 ○亀川凜平¹, 内藤 瑞², 内田智士¹, 宮田完二郎¹
- 1P-068- II Prolonged secretion of IL-10 by transfected macrophages with cationized gelatin nanospheres incorporating IL-10 mRNA**
 京都大学ウイルス・再生医科学研究所
 ○許 峻睿, 城潤一郎, 佐久間恵, 田畑泰彦
- 1P-069- II 親水性物質の内包を可能とする PEG 修飾 encapsulin 中空ナノ粒子の開発**
¹東京農工大学大学院工学府応用化学専攻, ²東京農工大学大学院工学府生命工学専攻
 ○園瀧誠一¹, 高見 拓¹, 野口恵一², 養王田正文², 村上義彦¹
- 1P-070- II 多孔質粒子を「段階乳化」で調製する新技術の開発と経肺投与 DDS への応用**
 東京農工大学大学院工学府応用化学専攻
 ○西村真之介, 高見 拓, 村上義彦
- 1P-071- II 温度応答型生分解性インジェクタブルポリマーとリポソームを用いた薬物徐放システム**
¹関西大 ORDIST, ²関西大化学生命工, ³関西大医工薬研セ
 ○能崎優太¹, 葛谷明紀^{2,3}, 大矢裕一^{2,3}
- 1P-072- I プロテインデリバリーを指向したゲルカプセルの創製とその薬物キャリアとしての機能**
¹関西大化学生命工, ²関西大 ORDIST
 ○中浦 宏¹, 河村暁文^{1,2}, 宮田隆志^{1,2}
- 1P-073- II ヒアルロン酸被覆高分子ミセルによる肝星細胞への効率的デリバリー**
¹関西大学化学生命工学部, ²関西大学 ORDIST, ³奈良県立医科大学, ⁴関西大学医工薬連携研究センター
 ○永田拓也¹, 山田莉央¹, 能崎優太², 鍛冶孝祐³, 吉治仁志³, 葛谷明紀^{1,4}, 大矢裕一^{1,4}
- 1P-074- I 分子認識ポリマーを架橋部位とした生体適合性ヒドロゲルの開発と徐放システムへの応用**
¹大阪大学大学院基礎工学研究科, ²大阪大学大学院理学研究科
 ○吉川裕人¹, 中畑雅樹¹, 境 慎司¹, 原田 明², 田谷正仁¹
- 1P-075- II がん幹細胞を標的とする細胞内酵素応答型遺伝子キャリアの開発**
¹九大院工, ²九大未来化セ, ³九大分子 CMS, ⁴九大先端医療 IC
 ○遠山聖子¹, 中村雄太¹, 松本 蛍¹, 秀野智大¹, 岸村顕広^{1,2,3}, 森 健^{1,2}, 片山佳樹^{1,2,3,4}
- 1P-076 演題取り下げ**
- 1P-077- II 外部刺激により薬物放出制御可能ながん幹細胞標的リポソームの特性評価**
 慶應義塾大学大学院薬学研究科
 ○山之内翔, 長瀬健一, 米谷芳枝, 金澤秀子

- 1P-078-Ⅱ 低侵襲な体内送達を可能とする多層構造を利用した自己展開型薬剤徐放シートの開発**
¹ 東北大学大学院工学研究科, ² 東北大学大学院医学系研究科
 ○佐藤悠人¹, 鈴木 仁¹, 永井展裕¹, 西澤松彦¹, 阿部俊明¹, 梶 弘和¹
- 1P-079-Ⅰ インスリン徐放デバイスの開発と糖尿病網膜症治療への応用**
 東北大学大学院医学系研究科細胞治療分野
 ○星 絢子, 永井展裕, 西條早絢, 大學玲子, 阿部俊明
- 1P-080-Ⅰ 細胞核ナノトランスポーターを用いた機能性タンパク質デリバリーによる細胞反応制御**
 甲南大学フロンティアサイエンス学部
 ○増田真鈴, 佐野由倫, 前川紗恵子, 長濱宏治
- 1P-081-Ⅱ 金ナノ粒子を用いた超音波による血液脳関門透過性向上機構の検討**
¹ 東京大学大学院工学系研究科, ² 東京大学大学院医学系研究科
 ○菊地映美¹, 石島 歩¹, 小林英津子¹, 東 隆^{1,2}, 佐久間一郎¹, 伊藤大知^{1,2}, 太田誠一²
- 1P-082-Ⅱ Development of pH-sensitive polymeric micelles for intracellular delivery of bioactive molecules loaded through imine bond.**
¹ Graduate School of Engineering, The University of Tokyo, ² Innovation Center of Nano Medicine (iCONM)
 ○Anqi Tao¹, Horacio CABRAL¹, Sabina QUADER², Kazunori KATAOKA^{1,2}
- 1P-083-Ⅰ pH 応答性コンドロイチン硫酸を修飾したリボソームの抗原キャリア機能**
 大阪府立大学大学院工学研究科
 ○大久保みのり, 弓場英司, 原田敦史, 河野健司
- 1P-084-Ⅱ 細胞外小胞の体内動態解析に向けた標識法の検討**
¹ 東京大学大学院工学系研究科, ² 川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター, ³ 東京大学政策ビジョン研究センター
 ○乗松純平^{1,2}, 赤木貴則^{1,2}, 藤加珠子², John D. Martin^{1,2}, 一木隆範^{1,2}, 片岡一則^{2,3}, Horacio Cabral^{1, 2}
- 1P-085-Ⅰ 酵素耐性向上を目指したメッセンジャーRNA ナノ集合体の設計**
¹ 東京大学大学院工学系研究科, ² 川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター
 ○趙 オル¹, 吉永直人¹, 持田祐希², 内田智士^{1,2}, オラシオカブラル¹
- 1P-086-Ⅱ 高せん断応力下におけるディスク状粒子の接着挙動と血栓溶解能の付与**
¹ 東海大学大学院工学研究科応用理化学専攻, ² 東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター, ³ 東海大学工学部機械工学科
 ○吉田翔太¹, 中川 篤², 横山 奨², 木村啓志^{2,3}, 岡村陽介^{1,2}
- 1P-087-Ⅱ 経鼻吸収剤への応用を指向したフェノバルビタール内包ディスクの創製と機能評価**
¹ 東海大学工学研究科応用理化学専攻, ² 東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター, ³ 東海大学医学部基礎医学系, ⁴ 城西大学薬学部製剤学講座
 ○長島和希¹, 中川 篤², 畑中朋美^{3,4}, 小沢春香⁴, 金丸達哉⁴, 内田昌希⁴, 夏目秀視⁴, 岡村陽介^{1,2}
- 1P-088-Ⅱ リガンド導入ポリグリセロールデンドリマーのアルギニンデリバリー評価**
 神戸大学大学院工学研究科応用化学専攻
 ○酒元 竜, 板倉幸枝, 大谷 亨
- 1P-089-Ⅲ ドライアイ治療を目指した抗酸化能を有するインジェクタブルハイドロゲルの開発**
¹ 筑波大学大学院数理物質科学研究科, ² 徳島大学大学院社会産業理工学研究部, ³ 徳島大学大学院先端技術科学研究部, ⁴ 筑波大学大学院人間総合科学研究科
 ○岡田隆策¹, 中川寛之¹, 宇都義弘², 勝占華世³, 楠橋由貴³, 二若真菜³, 林 佑美³, 長崎幸夫^{1,4}
- 1P-090-Ⅰ 温度応答性デンドロン脂質-金ナノロッドハイブリッドベクターの開発**
 大阪府立大学大学院工学研究科
 ○橋本拓弥, 平田智哉, 弓場英司, 原田敦史, 河野健司
- 1P-091-Ⅱ 蛍光標識法によるリボソームの活性化血小板に対する結合能の評価法**
¹ 早稲田大学大学院先進理工学研究科, ² 早稲田大学ナノ・ライフ創新研究機構
 ○中原景子¹, 陳 素雲¹, 李 天舒², 武岡真司¹

- 1P-092-Ⅲ ナノ EPR 増強剤である NO 搭載型アルブミンダイマーを駆使した次世代型がん治療法の開発**
¹熊本大学薬学部薬剤学分野, ²徳島大学薬学部薬物動態制御学分野, ³崇城大学薬学部, ⁴崇城大学 DDS 研究所
 ○木下 遼¹, 異島 優², 池田真由美², 中村秀明^{3,4}, 方 軍^{3,4}, 渡邊博志¹, 小田切優樹^{3,4}, 丸山 徹¹
- 1P-093-Ⅱ 細胞送達キャリアとしてのリン酸カルシウム被覆 PLGA 微粒子封入アルギン酸ビーズの開発**
 武蔵野大薬
 ○松林信人, 照喜名孝之, 服部祐介, 大塚 誠
- 1P-094-Ⅱ バキュロウイルス発現系による機能性膜タンパク質提示細胞外ベシクルの構築と機能**
¹京都大学大学院工学研究科, ²JST-ERATO
 ○石川良賀¹, 吉田昭介¹, 澤田晋一^{1,2}, 佐々木善浩¹, 秋吉一成^{1,2}

【医療用デバイス (I)】 (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)

- 1P-095-Ⅲ ナノ秒パルスレーザジルコニアの表面性状評価**
¹東北大学大学院工学研究科, ²鶴見大学歯学部歯科理工学講座, ³東北大学大学院医工学研究科
 ○原井智広¹, 廣田正嗣², 早川 徹², 嶋田慶太¹, 水谷正義¹, 厨川常元³
- 1P-096-Ⅱ 血液透析代替システムを目指した吸水性ナノファイバーメッシュの作製及び性能評価**
¹東京理科大学大学院基礎工学研究科, ²物質・材料研究機構 (NIMS) 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点 (MANA), ³筑波大学大学院数理物質科学研究科
 ○柘植美礼^{1,2}, 栗本理央^{2,3}, 菊池明彦¹, 荏原充宏^{1,2,3}
- 1P-097-Ⅲ タラゼラチンの疎水化による組織・臓器接着性の向上**
¹筑波大学大学院数理物質科学研究科, ²物質・材料研究機構機能性材料研究拠点
 ○水野陽介^{1,2}, 水田 亮^{1,2}, 西口昭広², 田口哲志^{1,2}
- 1P-098-Ⅰ 水溶液法を用いた生体吸収性マグネシウム合金の結晶性リン酸カルシウム被覆**
 京都大学大学院エネルギー科学研究科
 ○渡邊 慎, 藪塚武史, 高井茂臣
- 1P-099-Ⅰ 膝関節機能の改善効果に優れた新規ヒアルロン酸誘導体の開発および特性評価**
 東京電機大学大学院理工学研究科生命理工学専攻
 ○金子 凜, 柳田湧太, 関口はつ美, 田島佑也, 村松和明
- 1P-100-Ⅰ アパタイト核を用いた摺動グレードPEEK への生体活性付与**
¹京都大学大学院エネルギー科学研究科, ²香川高等専門学校
 ○昼田智子¹, 藪塚武史¹, 福島啓斗¹, 高井茂臣¹, 八尾 健²

【再生医療・組織工学 (I)】 (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)

- 1P-101-Ⅲ 頭蓋冠臨界欠損モデルにおける rhBMP-2 担持ナノシートの骨形成促進効果**
¹東京大学大学院医学系研究科整形外科, ²東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻, ³Graduate Institute of Clinical Medical Sciences, College of Medicine, Chang Gung University, ⁴東京大学医学系研究科疾患生命工学センター, ⁵東海大学工学部応用化学科, ⁶東京大学大学院医学系研究科関節機能再建学講座
 ○村橋靖崇¹, 石原一彦², Kuo-Chin Huang³, 矢野文子¹, 北浦義昭⁴, 張 成虎¹, 田中 栄¹, 岡村陽介⁵, 齋藤 琢¹, 茂呂 徹⁶
- 1P-102-Ⅲ 硫酸化ポリロタキサン/骨形成因子複合体によるマウス頭蓋骨欠損モデル骨形成促進効果**
¹東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
 ○寺内正彦¹, 稲田大佳輔², 田村篤志¹, 山口 聡², 由井伸彦¹
- 1P-103-Ⅰ 血管内皮細胞増殖因子を特異的に捕捉する RNA アプタマー修飾材料の機能評価**
¹国立医薬品食品衛生研究所, ²株式会社リボミック, ³東京大学医科学研究所
 ○森下裕貴¹, 野村祐介¹, 福井千恵¹, 中村義一^{2,3}, 葩島由二¹
- 1P-104-Ⅰ 細胞間の接着を誘起するアンカー分子の合成と新規三次元細胞パターンニング技術への応用**
¹大阪大学大学院工学研究科, ²JST-さきがけ
 ○柳澤公祐¹, 松崎典弥^{1,2}

- 1P-105-Ⅱ **がん細胞周囲の弱酸性環境を認識してがん殺傷効果を示すモレキュラーブロックの創製**
¹大阪大学大学院工学研究科, ²JST-さがけ
 ○塩路雄大¹, 松崎典弥^{1,2}
- 1P-106-Ⅲ **人工真皮への応用を指向したコラーゲンナノシートの創製と機能評価**
¹東海大学大学院工学研究科応用理化学専攻, ²東海大学医学部再生医療科学, ³東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター
 ○五十嵐敦¹, 住吉秀明², 稲垣 豊², 岡村陽介^{1,3}
- 1P-107-Ⅰ **多糖・コラーゲンをを用いたペプチド高機能化足場材料の開発**
¹名古屋大学大学院創薬科学研究科, ²名古屋大学大学院医学系研究科, ³農研機構生物機能利用研究部門
 ○金子喬士郎¹, 蟹江 慧¹, 堀川美希¹, 緒方藍歌², 成田裕司², 竹澤俊明³, 加藤竜司¹
- 1P-108-Ⅱ **マイクロ流路チップを用いた脈絡膜毛細血管培養モデルの開発**
¹東北大学大学院工学研究科, ²東北大学大学院医学系研究科
 ○伊藤 竣¹, Li-Jiun Chen¹, 永井展祐², 西澤松彦¹, 阿部俊明², 梶 弘和¹
- 1P-109-Ⅱ **生分解性インジェクタブルゲルを用いた血管再生医療技術の開発**
 甲南大学フロンティアサイエンス学部
 ○角谷真菜美, 長濱宏治, 大山菜穂
- 1P-110-Ⅱ **生体高分子により成分置換されるインジェクタブルゲルを用いた皮膚再生技術の開発**
 甲南大学フロンティアサイエンス学部
 ○小野公佳, 長濱宏治
- 1P-111-Ⅰ **マクロファージに作用する2種類の疎水性薬物の徐放化材料の作製**
 京都大学ウイルス・再生医科学研究所
 ○百鳥直樹, 田中隆介, 田畑泰彦
- 1P-112-Ⅱ **微量の過酸化水素を含む空気と HRP を用いた微量押し出し式 3D-Bioprinting 技術の開発**
 大阪大学基礎工学研究科物質創成専攻化学工学領域
 ○望月 佳, 境 慎司, 中畑雅樹, 田谷正仁
- 1P-113-Ⅲ **人工多能性幹細胞をソースとした口腔上皮細胞様細胞作製の効率化**
¹広島大学大学院医歯薬保健学研究科生体材料科学, ²広島大学大学院医歯薬保健学研究科歯科矯正学
 ○大西 梓^{1,2}, Aimi N. Abdullah^{1,2}, 谷本幸太郎², 加藤功一¹
- 1P-114-Ⅱ **化合物誘導型ゲノム編集技術の開発**
 東京医科歯科大学生体材料工学研究所
 ○松本大亮, 野村 渉, 玉村啓和
- 1P-115-Ⅰ **生理活性物質の表面固定を意図した DNA 結合ポリ乳酸の合成**
¹関西大学化学生命工学部, ²関西大学 ORDIST, ³関西大学医工薬連携研究センター
 ○住田啓迪¹, 能崎優太², 葛谷明紀^{1,3}, 大矢裕一^{1,3}
- 1P-116-Ⅲ **シランカップリング修飾剤を用いた組織再生型脱細胞血管への細胞親和性付与**
¹国立循環器病研究センター研究所生体医工学部, ²関西大学大学院理工学研究科
 ○古島健太郎^{1,2}, 馬原 淳¹, 平野義明², 山岡哲二¹
- 1P-117-Ⅱ **細胞が産生する活性酸素種を用いた細胞包括ヒドロゲルの作製**
 大阪大学大学院基礎工学研究科
 ○本田尚之, 境 慎司, 劉 楊, 田谷正仁
- 1P-118-Ⅰ **導電性高分子をコアにもつ二層ファイバー足場を用いた電圧無印加での効率的筋管形成**
 早稲田大学大学院先進理工学研究科生命医科学専攻
 ○田中啓太, 中谷美沙, 今任景一, 武田直也
- 1P-119-Ⅰ **ヘパリンによる表面修飾はα型リン酸三カルシウム多孔質顆粒の初期骨形成能を増強する**
¹大阪歯科大学口腔インプラント学講座, ²大阪歯科大学中央歯学研究所, ³国立循環器病研究センター生体医工学部
 ○武田吉裕¹, 本田義知², 柿木佐知朗³, 山岡哲二³, 馬場俊輔¹

1P-120-Ⅲ スパッタ法を用いた超音波造影下で視認可能な脱細胞化組織用薄膜マーカーの作製

¹成蹊大学理工学部, ²東京医科歯科大学生体材料工学研究所

○木村成輝¹, 鈴木夕稀¹, 名和裕一朗¹, 橋本良秀², 船本誠一², 張永 巍², 山下暁立², 大家 溪¹, 岸田晶夫², 中野武雄¹

1P-121-Ⅱ 微小環境制御可能な人工微小血管モデルを用いた血管バリア機能評価

¹東京大学生産技術研究所, ²東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻

○薄葉 亮^{1,2}, Joris Pauty¹, 高橋治子¹, 松永行子^{1,2}

1P-122-Ⅰ 3D 微小血管モデルを用いた血管新生促進におけるペリサイトの役割の可視化

¹東京大学生産技術研究所, ²東京大学大学院工学系研究科, ³LIMMS/CNRS-IIS (2820) 国際連携研究センター

○李 裕珍^{1,2}, 高橋治子¹, ポティ ジョリス^{1,3}, 松永行子^{1,2,3}

【検査・診断法, バイオセンサー (1)】 (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)

1P-123-Ⅱ 酵素増感に基づくフローサイトメトリーの高感度化

¹九州大学大学院システム生命科学府, ²九州大学大学院工学研究院, ³未来分子システム科学センター, ⁴九州大学未来科学創造センター

○神野健太¹, 本部大輝², 登 貴信², 川村真朱美², 岸村顕弘^{1,3,4}, 森 健^{1,3,5}, 片山佳樹^{1,3,4,5}

1P-124-Ⅱ インクジェット印刷による薄膜状微小電極の開発と神経活動電位の *in vivo* 計測

¹早稲田大学先進理工学研究科, ²防衛医科大学校生理学講座, ³早稲田大学高等研究所,

⁴JST さきがけ

○小久保奈々¹, 山岸健人¹, 武岡真司¹, 太田宏之², 藤枝俊宣^{3,4}

1P-125-Ⅰ ポストインプリント官能基修飾によるバイオマーカータンパク質認識ナノ空間創製

神戸大学大学院工学研究科

林 智彦, 砂山博文, ○香門悠里, 北山雄己哉, 竹内俊文

第2日 11月21日(火)

A会場(5F 大ホール) 午前

9:30-11:30 【シンポジウム2】

バイオマテリアルの界面制御に挑む次代のフロンティア

オーガナイザー：前田瑞夫(理化学研究所)

大槻主税(名古屋大学大学院工学研究科)

2A-S2-1 人工関節摺動面における界面制御と実用化

京セラ株式会社研究開発本部メディカル開発センター

○京本政之

2A-S2-2 生体のシステムに倣った溶液反応による有機-無機複合構造の構築

東京理科大学工学部工業化学科

○橋詰峰雄

2A-S2-3 タンパク質-セラミックス界面の解析

東北大学大学院医工学研究科

○川下将一

2A-S2-4 DNA ブラシ界面の設計と機能発現

信州大学大学院総合工学系研究科

○金山直樹

11:30-12:15 【特別講演2】

座長：石川邦夫(九州大学大学院歯学研究院)

2A-SL1 アモルファスデザインによるバイオセラミックスの高度化とその実用化

名古屋工業大学生命・応用化学専攻環境セラミックス分野

○春日敏宏

A会場(5F 大ホール) 午後

13:00-15:30 【教育講演】

バイオマテリアルの基礎研究から製品化・薬事承認までの流れ

座長：中野貴由(大阪大学大学院工学研究科)

2A-EL1 三次元積層造形法を応用したカスタムメイド人工股関節の開発

大阪大学大学院医学系研究科

○坂井孝司

2A-EL2 整形外科用医療機器における3D造形と患者適合型製品の薬事承認と製品化

帝人ナカシマメディカル(株)

○石坂春彦

2A-EL3 新しい医療機器を市場に導入するために

東北大学病院臨床研究推進センター(CRIETO)

○鈴木由香

15:30-16:30 【ポスタービューイング/ポスター発表】(F会場)

16:45-17:00 閉会式・次年度大会案内

大会長 山下仁大(東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)

次年度大会長 山岡哲二(国立循環器病研究センター研究所)

B会場 (5F 小ホール) 午前

9:30-12:00 【日本学術会議 材料工学委員会 バイオマテリアル分科会主催シンポジウム】
イノベーションプラットフォームとしてのバイオマテリアル 2017

座長：埴 隆夫（東京医科歯科大学学生体材料工学研究所）

- 2B-S3-1 **AMED における医療機器研究開発の支援とバイオマテリアル開発に対する期待**
日本医療研究開発機構（AMED）
○扇谷 悟
- 2B-S3-2 **整形外科医からみたバイオマテリアル研究の方向性**
北海道大学大学院医学研究院
○岩崎倫政
- 2B-S3-3 **国際的視点からみたバイオマテリアル研究のあり方**
川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター
○片岡一則
- 2B-S3-4 **日本学術会議提言 ―医療を支えるバイオマテリアル研究に関する提言―**
東京医科歯科大学学生体材料工学研究所
○岸田晶夫，由井伸彦

B会場 (5F 小ホール) 午後

13:00-14:00 【一般演題】DDS，イメージング (4) （Ⅰ 基盤マテリアル，Ⅱ 基盤技術，Ⅲ 基礎臨床）

座長：西山伸宏（東京工業大学科学技術創成研究院）

- 2B-01-Ⅱ **タンパク質精密徐放微粒子の応用性・新用途の探索**
¹富山大学大学院理工学教育部，²富山大学大学院理工学研究部，³富山大学大学院生命融合科学教育部
○森 駿介¹，藤本くる美¹，中路 正^{1,2,3}
- 2B-02-Ⅱ **腫瘍イメージングと治療を可能にする中空ハイブリッドナノ粒子の one-pot 合成**
名古屋大学大学院工学研究科未来材料・システム研究所
○丸橋卓磨，林幸竜朗，坂本 渉，余語利信
- 2B-03-Ⅱ **細胞核 DDS のためのナノトランスポーターの設計**
甲南大学フロンティアサイエンス学部
○長濱宏治，佐野由倫，中西健太
- 2B-04-Ⅱ **コレステロール末端修飾 PEG によるインスリンの非共有結合 PEGylation**
¹首都大学東京大学院都市環境科学研究科，²東京薬科大学薬学部
○朝山章一郎¹，長嶋果南¹，根岸洋一²，川上浩良¹
- 2B-05-Ⅱ **血液脳関門突破を指向した高分子ミセル表層のリガンド分子の標的認識能評価**
¹東京大学大学院工学系研究科，²ナノ医療イノベーションセンター，³東京大学政策ビジョン研究センター
○中村乃理子^{1,2}，安楽泰孝^{1,2}，福島重人²，藤加珠子²，カブラル・オラシオ^{1,2}，片岡一則^{2,3}
- 14:00-15:30 【一般演題】DDS，イメージング (5) （Ⅰ 基盤マテリアル，Ⅱ 基盤技術，Ⅲ 基礎臨床）
- 座長：大谷 亨（神戸大学大学院工学研究科）
- 2B-06-Ⅱ **活性保持型 PEG 化技術およびポリ擬ロタキサン技術の融合によるインスリンの制御放出**
¹熊本大学大学院生命科学研究部，²熊本大学リーディング大学院 HIGO プログラム
○東 大志¹，弘津辰徳^{1,2}，本山敬一¹，有馬英俊^{1,2}

- 2B-07-Ⅱ ROS を感知してルチンを放出する高分子ミセル型 ROS スカベンジャーの開発**
¹東京大学大学院工学系研究科, ²ナノ医療イノベーションセンター, ³東京大学政策ビジョン研究センター
 ○中村直人^{1,2}, 吉永直人^{1,2}, 安楽泰孝^{1,2}, オラシオカブラル^{1,2}, 片岡一則^{2,3}
- 2B-08-Ⅱ PEG に対する抗体産生と抑制に関する研究**
¹東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター医用エンジニアリング研究部, ²北九州市立大学
 ○白石貢一¹, 望月慎一², 櫻井和朗², 横山昌幸¹
- 2B-09-Ⅱ 多孔質超薄膜の創製と新規浮遊細胞用ライブイメージングツールへの応用**
¹東海大学大学院工学研究科応用理化学専攻, ²東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター
 ○青木拓斗¹, 張 宏², 岡村陽介^{1,2}
- 2B-10-Ⅱ 温度応答性蛍光分子を内包した生体不活性ポリマーミセルによる細胞内温度の評価**
 東京大学大学院工学系研究科
 ○浅輪健太¹, 久代京一郎, 高井まどか
- 2B-11-Ⅱ 生体組織イメージングへの応用を目指した撥水性超薄膜の表面改質**
¹東海大学大学院工学研究科応用理化学専攻, ²東海大マイクロ・ナノ研究開発センター, ³北海道大学電子化学研究所
 ○鎗野目健二¹, 張 宏², 青木拓斗¹, 川上良介³, 根本知己³, 岡村陽介^{1,2}
- 2B-12-Ⅱ 腫瘍新生血管標的ペプチドを結合した温度応答性リポソームのがん治療 DDS としての機能**
¹大阪府立大学大学院工学研究科, ²大阪大学大学院理学研究科
 ○林 孝彰¹, 弓場英司¹, 原田敦史¹, 青島貞人², 河野健司¹

15:30-16:30 【ポスタービューイング/ポスター発表】（F会場）

C会場（2F 桃源）午前

9:30-10:30 【一般演題】高分子材料（I）（I 基盤マテリアル, II 基盤技術, III 基礎臨床）
 座長：武田直也（早稲田大学先進理工学部）

- 2C-01-Ⅰ 機能性部位を導入した側鎖型液晶高分子の相転移挙動を利用したバイオマテリアルの創製**
¹関西大化学生命工, ²関西大 ORDIST
 ○間嶋健矢¹, 井上泰彰¹, 河村暁文^{1,2}, 宮田隆志^{1,2}
- 2C-02-Ⅰ 光により集合する光応答性高分子微粒子の調製と医用材料修復への応用**
¹関西大化学生命工, ²関西大 ORDIST, ³国立循環器病研究センター
 ○澁 高行¹, 劉 懿華³, 河村暁文^{1,2}, 山岡哲二³, 宮田隆志^{1,2}
- 2C-03-Ⅰ DNA 四重鎖ゲルからの薬物徐放挙動の解析**
¹関西大化学生命工, ²関西大医工薬連携研究センター
 ○阪本康太¹, 福島和季¹, 田中静磨¹, 若林建汰¹, 遊上晋佑¹, 葛谷明紀^{1,2}, 大矢裕一^{1,2}
- 2C-04-Ⅰ タンパク質吸着抑制能と薬剤徐放能を有するコンタクトレンズの開発**
¹富山大学大学院理工学教育部, ²富山大学大学院理工学研究部, ³富山大学大学院生命融合科学教育部, ⁴北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス系, ⁵高分子-水界面研究所, ⁶大阪有機化学工業株式会社
 ○小川広晃¹, 中路正^{1,2,3}, 松村和明⁴, 北野博巳⁵, 猿渡欣幸⁶
- 2C-05-Ⅰ リビングラジカル重合法によるポリ酢酸ビニル誘導体の合成と生体親和性評価**
¹山形大学大学院理工学研究科, ²九州大学大学院工学府, ³九州大学先導研, ⁴山形大学有機材料推進本部
 ○関下明日香^{1,2}, 柏崎亜樹³, 小林慎吾³, 田中 賢^{2,3,4}

10:30-11:30 【一般演題】高分子材料 (2) (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)

座長:高橋宏信(東京女子医科大学先端生命医科学研究所)

20-06-Ⅱ 生体適合性ポリマーにおける中間水ダイナミクスの評価

¹株式会社東レリサーチセンター, ²九州大学先端物質化学研究所

○中田 克¹, 石田宏之¹, 古島圭智¹, 河出直哉¹, 中野隆行¹, 児玉尚士¹, 村上大樹², 田中 賢²

20-07-Ⅰ 枝分かれポリグリセロールの枝分かれ度と水和状態の相関性

¹神戸大学大学院工学研究科応用化学専攻, ²九州大学大先端物質化学研究所

○大谷 亨¹, 杉本洋輔¹, 田中 賢²

20-08-Ⅰ 側鎖の官能基による脂肪族ポリカーボネートの含水性の制御と抗血栓性の評価

¹山形大学大学院有機材料システム研究科, ²九州大学先端物質化学研究所

○羽賀悠太¹, 箱崎俊太¹, 田中 賢², 福島和樹¹

20-09-Ⅰ Effect of zwitterionic polymers on insulin aggregation

Japan Advanced Institute of Science and Technology

○Robin Rajan, Kazuaki Matsumura

20-10-Ⅰ ブロックポリマー会合体存在下における細胞増殖と伸展: 会合体形状の効果

¹山形大学大学院有機材料システム研究科, ²山形大学工学部, ³山形大学有機材料フロンティアセンター (FROM), ⁴九州大学先端物質化学研究所

○大治雅史¹, 松崎広大¹, 藤村 望², 土屋 遥³, 田中 賢^{3,4}, 福島和樹^{1,2,3}

C会場 (2F 桃源) 午後

13:00-14:00 【一般演題】高分子材料 (3) (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)

座長: 柿木佐知朗 (関西大学化学生命工学部)

20-11-Ⅱ シアル酸糖鎖修飾型導電性高分子の創製とインフルエンザウイルスの電気的検出

東京医科歯科大学学生体材料工学研究所

○合田達郎, 海 文峰, 堀口諭吉, 松元 亮, 宮原裕二

20-12-Ⅱ グラム陽性菌を選択的に認識するボロン酸修飾デンドリマーの開発

上智大学理工学部物質生命理工学科

○土戸優志, 堀内良介, 橋本 剛, 早下隆士

20-13-Ⅰ 変形体力学によるバルーンカテーテルの引張変形挙動の予測の試み

¹九州大学大学院総合理工学府, ²九州大学応用力学研究所, ³九州大学大学院医学研究院

○鎌田祥平¹, 東藤 貢², 吉屋圭史³, 古山 正³

20-14-Ⅰ 機能性蛋白質を封入した多孔質層状超薄膜の創製と押圧放出挙動

¹東海大学大学院工学研究科応用理化学専攻, ²東海大学医学部再生医療科学, ³東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター

○瀧本 駿¹, 住吉秀明², 稲垣 豊², 岡村陽介^{1,3}

20-15-Ⅲ バイオ界面制御により優れた接着性を示す外科用接着剤の創製

¹筑波大学大学院数理物質科学研究科, ²物質・材料研究機構機能性材料研究拠点

○水田 亮^{1,2}, 伊藤典明^{1,2}, 西口昭広², 田口哲志^{1,2}

14:00-15:30 【一般演題】高分子材料 (4) (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)

座長:小林 純(東京女子医科大学先端生命医科学研究所)

20-16-Ⅰ 高分子ブラシと相互侵入高分子網目を組み合わせた生体親和性薄層ゲルの構築

¹富山大学大学院理工学教育部, ²富山大学大学院理工学研究部, ³富山大学大学院生命融合科学教育部, ⁴高分子-水界面研究所, ⁵大阪有機化学工業

○加藤 響¹, 山澤由佳¹, 中路 正^{1,2,3}, 北野博巳⁴, 猿渡欣幸⁵

- 20-17- I エラスチン類似ポリペプチドの配列設計による自己集合性の制御とハイドロゲルの形成
¹名古屋大学大学院工学研究科, ²名古屋大学ベンチャー・ビジネス・ラボラトリー
 ○鳴瀧彩絵¹, 安永佐和子¹, 奈良俊佑¹, 中嶋優友¹, Duc H. T. Le^{1,2}, 中村 仁¹, 大槻主税¹
- 20-18- I 医療材料への応用を目的とした形状記憶ナノファイバーメッシュの設計と温度応答特性
¹東京理科大学大学院基礎工学研究科, ²物質・材料研究機構国際ナノアーキテクトニクス研究拠点, ³筑波大学大学院数理物質科学研究科
 ○田辺貫太^{1,2}, 新山瑛理^{2,3}, 宇都甲一郎², 菊池明彦¹, 荏原充宏^{1,2,3}
- 20-19- I バイオマスナノファイバー融合素材の骨補填材料への応用
¹富山大学大学院理工学教育部, ²富山大学大学院理工学研究部, ³富山大学大学院生命融合科学教育部, ⁴富山大学水素同位体科学研究センター, ⁵北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス系
 ○増山一平¹, 中路 正^{1,2,3}, 田口 明⁴, 松村和明⁵
- 20-20- II コラーゲンのゲル紡糸：線維配向と直径制御を可能にする連続紡糸技術
¹東京都立産業技術研究センター, ²北海道大学大学院医学研究科, ³八木整形外科病院, ⁴北海道大学国際連携研究教育局
 ○柚木俊二¹, 海老澤瑞枝¹, 畑山博哉¹, 近藤英司², 安田和則^{3,4}
- 20-21- II メディカルデバイスにおけるモルディング製法の与える高分子構造への影響
¹(株)メニコン, ²名古屋工業大学大学院工学研究科, ³名古屋工業大学材料フロンティア研究所
 ○伊藤恵利^{1,2}, 佐竹好輝², 山本勝宏^{2,3}
- 20-22- II メディカルデバイスにおけるモルディング製法の与える高分子機能への影響
¹(株)メニコン, ²名古屋工業大学大学院工学研究科, ³名古屋工業大学材料フロンティア研究所
 ○伊藤恵利^{1,2}, 丸山広美¹, 佐竹好輝², 山本勝宏^{2,3}

15:30-16:30 【ポスタービューイング/ポスター発表】（F会場）

D会場（2F 福寿）午前

9:30-10:30 【一般演題】検査・診断法, バイオセンサー（Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床）
 座長：高井まどか（東京大学大学院工学系研究科）

- 2D-01- II NH₄Cl 刺激による上皮細胞シート基底部の過渡的 pH 変化を指標とした密着結合の評価
 東京医科歯科大学学生体材料工学研究所
 ○合田達郎, 波多野豊晃, 松元 亮, 宮原裕二
- 2D-02- I 医療診断への応用を目指した色素結合微粒子の創製と標的分子に対する応答挙動
¹関西大化学生命工, ²関西大 ORDIST
 ○菅原淳弘¹, 河村暁文^{1,2}, 宮田隆志^{1,2}
- 2D-03- II 細胞外ベシクルの高感度検出のための表面機能化自律駆動マイクロチップの作製
¹東京理科大学基礎工学部材料工学科, ²東京理科大学基礎工学部生物工学科, ³理化学研究所前田バイオ工学研究室
 ○石原 量¹, 中島忠章², 片桐明日香¹, 細川和生³, 前田瑞夫³, 友岡康弘², 菊池明彦¹
- 2D-04- II 炎症マーカーの非標識検出と選択除去を可能にする双性イオン型磁性粒子の調製
¹関西大学大学院理工学研究科, ²関西大学化学生命工学部, ³関西大学 ORDIST
 ○岩崎紗奈¹, 川崎英也^{2,3}, 岩崎泰彦^{2,3}
- 2D-05- I リガンド結合ドメインと形状識別能による構造類似性タンパク質認識ナノ空間の創製
 神戸大学大学院工学研究科
 ○香門悠里, 竹内俊文

10:30-11:30 【一般演題】血液とマテリアル（Ⅰ 基盤マテリアル，Ⅱ 基盤技術，Ⅲ 基礎臨床）
座長：靛島由二（国立医薬品食品衛生研究所）

2D-06-Ⅰ 側鎖導入間隔を拡大した新規 PMEA 類似体の合成と抗血栓性の変化

¹九州大学大学院工学府物質創造工学専攻，²九州大学先端物質化学研究所，³山形大学有機材料システム研究推進本部

○園田敏貴¹，小林慎吾²，田中 賢^{2,3}

2D-07-Ⅰ ポリマー濃縮層が提供する動的界面による血小板接着抑制の効果

京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科

○青木隆史，野神寛太

2D-08-Ⅰ Effects of phosphorylcholine-based polymer coating thickness on silicones

¹東京大学工学系研究科，²東京大学大学院医学系研究科

○葉シュイン¹，肥後圭哉²，原伸太郎²，磯山 隆²，阿部裕輔²，久代京一郎¹，高井まどか¹

2D-09-Ⅲ PMPC グラフト PEEK 心臓弁の短期 *in vivo* 評価

¹国立循環器病研究センター研究所生体医工学部，²東京大学大学院工学研究科

○神戸裕介¹，馬原 淳¹，深澤今日子²，劉 懿華¹，石原一彦²，山岡哲二¹

D会場（2F 福寿）午後

13:00-14:00 【一般演題】再生医療・組織工学（4）（Ⅰ 基盤マテリアル，Ⅱ 基盤技術，Ⅲ 基礎臨床）
座長：寺村裕治（東京大学大学院工学系研究科）

2D-10-Ⅱ 回転浮遊培養を用いた3次元組織塊の構築と自動スクリーニングシステムへの応用

¹大阪大学大学院工学研究科，²株式会社ジェイテックコーポレーション

○植村寿公^{1,2}，上村 葉²，楠本憲司²，桜井靖久²，小野貴弘²，森田健一²，津村尚史²

2D-11-Ⅱ 多糖類ナノファイバー分散培地を用いた間葉系幹細胞の品質保持培養

¹九州大学工学府，²九州大学先端物質化学研究所，³日産化学工業

○厩谷 翠¹，辻ゆきえ²，林 寿人³，岩間武久³，堀川雅人³，木戸秋悟²

2D-12-Ⅱ 膜透過性ペプチド結合 PEG 脂質による細胞接着誘導：3次元組織構築を目指した細胞接着剤

¹東京大学大学院工学研究科バイオエンジニアリング専攻，²ウプサラ大学ルドベック研究所

○寺村裕治^{1,2}，Bo Nilsson²

2D-13-Ⅱ 高分子プリンティング法による温度応答性パターン化表面作製と細胞接着/脱着挙動評価

¹東京理科大学大学院基礎工学研究科，²東京女子医科大学先端生命医科学研究科

○利根川純一^{1,2}，中山正道²，豊島佑樹^{1,2}，菊池明彦¹，大和雅之²，岡野光夫²

2D-14-Ⅱ 温度応答型生分解性インジェクタブルポリマーを用いた幹細胞デリバリー

¹関西大学化学生命工学部，²大阪医科大学，³関西大学 ORDIST，⁴関西大学医工薬連携研究センター

○高井宏樹¹，伊井正明²，能崎優太³，葛谷明紀^{1,3,4}，大矢裕一^{1,3,4}

14:00-15:30 【一般演題】金属・無機材料（5）（Ⅰ 基盤マテリアル，Ⅱ 基盤技術，Ⅲ 基礎臨床）
座長：鈴木 治（東北大学大学院歯学研究科）

2D-15-Ⅲ 水酸アパタイト/コラーゲン-GPTMS 系骨ペーストの急性期における骨組織反応評価

¹明治大学大学院理工学研究科，²九州工業大学大学院工学研究院，³物質・材料研究機構バイオセラミックスグループ，⁴茨城大学大学院理工学研究科

○佐藤 平¹，城崎由紀²，大島 翔^{3,4}，小山富久³，相澤 守¹，菊池正紀³

2D-16-Ⅰ ウサギ大腿骨へ埋植した炭酸アパタイト顆粒における骨置換率の評価

九州大学大学院歯学研究院生体材料学分野

林幸竜朗，土谷 享，杉浦悠紀，○石川邦夫

2D-17-Ⅲ 新しい人工骨、多孔質ハイドロキシアパタイト/コラーゲン複合体の臨床使用

東京医科歯科大学整形外科学分野

○吉井俊貴, 湯浅将人, 新井容嘉, 湯浅将人, 大川 淳, 早乙女進一

2D-18-Ⅲ 生体分解性 WE43 マグネシウム合金の *in vivo* における長期検討

¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科顎顔面外科学分野, ²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科顎口腔外科学分野

○押部成美¹, 丸川恵理子², 原田浩之²

2D-19-Ⅲ Mg スメクタイト粉末の創傷治癒効果の検討

¹山形大学大学院理工学研究科, ²オリンパスヘルモバイオマテリアル (株)

○山本 修¹, カジィ・グルサンアラシャティ¹, 佐々木優^{1,2}

2D-20-Ⅲ シモンコライトの創傷適用による皮膚再生

¹山形大学大学院理工学研究科, ²JFE ミネラル株式会社

○永島美希¹, 中田圭美², 宇田川悦郎², 山本 修¹

2D-21-Ⅲ ハイドロジンカイト粉末による深部皮膚創傷の治癒

¹山形大学大学院理工学研究科, ²JFE ミネラル株式会社

○中山賢典¹, 佐々木優¹, 中田圭美², 宇田川悦郎², 山本 修¹

15:30-16:30 【ポスタービューイング/ポスター発表】 (F会場)

E会場 (2F 平安) 午前

9:30-10:30 【一般演題】マテリアルと細胞 (4) (I 基盤マテリアル, II 基盤技術, III 基礎臨床)

座長: 井上祐貴 (東京大学大学院工学系研究科)

2E-01- I 培養基材の UV/ozone 表面改質を用いたヒト iPS 細胞培養における接着基質コート量の低減

¹慶應義塾大学理工学部機械工学科, ²慶應義塾大学医学部循環器内科学教室, ³慶應義塾大学大学院理工学研究科

○宮田昌悟¹, 遠山周吾², 笠井浩平³, 藤田 淳², 福田恵一²

2E-02- II ゼルゲル転移および自己組織化を生起する細胞内包可能なブロック共重合体の開発

¹東京大学大学院工学系研究科, ²物質材料機構

○秋元 文¹, 高橋こと美¹, 玉手亮多¹, 上木岳士², 吉田 亮¹

2E-03- II 磁性-プラズモンハイブリッドナノ粒子を用いたオートファゴソームの磁気分離

¹北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス系, ²東京大学大学院薬学系研究科, ³大阪大学大学院医学系研究科, ⁴金沢大学医薬保健研究域医学系, ⁵金沢医科大学産科婦人科

○高橋麻里¹, プリヤンク モハン¹, 向井康治朗², 武田裕一³, 松本多圭夫⁴, 松村和明¹, 高倉正博⁵, 新井洋由², 田口友彦², 前之園信也¹

2E-04- II 未分化間葉系細胞とリン酸オクタカルシウムによる三次元複合組織体の構築

¹東北大学大学院歯学研究科顎口腔機能創建学分野, ²東北大学大学院歯学研究科口腔システム補綴学分野, ³東北大学大学院歯学イノベーションリエゾンセンター

○佐藤智哉^{1,2}, 穴田貴久¹, 塩飽由香利^{1,3}, 土屋香織¹, 佐々木啓一², 鈴木 治¹

2E-05- II 破骨細胞を起点とした骨基質配向性制御機構

大阪大学大学院理工学研究科

○小笹良輔, 松垣あいり, 中野貴由

10:30-11:30 【一般演題】マテリアルと細胞 (5) (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)
座長: 秋元 文 (東京大学大学院工学系研究科)

2E-06-Ⅱ ファイバーを用いた選択的な細胞捕捉のためのカチオン性ペプチド設計の検討

¹ 東京大学大学院工学系研究科, ² 群馬県繊維工業試験場, ³ (株) 梁瀬産業社
○吉原彬文¹, 寺村裕治¹, 近藤康人², 須永芳幸³, 高井まどか¹

2E-07-Ⅱ タンパク質非吸着表面での初期細胞接着挙動に与える細胞接着分子の可動性の効果

東京大学大学院工学系研究科
○井上祐貴, 石原一彦

2E-08-Ⅱ 生体骨模倣共培養システムによる骨配向化メカニズムの解明

大阪大学大学院工学研究科
○山崎大介, 松垣あいり, 中野貴由

2E-09-Ⅱ 温度応答性高分子ブラシを修飾した微細構造基板による細胞分離

¹ 東京女子医科大学先端生命医科学研究科, ² 慶應義塾大学薬学部, ³ 早稲田大学大学院先進理工学研究科生命医科学専攻
○長瀬健一^{1,2}, 宿輪理紗^{1,3}, 小沼隆大^{1,3}, 大和雅之¹, 武田直也³, 岡野光夫¹

2E-10-Ⅱ 中間水を有する生体適合性材料上における細胞の接着挙動に関する研究

¹ 九州大学大学院工学府, ² 九州大学先端物質化学研究所, ³ 山形大学有機材料推進本部
○入江俊也¹, 荒津史裕², 柏崎亜樹², 村上大樹^{1,2}, 田中 賢^{1,2,3}

E会場 (2F 平安) 午後

13:00-14:00 【一般演題】マテリアルと細胞 (6) (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)
座長: 長瀬健一 (慶應義塾大学薬学部)

2E-11-Ⅱ リン酸オクタカルシウムが骨芽細胞・骨細胞分化に与える影響の検討

¹ 東北大学大学院歯学研究科顎口腔機能創建学分野, ² 東北大学大学院歯学研究科顎顔面・口腔外科学分野, ³ 東北大学大学院歯学研究科歯学イノベーションリエゾンセンター
○穴田貴久¹, 蔡 優広^{1,2}, 塩飽由香利^{1,3}, 高橋 哲², 鈴木 治¹

2E-12-Ⅱ 上皮成長因子担持金ナノ粒子の特異的アポトーシス誘導活性における脂質ラフトの役割

¹ 物質・材料研究機構(NIMS), ² 農業・食品産業技術総合研究機構, ³ 神奈川大学理学部
○山本翔太¹, 岩丸祥史², 清水善久¹, 山口和夫³, 中西 淳¹

2E-13-Ⅱ がん骨転移による異方性骨微細構造破綻機構

大阪大学大学院工学研究科
○松垣あいり, 木村友美, 関田愛子, 中野貴由

2E-14-Ⅱ 細胞膜上に混在する分子が細胞間相互作用へ及ぼす影響

京都大学ウイルス・再生医科学研究科
○磯部 潤, 有馬祐介

2E-15-Ⅱ 細胞サイズリポソームおよび生細胞への親水性ナノゲルのサイズ依存的取り込み挙動

¹ 神戸大学大学院工学研究科, ² 北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス系
市川晶子¹, 下川直史², 高木昌宏², ○北山雄己哉¹, 竹内俊文¹

14:00-14:50 【一般演題】マテリアルと細胞 (7) (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)
座長: 松元 亮 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所)

2E-16-Ⅱ ヒト間葉系幹細胞とコラーゲン足場材料の培養系に及ぼす糖化反応の影響

¹ 九州大学大学院総合理工学府, ² 九州大学応用力学研究所
○近藤聖奈¹, 中牟田信昌¹, 東藤 貢²

- 2E-17- I **酸化処理 UHMWPE 擬似摩耗粉の *in vitro* 生体反応に及ぼす Vitamin E 含有の効果**
¹ 帝人ナカシマメディカル株式会社, ² 京都大学大学院工学研究科
 ○湯谷知世¹, 植月啓太¹, 富田直秀²
- 2E-18-III **Comparison of gene expression profiles of human macrophages stimulated by conventional and vitamin E-blended ultra-high molecular weight polyethylene particles of orthopedic implants**
 Department of Orthopedic Surgery, Faculty of Medicine and Graduate School of Medicine, Hokkaido University
 ○Mohamad Alaa Terkawi, Masanari Hamasaki, Daisuke Takahashi, Norimasa Iwasaki
- 2E-19- II **抗体固定化フィルターによる免疫細胞の捕集**
¹ 東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ² 芝浦工業大学システム理工学部, ³ 大阪大学免疫学フロンティア研究センター, ⁴ 京都大学大学院工学研究科
 ○木村 剛¹, 中村奈緒子², 橋本良秀¹, 坂口志文³, 木村俊作⁴, 岸田晶夫¹

15:30-16:30 **【ポスタービューイング/ポスター発表】（F会場）**

第2日 11月21日（火）ポスター

F会場（1F 展示ホール） 討論時間：15：30～16：30

【金属・無機材料（2）】（Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床）

- 2P-001- II **根尖歯周組織の再生誘導に用いるバイオガラス-ゼラチンスポンジの作製と評価**
¹ 九州歯科大学口腔保存治療学分野, ² 日本歯科薬品株式会社, ³ 京都大学ウイルス・再生医科学研究所生体材料学分野
 ○鷲尾絢子¹, 手嶋浩貴², 横田兼欣², 北村知昭¹, 田畑泰彦³
- 2P-002- I **創傷治癒剤として効果を示す塩基性亜鉛塩の開発**
¹ JFE ミネラル株式会社, ² 山形大学大学院理工学研究科
 ○中田圭美¹, 中山賢典², 永島美希², 佐々木優², 宇田川悦郎¹, 山本 修²
- 2P-003- I **ウサギ大腿骨へ埋植した炭酸アパタイト顆粒の吸収性に関する評価**
 九州大学大学院歯学研究院
 ○土谷 享, 林幸壱朗, 杉浦悠紀, 石川邦夫
- 2P-004- II **歯科治療に用いられる多孔質インプラントの製作に関する研究**
¹ 大分工業高等専門学校機械工学科, ² 大分工業高等専門学校専攻科機械・環境システム工学専攻
 ○坂本裕紀¹, 都甲 光²
- 2P-005- I **置換イオン含有量の異なるアパタイトの水和構造の評価**
¹ 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科, ² 山形大学有機材料システム研究推進本部, ³ 九州大学先端物質化学研究所
 ○岡田正弘¹, 小椋景子², 田中 賢^{2,3}, 松本卓也¹
- 2P-006- I **炭酸アパタイト顆粒の *in vitro* における溶解性試験**
 九州大学大学院歯学研究院生体材料学分野
 ○林幸壱朗, 土谷 享, 杉浦悠紀, 石川邦夫
- 2P-007- I **液相合成法にて形成した ZnO/HAp 被膜の抗菌性能**
 北見工業大学工学部地球環境工学科
 ○大津直史, 角地優子, 大槻飛翔
- 2P-008- I **炭酸アパタイト顆粒のイヌ抜歯窩における吸収性評価**
 九州大学大学院歯学研究院生体材料学分野
 ○杉浦悠紀, 林幸壱朗, 土谷 享, 石川邦夫

- 2P-009- I **Au-Nb 合金の熱処理条件が磁化率に与える影響**
¹徳島大学大学院生体材料工学分野, ²徳島大学歯学部, ³徳島大学大学院歯科放射線学分野
 ○宇山恵美¹, 児玉彩子², 菅田栄一³, 浜田賢一¹
- 2P-010- I **リン酸ハカルシウムを前駆体としたフルオロアパタイトの溶解性に関する研究**
¹東北大学大学院歯学研究科顎口腔機能創建学分野, ²東北大学大学院歯学研究科歯学イノベーション
 ションリエゾンセンター
 筒井 生¹, ○穴田貴久¹, 塩飽由香利^{1,2}, 土屋香織¹, 鈴木 治¹
- 2P-011- I **炭酸アパタイトとコラーゲン複合化による柔軟性のある骨再建用バイオマテリアルの開発**
¹徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔外科学分野, ²福岡歯科大学生体工学分野, ³九州大学歯学研
 究院生体材料学分野
 ○秋田和也¹, 福田直志¹, 藤澤健司¹, 宮本洋二¹, 都留寛治², 石川邦夫³
- 2P-012- I **人工関節コーティング用途向けハイドロキシアパタイトの紹介**
 富田製薬株式会社
 ○宮城大輔
- 2P-013- I **ハイドロキシアパタイトエレクトレットの帯電特性に与える熱処理条件の影響**
 東京医科歯科大学生体材料工学研究所
 ○堀内尚紘, 大塚啓介, 野崎浩佑, 中村美穂, 永井亜希子, 山下仁大
- 2P-014- I **カルシウム欠損がβ型リン酸三カルシウムエレクトレットの電気特性に与える影響**
¹東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ²千葉工業大学
 ○野崎浩佑¹, 遠藤敬幸², 堀内尚紘¹, 山下仁大¹, 橋本和明², 位高啓史¹, 永井亜希子¹

【高分子材料 (2)】 (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床)

- 2P-015- I **タンパク質固定化生分解性フィルムへの骨芽細胞様細胞の付着および増殖**
¹日本大学松戸歯学部歯科臨床検査医学, ²鶴見大学歯学部歯科理工学
 ○布施 恵¹, 福本雅彦¹, 早川 徹²
- 2P-016- I **N-アセチルグルコサミン糖鎖修飾絹フィブロインの血管再生用基材としての特性評価**
¹農業・食品産業技術総合研究機構生物機能利用研究部門, ²農業・食品産業技術総合研究機構
 高度解析センター, ³株式会社バイオ未来工房, ⁴国立医薬品食品衛生研究所, ⁵九州大学先端物質
 化学研究所
 ○後藤洋子¹, 山崎俊正², 石塚保行³, 新見伸吾⁴, 伊勢裕彦⁵
- 2P-017- I **多剤徐放制御を可能とするヒアルロン酸-高分子ミセル複合化ゲルの開発**
 東京農工大学大学院工学府応用化学専攻
 ○高橋京香, 高見 拓, 村上義彦
- 2P-018- I **ゾル-ゲル転移を利用して形成した多糖-高分子ミセル複合化シートの開発**
 東京農工大学大学院工学府応用化学専攻
 ○伊藤正規, 高見 拓, 村上義彦
- 2P-019- I **組織接着性材料への応用を目指した多糖-高分子ミセル複合化ゲルの開発**
 東京農工大学大学院工学府応用化学専攻
 ○清水大輔, 高見 拓, 村上義彦
- 2P-020- I **RAFT 重合によるタンパク質固定化用高分子の合成と機能評価**
 東京農工大学大学院工学府応用化学専攻
 ○森 悠太, 高見 拓, 村上義彦
- 2P-021- I **PEG 化リシン連鎖ペプチドと DNA との複合体形成における PEG 鎖の寄与の解析**
 東京大学大学院工学系研究科マテリアル工学専攻
 ○佐々木一貴, 山崎裕一
- 2P-022- I **ポリプロピレングリコール系ブロック共重合体の分子運動性と血液適合性について**
 東海大学大学院工学研究科医用生体工学専攻
 ○奥田知熙, 望月 明
- 2P-023- I **エパールを幹ポリマー-PMEA を側鎖ポリマーとする血液適合性材料の開発**
¹山形大学大学院理工学研究科, ²山形大学工学部バイオ化学工学科, ³九州大学先端物質化学
 研究所
 ○佐藤力哉^{1,2}, 吉田 航¹, 長根元貴², 星野文香², 田中 賢³

- 2P-024- I ホスト-ゲスト相互作用を利用した刺激応答性ヒドロゲル上での細胞の力学的制御**
¹ 大阪大学大学院基礎工学研究科, ² Institute of Biomaterials and Biomolecular Systems (IBBS), University of Stuttgart, ³ Institute for Physical Chemistry, University of Heidelberg, ⁴ 京都大学物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS), ⁵ 大阪大学大学院理学研究科
 ○中畑雅樹¹, Marcel Hörning², Philipp Linke³, 山本暁久⁴, Mariam Veschgini³, Stefan Kaufmann³, 高島義徳⁵, 原田 明⁵, 田中 求^{3,4}
- 2P-025- I シルクフィブロインの二次構造解析と機能性ペプチド固定化**
¹ 奈良女子大学生生活環境学部, ² 国立循環器病研究センター研究所生体医工学部, ³ 農研機構, ⁴ 信州大学繊維学部
 ○橋本朋子¹, 中村優佳¹, 佐野奈緒子¹, 山岡哲二², 亀田恒徳³, 玉田 靖⁴, 黒子弘道¹
- 2P-026- I 金属-高分子間相互作用を用いたハイドロゲル材料の作製**
 京都大学ウイルス・再生医科学研究所
 ○穴水美菜, 田畑泰彦
- 2P-027- I 生体環境近傍でマルチ応答性を有する新規スルホベタインポリマーの創製**
 東北大学大学院工学研究科
 ○大石佳史, 森本展行, 山本雅哉
- 2P-028- I オリゴ核酸架橋多糖ナノゲルの設計と機能**
¹ 京都大学大学院工学研究科, ² JST-ERATO
 ○澤田晋一^{1,2}, 岩本大和¹, 佐々木善浩¹, 秋吉一成^{1,2}
- 2P-029- III 親水性 uHA/PLLA メンブレンを用いた骨再生誘導の評価**
 東京医科歯科大学医歯学総合研究科インプラント・口腔再生医学分野
 ○井汲玲雄, 立川敬子, 宮原宇将, 秋野徳雄, 春日井昇平
- 2P-030- I 高強度ポリマー材料の歯科矯正ワイヤーへの応用**
¹ 東京医科歯科大学大学院医科学総合研究科先端材料評価学分野, ² 東京医科歯科大学大学院医科学総合研究科咬合機能矯正学分野
 ○宇尾基弘¹, 和田敬広¹, 前川 南², 簡野瑞誠², 小野卓史²
- 【マテリアルと細胞 (2)】 (I 基盤マテリアル, II 基盤技術, III 基礎臨床)**
- 2P-031- II 硬さの異なるゼラチンハイドロゲルとマクロファージとの相互作用**
 京都大学ウイルス・再生医科学研究所
 ○森岡智子, 城潤一郎, 田畑泰彦
- 2P-032- II 低密度バイオマテリアルの新規安全性評価法の検討**
¹ 信州大学先鋭領域融合群バイオメディカル研究所, ² 信州大学医学部運動機能学教室, ³ 信州大学大学院総合理工学研究科生命医工学専攻, ⁴ 信州大学医学部保健学科
 ○羽二生久夫^{1,2,3}, 傍島 淳², 青木 薫⁴, 石田 悠^{1,3}, 上田勝也^{1,3}, 岡本正則², 加藤博之², 齋藤直人^{1,3,4}
- 2P-033- II 再構築ヒト表皮モデル LabCyte を用いた皮膚刺激性試験動物実験代替法の性能検証**
¹ 国立医薬品食品衛生研究所医療機器部, ² 株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング
 ○加藤玲子¹, 小森谷薫¹, 宮島敦子¹, アミシワタル², 加藤雅一², 畠中内子², 靄島由二¹
- 2P-034- II 中間水含有高分子の界面微細構造上における細胞接着挙動の直接観察**
¹ 九州大学先端物質化学研究所, ² 山形大学有機材料システム研究推進本部
 ○村上大樹¹, 平井晴香¹, 田中 賢^{1,2}
- 2P-035- I 分子量の異なるタイコ酸模倣リン酸エステルポリマーのマクロファージ取込み能評価**
¹ 関西大学化学生命工学部, ² 関西大学大学院理工学研究科
 ○大高晋之¹, 井上直之², 岩崎泰彦¹
- 2P-036- II Epidermal growth factor enhances cellular uptake of polystyrene nanoparticles by clathrin-mediated endocytosis**
¹ Cellular functional nanomaterials group, research center for functional materials, National institute for materials science, ² Graduate school of advanced science and engineering, Waseda university
 ○Le Thi Minh Phuc^{1,2}, Akiyoshi Taniguchi^{1,2}

- 2P-037-Ⅱ 電荷を有する高分子基板上への細胞の初期接着挙動の細胞生物学的手法による再解析**
¹山形大学有機材料システム研究推進本部, ²山形大学フロンティア有機材料システム創成フレックス大学院, ³物質・材料研究機構, ⁴京都大学化学研究所
 ○干場隆志^{1,2,3}, 吉川千晶³, 榊原圭太⁴
- 2P-038-Ⅱ ナノパターン基板上での間葉系幹細胞の増殖と抗炎症サイトカイン分泌**
 京都大学ウイルス・再生医科学研究所
 ○成田 萌, 田畑泰彦
- 2P-039-Ⅱ 細胞低接着性コラーゲンを培養足場とした線維芽細胞スフェロイドの遺伝子発現量の変化**
¹近畿大学生物理工学部, ²新田ゼラチン株式会社
 ○森本康一¹, 國井沙織¹, 伊田寛之², 平岡陽介², 加藤暢宏¹
- 2P-040-Ⅰ フィブロンекチン由来ペプチドの固定化による ePTFE 表面の細胞機能化**
¹関西大学化学生命工学部, ²関西大学科学技術先端機構
 ○西岡 悟¹, 平野義明^{1,2}, 柿木佐知朗^{1,2}

【血液とマテリアル (2)】 (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床, Ⅳ 産業基盤)

- 2P-041-Ⅳ 代替可塑剤を利用した non-DEHP 血液バッグの SAGM 加赤血球濃厚液保存能評価**
¹国立医薬品食品衛生研究所, ²東京大学医学部附属病院, ³川澄化学工業, ⁴新日本理化
 ○野村祐介¹, 福井千恵¹, 森下裕貴¹, 河上強志¹, 池田敏之², 向井智和³, 柚場俊康³, 稲村健一³, 山岡久時³, 宮崎謙一⁴, 岡崎 仁², 靄島由二¹
- 2P-042-Ⅳ 代替可塑剤を利用した non-DEHP 血液バッグの MAP 加赤血球濃厚液保存能評価**
¹国立医薬品食品衛生研究所, ²東京大学医学部附属病院, ³川澄化学工業, ⁴新日本理化
 ○森下裕貴¹, 福井千恵¹, 野村祐介¹, 河上強志¹, 池田敏之², 向井智和³, 柚場俊康³, 稲村健一³, 山岡久時³, 宮崎謙一⁴, 岡崎 仁², 靄島由二¹
- 2P-043-Ⅳ 開放実験系及び閉鎖型拍動循環回路による血液適合性評価マーカの性能検証**
¹国立医薬品食品衛生研究所, ²東京大学, ³早稲田大学, ⁴九州大学
 ○靄島由二¹, 橋井則貴¹, 井上祐貴², 鮫島 啓³, 松橋祐輝³, 保延慶紀³, 福井千恵¹, 戸井田 瞳¹, 野村祐介¹, 森下裕貴¹, 平井晴香⁴, 小林慎吾⁴, 田中 賢⁴, 岩崎清隆³, 石原一彦²
- 2P-044-Ⅳ 医療用プラスチック製品の各種可塑剤に対する炎症誘導能評価法の再現性・頑健性評価**
¹東京大学大学院工学系研究科, ²国立医薬品食品衛生研究所, ³化合物安全性研究所, ⁴ニプロ,
⁵Ig-M, ⁶食品薬品安全センター, ⁷東京大学大学院医学系研究科
 ○藤澤彩乃¹, 福井千恵², 野村祐介², 森下裕貴², 奥村佳奈子³, 加藤洋一⁴, 秦 信子⁵, 古谷真美⁶, 渡辺美香⁶, 鄭 雄一^{1,7}, 靄島由二²
- 2P-045-Ⅳ 開放系及び空気非接触/拍動循環型閉鎖系回路による血液適合性試験の比較**
¹国立医薬品食品衛生研究所医療機器部, ²東京大学大学院工学系研究科, ³早稲田大学理工学術院先進理工学研究科, ⁴九州大学先端物質化学研究所
 ○宮島敦子¹, 小森谷薫¹, 比留間瞳¹, 加藤玲子¹, 井上祐貴², 鮫島 啓³, 松橋祐輝³, 保延慶紀³, 平井晴香⁴, 小林慎吾⁴, 田中 賢⁴, 岩崎清隆³, 石原一彦², 靄島由二¹
- 2P-046-Ⅰ 血管内治療デバイスへの応用に向けたフッ素添加ダイヤモンドライクカーボン膜の評価**
¹お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科, ²東京大学医学部附属病院輸血部, ³慶應義塾大学大学院理工学研究科, ⁴東海大学医学部附属八王子病院放射線科, ⁵東京大学医科学研究所附属病院脳腫瘍外科, ⁶日本赤十字社血液事業本部
 ○堀川あゆみ^{1,2}, 長谷部光泉^{3,4}, 前川駿人³, 田中 実⁵, 鈴木哲也³, 高橋孝喜⁶

【DDS, イメージング (2)】 (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床, Ⅳ 産業基盤)

- 2P-047-Ⅱ 多糖のゾルゲル転移を利用した温度応答性マイクロ粒子の開発**
 東京農工大学大学院工学府応用化学専攻
 ○佐藤拓未, 高見 拓, 村上義彦
- 2P-048-Ⅰ チミン含有両親媒性ブロック共重合体を用いた ATP 応答性ナノ集合体の調製**
¹関西大化学生命工, ²関西大 ORDIST
 ○河村暁文^{1,2}, 土谷 平¹, 宮田隆志^{1,2}

2P-049-Ⅱ ナノ構造体シリカからの薬剤徐放挙動と生体適合性の評価

¹北海道大学大学院歯学研究院, ²北海道大学大学院歯学院, ³北海道大学病院, ⁴北海道大学大学院歯学研究科

○阿部薫明^{1,2}, 中西 康^{1,3}, 坂東洋祐⁴, 成徳英理⁴, 江良裕子⁴, 飯田順一郎^{1,2}, 佐野英彦^{1,2}, 吉田靖弘^{1,2}

2P-050-Ⅱ 細胞内環境応答性ペプチドナノファイバーを用いた抗原デリバリーシステムの開発

京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科

○和久友則, 小枝清花, 渋谷忠杜, 田中直毅

2P-051-Ⅱ 化合物ライブラリーおよび天然物を基にした新奇性が高い光機能性分子の開発

東京医科歯科大学生体材料工学研究所

○影近弘之, 平野智也

【医療用デバイス (2)】 (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床, Ⅳ 産業基盤)

2P-052-Ⅰ 傾斜機能型ナノハイブリッドチタン上における間葉系幹細胞の影響

¹愛知学院大学歯学部有床義歯学講座, ²岩手医科大学歯学部補綴・インプラント学講座, ³岩手医科大学歯学部化学講座細胞情報科学分野

○武部 純¹, 横田 潤², 秦 正樹¹, 青柳敦士¹, 松川良平¹, 帖佐直幸³, 石崎 明³

2P-053-Ⅲ ナノ秒パルスレーザー照射ジルコニアの骨適合性

¹鶴見大学歯学部歯科理工学講座, ²東北大学大学院工学研究科, ³東北大学大学院医工学研究科

○廣田正嗣¹, 原井智広², 水谷正義², 厨川常元³, 早川 徹¹

2P-054-Ⅲ 骨粗鬆症モデルラットによるリン酸オクタカルシウムの骨組織応答性に関する研究

¹東北大学医学部整形外科, ²東北大学大学院歯学研究科, ³東北大学大学院歯学イノベーションリエゾンセンター

○馬場一慈¹, 穴田貴久², 森 優¹, 塩飽由香利^{2,3}, 井樋栄二¹, 鈴木 治²

【再生医療・組織工学 (2)】 (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床, Ⅳ 産業基盤)

2P-055-Ⅰ 骨形成因子を捕捉する新規医用材料の性能評価

¹国立医薬品食品衛生研究所, ²株式会社リボミック, ³東京大学医科学研究所

○野村祐介¹, 福井千恵¹, 森下裕貴¹, 中村義一^{2,3}, 靱島由二¹

2P-056-Ⅰ 抗炎症性マクロファージ動員のための疎水性薬剤徐放化フィブリンハイドロゲルの作製

京都大学ウイルス・再生医科学研究所

○田中隆介, 田畑泰彦

2P-057-Ⅰ 新規亜鉛ガラス塗布材による歯根面のコラーゲン分解抑制

株式会社ジーシー

○吉満亮介, 熊谷知弘

2P-058-Ⅳ QCM 法による医用高分子材料の血液適合性評価におけるデータ解析手法の検討

¹帝京平成大学薬学部, ²国立医薬品食品衛生研究所

○伊佐間和郎¹, 河上強志², 靱島由二²

2P-059-Ⅰ ゼラチン用量の変化がエピガロカテキンガラート結合ゼラチンの骨再生能に及ぼす影響

¹大阪歯科大学歯科矯正学講座, ²大阪歯科大学中央歯学研究所, ³京都工芸繊維大学バイオベースマテリアル学専攻, ⁴大阪歯科大学小児歯科学講座

○原 瑛紀¹, 本田義知², 田中知成³, 橋本正則², 有田憲司^{2,4}, 松本尚之¹

2P-060-Ⅱ 三次元構造を有する脱細胞化組織を用いた硬組織再構築

¹芝浦工業大学システム理工学部, ²東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ³東北大学大学院歯学研究科, ⁴大阪工業大学工学部, ⁵理化学研究所多細胞システム形成研究センター, ⁶京都大学

○中村奈緒子¹, 木村 剛², 山田将博³, 藤里俊哉⁴, 辻 孝⁵, 岩田博夫⁶, 岸田晶夫²

2P-061-Ⅲ 多分岐 PEG 修飾脱細胞化心膜の開発と癒着防止材への応用

¹東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ²信州大学繊維学部

○橋本良秀¹, 山下暁立¹, 根岸 淳², 張 永巍¹, 木村 剛¹, 船本誠一¹, 岸田晶夫¹

- 2P-062-Ⅱ ヘパリン修飾温度応答性表面と増殖因子および細胞とのアフィニティー結合制御**
東京女子医科大学先端生命医科学研究所
○小林 純, 秋山義勝, 大和雅之, 岡野光夫
- 2P-063-Ⅰ 脱細胞化血管上での *in vitro* 細胞挙動における脱細胞化法の影響**
¹東京医科歯科大学学生体材料工学研究所, ²芝浦工業大学システム理工学部, ³大阪工業大学
○木村 剛¹, 近藤真由香¹, 中村奈緒子², 橋本良秀¹, 藤里俊哉³, 岸田晶夫¹
- 2P-064-Ⅱ Development of three-dimensional fat tissues as a hypodermis layer**
¹大阪大学大学院工学研究科先端細胞制御化学 (TOPPAN) 共同研究講座, ²大阪大学大学院工学研究科, ³JST-さがけ
○Fiona Louis¹, 北野史朗¹, 入江新司¹, 松崎典弥^{1,2,3}
- 2P-065-Ⅱ 幹細胞から骨芽細胞への分化を短期間に誘導する細胞低接着性コラーゲン**
¹近畿大学生物理工学部, ²新田ゼラチン株式会社
○國井沙織¹, 堀内喜高¹, 山本 衛¹, 伊田寛之², 平岡陽介², 森本康一¹
- 2P-066-Ⅱ 転写因子タンパク質導入による細胞機能制御**
東京工業大学生命理工学院
○島村萌里, 眞下泰正, 三重正和, 小島英理
- 2P-067-Ⅱ タンパク質ハイドロゲルを利用した三次元神経組織の構築**
東京工業大学 生命理工学院
○長田紗也加, 水口佳紀, 眞下泰正, 三重正和, 小島英理

【検査・診断法, バイオセンサー (2)】 (Ⅰ 基盤マテリアル, Ⅱ 基盤技術, Ⅲ 基礎臨床, Ⅳ 産業基盤)

- 2P-068-Ⅱ ナノインプリント製フォトニック結晶を用いるDNA非標識検出法の検討**
¹大阪府立大学大学院工学研究科, ²大阪府立大学大学院生命環境科学研究科, ³JST ささがけ
○西辻凌輔¹, 末吉健志¹, 三宅眞実², 久本秀明¹, 遠藤達郎^{1,3}
- 2P-069-Ⅰ ウイルス認識ナノ粒子を用いた電気抵抗ナノパルス法によるウイルス計測**
¹東京医科歯科大学学生体材料工学研究所, ²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
○堀口諭吉¹, 合田達郎¹, 松元 亮¹, 武内寛明², 山岡昇司², 宮原裕二¹
- 2P-070-Ⅱ アレルゲン糖タンパク質を認識可能な配向性分子インプリント空間の構築**
神戸大学大学院工学研究科
佐伯哲郎, 砂山博文, ○北山雄己哉, 竹内俊文
- 2P-071-Ⅱ 肝がんマーカー糖タンパク質を高感度検出可能な分子インプリントセンシングシステム**
神戸大学大学院工学研究科
森重貴裕, 香門悠里, 高野恵里, ○北山雄己哉, 竹内俊文
- 2P-072-Ⅱ ポストインプリンティング修飾による前立腺癌特異抗原インプリント空間の高機能化**
神戸大学大学院工学研究科
松本大樹, 砂山博文, 高野恵里, ○北山雄己哉, 竹内俊文

第39回日本バイオマテリアル学会大会 ハイライト講演

日本バイオマテリアル学会では、第39回日本バイオマテリアル学会大会において発表される講演の中から18件をハイライト講演として選定いたしました。是非、本年におけるバイオマテリアル研究の最前線をご聴講ください。

(発表時間順)

1B-02-II がんイメージングと治療のための近赤外光励起型ナノセラノスティクス粒子

○上村真生, 大本 歩, 関山翔太, 梅澤雅和, 邱 信程, 曾我公平
(東京理科大学基礎工学部, 東京理科大学イメージングフロンティアセンター, 台湾國立清華大學生醫工程與環境科學系)

1C-02-I β型リン酸三カルシウムとシアノアクリレートを利用した新規な骨接着剤の物性評価

○會田周平, 柴田裕史, 福山茂雄, 目黒 嵩, 橋本和明
(千葉工業大学大学院工学研究科, 株式会社福山医科)

1C-03-III 表面改質したポリエーテルエーテルケトンの骨結合性評価

○毛利和磨, 北村昌大, 笠原真二郎, 宮本健史, 松本守雄
(日本特殊陶業株式会社技術開発本部, 慶応義塾大学医学部)

1E-08-III 高圧処理による母斑組織の不活化・再移植と自家培養表皮を用いた皮膚再生臨床研究

○森本尚樹, 馬原 淳, 光井俊人, 覚道奈津子, 楠本健司, 山岡哲二
(関西医科大学形成外科学講座, 国立循環器病研究センター研究所生体医工学部)

1B-11-I ペプチド修飾 PEG 脂質を用いた流動性平面膜上における細胞接着挙動

○野入信人, 久代京一郎, 寺村裕治, 高井まどか
(東京大学大学院工学系研究科)

1E-12-III 椎間板再生治療における組織修復材の開発

○須藤英毅, 辻本武尊, 東藤正浩, 山田勝久, 大西貴士, 岩崎倫政
(北海道大学大学院医学研究院脊椎・脊髄先端医学分野, 北海道大学大学院医学研究院整形外科教室, 北海道大学大学院工学研究院)

1D-13-I 血管内皮新生を目的としたチタン粒子焼結による多孔性チタン表面の軟組織癒合性評価

○関根一光, 山下菊治, 浜田賢一
(徳島大学大学院医歯薬学研究部)

1C-14-I ミネラル架橋・金属架橋を有するリン酸化キトサンナノ粒子の創製と機能化

○小門佳奈子, 福井有香, 藤本啓二
(慶應義塾大学大学院理工学研究科)

1C-15-I ICG 誘導体結合マイクロバブルによる近赤外蛍光-超音波イメージングシミュレーション

○江島将彦, 吉田憲司, 豊田太郎, 林 秀樹
(千葉大学工学研究科人工システム科学専攻, 千葉大学フロンティア医工学センター, 東京大学大学院総合文化研究科)

- 1C-18-Ⅲ 免疫賦活化能を向上させた2本鎖メッセンジャーRNA ワクチンの開発**
○内田智士, 吉永直人, 柳原歌代子, 弓場奨司, 位高啓史, 片岡一則
(東京大学, 川崎市産業振興財団, 大阪府立大学工学院)
- 2E-05-Ⅱ 破骨細胞を起点とした骨基質配向性制御機構**
○小笹良輔, 松垣あいり, 中野貴由
(大阪大学大学院工学研究科)
- 2E-08-Ⅱ 生体骨模擬共培養システムによる骨配向化メカニズムの解明**
○山崎大介, 松垣あいり, 中野貴由
(大阪大学大学院工学研究科)
- 2D-09-Ⅲ PMPC グラフト PEEK 心臓弁の短期 *in vivo* 評価**
○神戸裕介, 馬原 淳, 深澤今日子, 劉 懿華, 石原一彦, 山岡哲二
(国立循環器病研究センター研究所生体医工学部, 東京大学大学院工学研究科)
- 2E-09-Ⅱ 温度応答性高分子ブラシを修飾した微細構造基板による細胞分離**
○長瀬健一, 宿輪理紗, 小沼隆大, 大和雅之, 武田直也, 岡野光夫
(東京女子医科大学先端生命医科学研究所, 慶應義塾大学薬学部, 早稲田大学大学院先進理工学研究科生命医科学専攻)
- 2C-14-Ⅰ 機能性蛋白質を封入した多孔質層状超薄膜の創製と押圧放出挙動**
○瀧本 駿, 住吉秀明, 稲垣 豊, 岡村陽介
(東海大学大学院工学研究科応用理化学専攻, 東海大学医学部再生医療科学, 東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター)
- 2D-16-Ⅰ ウサギ大腿骨へ埋植した炭酸アパタイト顆粒における骨置換率の評価**
林幸壱朗, 土谷 享, 杉浦悠紀, ○石川邦夫
(九州大学大学院歯学研究院生体材料学分野)
- 2C-18-Ⅰ 医療材料への応用を目的とした形状記憶ナノファイバーメッシュの設計と温度応答特性**
○田辺貫太, 新山瑛理, 宇都甲一郎, 菊池明彦, 荏原充宏
(東京理科大学大学院基礎工学研究科, 物質・材料研究機構国際ナノアーキテクニクス研究拠点, 筑波大学大学院数理物質科学研究科)
- 2D-19-Ⅲ Mg スメクタイト粉末の創傷治癒効果の検討**
○山本 修, カジィ・グルサンアラシャティ, 佐々木優
(山形大学大学院理工学研究科, オリnpasテルモバイオマテリアル (株))

特別講演・受賞講演

A会場（5F 大ホール）

11月20日（月）

- | | |
|-------------|---|
| 9:40-10:25 | 特別講演 1 |
| 1A-SL1 | 「生体の機能を超える歯科材料による新しい歯科治療」
田上順次（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科） |
| 10:30-11:20 | 日本バイオマテリアル学会 科学奨励賞受賞講演 |
| 1A-SL2 | 「生体計測・制御システムに向けたプリンテッドナノ
薄膜の創製」
藤枝俊宣（早稲田大学高等研究所・JST さきがけ） |
| 1A-SL3 | 「ポリロタキサンによる細胞内脂質環境の調節と疾患
治療への応用」
田村篤志（東京医科歯科大学学生体材料工学研究所） |
| 17:40-18:10 | 日本バイオマテリアル学会賞（科学）受賞講演 |
| 1A-SL4 | 「生分解性高分子の合成手法開拓と刺激応答型医用
材料としての応用」
大矢裕一（関西大学化学生命工学部） |

生体の機能を超える歯科材料による新しい歯科治療

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野 教授

田上順次 (Tagami Junji)



歯科用接着材が実用化されて 40 年が経過し、その性能は著しく向上した。同時に歯の形態と色調の回復や再構築に用いられるコンポジットレジン (Bis-GMA のレジンと無機材料の微粒子からなる複合材料) の性能も改善され、新たな治療法が普及している。この Direct Bonding とよばれる方法では、歯型を用いて金属やセラミックなどで製作した冠などを歯にかぶせる従来の歯科治療と異なり、一回の治療で完結し、残された健康な歯質をほとんど削ることなく、かつ自然な形態と色調に回復させることができる。

演者はこうした接着歯学といわれる専門領域で、臨床、材料研究にかかわってきた。その中で、現在の材料に至るまでの経緯、歯科材料に求められる特性、現在の問題点について提示させていただく。材料開発にかかわる方々の参考にしていただけたら幸甚である。

歯科用接着材では、一般にメタクリル酸エステルモノマーが用いられ、極性基として分子末端にリン酸基やカルボキシル基などを有している。さらにその使用環境から、疎水性基と親水性基とのバランスも重要である。接着の対象はほとんどがハイドロキシアパタイトであるエナメル質と、有機質と水分とを多く含む象牙質である。このうち象牙質への接着が課題であったが、現在では歯質の引っ張り強さを超える接着強さが得られるようになった。同時に接着界面の化学的安定性も歯質の化学的安定性よりも優れたものとなっている。

この接着材を利用して、十分な強度、歯と同様の色調、細菌の付着しにくい光沢感のある表面性状を有するコンポジットレジンにより、即日で歯の再構築が可能となった。臨床場においては、求められる特性は前歯あるいは臼歯といった部位によって異なってくる。色調に関しては、歯の色は個人により、また部位によっても異なるため、歯科医の経験や技術に左右されることが多い。材料の屈折率や透過性を調整することで、周囲の歯の色と適合しやすいカメレオン効果を有するものも登場し、臨床術式は著しく簡便化された。

残された問題点としては、重合に際しての体収縮があり、これにより歯につめた材料が接着界面で剥離してしまうことがある。そのために臨床現場では少量を充填して重合を繰り返すといった方法がとられている。有機化学、無機化学、触媒技術、色彩学など広範な技術を必要とする材料であり、様々な新材料が開発されている。しかしながら臨床的な諸問題を解決するために改良すべきことは依然として多く残されている。

<略歴>

1980 年 東京医科歯科大学歯学部卒、1984 年 同大学院修了 (歯学博士)
 1984-1994 年 同助手、1987-1988 年米国 Medical College of Georgia 非常勤講師、
 1994-1995 年 奥羽大学歯学部教授
 1995 年-現在 東京医科歯科大学教授 (2000 年以降 同大学院教授)
 2005-2014 年 同歯学部長、2013 年-現在 同理事・副学長

<受賞>

日本接着歯学会学術功労賞 (2005 年)、King's College of London 名誉学位 (Honoris Causa, 2008 年)、Mahidol University 名誉学位 (Honoris Causa, 2015 年)、International Academy of Adhesive Dentistry The First Honorary Member (2017 年)、International Association for Dental Research Wilmer Souder Award (Distinguished Scientist Award, 2017 年)、日本歯科審美学会学術功労賞 (2017 年)

1A-SL2

生体計測・制御システムに向けたプリンテッドナノ薄膜の創製

早稲田大学高等研究所・JST さきがけ

藤枝俊宣 (Fujie Toshinori)

再生医工学・ロボティクス・情報通信の進展により、21 世紀の医療では生体－人工物の統合が実現しつつあり、細胞治療・ブレインマシンインターフェース・テーラーメイド医療などの革新的な医療技術が提唱されている。他方、これらの先進技術を実社会で安心・安全に利用するためには、生体特有の化学的・物理的・機械的性質に馴染むバイオマテリアルを設計することは極めて重要である。このような背景のもと、我々のグループでは数十～数百ナノメートルの膜厚に対して数平方センチメートル以上の面積を持つ自己支持性高分子ナノ薄膜（ナノシート）を作製し、ナノシートの極めて高い柔軟性に基づく密着性を明らかにすると共に、粘着剤を使わずに生体組織表面を被覆可能なバイオマテリアル（ナノ絆創膏）の開発を進めてきた[1]。

本研究では、このようなナノシートの特異な材料形態を、細胞外マトリックス(ECM)や表皮の微細構造に擬え、機能性素子（分子・細胞・エレクトロニクス）を生体にシームレスに導入するためのプラットフォームに応用することを目的とした。具体的には、ナノシートの作製方法に印刷技術を融合させることで、細胞・機能性分子・導電性素材を印刷・担持させた「プリンテッドナノ薄膜」を創製し、生体計測・制御システムに応用した。

例えば、ソフトリソグラフィや分子集合技術を利用することで、ECM 様の微細構造（微細溝・マイクロパターン・多孔質）をナノシートに付与し、魔法の絨毯のように細胞や薬剤を積載して運ぶ（移植する）「ナノカーペット」を開発した[2]。この時、薬剤の代わりに温度感受性色素を導入すれば、生体組織の発熱状態をマッピングする「ナノシート温度計」が得られる[3]。さらに、ナノシートの表面に導電性高分子であるポリ 3, 4-エチレンジオキシチオフェン:ポリスチレンスルホン酸(PEDOT:PSS)や導電性ナノインクをグラビアコートやインクジェットにて印刷することで、皮膚に直接貼付して生体電位を計測可能な導電性ナノシート（電子ナノ絆創膏）を開発した[4], [5]。

これらの例のように基材から剥離させて生体に貼付できるナノシートには、様々なもの（細胞・感受性色素・導電性インク）を搭載するプラットフォームとしての拡張性の高さが根底にある。現在プリンテッドナノ薄膜を基盤技術として、デバイス工学との融合を深めており、ナノシートを基材とした無線通信用アンテナやインプラントブルデバイスの開発を進めている。本研究成果をもとに、この先日本が得意とする再生医療・情報通信・ロボティクス分野との融合研究を深化させることで、患者個人の生体情報をもとにした医療のテーラーメイド化を目指したい。

[1] T. Fujie, *Polym. J.*, **2016**, 48, 773. [2] T. Fujie, *et al*, *Adv. Mater.*, **2014**, 26, 1699. [3] T. Miyagawa, *et al*, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2017**, 8, 33377. [4] A. Zucca, *et al*, *J. Mater. Chem. C*, **2015**, 3, 6539. [5] M. Okamoto, *et al*, *J. Mater. Chem. C*, **2017**, 5, 1321.

1A-SL3

ポリロタキサンによる細胞内脂質環境の調節と疾患治療への応用

東京医科歯科大学生体材料工学研究所

田村篤志 (Tamura Atsushi)

遺伝子変異やタンパク質の機能異常と同様に、脂質の生合成・分布・代謝・排泄の異常は様々な疾患の原因となることが指摘されている。脂質異常が関連する代表的疾患として、高脂血症などの慢性疾患や、リソゾームに脂質が蓄積するライソゾーム病などの先天性疾患は生命に関わる重篤な疾患であり、脂質恒常性の正常化は重要な課題である。上記疾患に対して、様々な医薬品が開発されているものの、既存の医薬品だけでは完治しない、あるいは治療効果が低い脂質異常症も多数存在することから新規医薬品に対する期待度は依然として高い。脂質やステロール類と相互作用し包接錯体を形成する化合物として環状糖類シクロデキストリンが知られているが、これまでは医薬品の成分として利用されてきた。しかしながら近年、ヒドロキシプロピルβ-シクロデキストリン (HP-β-CD) がニューマンピック病 C 型や動脈硬化症の治療に有効であることから注目が集まっている。β-CD 誘導体の主な作用機序は細胞膜中のコレステロールへの作用、あるいは細胞内のコレステロールへの作用によるものであると考えられている。しかし、β-CD は細胞膜中のコレステロールと積極的に作用するため、細胞内コレステロールへ作用するためには高濃度で作用させる必要がある。さらに生体内では、β-CD は血中のリポタンパク質や赤血球との作用や、低分子量であることによる速やかな腎排泄により、非常に高濃度での投与が必要とされる。

細胞内局所の脂質へアプローチするための方法として、β-CD の空洞部にポリマー鎖が貫通した超分子ポリロタキサン (PRX) の利用を考案した。PRX 上の β-CD 空洞部はポリマー鎖で占有された構造であるため、PRX は細胞膜中のコレステロールとは作用せずエンドサイトーシスにより細胞内へと取り込まれる。軸ポリマー中に細胞内環境で分解する化学結合を導入することで細胞内特異的に PRX 構造の崩壊、ならびに細胞内局所で β-CD が放出されるため細胞内部のコレステロールと効率的に作用することが可能となる。さらに、PRX は β-CD 空洞部に由来する毒性・障害性を回避すること、ならびに PRX は β-CD と比較して高分子量であるため血中半減期が延長されることを明らかにしている。すなわち、PRX は細胞内へと β-CD を送達し、疾患治療へと利用するためのプラットフォームとして理想的な構造体である。本発表では、PRX による疾患治療、ならびに PRX によって誘起される細胞応答についてこれまでの研究成果を報告する。

生分解性高分子の合成手法開拓と刺激応答型医用材料としての応用

関西大学化学生命工学部

大矢裕一 (Ohya Yuichi)

体内で使用するバイオマテリアルには、分解・劣化してはならないものと分解・消失することが望まれるものがある。後者では、種々に異なる体内環境下での分解性の制御や分解性と物性との両立を達成し、望まれる機能を発現することが重要である。

我々のグループでは、生体内で分解・吸収される生分解性高分子として、脂肪族ポリエステル類を一成分とする共重合体群の新規合成手法の開拓とそれらの生医学材料としての応用について検討を重ねてきた。特に、疎水性の脂肪族ポリエステル類と親水性のモノマー・ポリマーとの共重合により、分解性の制御だけでなく、界面特性や相分離構造、集合構造の制御、それらによる機能発現が可能であり、バイオマテリアルとして有用であることを示してきた[1]。

近年では、ポリエチレングリコールと脂肪族ポリエステルとのブロック共重合体を用いて体温に応答してゾルからゲルへと転移するインジェクタブルポリマー(IP)の開発について検討している[2]。生分解性IPは、DDSや再生医療、癒着防止材などの応用が期待されている。我々は、従来の温度応答型生分解性IPの欠点である、ゲル状態での力学的強度が低いことや、溶解に時間を要し臨床現場で用時調製できないこと、体液などで高度に湿潤した環境下では長時間ゲル状態を維持できないこと、などを解決する手法を開発した[3-8]。

本講演では、生分解性高分子の新規合成手法の開拓とその例として生分解性IPの開発について紹介する。

【参考文献】

- [1] Y. Ohya, A. Takahashi, K. Nagahama: Adv. Polym. Sci., 247, pp.65-114 (2012).
- [2] K. Nagahama, A. Takahashi, Y. Ohya: React. Funct. Polym., 73, pp.979-985 (2013).
- [3] K. Nagahama, T. Ouchi, Y. Ohya: Adv. Funct. Mater., 18, pp.1220-1231 (2008).
- [4] K. Nagahama, Y. Ohya et al.: J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem., 46, pp.6317-6332 (2008).
- [5] Y. Yoshida, A. Takahashi, A. Kuzuya, Y. Ohya: Polym. J., 46, pp.632-635 (2014)
- [6] Y. Yoshida, Y. Ohya et al.: ACS Biomater. Sci. Eng., 3, pp.56-67 (2017).
- [7] Y. Yoshida, Y. Ohya et al.: Biomat. Sci., 5, pp.1304-1314 (2017).
- [8] Y. Yoshida, Y. Ohya et al.: J. Biomat. Sci. Polym. Ed., 28, pp.1427-1443 (2017).

シンポジウム 1

A会場（5F 大ホール）

11 月 20 日（月） 13:00-15:00

「口腔から始めるバイオマテリアル」

1A-S1-1 「放射光を用いた口腔組織およびバイオマテリアル分析」
宇尾基弘（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科）

1A-S1-2 「歯科用インプラントの表面改質」
早川 徹（鶴見大学歯学部歯科理工学講座）

1A-S1-3 「歯周組織再生のマテリアル」
菅谷 勉（北海道大学大学院歯学研究院）

1A-S1-4 「MTA セメントの臨床展開」
興地隆史（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科）

1A-S1-1

放射光を用いた口腔組織およびバイオマテリアル分析

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 先端材料評価学分野

宇尾基弘 (Uo Motohiro)

金属材料は強度、靱性、成型性など多くの優れた特性を持つことから、現在でも歯科材料の中心にある。しかしながら口腔内や体内は金属材料には過酷な環境であり、厳格な安全性審査を経た歯科用金属材料でも、稀に生体内での溶出に起因すると思われる金属アレルギーなど種々の疾患の原因とされることがある。これら病変の診断に、また金属材料をはじめとするバイオマテリアルの生体親和性や生体内挙動の評価にも、組織内の微量溶出元素分布の可視化や組織内での化学状態評価が必要とされている。しかしながら患者からの検体採取には制限があり試料量が少ないこと、組織中の微量元素濃度が低いこと、また微量元素が局在し分布が不均一であるため総量分析では検出が難しいこと、など様々な制限があり、高感度で微小領域での分析が可能な新たな評価法が求められている。

そこで演者らは高強度で指向性が高い放射光 X 線を用いた、微小部蛍光 X 線分析(SR-XRF)や X 線吸収微細構造測定(XAFS)をヒト組織標本に含まれる微量元素や微小異物の同定に応用してきた。歯科用チタンインプラントでは XAFS により周囲組織中の Ti が金属 Ti や TiO_2 として存在すること、薬剤関連顎骨壊死(MRONJ)では SR-XRF により腐骨中に特徴的な高濃度の Cu の局在が見られることを見いだしている。また金属修復物に隣接した口腔扁平苔癬組織においても歯科用合金由来と推定される Ag などの微量金属元素を検出し、溶出金属と疾患との関連を示唆する結果を得ている。この他に肺（塵肺症）、股関節（人工股関節置換）などについても、組織中での微量金属元素分布を評価し、病態と元素分布や濃度との関係性を評価している。

これらの結果は生物標本中の微量・局在金属元素分析への放射光 X 線を用いた微小部・微量分析手法の高い有用性を示唆するものと考えられる。本講演では組織中の微量元素分布や元素の化学状態評価から得られる、バイオマテリアルの生体材料の安全性評価や病態分析への応用の可能性について発表する。

1A-S1-2

歯科用インプラントの表面改質

鶴見大学歯学部歯科理工学講座

早川 徹 (Hayakawa Tohru)

歯科用チタンインプラントの骨適合性を向上させるために、サンドブラスト処理、酸エッチング処理など様々な表面改質が報告されている。我々は、アパタイト薄膜コーティング、細胞接着タンパク質や DNA の固定化、レーザ加工などについて検討している。

新規なアパタイト薄膜コーティング法として分子プレカーサー法を開発した。分子プレカーサー法は、EDTA-Ca 錯体/リン酸塩 ($\text{Ca/P}=1.67$) のエタノール溶液をチタン基板に塗布後、 600°C で 2 時間加熱処理するだけで密着性に優れた炭酸含有アパタイト薄膜を形成できる方法である。動物埋入実験によって良好な骨形成が確認されている。

骨芽細胞の積極的な応答を期待して、フィブロネクチン、コラーゲンなどの細胞接着タンパク質のチタンへの固定化を検討し、トレシルクロリド法を開発した。チタン基板にトレシルクロリド ($\text{CF}_3\text{CH}_2\text{SO}_2\text{Cl}$) を直接塗布し、 37°C で 2 日間放置するだけでチタン表面がトレシル化される。その後、細胞接着タンパク質溶液にトレシル化チタンを浸漬して、細胞接着タンパク質を固定化する。細胞培養実験や動物埋入実験によって固定化の効果について確認した。骨シマトタンパク質など骨形成に関与するタンパク質の遺伝子発現が向上することも見出した。このトレシルクロリド法を用いて、DNA を塩基性タンパク質であるプロタミンと組み合わせてチタンに積層固定し、その効果についても検討した。

さらに、ナノ秒パルスレーザ照射によりチタン表面に生体活性に優れた微細構造を形成した。この微細構造は骨硬組織ならず、歯肉軟組織の付着も向上させることを確認した。

分子プレカーサー法、トレシルクロリド法、どちらも大型の装置を必要としない簡便な表面改質法である。また、どちらも溶液法であるので、複雑な形態な基材への応用も可能である。極細チタンファイバーからなる 3 次元多孔質チタンウェブに対して、分子プレカーサー法によるアパタイト薄膜形成およびトレシルクロリド法による細胞接着タンパク質固定化を試み、骨適合性について検討した。今後、新たな 3 次元スキャホールドとしての展開が期待される。

近年、チタンに代わるインプラント素材として注目されているジルコニアに対しても、分子プレカーサー法によるアパタイト薄膜コーティングおよびナノ秒パルスレーザ加工について検討しており、良好な結果を得ている。

1A-S1-3

歯周組織再生のマテリアル

北海道大学大学院歯学研究院

菅谷 勉 (Sugaya Tsutomu)

歯周組織再生療法では骨移植、組織再生誘導法 (GTR 法)、エナメルマトリックスタンパク (エムドゲイン) が 20 年以上前から臨床応用されており、また昨年末には FGF-2 製剤 (リグロス) が再生治療薬として保険適応になった。骨移植では自家骨から人工骨まで多くのマテリアルが用いられてきたが、その中で臨床成績が最も良いのは自家骨である。しかし自家骨でさえ歯周組織再生量は十分とは言えず、さらに供給に制限があることが臨床的に大きな問題となる。人工骨の多くは骨形成量が少ないだけでなく、セメント質や歯根膜の形成には効果的でないことが欠点とされている。GTR 法は手術が難しいわりに再生量が少なく、臨床で行われる機会は著しく減少している。遮蔽膜には様々なポリマーが使われてきたが、非吸収性膜の方が吸収性膜より臨床成績は良いにもかかわらず、術後マネジメントが難しいこともあり、非吸収性膜はすでに国内市場から撤退している。エムドゲインや最後発であるリグロスでさえ、操作は簡便だが歯周組織再生量は GTR 法と同程度にとどまっている。さらに、骨移植や GTR 法、エムドゲインを組み合わせ併用しても、単独で用いた場合に比べて再生量は増加しないことがメタ分析で明らかとなっている。

歯周組織再生療法で最も重要なのはセメント質の形成と考えられるが、垂直歯根破折や穿孔部を 4-META/MMA-TBB レジン (スーパーボンド) で接着すると、炎症は生じないが歯根表面に露出したレジン上にはセメント質の形成はみられない。このことから、セメント質形成には被形成面の性状が重要な要因の一つと考えられる。根面の性状を改変するために酸処理などが試みられてきたが、臨床的には有効性が認められていない。一方、リン酸化ブルランと mineral trioxide aggregate (MTA) を混合したシーラーで根管充填すると、カルシウムが放出され根尖孔部にセメント質が形成されることが動物実験で確認されており、セメント質形成にはカルシウムの局所濃度を上げることは有効な方法の一つと考えられる。しかし、この目的で歯周組織再生療法に応用可能なマテリアルはない。

歯周組織再生は、6mm の欠損に対して 4mm 再生すると臨床的に大きな意義があるので、目指す再生量は決して大きくはないが、現在はいずれの方法でも 2mm 程度の再生しか得られておらず、歯周組織再生療法は未だ発展途上なのが現状と言えよう。

1A-S1-4

MTA セメントの臨床展開

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 歯髄生物学分野

興地隆史 (Okiji Takashi)

MTA (mineral trioxide aggregate) セメントは、90 年代後期に製品化された無機生体材料である。その初発製品 (ProRoot MTA) は、いわばポルトランドセメント (いわゆる土木建築用セメント) を歯科用に改変したもので、ケイ酸三カルシウムなどのポルトランドセメント成分に造影材が添加された水硬性セメントである。ProRoot MTA は、本邦では覆髄材としての薬事法 (現 薬機法) 承認のもと市販されているが、諸外国ではこれに加えて逆根管充填、根管壁穿孔封鎖、apexification など、多方面で臨床応用されている。

ProRoot MTA が高い生体親和性や良好な封鎖性を備えることは多数の報告で確認されており、直接覆髄後の被蓋硬組織形成のみならず、逆根管充填や穿孔封鎖後にセメント質様硬組織形成を伴う治癒が期待できることも組織学的に報告されている。本製品が、上述の用途で従来の材料と同等以上の臨床成績を示すとの報告も重ねられている。

MTA セメントは生体機能性材料に分類されるが、その機序の多くの部分は、硬化反応の過程で生成する水酸化カルシウムに由来する Ca^{2+} , OH^- の持続的溶出で説明される。また、MTA セメントの表面や象牙質との界面において、リン酸イオン存在下でリン酸カルシウム塩の結晶の析出が生じ、本材の生体親和性や封鎖性に寄与と考えられている。演者らは、MTA セメントによる直接覆髄後に osteopontin, dentin matrix protein-1 などの硬組織関連タンパクが MTA・歯髄界面近傍に集積することを確認しており、本材による被蓋硬組織形成機構の一端を説明する所見と考えている。

ところが ProRoot MTA は、硬化時間が長いこと、操作性が良好と言えないこと、歯を変色させる場合があることなど、理想的といえない性質も有している。従って現在では、これらの点の改良を意図した製品が続々と開発されており、新たな歯科材料のジャンルが形成されつつある状況と言っても過言でない。

本講演では、各種 MTA セメントの生体材料としての特性や開発状況とともに、その臨床展開を概観したい。

一般演題（口頭発表）

11月20日（月）

A会場（5F 大ホール）

マテリアルと細胞（1） 1A-01－1A-03

B会場（5F 小ホール）

DDS, イメージング（1） 1B-01－1B-07

マテリアルと細胞（2） 1B-08－1B-14

マテリアルと細胞（3） 1B-15－1B-21

C会場（2F 桃源）

医療用デバイス（1） 1C-01－1C-07

DDS, イメージング（2） 1C-08－1C-14

DDS, イメージング（3） 1C-15－1C-21

D会場（2F 福寿）

金属・無機材料（1） 1D-01－1D-07

金属・無機材料（2） 1D-08－1D-12

金属・無機材料（3） 1D-13－1D-16

金属・無機材料（4） 1D-17－1D-21

E会場（2F 平安）

再生医療・組織工学（1） 1E-01－1E-07

再生医療・組織工学（2） 1E-08－1E-14

再生医療・組織工学（3） 1E-15－1E-21

1A-01- I

ポリアミンへのランダムなカルボキシル基導入による双性イオン型高分子の作製

¹東京大学大学院工学系研究科, ²Uppsala University

○東 倫之¹ (Azuma Tomoyuki), 高井まどか¹, 寺村裕治^{1,2}

【緒言】

ホスホベタイン基、カルボキシベタイン基およびスルホベタイン基を側鎖に有する双性イオン型高分子は低タンパク質吸着を示すことが知られている。それぞれの双性イオン型高分子のモノマーユニットは、カチオン性官能基とアニオン性官能基を同時に有する。本研究では、カチオン性のポリマーブラシにアニオン性官能基をランダムに導入することで、双性イオン型ポリマーブラシを作製した。2-Aminoethyl methacrylate (AEMA) ポリマーブラシ(0.56 ± 0.01 chains/nm²)を無水コハク酸で処理することで AEMA の一級アミンをカルボキシル基に変換し、無水コハク酸溶液の濃度を変化させることで一級アミンとカルボキシル基の比を制御した。

【実験】

0.001、0.1 および 10 mg/mL の無水コハク酸溶液を作製し、poly(AEMA)ブラシを処理した。それぞれの表面を poly(AEMA)-COOH_XX (XX は無水コハク酸の濃度)と呼ぶこととする。それぞれの表面へのタンパク質および細胞の接着を評価した。モデルタンパク質としてアニオン性の Albumin、中性の IgG およびカチオン性の Lysozyme を用いた。

【結果と考察】

XPS により無水コハク酸の反応率を評価したところ、poly(AEMA)-COOH_10 では $88 \pm 11\%$ 、poly(AEMA)-COOH_0.1 では $50 \pm 3\%$ 、poly(AEMA)-COOH_0.001 では $28 \pm 10\%$ であった。これは、poly(AEMA)-COOH_0.1 が一級アミンとカルボキシル基をほとんど同数ランダムに有しており、双性イオン型高分子であることを示唆する結果である。poly(AEMA)-COOH_0.1 への Albumin および IgG の吸着はほとんど見られず、特に Albumin の吸着量は 29 ± 8 ng/cm² であった。これは、カルボキシベタイン型ポリマーブラシに匹敵する値である(D. Nagasawa et al., 2015)。また、マウス線維芽細胞の接着挙動を評価したところ、播種二日後においても poly(AEMA)-COOH_0.1 への細胞接着はほとんど見られなかった。これらの結果により、poly(AEMA)-COOH_0.1 が他の双性イオン型高分子同様、優れた低タンパク質吸着を示すことが示された。

1A-02- I

リン酸カルシウム被覆 Mg 合金表面の *in vitro* における骨形成能評価

¹物質・材料研究機構構造材料研究拠点, ²物質・材料研究機構機能性材料研究拠点

○廣本祥子¹ (Hiromoto Sachiko), 野田なほみ¹, 山崎智彦²

【緒言】

生体吸収性/生体内溶解性 Mg 合金は骨固定材やステントなどへの適用が検討され、生体内での Mg 合金の溶解速度制御および生体適合性向上の必要性が明らかになっている。本研究グループでは、水酸アパタイト (HAp) およびリン酸八カルシウム (OCP) 被膜を開発した。これらの被覆により培養液中およびマウス皮下での Mg 合金の腐食溶解が抑制され、両被覆表面に軟組織の接着がみられた¹⁾。一方、*in vitro* では、表面の結晶粒子密度が高い HAp 被覆表面では細胞はよく接着・増殖したが、結晶粒子密度の低い OCP 被覆表面では細胞の接着が抑制された²⁾。本研究においては、HAp および OCP 被覆が骨芽細胞の骨形成能に及ぼす影響を検討した。

【実験】

Mg-3mass% Al-1mass% Zn (AZ31) 合金ディスク (15 mm^φ x 2 mm^t) 表面に水溶液浸漬処理により HAp および OCP を被覆した。試験片表面に MC3T3-E1 を 5×10^4 cells/mL 播種し、1 日目と 8 日目に培養液を交換して 15 日間培養した。培養 2 日、8 日および 15 日目に ALP、タンパク質量および Mg 濃度測定を行った。培養液には α -MEM+10% FBS を用い、比較材に研磨まま AZ31 およびガラス板を用いた。細胞なしの培養液浸漬試験も同様の手順で行った。

【結果と考察】

研磨まま AZ31 表面では細胞の接着・増殖がほとんどみられなかった。HAp 被覆 AZ31 およびガラス表面では、培養 15 日目に ALP 活性の顕著な増加がみられた。一方、OCP 被覆 AZ31 表面では細胞の局所的な接着・増殖はみられたが、ALP の発現はみられなかった。これらの結果より、Mg 合金の HAp 被覆により細胞の接着・増殖を促進して骨形成能を促進できる一方、OCP 被覆においては細胞の接着・増殖が抑制されるために骨形成がほとんど促進されないことがわかった。マウス皮下では OCP 被覆表面にも軟組織の接着がみられたことから、OCP 被覆表面についてはさらに検討が必要と考える。

1) S. Hiromoto et al., Acta Biomater., 11, 520 (2015). 2) S. Hiromoto et al., STAM, 18, 96 (2017).

1A-03- I

高分子／水界面に形成される温度応答性界面構造の細胞接着制御への応用

¹九州大学大学院工学府, ²九州大学先端物質化学研究所, ³山形大学有機材料システム研究推進本部

○北原洋子¹ (Kitahara Yoko), 村上大樹^{1,2}, 田中 賢^{1,2,3}

【緒言】

生体組織との接触下で使用される高分子材料には、生体親和性の付与が必須である。我々は、生体親和性に優れた高分子材料の多くは、その水界面に数十ナノメートルスケールの規則的な界面構造を自発的に発現する現象を報告してきた。生体親和性に優れ、温度応答性を有する Poly[2-(2-methoxyethoxy)ethyl methacrylate] (PMe2MA)を用い、PMe2MA/PBS 界面の原子間力顕微鏡観察を行った。界面構造が下部臨界溶液温度よりわずかに高い温度で温度可逆的に発現・消失したことから、この界面構造は高分子/水界面領域の面内相分離現象に起因して形成されており、界面には「Polymer-rich 相 (界面構造の凸部)」と「Water-rich 相 (凹部)」が存在していると考えられる。本研究では、この面内相分離現象と細胞接着との相関性を明らかにするために、タンパク質吸着と細胞接着の温度依存性を調べた。

【実験】

細胞外マトリックスの主要タンパク質であるフィブロネクチン (FN) の吸着量を、μBCA 法により測定した。細胞接着挙動の観察は PET 基板にコートした PMe2MA 上で、NIH3T3 細胞を用いて行った。

【結果と考察】

37 °C から 22 °C への温度変化に伴う面内相分離構造の消失に伴い、FN 吸着量の明らかな減少が確認されたことから、FN は面内相分離構造における「Polymer-rich 相」に選択的に吸着していることが示唆された。細胞接着挙動の観察では、37 °C において PMe2MA 上に接着した細胞は 22 °C においても脱着することはなかったが、PMe2MA 上に FN をコートし、無血清培地中で同様の実験を行うことで温度低下に伴って脱着する様子が確認された。37 °C において FN を足場として接着した細胞が、22 °C における FN の脱離に伴い接着の足場を失ったために脱着したと考察している。この結果は PMe2MA が FN のような特定のタンパク質だけを選択的に吸着・脱離可能であることを示唆しており、今後は細胞種を増やして検討を行うことで詳細を明らかにしたいと考えている。講演ではその検討内容についても紹介する予定である。

1B-01- II

温熱療法と paclitaxel 徐放の併用を可能にするナノファイバーの開発

¹筑波大学大学院数理物質科学研究科, ²物質・材料研究機構 MANA, ³大阪大学医学部附属病院未来医療開発部,

⁴東京理科大学大学院基礎工学研究科

○新山瑛理^{1,2} (Niiyama Eri), 宇都甲一郎², 李 千萬³, 荏原充宏^{1,2,4}

【緒言】

体外からの高周波や磁場照射を利用して行われる温熱療法は、毒性が低いことと他の治療法と併用することで高い治療効果が得られるとして注目されている。肺がん等の治療に用いられる paclitaxel は、温熱と組み合わせることでその抗がん効果を増強させることが報告されている¹。これまでに我々は、癌治療のための様々なナノファイバーの研究を行ってきたが^{2,3,4}、本研究では局所温熱療法と化学療法との相乗効果に着目し、併用療法により効果的ながん治療を実現するためのナノファイバーの開発を行った。

【実験と結果】

温熱療法と化学療法の併用のため、同時に2つの療法を実現するために、以下の方法でナノファイバーを作製した。生分解生能を有する poly(ϵ -caprolactone)、交流磁場に応答して自己発熱を生じる磁性ナノ粒子($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)、そして paclitaxel を溶解・分散させた混合溶液を用意した。これを電界紡糸することで、磁性ナノ粒子および paclitaxel を内包したナノファイバーを作製した。肺腺癌細胞(NCI-H23)を用いて温熱と薬物の細胞毒性評価を行い、実際に作製したナノファイバーをモデルマウスに用いた抗癌活性について評価を行った。いずれの実験においても、ファイバー未使用時や抗がん剤のみ担持させたファイバーを使用した系と比較して、温熱と薬物の併用による相乗効果と考えられる、強力な殺傷効果を示す結果を得られた。本発表では、ファイバーの各種物性に加え、薬物放出評価および細胞・動物実験における結果について報告する。

参考文献 (1) A. Cividalli, et al., Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., 44, 407-412 (1999) (2) R. Garrett et al., Fibers., 3, 478-490 (2015), (3) Y.J. Kim et al., Adv. Funct. Mater., 23, 5753-5761 (2013) (4) T. Okada et al., Materials, 9, 12 (2016)

1B-02-Ⅱ

がんイメージングと治療のための近赤外光励起型ナノセラノスティクス粒子

¹ 東京理科大学基礎工学部, ² 東京理科大学イメージングフロンティアセンター, ³ 台湾國立清華大學生醫工程與環境科學系

○上村真生^{1,2} (Kamimura Masao), 大本 歩¹, 関山翔太¹, 梅澤雅和¹, 邱 信程³, 曾我公平^{1,2}

【緒言】

近年、組織透過性の高い近赤外(NIR)光を励起光として、可視アップコンバージョン(UC)および波長 1000 nm を超える(OTN-) NIR 発光を示す希土類含有セラミックスナノ粒子(RED-CNPs)の光線力学療法(PDT)への応用が注目されている。本研究では、NIR 光(980 nm)励起により赤色(660 nm)の可視 UC 発光および OTN-NIR 発光(1550 nm)を示す RED-CNPs である希土類ドーパ NaYF₄ ナノ粒子の表面に、赤色光に応答して一重項酸素を発生する光増感剤である Chlorin e6 (Ce6)とポリエチレングリコール(PEG)を固定することで、体内深部における PDT と蛍光イメージングを同時に行うための新たなセラノスティクスナノ粒子(PEG/Ce6-NPs)を作製し、その機能評価を行った。

【実験】

PEG/Ce6-NP のマウス由来大腸がん細胞(Colon-26)に対する細胞毒性と PDT の効果を、WST 法によって評価した。さらに、PEG/Ce6-NPs を担癌モデルマウスの腫瘍部位に投与し、PDT の効果を評価した。また同時に、OTN-NIR 蛍光 *in vivo* イメージングシステムにより、腫瘍部位の OTN-NIR 蛍光を観察した。

【結果と考察】

PEG/Ce6-NPs を培養細胞に添加して NIR 光を照射したところ、高い細胞毒性を示すことがわかった。さらに、担がんマウスを用いて PDT の効果を検討したところ、PEG/Ce6-NPs を投与して NIR 光を照射した場合は、腫瘍の成長をほとんど抑制できることが明らかになった。また、腫瘍に投与した PEG/Ce6-NPs が発する強い OTN-NIR 蛍光を、マウスを切開することなく観察することもできた。これらの結果から、作製した PEG/Ce6-NPs は、PDT と OTN-NIR 蛍光イメージングを同時に行うことが可能な、新たなセラノスティクス材料としての利用が期待される。

1B-03-Ⅱ

金ナノロッドのフォトサーマル効果を用いた経皮送達システム

¹ 熊本大学大学院自然科学研究科, ² 熊本大学大学院生命科学研究部, ³ 熊本大学大学院先端科学研究部

○宮本悠司¹ (Miyamoto Yuji), Aung Thu Haine¹, 橋本雄太¹, 古閑雄貴¹, 本山敬一², 有馬英俊², 新留琢郎³

【緒言】

経皮からの薬物送達 (TDS) は適用時間、血中薬物濃度のコントロールが、注射、経口投与と比べ容易である。本研究では多糖のゲルパッチを用い、金ナノロッドのフォトサーマル効果で促進される経皮送達システムを開発した。

【実験】

ゲルパッチの主成分として微生物由来の多糖であるゲランガムを用いた。それにコンドロイチン硫酸を混合し、アニオン性とした。これを乾燥させ、FITC ラベルしたオボアルブミン (FITC-OVA) あるいはその抗原ペプチド (FITC-OVA-peptide) と、カチオン性のポリアリルアミンで表面コートした金ナノロッドを含む水溶液で膨潤させた。このゲルをマウス背部に貼り付け、近赤外光を照射した。その後、皮膚の薄膜切片を作製し、蛍光顕微鏡で皮内への移行を観察し、また、ヘマトキシリン染色によって皮内の好中球の有無、角質層の肥厚が見られるかを評価した。さらに、ELISA 法によりマウス血中の OVA 特異的な IgG1 の抗体産生を調べた。

【結果と考察】

金ナノロッドを塗布したゲルに近赤外光を照射するとマウス背部のゲルパッチの温度はすぐに 45℃近辺へと上昇し、その後一定となった。蛍光顕微鏡で皮膚薄膜切片を観察した結果、光照射していないものと比較して、多くの FITC-OVA、FITC-OVA-peptide が皮内へと移行している様子が観察された。また、光照射したマウスの血清中に抗 OVA IgG1 の誘導を確認した。さらに、*in vivo* の場合においてヘマトキシリン染色を行ったところ、温度上昇の見られたサンプルにおいて、皮膚組織内の好中球の増加、角質層の肥厚は観察されなかった。これらの結果より、本手法を用いることで炎症を誘導することなく、皮内へタンパク質あるいはペプチドを移行させることが可能であることが分かった。

1B-04-Ⅱ

原子間力顕微鏡（AFM）を用いたリポソームの液中観察および粒子径分布解析

東レリサーチセンター材料物性研究部

○村司雄一（Muraji Yuichi）

【緒言】

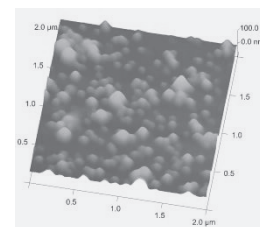
リポソームは表面修飾が容易、粒子径や電荷を制御し易い、生体適合性が高いといった利点があるため、DDS分野で古くから広汎に研究・応用されている。リポソームを DDS のキャリアとして用いる場合、血中滞留性を向上させるため、粒子径が重要であることが知られている。粒子径の評価には透過型電子顕微鏡（TEM）が用いられてきたが、真空中の観察になるという制約があった。ここでは、原子間力顕微鏡（AFM：Atomic Force Microscopy）の特徴である「液中観察が可能」という利点を活かし、リポソームを液中で観察し、粒子径分布解析を行った事例を報告する。

【実験】

ジステアロイルホスファチジルコリン（DSPC）／ジステアロイルホスファチジルグリセロール（DSPG）／コレステロールを 66.7：3.3：30 のモル比率で混合した試料をクロロホルムに溶解し、真空乾燥後、Tris-NaCl/EDTA バッファーを加え、室温で 5 分間ソニケーションすることによりリポソーム懸濁液を調製した。また、3-アミノプロピルトリエトキシシラン（APTES）でシラン化したシリコンウェハ（基板）を作製し、これにリポソーム懸濁液を滴下後、液中で AFM 観察を実施した（液中でリポソームを AFM 観察するためには基板に固定する必要があり、本試料はアニオン性であるため、正に帯電した基板を用いた）。

【結果と考察】

得られた AFM 像を右図に示す。リポソームのベシクル構造が基板に吸着したと考えられる球状構造が観察された。また、得られた AFM 像から粒子径分布解析を行った結果、平均粒子径 68.3 nm、標準偏差 25.7 nm であった。これは、動的光散乱（DLS）の結果（66.3 nm±17.4 nm）と良い一致を示した。本報告ではリポソームを液中で基板に安定して固定・AFM 観察することに成功し、また、粒子径分布解析の有効性も示された。



1B-05-Ⅱ

マクロファージ検出のための磁性酸化鉄ナノ粒子含有リン酸カルシウム系粒子の作製

¹産業技術総合研究所, ²首都大学東京, ³筑波大学

○中村真紀¹（Nakamura Maki）、大矢根綾子¹、黒岩輝代子¹、三澤雅樹¹、沼野智一^{1,2}、小菅寿徳³

【緒言】免疫細胞の一種であるマクロファージは、多くの炎症性疾患と関連している。患部に集積するマクロファージを安全かつ高感度に検出することができれば、これらの疾患の早期診断に有効であると考えられる。発表者らは、造影機能を付加したリン酸カルシウム（CaP）系サブミクロン粒子が有用と考え、その単分散粒子を医療用注射液原料のみから合成することを目指した。具体的には、Sogo らの手法 [*Curr. Appl. Phys.*, 2005, **5**, 526] を参考に、認可済みの医療用注射液を原料とする CaP 過飽和溶液に、磁性酸化鉄ナノ粒子からなる核磁気共鳴イメージング（MRI）用造影剤であるフェルカルボトランと、負電荷を有し分散剤としての効果の期待される抗凝固薬のヘパリンを添加し、共沈析出反応を起こした。得られた試料の組成・構造、分散性、およびマクロファージへの取込や毒性、MRI 造影能を評価した。

【実験】6 種の医療用注射液から調製した CaP 過飽和溶液と、フェルカルボトラン注射液、ヘパリンナトリウム注射液を混合し（最終濃度として、Ca：3.68 mM、P：1.83 mM、Fe：0.25 mM）、37℃で 30 分静置した。析出物の洗浄により得られた試料の構造は、走査型電子顕微鏡（SEM）観察、エネルギー分散型 X 線分光法（EDX）、動的光散乱法などにより調べた。また、試料の濃度を変化させてマウスマクロファージ様細胞（RAW264.7）に添加し、RAW264.7 への取込や毒性を評価した。さらに、得られた試料を寒天液で固定し、MRI による計測を行った。

【結果と考察】SEM、EDX 分析の結果、得られた試料は、一次粒子径 100 nm 程度の粒子であり、Ca、P、O、C、Fe、S（ヘパリン由来）を含むことが分かった。以上より、過飽和溶液中での CaP とフェルカルボトラン、ヘパリンの共沈により、これらの複合粒子が生成したと考えられた。注射用水中に分散させた粒子は、ゼータ電位 -15 mV、平均粒子径約 300 nm の単分散粒子であった。ヘパリンを除いた系では分散性粒子は得られなかったことから、粒子に取り込まれたヘパリンが分散剤として機能したと考えられた。また、本粒子は RAW264.7 に効率良く取り込まれ（濃度によって 50-65%程度）、検討した濃度においては毒性を示さなかった。MRI 測定の結果、本粒子がフェルカルボトラン単体と同等の緩和度を有することを確認した。

【謝辞】本研究は、科研費（JP16H03831、JP16K09511）の助成を受けて実施された。

1B-06-II

がん細胞を標的とした高機能化タンパク質ナノ粒子の開発

東京工業大学生命理工学院

○池田裕介 (Ikeda Yusuke), 眞下泰正, 三重正和, 小島英理

【緒言】

ドラッグデリバリーシステム(DDS)の中でもキャリアを用いた DDS は、標的部位への親和性や生体内での安定性を付与することが可能となるため注目されている。特にタンパク質により構築されるナノキャリアは、生体適合性や低抗原性、生分解性、低コスト化などといった利点があり DDS キャリアとして大変優れている。そこで本研究では、タンパク質ナノキャリアにがん細胞への標的能と細胞内透過能を付加した高機能化タンパク質ナノ粒子を開発した。

【実験】

これまで当研究室では、エラスチン由来の温度応答性ペプチド(AVGVP)₄₂ と、ポリアスパラギン酸(以下、D₄₄)の融合タンパク質を作製した。この D₄₄を導入したエラスチンポリペプチドは、疎水性薬剤と混合して加熱すると、D₄₄の反発力により粒径が 30 nm 程度に制御されたミセル状の粒子を形成する。この(AVGVP)₄₂ D₄₄タンパク質に、がん細胞への標的能と細胞内透過能を有する iRGD 環状ペプチドを融合した新規融合タンパク質 ADiR を構築し、高機能ナノキャリアの構築を試みた。作製したナノ粒子は、薬剤内包能、細胞標的能、細胞死誘導評価を行い、DDS キャリアとしての有用性を評価した。

【結果と考察】

融合タンパク質 ADiR は遺伝子工学的手法により作製した。アフィニティー精製により得られた融合タンパク質を加熱したところ、ナノサイズに制御された 30 nm ほどの粒子を形成し、疎水性低分子化合物とともに加熱することで、粒子化の際にそれらを内包することが明らかとなった。そこで蛍光色素 Coumarin-6 を内包させ、がん細胞に添加したところ、iRGD ペプチドを介した細胞内部への取り込みによる、蛍光の顕著な蓄積が確認された。また、抗がん剤 Paclitaxel を内包したナノ粒子をがん細胞に添加し、細胞生存率を評価したところがん細胞の死滅が確認された。これら結果より融合タンパク質 ADiR で構成されたタンパク質ナノ粒子は、表層に提示された iRGD ペプチドにより、がん細胞に対する優れた標的能と細胞内透過能を有し、DDS キャリアとして高い素質を有することが示された。

1B-07-II

再注入可能な持続性薬物徐放デバイスの開発と経強膜型網膜 DDS への応用

¹ 東北大学大学院医学系研究科, ² 東北大学大学院工学研究科

○西條早樹¹ (Saijo Saaya), 永井展裕¹, Song Yuanhui¹, 梶 弘和², 西澤松彦², 阿部俊明¹

【緒言】加齢黄斑変性症等の難治性網膜疾患は根本的な治療法がなく薬物投与による視力維持が治療の中心である。治療として一般的な点眼治療や臨床での抗 VEGF 抗体の硝子体注射が用いられているが後眼部(網膜)への不十分な薬物移行、服薬忘れ等のコンプライアンス、硝子体注射による頻回投与に伴う眼内への副作用リスクが課題にある。そこで当研究室では眼内に非侵襲的な経強膜薬物徐放デバイスを新規薬物投与方法として開発してきた。これまでのデバイスは薬物徐放終了時に摘出し再度新しいデバイスを埋植する必要があった。本研究はこの課題に注目し摘出不要な眼内持続徐放システムの開発を目的とした薬物を繰り返し再注入(Refill)できる機能をもつデバイスの研究に取り組んだ。

【実験】デバイスは徐放面にマイクロポアを有するカプセルと薬物を含んだキトサン/ゼラチンハイドロゲルで構成した。デバイスは CAD-CAM 微細加工法で 3 次元成型し基材にシリコーンのポリジメチルシロキサン(PDMS)を用いた。ハイドロゲルは水溶性カルボジイミドによりゲル化させた。このインジェクタブルゲル(iGel)と PDMS の生物学的安全性は V79 細胞を用いた細胞毒性実験とラット強膜上埋植試験により確認した。iGel 独自の徐放性、デバイスの徐放制御はモデル薬物蛍光色素により確認しデバイスは動物の眼球曲面に適する形状を検討した。蛍光色素は低分子薬、生物学的製剤(抗 VEGF 剤等)の徐放モデルとしてそれぞれフルオレセイン、蛍光標識デキストラン(150kDa)を用いた。次に蛍光色素を含有したデバイスをウサギ強膜上へ埋植し蛍光カメラで観察した。また空のデバイスをウサギ強膜上に埋植後 iGel 注入試験を行った。

【結果と考察】PDMS のゴム性や刺し穴が閉じる性質によりデバイスへの穿刺、数回に渡る薬剤注入を可能にした。iGel 基材の配合によりデバイス内でのゲル化を可能にし、徐放試験では iGel 自体の徐放性、カプセルのポアとゲルによる二段階長期徐放が確認できた。デバイスの形状はステンレス製ワイヤーを内部に組み込むことで多様な眼球に適したカーブを描くことを可能とし、蛍光色素を含有したデバイスをウサギ強膜上へ埋植した実験では強膜上での徐放性を蛍光カメラで確認した。またウサギ強膜上に埋植したデバイス内への iGel 注入が可能であることを確認した。これらの結果から PDMS 製カプセルと iGel を用いた再注入型デバイスは眼内に侵襲性の低い長期薬物徐放デバイスとして期待できると考えられた。

1B-08- I

再生医療への糖鎖含有高分子の応用

国際科学振興財団再生医工学バイオマテリアル研究所

○後藤光昭 (Goto Mitsuaki), 関 禎子, 赤池敏宏

【緒言】

再生医療の実現のためには、様々な高分子マテリアルの利用が欠かせない。しかし、高分子マテリアルに関する理解は浅く、再生医療研究者の多くが実際に細胞培養に使用しているポリスチレンシャーレの可塑剤、成形方法すら認知せずに使用している。

我々は、生体に学び、生体を超える人工的なマテリアル開発は、今後の再生医療には欠かせないと考えている。このコンセプトに基づき研究・応用されてきた糖鎖含有高分子は、ポリスチレンシャーレを均一にコーティングでき、細胞とシャーレ表面の認識条件を糖鎖のみに限定した培養条件を提供できることを実証してきた。

本報告では、糖鎖高分子に対する ES/iPS 細胞を含めた幹細胞系の接着挙動に関して報告する。

【実験】

糖鎖高分子を 0.01w/v% の濃度で、ポリスチレンシャーレにコーティングし、各種細胞を 1×10^4 cells/ml の濃度で播種し、4 時間、24 時間～後の細胞接着や増殖挙動を観察した。

【結果と考察】

糖鎖に応じて、細胞の接着挙動が変化すると共に増殖挙動も変化することが明らかになった。さらに興味深いことにガラクトースを有するポリマー上でガン幹細胞を培養するとポリマー上にガン幹細胞が接着せず、なおかつガン幹細胞のスフェロイド化が起り未分化性が維持されることが判った。報告時にはより詳細に結果を示す予定である。

1B-09- I

弾性率可変型培養基材：超生理学的弾性領域における動的変化の効果

¹物質・材料研究機構若手国際研究センター, ²日本大学理工学部物質応用化学科, ²ワシントン大学ケミカルエンジニアリング専攻, ⁴物質・材料研究機構国際ナノアーキテクニクス研究拠点

○宇都甲一郎¹ (Uto Koichiro), 青柳隆夫², DeForest Cole A³, 荏原充宏⁴

【緒言】弾性やトポロジーなど細胞足場の構造力学的要因が発生、組織の再生、病気の発症などの生命現象と密接に関係することが明らかにされつつあるが、その動的変化のレンジや時間軸に対する検討はほとんど報告されていない。そこで本研究では、生体適合性を有し半結晶性高分子として知られるポリ(ϵ -カプロラクトン)(PCL) が示す結晶-非晶転移現象に着目し、様々な“タイミング”で細胞に弾性変化を誘起可能な動的培養基材を設計し、その細胞機能に与える超生理的基材弾性の静的・動的効果について検討した。

【実験】多価アルコールを開始剤とし、触媒としてオクチル酸スズを用いて窒素気流下で CL の開環重合により分岐型の PCL を合成した。さらに分岐型ポリマーの末端水酸基にアクリロイル基を導入し、熱重合により架橋膜を調製した。種々の方法により、合成したポリマーの構造、熱的性質および力学的性質は評価した。PCL 架橋膜の弾性率や温度変化に対する細胞機能についても評価した。

【結果と考察】4 分岐 10 量体 PCL および 2 分岐 20 量体 PCL マクロモノマーの混合組成を変えることで、融点 (T_m) の精密制御が可能であり細胞培養可能な領域に融点を持つ架橋膜の作製に成功した。架橋膜の力学的特性評価を行った結果、 T_m 前後で弾性率を変化させることが確認され、混合組成を最適化した材料は、わずかな数度の違いにより弾性率を劇的に変化させることが示唆された。表面濡れ性を評価した結果、PCL 架橋膜は T_m 以下・以上でほぼ同等の接触角の値を示すことが確認され、本研究で調製した PCL 架橋膜が細胞培養可能な狭い温度域で表面の濡れ性を変化することなく劇的な弾性変化を誘起可能な細胞培養基材となり得ることを明らかとした。興味深いことに、37 °C で高い弾性率を示す架橋膜を融点以上に加熱した後、再度 37 °C にすると固体状態を維持したまま低弾性を維持することが確認され、同一材料・同一条件でありながら弾性率が異なる基材材料の作製にも成功した。本研究で用いた PCL 基材は温度変化前後のどちらにおいても超生理学的弾性を有しているにもかかわらず、その動的変化が細胞機能に影響を及ぼすことを明らかにした。

1B-10- I

メカノバイオロジーによるがん細胞老化制御—Materials-induced Senescence (MIS)

¹物質・材料研究機構 (NIMS) 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点(MANA), ²筑波大学大学院数理物質科学研究科,

³東京理科大学大学院基礎工学研究科

Sharmy S. Mano¹, 宇都甲一郎¹, ○荏原充宏^{1,2,3} (Ebara Mitsuhiro)

【緒言】近年、弾性やトポロジーなど細胞足場の構造力学的物性が発生、組織の再生や病気の発症などの生命現象と密接に関係することが明らかにされつつある。本研究では、材料の流動性のがん細胞の老化 (senescence) に及ぼす影響について検討した。材料の流動性が上がると、がん細胞が自発的に senescence を起こすことが確認された。さらに流動性が上がると細胞周期が G1/G0 に捕捉され、抗癌剤の効き方にも影響を及ぼすことを見出した。このように、材料の流動性のみでがん細胞の senescence を誘導できれば、新たな治療法としての期待が持てる。

【実験】多価アルコールを開始剤とし、触媒としてオクチル酸スズを用いて窒素気流下で CL または D,L-ラクチド (DLLA)との開環共重合により分岐型の P(CL-co-DLLA)を合成した。得られたポリマーはスピコート法によりガラス基板上に成膜化することで未架橋基材を調製した。ヒト肺癌細胞(NCI-H23)を用いて細胞老化に及ぼす影響を検討した。特に細胞老化のバイオマーカーである p53、IGFBP5 に注目しその発現挙動について評価した。

【結果と考察】本研究は、細胞に対して流動的環境を提供する新規基材材料の作製に成功した。架橋・未架橋基材上での細胞挙動を比較することで、基材の動的かつ散逸的な物性が強く影響を及ぼすことを明らかとし、これまでほとんど検討されることがなかった基材の流動性の重要性を明らかとした。特に、細胞老化のバイオマーカーである p53、IGFBP5 に注目しその発現挙動について評価した。流動性基材の上では IGFBP5 の発現が見られ、細胞老化の挙動が観察された。この基材の「流れ」を積極的に利用することで従来法と比較して簡便かつ安価な細胞操作可能な培養基材あるいは三次元培養用基材としての応用が可能であり、組織工学、再生医療や創薬スクリーニングなど幅広い分野への応用が期待される。

1B-11- I

ペプチド修飾 PEG 脂質を用いた流動性平面膜上における細胞接着挙動

東京大学大学院工学系研究科

○野入信人 (Noiri Makoto), 久代京一郎, 寺村裕治, 高井まどか

【緒言】

医用材料の開発において材料表面への細胞接着を理解し、制御することは重要である。生体内は流動的環境にあることが知られ、静的な材料表面とは大きく異なるため、流動性表面と細胞との相互作用を解析することが重要だと考えられる。本研究では、表面の流動性が細胞接着に及ぼす影響を評価することを目的とした。機能性ペプチド(RGD、K8)を修飾したポリエチレングリコール結合リン脂質(PEG 脂質)を用いて流動性表面を作製し、流動性表面と細胞との相互作用を解析した。

【実験】

流動性表面の作製は、PEG 脂質溶液(100 µg/mL in PBS)に末端がメチル基の自己組織化単分子膜 (CH₃-SAM)を修飾した金基板を室温で 30 min 浸漬することで行った。作製した表面のペプチド密度および流動性をそれぞれ水晶振動子微量天秤(QCM)、光褪色後蛍光回復(FRAP)法により評価した。さらに、作製した表面上にヒト乳腺上皮細胞 MCF-10A を播種、培養し(37 °C, 5 %CO₂)、顕微鏡観察により細胞接着挙動を評価した。

【結果と考察】

CH₃-SAM 表面へのペプチド修飾 PEG 脂質の導入量を QCM-D を用いて評価した結果、導入量はペプチドの種類によらずおよそ 0.8 chains/nm²であった。また、FITC 標識 RGD ペプチドを修飾した PEG 脂質の流動性を FRAP 法により評価したところ、PEG 脂質の拡散係数は $2.96 \pm 0.34 \mu\text{m}^2/\text{s}$ であった。これは細胞膜にある膜タンパク質の 10-1000 倍ほど高い値である。流動性 RGD 表面では、播種から 3 日後も細胞接着が見られなかった。比較として作製した非流動性 RGD 表面では細胞の接着および増殖が見られることから、流動性の高い表面では細胞膜のインテグリンが RGD ペプチドを認識できなくなることが示された。一方で、カチオン性の K8 ペプチドを修飾した表面では流動性があったも細胞の接着および増殖が見られた。また、このでは細胞が伸展せずに丸い形状のまま接着していた。このことから、流動性表面では細胞が伸展するための牽引力が発揮できないことが示唆された。

1B-12- I

3次元血管ネットワーク形成を誘導する高機能タンパク質ハイドロゲルの構築

東京工業大学生命理工学院生命理工学系

○水口佳紀 (Mizuguchi Yoshinori), 真下泰正, 三重正和, 小島英理

【緒言】

機能性3次元生体組織を構築するには、播種された細胞の壊死を防ぐための3次元血管ネットワークが不可欠である。3次元的に脈管形成、血管新生を誘導するには、血管内皮細胞周辺の細胞外微小環境を制御する必要があり、この3次元空間が精密にデザインされた高機能性3次元足場材料の開発が求められている。本研究では、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンとの結合を介して血管新生を誘導することが知られている骨シアロタンパク質 (BSP) 由来のRGD配列 (bRGD) を組み込んだ温度応答性タンパク質からなる超分子ハイドロゲルを構築し、*in vitro*での3次元血管ネットワーク形成の誘導を行った。

【実験】

本研究では、エラスチン由来の感温性ポリペプチド配列 (AVGVP)₄₂に着目し、このタンパク質に静電的反発により凝集を制御するポリアスパラギン酸 D₈₈、架橋点となるアンチパラレルコイルドコイルを形成する Coil-LL ペプチド CL2 を連結することにより、新規温度応答性ゲル化タンパク質 (AVGVP)₄₂-D₈₈-CL2 (coiled-coil unit bound elastin-like polypeptide: CUBE) を開発した。さらに、この融合タンパク質に生理活性ペプチド bRGD を導入することにより bRGD-CUBE の構築を行った。本高機能タンパク質ゲル内でヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を3D培養し、脈管形成能の評価を行った。

【結果と考察】

CUBEの物性を評価したところ、低温ではゾル、高温ではゲル状態へと可逆的に変化する温度応答性ゾルゲル転移を示し、bRGDペプチド導入後もゲル化能を保持していることが観察された。bRGD-CUBE内で培養したHUVECは16時間以内に3次元血管ネットワークが形成されている様子が観察された。したがって、CUBEゲル内に3次元的に配置されたbRGDは適切な構造を保っており、本高機能タンパク質ハイドロゲルはHUVECの血管誘導に適した微小環境を提供していると考えられる。また、この3次元脈管形成はbRGD濃度依存的に誘導されていることから、bRGDが3次元的に適切に配置されることがHUVECの機能制御に重要であることが示唆された。

1B-13- I

ラット頭蓋骨欠損モデルを用いたヒトデ骨由来 Mg 固溶 β -TCP の骨形成能の評価

¹信州大学先鋭領域融合群バイオメディカル研究所, ²信州大学大学院総合理工学研究科生命医工学専攻, ³信州大学医学部運動機能学教室

○石田 悠^{1,2} (Ishida Haruka), 田中 学³, 滝澤 崇³, 傍島 淳³, 鎌仲貴之³, 竹内あかり², 小林亜祐実², 金子雅之², 黒田千佳³, 上田勝也^{1,2}, 齋藤直人^{1,2}, 羽二生久夫^{1,2,3}

【緒言】昨年、我々は天然素材であり、均質かつ微細な連通多孔構造を持つヒトデ骨から得た β -TCP (Sf-TCP) が *in vitro* で生体親和性を示すことについて報告した。そこで今回はラット頭蓋骨欠損モデルに Sf-TCP を埋入し、骨形成能について評価した。

【実験】ヒトデ骨はリン酸水素二アンモニウム水溶液を用いた水熱処理により、生来の連通多孔質 (平均気孔径 10 μ m) を維持したまま炭酸カルシウムから β -TCPへと組成変換を行い、XRDによりMg固溶 β -TCPであると同定した。比較対象である歯科用 β -TCP (セラソルブM; 粒径 150~500 μ m, 気孔径 5~500 μ m) とサイズをそろえるため、Sf-TCPを150~500 μ mで篩分して用いた。実験には8週齢、オスのWistar Ratを使用し、頭蓋骨に5mm径の骨欠損部を設け、骨欠損部に何も埋入しないsham群、Sf-TCP群、セラソルブM群の3群で行った。各群は術後4週と8週で安楽死させ、各群の骨欠損部を含む頭蓋骨を採取してホルマリン固定した。マイクロCTスキャンによる観察後、頭蓋骨を脱灰処理して薄切切片を作製し、HE染色とマッソントリクローム染色による組織学的評価を行った。

【結果と考察】マイクロCT像において、sham群は欠損部の縮小を示さず、Sf-TCP群とセラソルブM群では埋入した β -TCPが欠損部内に留まっている像が得られた。組織学的検討において、4週の時点でSf-TCPとセラソルブMともに周辺部では新生骨と思われる染色箇所が散見したが、連通多孔構造内部への細胞侵入はセラソルブM群と比較してSf-TCP群で顕著に見られた。さらに、Sf-TCP群はマッソントリクローム染色でその内部に赤血球の存在を示す像が得られたことから、毛細血管がSf-TCP内部に形成されている可能性が示唆された。これらの結果からSf-TCPの非常に優れた骨補填材としての可能性が示された。

1B-14- I

Nanoarchitectures of Ti surface promote adhesion and differentiation of mesenchymal stem cells

¹Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University, ²Aisin Seiki Co., Ltd.

○Peng Chen¹, Toshihiro Aso², Ryuichiro Sasaki², Maki Ashida¹, Yusuke Tsutsumi¹, Hisashi Doi¹, Takao Hanawa¹

Introduction Direct coating of tissue or stem cells on medical and dental implants is predicted as a next generation surface modification, which could bring a significant innovation of biomaterials. Surface topography plays an important role to control of the attachment of cells or formation of tissue on substrate materials. To clarify the effects of the nanoscale surface topography on cell initial adhesion and differentiation behaviors, we studied the morphology and multi differentiation capacities of human mesenchymal stem cells (hMSCs) on titanium (Ti) surfaces with periodic nanoscale surface architectures fabricated using a femtosecond laser irradiation.

Methods CP Ti was mirror-polished (Mirror) and scanned using a femtosecond laser. Three types of grid patterns on Ti was obtained: micron (Micron, fluence: 0.7J cm⁻²), nano (Nano, fluence: 0.8J cm⁻²), and micron/nano hierarchy (Hybrid: scanned by both polarization beams). Extended cells were observed by fluorescent staining. The differentiations for neurocytes, adipocytes, osteocytes or chondrocytes were induced with induction mediums, respectively. Differentiation of hMSCs response to topographies was evaluated with target genes expression levels and fluorescent antibody staining.

Results and discussion: A distinct grid pattern of focal adhesions of cells was observed on Micron and Hybrid. The shape of cell and position of vinculin indicated that the Micron promoted the cellular immobilization on the substrate, while, Nano promoted the cellular locomotion. A superposed effect was obtained by Hybrid. The results of target gene expression after 5-d induction indicated that Nano promoted the differentiation inductions of hMSCs in all four detected cellular differentiations. In particular, alizarin red s staining results showed Nano strongly promoted osteogenic differentiation of hMSCs after 3-w induction. These unique nanoarchitectures fabricated by femtosecond laser irradiation possibly contribute to achieve next generation surface modification for biomaterials applied for orthopedic and dental implant.

1B-15- I

血管新生能と骨形成能を兼ね揃えた多孔質スキャフォールドの作製および生物学的評価

¹明治大学大学院 理工学研究科

○針谷 諒¹ (Hariya Ryo), 本田みちよ¹, 相澤 守¹

【緒言】

大きな骨欠損を修復するには、優れた骨形成能と血管新生能を有する生体材料が望ましい。我々は三次元的な骨組織の再生のために、優れた生体活性を示す水酸アパタイトからなる多孔質スキャフォールド、Apatite-fiber Scaffold (AFS)の開発に成功している。本研究では、AFSに血管誘導能を付与する因子として、結合組織成長因子 (CTGF) に着目した。この CTGF は骨形成能を有するだけではなく、三次元組織を維持するために必要な血管新生能を有することが知られている。そこで、本研究では、三次元的な骨組織を再生することを最終目標とし、CTGF を担持した AFS を作製し、*in vitro* および *in vivo* の観点から生物学的評価を行なった。

【実験】

Apatite-fiber (AF) は均一沈殿法により合成し、AF とカーボンビーズを所定の割合で混合し、一軸加圧成形、焼成することで AFS を作製した。AFS に 0.1 μg の CTGF を担持できるように調製した CTGF 溶液を滴下し、減圧脱気することによって CTGF 担持 AFS (CTGF-AFS) を作製した。CTGF-AFS の生物学的評価は、*in vitro* (骨芽細胞と血管内皮細胞を使用) および *in vivo* (Wistar rat (7 週齢, 200-220 g, ♂) の背部皮下への埋入)における試験により行なった。

【結果と考察】

培養 7 日目において、細胞が AFS の播種表面から最大 300 μm まで侵入していることがわかった。細胞は CTGF を担持することによって内部まで侵入している傾向を示した。特に、血管内皮細胞は骨芽細胞が存在する場所に局在していたことから、骨芽細胞が分泌した液性因子だけでなく、細胞-細胞間の相互作用が重要だと考えられる。また、ラット背部皮下へ埋入したサンプルの組織学的評価 (HE 染色) を行なったところ、AFS の気孔率に依存して多くの細胞が内部に侵入していることがわかった。さらに、内皮細胞のマーカーである CD31 の免疫染色の結果、CD31 陽性の細胞が AFS と比較して CTGF-AFS に多く観察された。これらの知見は CTGF-AFS は高い血管新生能を有することを示している。

1B-16- I

感温性ロッド状微粒子の調製と細胞取り込み制御

¹ 東京理科大基礎工, ² 大阪大院工

○菊池明彦¹ (Kikuchi Akihiko), 小助川陽太¹, 川瀬雅俊¹, 石原 量¹, 麻生隆彬²

【緒言】初期免疫に関与するマクロファージは、微粒子の表面物性の違いを認識し、貪食能の発現が変化することが知られる。また微粒子サイズ、形状の違い（球状・ロッド状）がそれぞれ貪食能の発現に影響することが最近報告されている。一方、表面に抗原を有するロッド状微粒子は、抗原提示細胞の機能を模倣してリンパ球のT細胞の活性化を促進させることが報告された。以上の結果は、微粒子と細胞との相互作用の制御において、微粒子の形状と表面物性を同時に設計することが重要であることを示す。そこで我々は、温度制御による微粒子の表面物性・形態が細胞内送達制御に与える影響を明らかにすることを目的に研究を行った。

【実験】 ATRP 法と末端官能基変換により、ポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド-*co*-ジメチルアクリルアミド) (P(NIPAAm-*co*-DMAAm))マクロモノマーを調製した。マクロモノマーを所定量のプロピルメタクリレート(PMA)、メチルメタクリレート(MMA)とともにメタノール/水 = 9/1 (v/v)混合溶媒中、30℃で14h分散共重合し、球状微粒子を得た。次に微粒子含有ポリビニルアルコール (PVA)膜を作製し、微粒子コアの T_g 以上で一軸延伸しロッド状微粒子を得た。走査型電子顕微鏡(SEM)により微粒子の形状を観察した。さらに微粒子存在下マウス単球由来マクロファージ(RAW264.7)を培養し、微粒子の表面物性と形態がマクロファージの貪食に与える影響を議論した。

【結果と考察】 仕込み組成を変化させることで P(NIPAAm-*co*-DMAAm)では37.6-43.5℃の範囲で制御しうることがわかった。DMAAm を 25 mol%有するマクロモノマーを用い微粒子を調製したところ粒径が 650-700 nm でコアの T_g が 35-40℃の球状微粒子を得た。 T_g を 40℃に有する微粒子を分散させた PVA フィルムを一軸延伸して得たロッド状微粒子の温度変化に伴うアスペクト比の変化を調べた結果、コアの T_g 以下の温度である 37℃では初期に形状が若干変化したものの3h以降24h後までアスペクト比は2.0前後でそれ以下になることはなかったのに対し、コアの T_g 以上の温度である 42℃では24h後にアスペクト比が1.2にまで低下し、SEMからはほぼ球状微粒子に戻った。以上より、温度変化に応答して形状変化する微粒子を得た。発表では細胞との相互作用についても議論する。(本研究は科研費(16H03184)により実施した。)

1B-17- I

新規 GlcNAc 糖鎖高分子を用いた Type3 中間径フィラメントの新機能の発見

¹ 九州大学先端物質化学研究所, ² 九州大学工学研究院科学工学部門

○伊勢裕彦¹ (Ise Hirohiko), 三浦佳子²

【緒言】ビメンチンを初めとする Type3 型中間径フィラメントは、細胞の形態維持として働く細胞骨格分子である。これらの分子のガン組織や慢性炎症性疾患の疾患部位における高発現が以前より知られているが、近年、ビメンチンにおいては悪性度の高いガン細胞における細胞膜表面上への出現が報告され、治療に対する新たな標的分子として期待されている。また細胞表面上のビメンチンが、GlcNAc を多価に有する GlcNAc 糖鎖高分子と結合することも報告されている。従って、GlcNAc 糖鎖高分子によるビメンチンを標的とした治療戦略が期待できる。本研究では、細胞表面のビメンチンに対して高い相互作用有する GlcNAc 糖鎖高分子の新たな設計を試みた。さらに Type3 中間径フィラメントであるグリア線維性酸性タンパク質(GFAP)及びペリフェリンの細胞表面上への出現と新たな GlcNAc 糖鎖高分子に対する相互作用を検討した。

【実験】新規 GlcNAc 糖鎖高分子としてカルボキシエチルアクリル酸に1位をアミノ化した GlcNAc 単糖を結合したモノマーを作製した。このモノマーの reversible addition-fragment chain transfer (RAFT) 剤によるリビングラジカル重合を行い、分子量が異なる新規 GlcNAc 糖鎖高分子(AC-GlcNAc)を作製した。AC-GlcNAc の末端に蛍光基を導入し、HeLa 細胞や GFAP を発現するグリオーマ細胞、ペリフェリンを発現する PC12 細胞の相互作用をフローサイトメトリーで検討した。さらにビメンチン欠損 HeLa 細胞に GFAP やペリフェリンを遺伝子導入した細胞と AC-GlcNAc の相互作用を検討した。

【結果と考察】 AC-GlcNAc は、RAFT 剤による重合で重量平均分子量 12000、9300、4700 の3種類が作製できた。これらの分子量が異なる AC-GlcNAc と HeLa 細胞との相互作用の検討では、分子量の最も低い 4700 (n=13) が高い相互作用を示した。またグリオーマ細胞や PC12 細胞、GFAP 発現ビメンチン欠損細胞、ペリフェリン発現ビメンチン欠損細胞においても AC-GlcNAc (n=13) の相互作用が観察された。低い分子量に制御された新規 GlcNAc 糖鎖高分子 AC-GlcNAc が作製され、ビメンチンを発現する HeLa 細胞に高い相互作用を有することが示された。またこの AC-GlcNAc により Type3 中間径フィラメントの共通の機能としての細胞表面出現と GlcNAc 結合活性が明らかにされた。

1B-18-Ⅱ

血液適合性高分子材料を用いたがん細胞の認識性と運動性の制御

¹九州大学先端物質化学研究所, ²山形大学大学院理工学研究科, ³山形大学有機材料推進本部

○荒津史裕¹ (Aratsu Fumihiko), 蔡 孟諭¹, 小林真吾^{1,2}, 田中 賢^{1,3}

【背景と目的】がん疾患において原発巣から他の組織や臓器へのがん細胞の浸潤・転移はがんの悪性化に深く関与しており、これを制御できる生体接触型の医療デバイスの開発が急務である。がんの浸潤・転移の制御に関与する細胞運動には、主要な足場タンパク質である fibronectin (FN) とのインテグリンを介した接着によるアクチン骨格の再構成が重要であることから、足場材料を用いてがん細胞の接着・運動性を制御することで効果的ながんの治療法の確立が期待される。一般的に、材料は血液などの生体成分に接触すると炎症反応、免疫反応、血栓形成、感染などが生じるため、医療材料には血液中のタンパク質などが吸着・変性せず血球系細胞の接着・活性化が生じない血液適合性が必須である。当研究室で開発された合成高分子 poly(2-methoxyethyl acrylate) (PMEA) は高い血液適合性を示し、人工心肺などの医療デバイスの被覆材料に応用されている。含水時に PMEA 表面には自由水、不凍水、中間水から成る水和構造が形成され、とりわけ中間水が PMEA の血液適合性に重要な役割を担うことが示された。また、PMEA およびその構造類似体において、この中間水の量によって材料表面に吸着するタンパク質の種類、量、構造が変化し、中間水量に依存してがん細胞が選択的に接着することが確認された。これらより、高分子材料の血液適合性と細胞認識性は高分子中の中間水量により制御できることが示唆された。本研究では、PMEA 表面におけるがん細胞の選択的な接着と運動性の制御とその分子機構の解明を目的とする。

【手法と結果】中間水量の異なる PMEA およびその類似体である poly(butyl acrylate) (PBA), poly(tetrahydrofurfuryl acrylate) (PTHFA), poly[2-{2-(2-methoxyethoxy) ethoxy}ethyl acrylate] (PMe3A), poly{2-(2-methoxyethoxy) ethyl acrylate} (PMe2A) を精密合成し、スピニング法により polyethylene terephthalate (PET) を表面処理して高分子基板を作製した。高分子中の中間水量に依存して血清タンパク質の吸着・変性量が変化し、がん細胞の接着性や形態に違いが確認された。特に、中間水の含有量によってインテグリン依存のおよび非依存な細胞接着様式が確認された。また、がん細胞の運動性において運動の方向や速度に違いが確認された。以上より、中間水量の異なる血液適合性材料において中間水によりタンパク質の吸着挙動やがん細胞の接着様式が変化してがん細胞の運動性が制御されることが示唆された。

1B-19-Ⅰ

酸化チタン薄膜を利用した光応答型細胞培養器の試作

¹関西大学化学生命工学部, ²関西大学大学院理工学研究科 (院)

○上田正人¹ (Ueda Masato), 山口莉嘉¹, 藤田智香², 池田勝彦¹

【緒言】TiO₂は、バンドギャップ (E_g) が 3.0-3.2 eV の n 型半導体であり、紫外光 (UV) を照射すると、起電力・電流の発生、表面における水酸基密度の上昇などの反応が生じる。この光化学反応を細胞の接着・増殖・剥離挙動の制御に利用できないかと考えた。そこで本研究では、SiO₂ 板、または純 Ti 板上に TiO₂ 薄膜を合成し、播種した細胞に UV が直接照射されないような構造の細胞培養器を試作すると共に、その光応答性を様々な観点から調査することを目的とした。

【実験】合成 SiO₂ 板に Ti(OC₃H₇)₄ を原料としたゾル・ゲル法により TiO₂ 薄膜を合成した。さらに、純 Ti ターゲットを Ar-O₂ 混合ガス中 (流量比 8:5) でスパッタリングすることによっても同様の薄膜を合成した。この構造では、TiO₂ 表面が細胞培養面、SiO₂ 側が UV 照射面である。一方、純 Ti 板の片面には、H₂O₂/HNO₃ 水溶液による化学処理の後、NH₃ 水溶液による水熱処理を施すことで TiO₂ 薄膜を合成した。同膜は Hanks 液を接触させた状態で SiO₂ 板とエポキシ接着剤を用いて封入した。この構造では、Ti 表面が細胞培養面、SiO₂ 側が UV 照射面である。合成膜の光透過・吸収スペクトル、UV 照射下での自然電位、光電流、水滴接触角変化などを測定することで光応答性を評価した。一部の細胞培養器では、マウス由来初代骨芽細胞の接着挙動に及ぼす UV 照射の影響も調査した。

【結果と考察】合成した TiO₂ 膜では、波長が 370~390 nm の光を吸収することが確かめられた。その吸収は、膜厚の増加と共に増大し、膜厚が約 100μm になると、UV 成分は完全に吸収された。また、ゾル・ゲル法で合成した TiO₂ 膜では、37 nAmm⁻² の光電流が発生した。これらは、TiO₂/SiO₂ 構造の細胞培養器において SiO₂ 側から UV を背面照射することによって、TiO₂ 表面に播種した細胞に UV を曝すことなく、光化学反応による刺激のみを細胞に伝達することが可能であることを示している。Ti/TiO₂/Hanks/SiO₂ 構造の細胞培養器では、UV 照射によって約 0.3V の起電力が発生した。短時間の UV 予備照射を行った TiO₂ 表面では、その後の暗所下での細胞接着が促進される傾向が認められた。それに対して、UV を背面から連続的に照射すると、TiO₂/SiO₂ 構造、Ti/TiO₂/Hanks/SiO₂ 構造共に、細胞の接着が忌避された。これらは、細胞の接着挙動を光照射によって非接触、かつ局所的に制御できる可能性を示唆している。

1B-20- I

ウレイド高分子を使った細胞培養形態制御

東京工業大学生命理工学院

○嶋田直彦 (Shimada Naohiko), 斎藤美奈子, 丸山 厚

【緒言】我々はウレイド基を有する高分子(ウレイド高分子)が生理的な pH および塩濃度条件下において、上限臨界溶解温度(UCST)型のコアセルベート滴形成に基づいた相分離挙動を示すことを報告してきた。ウレイド高分子は血清を含む細胞培養条件下においても UCST 型挙動を示すことが分かっている。面白いことに、単層培養細胞にウレイド高分子を相分離温度以下で添加すると細胞凝集塊であるスフェロイドへと形態変化した。本研究では、温度刺激等の外部刺激によってウレイド高分子の相分離状態をコントロールすることで、単層-スフェロイド培養の切り替えを行った。

【実験】ウレイド高分子であるポリ (アリルアミン-co-アリルウレア) はポリアリルアミンにシアン酸カリウムを加えることで得た。NIH-3T3 (3×10^5 cells)を 35 mm の培養皿に播種後、37 °C で 24 時間インキュベートした。ウレイド高分子を 1mg/mL になるように添加し、25 °C で 48 時間観察した。その後、37 °C に温度を切り替え、24 時間タイムラプス観察を行った。また、ウレイド高分子を添加後の細胞に、ヘパリンを添加し、37°C で培養しながらタイムラプス測定を行った。

【結果と考察】血清を含む細胞培養条件下において、37 °C に相分離温度を持つウレイド高分子 ($A_{50}91:91\text{mol}\%$ アリルウレア, 9 mol% アリルアミン)を NIH-3T3 細胞に添加し、25 °C に温度を冷却した際、培養皿にコアセルベート滴が付着し、スフェロイドへと形態変化した。その後、37 °C へと培養温度を変えたところ、コアセルベート滴は消失し、スフェロイドは単層培養へと戻った。ウレイド高分子は相分離温度以下においてコアセルベートとして相分離し、培養皿へ付着し細胞-培養皿間あるいは細胞-細胞外マトリックス間の相互作用が阻害され、スフェロイド形成をしたものと考えられる。相分離温度以上にするすることで、コアセルベート滴が消失し、細胞と培養皿との相互作用が可能になったため、単層培養へと戻ったと考えられる。以上のように温度変化によって、単層とスフェロイド培養を可逆的に切り替えるシステムの構築に成功した。また、スフェロイド形成後、ヘパリンを添加することで温度変化を行うことなく、単層培養へと切り替えることができた。

1B-21- I

光分解性高分子を利用した細胞パターンニング表面の開発

¹ 富山大学大学院理工学教育部, ² 富山大学工学部, ³ 富山大学大学院理工学研究部, ⁴ 富山大学大学院生命融合科学教育部, ⁵ 高分子-水界面研究所, ⁶ 阪有機化学工業株式会社

○小川広晃¹ (Ogawa Hiroaki), 奥山勇斗², 山澤由佳¹, 中路 正^{1,2,3,4}, 北野博巳⁵, 猿渡欣幸⁶

【緒言】

表面の一部分を改質し細胞等の生体物質をパターン化する技術は多数報告されているが、改質によって生成された産物の細胞への毒性の問題やそもそも生体物質存在下での改質には向かない等から、in situ (培養状態等の生体環境下) での表面改質方法の確立には至っていない。そのため現状では、細胞-細胞間、細胞-材料間の相互作用を in vitro で同時に評価できる実験系は確立されていない。そこで生体物質に対して、比較的影響が少ない 360 ~ 370 nm の紫外線で改質できる methoxy-poly(ethyleneglycol)₈ acrylamide (MEGAm) を主構成要素としたポリマーを元とした表面改質剤を創製した。このポリマーで改質した表面は、光により一部分のみ改質でき、位置特異的に異種細胞を接着させることができることが期待される。加えて、改質過程で生成される産物はポリエチレングリコールであり細胞に対して無害である。

【実験】

MEGAm と 3-methacryloxypropyltrimethoxysilane (MPTMS) の共重合体をフリーラジカル重合により合成した。そして、洗浄したガラス基板を、1w/v% P(MEGAm-*r*-MPTMS) の溶液に浸漬させ修飾した。ポリマー修飾基板は、UV 照射有無での表面特性、タンパク質吸着試験、細胞接着試験を行った。また、異種細胞のパターンニングについても検討した。

【結果と考察】

ポリマー修飾基板の液滴接触角の測定を行ったところ、UV 照射前の基板に比べ、UV 照射後の基板は接触角の値が増加した。これは UV 照射によって親水基であるポリエチレングリコール (PEG) 側鎖が切断されたことによるものであると示唆された。次にタンパク質吸着を評価したところ、UV 照射前の基板に比べ UV 照射後の基板はタンパク質の吸着量が大幅に増加した。加えて、細胞接着評価の結果、UV 照射前の基板に比べ、UV 照射後の基板は細胞接着量が増加した。これらの結果は UV 照射によって生体物質非応答性を示す PEG 側鎖が切断されたことに由来している。

1C-01- I

繊維強化ナイロン MXD6 へのアパタイト形成能付与による低弾性率型骨修復材料の開発

¹ 京都大学大学院エネルギー科学研究科, ² 香川高等専門学校

○ 薮塚武史¹ (Yabutsuka Takeshi), 福島啓斗¹, 昼田智子¹, 高井茂臣¹, 八尾 健²

【緒言】細孔を形成した基材を擬似体液 (SBF) に浸漬し、pH および温度を上昇させると、非晶質リン酸カルシウム微粒子 (アパタイト核) が孔内に析出する[1]。演者らは最近、PEEK 表面に細孔を形成し、孔内にアパタイト核を導入することにより、PEEK にアパタイト形成能を付与する研究に取り組んできた[2]。本研究では、皮質骨に匹敵した弾性率を有するガラス繊維強化ナイロン MXD6 (GFR-MXD6) 表面に細孔を形成し、アパタイト核を孔内に形成することで、GFR-MXD6 にアパタイト形成能を付与する手法を検討した。さらに、基材とアパタイト層との接着強度を評価した。

【実験】GFR-MXD6 (50 wt% ガラス繊維強化、弾性率 20.3 GPa) に硫酸処理を施し、細孔を形成した。その後、200 W の酸素プラズマ処理を 2 分間行った。SBF にトリス緩衝剤を溶解して pH 8.4, 25 °C に調整した溶液に基材を浸漬し、70 °C で 24 時間保持した。これにより、アパタイト核を GFR-MXD6 表面の孔内に形成し、基材に生体活性を付与した。得られた生体活性 GFR-MXD6 を SBF (pH 7.4, 36.5 °C) に浸漬し、アパタイト形成能を XRD、SEM を用いて評価した。さらに、SBF 中で形成したアパタイト層と基材との接着強度を万能材料試験機により評価した。

【結果と考察】硫酸処理により、GFR-MXD6 表面に網目状の細孔が形成された。得られた生体活性 GFR-MXD6 を SBF に浸漬したところ、浸漬 1 日後の XRD 測定でアパタイトの回折ピークが観察された。また、浸漬 1 日後の SEM 観察では骨類似アパタイトに特有の鱗片状結晶の形成が観察された。孔内に形成したアパタイト核が SBF 中で 1 日以内にアパタイト形成を誘起し、高いアパタイト形成能を発現したと考えられる。アパタイト層-基材間の接着強度は 5.0 ± 0.8 MPa ($n=5$) であった。孔内に形成されたアパタイトによるアンカー効果により、アパタイト層が基材に対して高い密着性を示すことが示唆された。

【文献】[1] 八尾 健, 日比野光宏, 薮塚武史, 特許 5252399 (2013), US Pat 8512732 (2013).

[2] T. Yabutsuka et al., *Mater. Sci. Eng. C*, in press.

【謝辞】本研究の一部は、公益財団法人京都技術科学センター研究開発助成のご支援により遂行した。

1C-02- I

β型リン酸三カルシウムとシアノアクリレートを利用した新規な骨接着剤の物性評価

¹ 千葉工業大学大学院工学研究科生命環境科学専攻, ² 株式会社福山医科

○ 會田周平¹ (Aida Shuhei), 柴田裕史¹, 福山茂雄², 目黒 嵩², 橋本和明¹

【緒言】シアノアクリレート接着剤は、食道、胃、腸管、消化管、血管、気管、気管支の吻合などの医療用接着剤として用いられている。とくに瞬間接着剤としても使われており、優れた接着性を示すが、大量に使用すると生体に対して弱い毒性を示し、軟組織においては適応箇所に制限がある。本研究では、生体親和性が高く、生体内で自家骨に置換するβ型リン酸三カルシウム (以下β-TCP) にシアノアクリレート接着剤を混合させて新たな硬組織用骨接着剤を開発することを目的とする。そこでβ型リン酸三カルシウムとシアノアクリレート接着剤とをさまざまな比率で混合し、可使時間を想定した硬化時間とその硬化体の物性を測定した。

【実験】作製したβ-TCP スプレードライ (SP 処理)、Si、Na および Mg を固溶させたβ-TCP (β-TCP-Si) SP 処理のリン酸三カルシウムとシアノアクリレート接着剤とをさまざまな比率で混合して骨接着剤を調製した。硬化体を調製する際には、リン酸カルシウムとシアノアクリレート接着剤とをシリンジにそれぞれ入れ、それらをシリコンチューブ (内径 φ 3mm × 3mm) で繋ぎ、混合させた。その後、混合させた試料をシリコンチューブ内 (内径 φ 8mm × 20mm) に流して 5 分毎に針で刺して表面にささらなくなったら、硬化したと定めて硬化時間を測定した。また、得られた硬化体を厚さ 5mm 程度に切り出し、断面を研磨して走査型電子顕微鏡 (SEM 観察) をおこない、硬化体の上下表面を平行になるように切り出し (内径 φ 8mm × 10mm)、機械的強度試験 (圧縮試験) をおこなった。

【結果と考察】Mg、Na および Si を固溶したβ-TCP の SP 処理後の試料は可使時間を生じて十分に混合でき、硬化体の作製ができた。とくにβ-TCP-Si0% SP 処理後、β-TCP-Si1% SP 処理後、β-TCP-Si2% SP 処理後の混合比 1:1.0~1:1.3 の場合で混合することができ、β-TCP-Si3% SP 処理後では 1:1.1~1:1.3 の場合に混合することができた。また、圧縮強度試験を行ったところ、硬化体に応力をかけると 30~60MPa で押しつぶされ始め、シアノアクリレート接着剤の混合比が少なくなるほど、圧縮強度は高くなった。以上の実験結果から、スプレードライ処理した Mg、Na および Si を固溶したβ-TCP を用いれば、可使時間が 15 分~40 分のシアノアクリレートを主剤とした接着剤ができ、新たな骨接着剤としての臨床応用が期待される。

1C-03-Ⅲ

表面改質したポリエーテルエーテルケトンの骨結合性評価

¹ 日本特殊陶業株式会社技術開発本部, ² 慶応義塾大学医学部

○毛利和磨¹ (Mori Kazuma), 北村昌大¹, 笠原真二郎¹, 宮本健史², 松本守雄²

【緒言】

ポリエーテルエーテルケトン(以下 PEEK)はヒトの皮質骨と類似した力学的特性を有しており、医療分野においては脊椎ケージや頭蓋骨代替物などの生体インプラントに応用されているが、生体不活性な材料であることから骨結合性の付与が求められている。我々は、PEEK への骨結合性の付与を目的に表面改質技術の検討を行い、これまでに、PEEK 表面にマクロ気孔を有する多孔層を形成し、更に、その表面にハイドロキシアパタイト(以下 HAp)粒子を固定化する技術を開発している。今回、本技術を適用した開発材のウサギ大腿骨への埋植試験を実施し、骨結合性を評価したのでその概要を報告する。

【実験】

PEEK を濃硫酸に浸漬して表面を粗化した後、発泡剤として炭酸カリウムを担持させ、さらに濃硫酸、希硫酸に順次浸漬することで表面に多孔層を形成させた試料(表面多孔 PEEK)を得た。続いて、HAp 懸濁液中に表面多孔 PEEK を浸漬し、HAp 粒子を付着させた後に熱処理をすることで、多孔表面に HAp 粒子を固定化した試料(表面多孔 PEEK+HAp)を得た。得られた試料をウサギ大腿骨顆部へ埋植し、Push-Out 試験による骨結合強度の評価、組織観察による骨形成状態の確認を行った。尚、埋植期間は 4,8,12 週とした。

【結果と考察】

Push-Out 試験の結果、表面多孔 PEEK は未処理品と比較して高い骨結合強度を示した。組織観察の結果、表面多孔層の内部まで新生骨が侵入しており、インターロッキング効果により骨結合強度が向上したと考えられる。また、組織観察像から生体骨と材料表面の接触率を算出した結果、HAp 粒子を固定させた試料において最も高い骨接触率を示した。これは、固定化された HAp 粒子により骨形成が促進されたためと考えられる。以上の結果から、我々の開発した技術は PEEK の骨結合性の向上に有用であり、開発材の新規インプラント材としての応用可能性が示唆された。

1C-04-Ⅲ

ヒドロキシアパタイト/コラーゲンペーストおよび骨形成タンパク質-2 による骨折治癒の増強

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科整形外科学分野

○平井敬悟 (Hirai Keigo), 江川 聡, 松本連平, 早乙女進一

【緒言】骨折治療において、生物学的骨結合は、一般に、外科的に治療された場合でさえ、骨の自然の骨折治癒能力に依存する。ヒドロキシアパタイト/コラーゲン複合体 (HAp / Col) は、高い骨伝導性を有し、骨形成前駆体を刺激する。さらに、それは骨形成タンパク質 (BMP) を吸着する強力な能力を有する。この研究では、注射可能な HAp / Col ペーストを作成し骨癒合に及ぼす効果を評価し、さらに BMP-2 と組み合わせた HAp / Col ペーストの効果も評価した。

【実験】径 1mm の骨欠損を有するラット大腿骨モデルを使用した。ラットを次の 4 群に別け (HAp / Col のインプラント群、BMP-2 (1 μ g) を含浸させた吸収性コラーゲンスポンジ (ACS) インプラント群、BMP を含浸させた HAp / Col インプラント群およびコントロール群)、マイクロ CT 解析、骨強度 (3 点曲げ試験) および組織学的評価を行った。

【結果と考察】手術後 8 週で、HAp / Col 群では 8 例中 2 例、ACS + BMP-2 群では 8 例中 5 例、HAp / Col + BMP-2 群のすべての症例で骨合併が達成された。対照群は骨結合を達成しなかった。さらに、手術側/対側大腿骨の機械的強度の比は 1.00 ± 0.151 (SD) であり、骨癒合後の大腿骨強度は対側の無傷大腿骨のそれに匹敵していた。

これらの結果は、BMP-2 の有無にかかわらず、HAp / Col ペーストが骨結合を増強することを示しており、骨折治癒に貢献していることが示された。

1C-05-II

タンパク質を用いた多機能マイクロデバイスの創製

産業技術総合研究所

○山添 泰宗 (Yamazoe Hironori)

【緒言】生体内における過剰な活性酸素が多くの病気に関与することが知られている。本研究では、生体適合性に優れ、多彩な機能を持つタンパク質が高度な機能を備えたバイオマテリアルの創製に適した素材であることに着目し、3種類のタンパク質（血清アルブミン、抗体、SOD）を用いて、「タンパク質の構造や機能の保持」、「安定性の向上」、「配向の制御」を考慮に入れながら、活性酸素の除去に役立つ医療用マイクロデバイスの作製を行った。

【実験】末端にメチル基、または、ビオチン（抗原）を有するアルカンチオールを用いて、抗原固定化基板を作製した。この基板に抗ビオチン抗体を結合させた後、微量（590 ng）の架橋アルブミン-SOD とトレハロースの混合溶液を滴下し乾燥させることで、本体部はアルブミンと SOD で構成され、表面に配向が制御された抗体が組み込まれたタンパク質マイクロデバイスを作製した。このデバイスと活性酸素を分泌する細胞（HL60 細胞を好中球様細胞に分化させた後、抗体を用いて細胞表面にビオチンを導入した細胞）を混合し、デバイスの細胞捕捉能を評価した。また、細胞を捕捉したデバイスを用いて、周囲に分泌される活性酸素の量を化学発光法にて測定することでデバイスの活性酸素除去能を評価した。さらに、デバイスに抗炎症薬（ジアボシニン）を担持させ、この薬剤担持デバイスと好中球様細胞を共培養した系を用いて、デバイスから放出された薬剤が細胞の活性酸素生成挙動に及ぼす影響を検証した。

【結果と考察】タンパク質マイクロデバイス（直径：約 100 μm 、厚み：数百 nm）は、表面に組み込まれている抗体の働きにより良好に活性酸素分泌細胞を捕捉した。また、細胞がデバイスに捕捉された場合、捕捉されていないフリーの状態と比べて、検出される活性酸素の量が 70%減少することが分かった。これは捕捉された細胞が分泌した活性酸素の大部分をデバイス内部の SOD が即座に除去したためだと考えられる。さらに、ジアボシニンを担持したデバイスと活性酸素分泌細胞を共培養した結果、デバイスから放出された薬剤の効果により、細胞の活性酸素生成を著しく抑制することが分かった。このように、本タンパク質デバイスは、細胞捕捉、活性酸素除去、薬剤徐放の多様な機能を備え、その連携プレーにより活性酸素を減らす効果があり、炎症性疾患の治療などへの応用が期待される。

1C-06-II

ポリマーグラフト化酵素からなるナノオブジェクトを用いた細胞環境操作ツールの開発

慶應義塾大学大学院理工学研究科基礎理工学専攻

○松坂脩平 (Matsusaka Shuhei)、福井有香、藤本啓二

【緒言】タンパク質は分子同士の協同的および構造相補的相互作用に基づく自己組織化によって、ユニークな高次構造を有する複合体を形成している。われわれはタンパク質に新たな分子間相互作用を付与し、組織化をコントロールすることで、多彩な構造・機能を有するタンパク質ナノ構造体（ナノオブジェクト）の構築を行ってきた。本研究では、光開始リビングラジカル重合を用いて、酵素表面から温度応答性ポリマーのグラフト化を行い、それらをビルディングブロックとして組み上げることで、細胞およびその周囲の環境を調節して機能を発現する酵素ナノオブジェクトの作製を行った。

【実験】酵素としてグルコースオキシダーゼ(GOD)、西洋わさびペルオキシダーゼ(POD)およびカタラーゼ(CAT)を選出した。各酵素のアミノ基に対して、縮合剤の DMT-MM を用いて iniferter 基を導入した。導入率は、未反応のアミノ基を定量することで算出した。次に、iniferter 基固定化酵素と *N*-isopropylacrylamide(NIPAM)を混合し、5°C において UV 照射（高圧水銀灯）を行うことでリビングラジカル重合を行った(gEnzyme)。作製したグラフト化酵素を 37°C で集積化させてナノオブジェクトを作製し、動的光散乱法を用いた粒径測定と電子顕微鏡による形状観察を行った。gGOD-gPOD からなるナノオブジェクトではグルコース濃度の測定を行った。また、gGOD と gCAT からそれぞれナノオブジェクトを作製し、正常ヒト臍帯静脈血管内皮細胞(HUVEC)に集積化させて、Alamar blue assay、トリパンブルー染色などによって細胞および細胞環境に与える作用の評価を行った。

【結果と考察】DMT-MM の量によって、iniferter 基導入率を調節できた。また、UV 照射時間によって gEnzyme のグラフト鎖長を制御できた。gEnzyme を集積化させることで、粒径約 100 から 200 nm の微粒子型ナノオブジェクトを作製できた。gGOD-gPOD ナノオブジェクトは高い酵素活性を示し、集積化により連鎖反応が効率的に進行したと考えている。また、HUVEC に作用させた gGOD ナノオブジェクトには細胞毒性が観察され、グルコースから過酸化水素が生成されて、局所的に細胞に作用したと考えている。一方、gCAT ナノオブジェクトは過酸化水素を基質として酸素と水に変換する活性を有しており、HUVEC に対して活性酸素（ROS）種から保護するツールとなることがわかった。

10-07-II

低侵襲手術器具のための相互誘導を用いたマイクロアクチュエータの開発

東京医科歯科大学生体材料工学研究所

○宮寄哲郎 (Miyazaki Tetsuro), 菅野貴皓, 川嶋健嗣

【緒言】

本研究では、低侵襲手術器具のための相互誘導を用いたマイクロアクチュエータを開発する。提案するマイクロアクチュエータはポリウレタン容器の内部に加熱用コイルと低沸点のフッ素系不活性液体を封入した構造を持ち、人体の内部で駆動される。駆動の方法は、人体の外部に設置した駆動用コイルを交流電源と接続してマイクロアクチュエータの周囲に時間変化する磁界を発生させる。マイクロアクチュエータ内部の加熱用コイルは相互誘導により加熱され、この熱でフッ素系不活性液体を気化させることで、ポリウレタン容器を膨張させる。駆動用コイルが発生する磁界を制御し、ポリウレタン容器の膨張と収縮を制御することで、マイクロアクチュエータの機械的な駆動力を得る。

【実験】

提案するマイクロアクチュエータが相互誘導により駆動可能であることを実験で確認する。まず、駆動原理の確認のために、駆動用コイルと加熱用コイルを製作し、実験で相互誘導現象が起こることを確認する。駆動用コイルは直径 0.5 mm の被覆銅線を高さ 30 mm、直径 22 mm の純鉄鉄心に巻いて製作し、コイルの巻き数は 300 とした。一方、加熱用コイルは直径 0.1 mm の被覆銅線を高さ 10 mm、直径 5 mm の非磁性材料に巻いて製作し、巻き数は 830 とした。

【結果と考察】

駆動用コイルが発生させる磁界中に加熱用コイルを置くことで、加熱用コイルの銅線内部に 1 V、0.7 mA 程度の交流電流が発生することを確認した。ただし、加熱用コイルを水に浸し実験を行ったところ、水の大きな温度上昇は確認できなかった。今回選定したフッ素系不活性液体の沸点は 56 度であり、比熱は水とほぼ同等である。これを沸騰させるためには、加熱用コイルの出力をさらに増強させることが必要であり、今後コイルの性能改良を行っていく。

10-08-I

経皮 DDS を指向した温度応答性ディスク状リン脂質集合体

¹理化学研究所, ²東京大学大学院工学系研究科

○内田紀之¹ (Uchida Noriyuki), 相田卓三^{1,2}, 石田康博¹

【緒言】

リポソームに代表されるリン脂質の自己集合体はその生体適合性の高さから薬剤送達システム(DDS)キャリアを設計する上で最も代表的な材料の一つである。一方で近年、ディスク状の構造体は球状のものよりも毛細血管接着能や経皮浸透能が優れていることがわかっており、ディスク状リン脂質集合体は新たな DDS の材料モチーフとして有望である。しかし、現在まで報告されているディスク状リン脂質集合体は、相転移温度が室温よりも低い脂質膜で構成された速度論的に不安定な構造体であり、生体環境のような希釈条件下でも利用可能なものは報告されてこなかった。

【実験】

コール酸ナトリウムから誘導された界面活性剤を合成し、ジパルミトイルフォスファチジルコリン(DPPC)と混合することで、DPPC 膜の端が界面活性剤で安定化されたディスク状リン脂質集合体を得られた。そのディスク状リン脂質集合体に関し、希釈安定性、温度応答性、サイズ制御能、細胞取り込み能などを評価した。DPPC 膜は相転移温度が室温より高く、室温においては速度論的に安定なゲル相を形成するため、希釈条件下でも安定なディスク状質集合体が形成された。

【結果と考察】

ディスク状リン脂質集合体の形成を顕微鏡観察、³¹P NMR 解析および小角 X 線解析により確認した。³¹P NMR によってディスク状集合体の温度安定性を調べたところ、室温から体温(37℃)への昇温操作によってミセル構造へと相転移し、この構造変化によって集合体の粒径が大きく減少することが明らかになった。さらに、抗がん剤であるドキソルビシンを内包させたディスク状集合体を Hep3B 細胞に投与したところ、25℃のディスク状構造の場合はほとんど細胞に取り込まれなかったのに対し、37℃でミセル状態へ転移させた場合にはドキソルビシンとともに細胞内へ取り込まれ細胞死を誘導した。皮膚組織においては室温の皮膚の外部から皮下組織に移行するに従って体温へと昇温されるため、この新規リン脂質集合体は皮下の組織内部へと浸透した後に薬剤を放出する経皮 DDS キャリアとして応用可能である。

1C-09- I

ポリマー積層化リポソーム（リポナノカプセル）の酵素分解による機能発現

慶應義塾大学大学院理工学研究科

○大塚日加里 (Otsuka Hikari), 福井有香, 藤本啓二

【緒言】リポソームの表層を高分子や無機物で被覆することにより、物質保持能、膜安定性、刺激応答性など新しい機能を付与することができる。本研究では、リポソーム表面にポリペプチドとその分解酵素からなるカプセルウォールを構築し、酵素によるポリペプチドの分解に伴う機能発現（担持物質および封入物質の放出、標的指向性層の提示）を目指した。

【実験】粒径が約 100 nm のアニオン性のリポソーム(Lipo(-))を作製し、その表面にカチオン性の poly-arginine (PArg) とその分解酵素である trypsin(Try) (pI= 10.5)の吸着を行った(Lipo(-)-Try/PArg)。種々の pH や温度において酵素分解を行い、PArg の分解に伴うアミノ基の増加を測定した。水中粒径測定、表面電位測定および電子顕微鏡観察も行った。次に、ナノカプセル内部にグルコースなどのモデル物質を封入し、酵素分解に伴って放出された物質の量を測定することで放出挙動の検討を行った。さらに、Lipo(-)に PArg を吸着し、さらにアニオン性の poly-L-glutamic acid (PGlu) とその分解酵素である pepsin(Pep) (pI=3.0)の吸着を行い(Lipo(-)-PArg-Pep/PGlu)、PGlu の分解に伴うアミノ基の増加を測定した。また、骨の主無機成分である hydroxyapatite (HAp)と親和性を有する PGlu をカチオン性のリポソーム(Lipo(+))に吸着させ、さらにその表面に Try、PArg を順に吸着させた(Lipo(+)-PGlu-Try/PArg)。このナノカプセルについて、最外層の PArg の酵素分解に伴う PGlu 層の表面提示と、骨モデル(HAp)への付着性を評価した。

【結果と考察】Lipo(-)-Try/PArg の酵素分解性を測定したところ、Try の至適条件(pH 10、37°C)において、最も高い分解性が見られた。また、表面電荷が正から負に反転し、PArg 層の剥離が確認された。ナノカプセルは酵素分解後も中空構造を維持していた。さらに、PArg 層の酵素分解・剥離に伴い内包物質の放出が促進され、Try および PArg の吸着量によって放出性を調節できた。Lipo(-)-PArg-Pep/PGlu の酵素分解性については、Pep の至適条件(pH 2.0、37 °C)において、最も高い PGlu 層の分解性が見られ、PArg 層が提示されることを確認した。また、Lipo(+)-PGlu-Try/PArg は、Try の至適条件において最も高い PArg 層の分解性がみられ、表面電荷が正から負に反転した。HAp への付着性は、最外層が PArg の場合は低かったが、PArg の酵素分解に伴う PGlu 層の提示によって付着量が増大することがわかった。

1C-10- I

Progressive Freeze Concentration based Model System for Delivery of Biomolecules

Japan Advanced Institute of Science and Technology

○Sana Ahmed and Kazuaki Matsumura

【Introduction】Protein based therapeutics have been widespread for the applications in biomedical engineering and regenerative medicines. Previously, electroporation and ultra-sonication process have been developed to delivered biomolecules inside the cells. But parameters such as voltage shock and ultrasound irradiation might induce cell damage. In our previous research, we developed novel freeze concentration based method to delivered protein safely. Freeze concentration is a physical process wherein at ultra-cold low temperature; the concentration of solutes becomes high after separation from the ice crystals. In this study, we describe the relation of continuous freeze concentration in internalization of proteins.

【Materials and methods】The samples were started freezing from -3 to -20 °C at the rate of 1 °C/min. After this step, the straw solution were withdrawn from particular temperatures and thawed at 37 °C. The samples were observed through confocal microscope.

【Results and discussion】The confocal images revealed that on progressive lowering down the temperature after the introduction of ice seeding at every step, the fluorescent intensity of proteins were significantly improved. However, the fluorescence was weak at higher temperature specifically around at -3 °C but on continuously dropping the temperatures, adsorption of protein towards the cells was greatly improved. Moreover, the quantification of fluorescent intensity from FITC-OVA proteins confirmed that progressive freeze concentration can affect for adsorption/internalization of OVA proteins around the peripheral of the cell membrane.

【Conclusion】This result demonstrated that progressive freezing is able to deliver proteins efficiently into the cytosol of the cells and circumvent the exposure of long time ultra cold temperature. This simple strategy with less time taking, cost-effective and lack of toxicity may used as a new alternative for the delivery of therapeutics.

10-11- I

内在化受容体を標的とした生理活性ペプチド運搬体の合成と生体親和性評価

¹九州大学先端物質化学研究所, ²九州大学大学院工学府, ³山形大学有機材料推進本部

○柏崎亜樹¹ (Kashiwazaki Aki), 上原広貴², 田中 賢^{1,2,3}

【緒言】下垂体や副甲状腺から血中に分泌されるホルモンは、標的となる器官の受容体に結合し効果を現す生理活性物質である。受容体はホルモンによって刺激されると細胞質内に内在化し、続いて起こるエクソサイトーシスにより細胞外にホルモンが排出されると細胞膜に戻り、再びホルモンと結合できるようになる。しかし、受容体が繰り返し刺激されると、細胞質内から細胞膜に戻ることができなくなる。これまで、多くのホルモンは水溶性であるため、細胞質に内在化した受容体にホルモンを結合させることは困難であった。本研究は、合成高分子にホルモンである生理活性ペプチドを担持させることにより、細胞質内に内在化した受容体に生理活性ペプチドを結合させることを目的とした。

【実験】双性イオン化合物を用いて放射性リガンド受容体結合実験を行い、候補物質となり得るモノマーを探索した。続いて、候補物質である双性イオンモノマーを用いて双性イオンポリマーを合成し、生理活性ペプチドであるバソプレッシンの担持を試みた。

【結果と考察】双性イオン化合物を用いた放射能標識バソプレッシンと受容体との結合実験の結果、スルホベタインは臨界ミセル濃度以下において放射能標識バソプレッシンと受容体との結合を阻害しなかった。スルホベタインを有する微粒子は膜透過性を持ち、かつ血中安定性が高いことが知られている。したがって、スルホベタインをバソプレッシン運搬体の候補物質とし、スルホベタインを有するブロック共重合体を可逆的付加開裂連鎖移動 (RAFT) 重合法により合成した。初めに、水中で正の電荷を持つバソプレッシンと静電相互作用による結合が可能なメタクリル酸ナトリウムを用いて macro-chain transfer agent (macro-CTA) を合成した。合成した macro-CTA は、数平均分子量 (M_n) が 2,000、および分子量分布 (M_w/M_n) が 1.04 と狭い分子量分布を持つことが水系 SEC 測定より明らかとなった。続いて、合成した macro-CTA を用いて、[2-(メタクリロイルオキシ)エチル]ジメチル-(3-スルホプロピル)アンモニウムヒドロキシドをモノマーとし、ブロック共重合体を合成した。合成したブロック共重合体について DSC 測定を行った結果、含水時に中間水を有することが確認されたことから、生体親和性を示すことが示唆された。

10-12- I

肺および脾臓への蓄積を回避する赤血球状ポリマー粒子の作製と肝硬変治療への応用

¹名古屋大学未来材料・システム研究所 ²九州大学大学院歯学研究科

○山田翔太¹ (Yamada Shota), 林幸壱朗², 坂本 渉¹, 余語利信¹

【緒言】

薬物キャリアのサイズを増大させることで、一度に運搬できる薬剤の種類と量は増加するが、肺や脾臓に蓄積しやすくなるという問題がある。本研究では、赤血球特有の体内動態に着想を得て、この問題の解決に取り組んだ。赤血球は窪んだ円盤状であり、その形状を活かしてパラシュートのように変形しながら自径よりも細い血管を通過する。本研究では、赤血球様の形状と変形能を有するマイクロ粒子を作製し、その体内動態を調査した。さらに、赤血球状粒子の体内動態を活用し、肝硬変治療への応用を試みた。

【実験】

セルロースからなる赤血球状粒子 (赤血球状ポリマー粒子) をエレクトロスプレー法により作製した。比較のために、同様の方法で、セルロースから成る球状粒子 (球状ポリマー粒子) とシリカを含有する赤血球状粒子 (赤血球状シリカ粒子) を作製した。各粒子の形状、弾性、粒子内弾性分布を評価し、これらの因子が体内動態へ与える影響を調査した。さらに、肝硬変マウスに投与することで、赤血球状ポリマー粒子を用いた肝硬変の治療効果および肺への副作用を調査した。

【結果と考察】

赤血球状ポリマー粒子は、実物の赤血球と類似した形状を有していた。粒子の弾性を評価したところ、窪みのヤング率が縁のヤング率よりも低く、窪みを基点として変形できるような粒子内弾性分布を示した。この結果、赤血球状ポリマー粒子は自径よりも細い細孔を通過した。一方、球状ポリマー粒子および赤血球状シリカ粒子は細孔を通過することはできなかった。

各粒子の体内動態を評価したところ、赤血球状ポリマー粒子は肺および脾臓への蓄積を回避し、肝臓に特異的に集積した。一方、球状ポリマー粒子および赤血球状シリカ粒子は肺および脾臓に蓄積した。赤血球状ポリマー粒子を肝硬変マウスに静脈内投与したところ、肺への副作用なく、線維化の程度を改善した。

10-13- I

ペプチドナノファイバーの集合－解離制御に基づく抗原ペプチドの細胞内デリバリー

京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科

○出呂町剛大 (Deromachi Takehiro), 和久友則, 田中直毅

【緒言】近年、細胞性免疫を利用したがんペプチドワクチン療法の実用化に期待が高まっており、高効率ながん免疫誘導には細胞障害性 T 細胞の活性化が重要である。そのためには、抗原が抗原提示細胞に取り込まれた後、主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) I 分子を介して細胞表面に提示される必要があり、このプロセスを効率化するデリバリーシステムの開発が求められている。我々は、自己組織化 β シートペプチドナノファイバー (NFs) をキャリアに用いた抗原ペプチドのデリバリーシステムの開発に取り組んでいる。これまでに、 β シート配列に抗原配列及び親水性セグメントとしてオリゴエチレングリコール鎖を導入したペプチドを合成し、このペプチドの自己組織化を利用することで高効率に抗原を担持したペプチド NFs を作製することに成功した。また、NFs をキャリアに用いることで抗原ペプチドの樹状細胞による取り込み効率が向上することを明らかにした。しかし、NFs を作用させた樹状細胞による MHC クラス I 分子を介した抗原提示の効率は低く改善が必要であった。この原因として、細胞内においても NFs が安定である為、プロセッシングによる抗原ペプチドの遊離が困難であることが考えられた。そこで本研究では、抗原提示の効率化を狙いとして、細胞内環境に応答して集合－解離をスイッチングさせる機能を持つ NFs の開発を目的とする。

【実験】線維形成配列 (FVIFLD) にモデル抗原配列 (SIINFEKL) およびオリゴグルタミン酸 (E3, E4, E5, E7) を導入したペプチドを合成し、各ペプチドを 600 mM NaCl を含むリン酸緩衝液中で 80°C、1 時間インキュベートすることで NFs を作製した。得られた NFs のリン酸緩衝生理食塩水溶液 (PBS) 中における安定性を、円偏光二色性 (CD) 測定により評価した。

【結果と考察】オリゴグルタミン酸の導入数が異なる 4 種類の NFs を PBS 中に分散させた後、CD スペクトルにおける β シートに特徴的な 217 nm の負のコットン吸収のピーク強度を経時的に測定した。その結果、ペプチドのネットチャージが NFs の安定性に大きく影響することが分かった。今後、この知見を基に細胞内環境に応答してネットチャージが変化する NFs を設計し、細胞内における集合－解離についても評価する。

10-14- I

ミネラル架橋・金属架橋を有するリン酸化キトサンナノ粒子の創製と機能化

慶應義塾大学大学院理工学研究科

○小門佳奈子 (Kokado Kanako), 福井有香, 藤本啓二

【緒言】カチオン性多糖のキトサン (CHI) に水溶性の付与と両性化を行うために、リン酸基の導入を行った。得られたリン酸化キトサン (P_{CHI}) に界面活性剤を加えることによってナノ粒子の作製を行い、さらに無機・金属架橋を行うことで、色材、DDS 担体、バイオイメージング材料などに応用可能な機能性ナノ粒子の創製を試みた。

【実験】キトサンと五酸化二リンを反応させることによって P_{CHI} を作製し、カチオン性界面活性剤 (DTAB) とアニオン性界面活性剤 (SDS) を添加することで P_{CHI} の集積化を行った ($P_{CHI}(+)$ 粒子と $P_{CHI}(-)$ 粒子)。次に、 $P_{CHI}(+)$ 粒子のミネラル架橋を行うために、 $CaCl_2$ 水溶液とリン酸緩衝液 (PB) で交互透析を行うことによってリン酸カルシウム (CaP) の析出を行った ($P_{CHI}(+)CaP1$ 粒子)。さらにイオン添加とエージングによって析出量と結晶構造の調節を試みた ($P_{CHI}(+)CaP2$ 粒子)。電子顕微鏡による形状観察、X 線回折測定による結晶構造の評価を行い、 Ca^{2+} 量を測定して CaP の生成量を求めた。続いて、蛍光色素の封入と放出について検討を行った。また、 $P_{CHI}(-)$ 粒子の金属架橋を行うために、 $HAuCl_4$ とアスコルビン酸を添加して、粒子内で金ナノ粒子 (AuNPs) の生成を行い ($P_{CHI}(-)Au$ 粒子)、紫外可視分光とラマン分光測定により AuNPs 由来のプラズモン特性の評価を行った。

【結果と考察】pH 9.0 で P_{CHI} に 6 mM の DTAB を加えると、粒径 164 nm で負電荷を帯びた $P_{CHI}(+)$ 粒子が得られた。また、pH 2.0 で 0.6 mM の SDS を P_{CHI} に加えたところ、粒径 133 nm で正電荷を帯びた $P_{CHI}(-)$ 粒子が得られた。続いて、50°C で 3 mM $CaCl_2$ aq. と 2 mM PB に対して $P_{CHI}(+)$ 粒子を交互透析することによってミネラル架橋を行うことができた ($P_{CHI}(+)CaP1$ 粒子)。さらに、CaP 成長を促すことで、CaP は針状へと変化し、pH を高くすることで析出量を増大させることができた ($P_{CHI}(+)CaP2$ 粒子)。粒子全体の負電荷と CaP 由来の正電荷を利用して、カチオン性とアニオン性の蛍光色素をいずれも封入することができた。さらに、外部環境 (イオン濃度、pH など) によって放出制御が可能であった。一方、 $P_{CHI}(-)Au$ 粒子では内部に AuNPs の生成が観察され、SDS を除去しても粒子の形状は維持され、金属架橋の形成が認められた。さらに、還元剤と金イオンの濃度を変化させることで、AuNPs の量や形状を調節することができた。

10-15- I

ICG 誘導体結合マイクロバブルによる近赤外蛍光-超音波イメージングシミュレーション

¹千葉大学工学研究科人工システム科学専攻, ²千葉大学フロンティア医工学センター, ³東京大学大学院総合文化研究科

○江島将彦¹ (Ebata Masahiko), 吉田憲司², 豊田太郎³, 林 秀樹²

【緒言】臨床現場において、インドシアニングリーン(ICG)は近赤外蛍光プローブとして、マイクロバブルは超音波診断用造影剤として、それぞれ血管やリンパ管の可視化に使用されている。両者の特性を併せ持つ新規造影剤を開発することができれば、近赤外蛍光により生体表面を広く観察することが可能であることに加え、超音波により生体深部も観察可能になり、より幅広く観察できる造影剤とすることが期待される。そこで、ICG よりも脂質膜との親和性を向上させた ICG 誘導体を脂質膜を介してマイクロバブルに結合することを着想し、そのマイクロバブルの検出効果を ex-vivo 実験により検証した。

【実験】我々がこれまでに開発した ICG 誘導体(ICG-C18)とホスファチジルコリンを ICG-C18 が 1.2 mol%になるように混合し、さらにポリエチレングリコール結合型リン脂質を加え、リン酸緩衝生理食塩水に分散した。これを空気と体積比 2 (リン脂質溶液) : 1 (空気) で混合することで ICG 誘導体結合マイクロバブル分散液を調製した。マイクロバブルそのものは明視野/近赤外蛍光顕微鏡 (BX51, OLYMPUS) で観察した。マイクロバブル分散液をトリム肉の皮下 5 mm、15 mm の位置に 0.1 mL ずつ局注した後、超音波診断装置 (Aplio 500、東芝メディカルシステムズ) および近赤外光観察装置 (Hyper Eye Medical Systems、瑞徳医科器械) を用いて観察した。比較対象として、市販の超音波診断用造影剤 (Sonazoid®) を用いて同様に観察を行った。

【結果と考察】本実験で調製されたマイクロバブルの粒子径は 5~40 μ m で、バブルの輪郭から強い蛍光が観察された。皮下 5 mm にマイクロバブル分散液を局注した場合、超音波観察および近赤外蛍光観察の両者において検出可能であった。皮下 15 mm に局注した場合は、超音波では検出できたものの、近赤外蛍光観察では深さ 5 mm の場合と比較して蛍光強度が著しく低下した。Sonazoid®を皮下 5 mm、または 15 mm に局注した場合、超音波観察においてはいずれも明瞭な検出が可能であったが、近赤外蛍光観察においては局注箇所からの蛍光強度は得られなかった。従って、今回作製したマイクロバブルは組織表面からは近赤外蛍光と超音波の両者で、組織深部では超音波で検出可能であった。このマイクロバブルの粒径をナノサイズとすることで、従来の近赤外蛍光色素と比較し、より広範なリンパ系の可視化が期待できるものと考えられた。

10-16- I

ハイブリッド中空ナノ粒子を用いた肝線維化治療

¹名古屋大学未来材料・システム研究所, ²九州大学大学院歯学研究院

○林幸孝朗^{1,2} (Hayashi Koichiro), 丸橋卓磨¹, 坂本 渉¹ 余語利信¹

【緒言】

肝硬変は肝臓が線維化し本来の機能を果たせなくなった状態である。線維化が進行すると、肝性脳症や食道静脈瘤などの重篤な症状や合併症が現れる。さらに、食道静脈瘤が破裂すると大量の出血によりショック死を招く。また、線維化により肝がんのリスクも高まる。本研究では、①線維化を引き起こす二種類の細胞 (クッパー細胞と肝星細胞) をターゲティングする機能、②これらの細胞内の活性化を阻害する物質を細胞内で放出する機能、③線維化を引き起こす活性酸素を除去する機能を併せ持つハイブリッド中空ナノ粒子を合成し、このナノ粒子を用いて線維化した組織を修復し、肝機能を回復させることを試みた。

【実験】

すでに報告している方法により、ハイブリッド中空ナノ粒子を one-pot で作製した^[1]。ハイブリッド中空ナノ粒子の構造および機能を評価した。マウスへの四塩化炭素継続的投与により肝線維症を誘発した。肝線維症マウスにハイブリッド中空ナノ粒子を投与し、免疫組織染色および生化学検査により治療効果を評価した。

【結果と考察】

ハイブリッド中空ナノ粒子の骨格はジスルフィドとシロキサンからなり、粒子表面にはチオールを有する。このような構造をもつため、ハイブリッド中空ナノ粒子はクッパー細胞が作り出す活性酸素を除去した。さらに、細胞内においてハイブリッド中空ナノ粒子は崩壊し、肝星細胞の増殖と損傷部への遊走性を阻害する物質を放出した。肝組織の免疫染色により、ハイブリッド中空ナノ粒子はクッパー細胞および肝星細胞をターゲティングすることが明らかになった。さらに、ハイブリッド中空ナノ粒子の静脈内投与を週一回のペースで二週間行くと、線維化した組織が修復され、肝機能が回復することが、肝組織のシリウスレッド染色および生化学検査により明らかになった。

[1] Hayashi et al. *Adv. Funct. Mater.* **2016**, *26*, 8613.

10-17-I

プロテインコロナ組成を制御してステルス性を獲得する分子認識ナノ粒子

¹神戸大学大学院工学研究科, ²川崎市産業振興財団, ³東京大学大学院医学系研究科

○竹内俊文¹ (Takeuchi Toshifumi), 吉田碧衣¹, 木口健太郎¹, 山田託也¹, 藤加珠子², 松本 有³, 片岡一則^{2,3}, 北山雄己哉¹

【緒言】ナノ材料が血中に投与された時、ナノ材料表面には、体液中に存在するタンパク質が吸着してプロテインコロナ層が形成される。このプロテインコロナのタンパク質組成は、細胞や組織に対するナノ材料の反応性、取り込みや分布に大きく影響を及ぼすことが報告されている。そこで我々は、プロテインコロナ層の組成をコントロールすることで、ナノ材料の生体内挙動が制御できると考えた。具体的には、免疫反応のトリガーとなるオプソニン化を抑制する血中タンパク質であるアルブミンを認識するナノゲルを分子インプリンティングにより合成し、アルブミンを主成分とするプロテインコロナ層を形成させることで、ナノ材料にステルス性を付与することを試みた[2]。

【実験】無乳化剤沈殿重合により粒径 100 nm 以下のアルブミンインプリントナノゲル(MIP-NGs)を合成した。鋳型分子として HSA、機能性モノマーとして HSA と相互作用するピロリジルアクリレート、コモノマーとして *N*-イソプロピルアクリルアミドと 2-メタクリロイルホスホリルコリン、共焦点レーザー蛍光顕微鏡観察のための蛍光モノマーとしてフルオレセインアクリルアミド、*N,N'*-メチレンビスアクリルアミドを架橋剤として、無乳化剤沈殿重合を行った後、HSA を除去することにより MIP-NGs を得た。

【結果と考察】MIP-NGs および NIP-NGs をマウス尾静脈から注入し、耳毛細血管の共焦点レーザー蛍光顕微鏡像の時間経過を観察することで血中循環性を評価したところ、MIP-NGs の血中半減期は約 7 時間であったのに対し、NIP-NGs では約 3 時間であった。また、肝細胞への蓄積性は MIP-NGs のほうが NIP-NGs に比べて明らかに低いことも示され、MIP-NGs は血中投与後速やかに HSA を吸着し、ステルス性を獲得することが示唆された。さらに HeLa 細胞を移植した担がんマウスを用いて MIP-NGs の腫瘍蓄積性を評価したところ、時間と共に MIP-NGs は腫瘍組織に蓄積する一方、正常細胞にはほとんど集積しなかったことから、MIP-NGs は EPR 効果による Passive Targeting 性があることがわかった。さらにがん治療性物質を含む MIP-NGs も合成したのであわせて報告する。

[1] Takeuchi, T., et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, 56, 7088-7092.

10-18-III

免疫賦活化能を向上させた 2 本鎖メッセンジャー RNA ワクチンの開発

¹東京大学 ²川崎市産業振興財団 ³大阪府立大学工学院

○内田智士^{1,2} (Uchida Satoshi), 吉永直人¹, 柳原歌代子^{1,2}, 弓場奨司³, 位高啓史^{1,2}, 片岡一則^{1,2}

【緒言】

メッセンジャー(m)RNA ワクチンには、安全かつ強力な免疫賦活化アジュバントが必要である。本研究では、mRNA に相補鎖 RNA をハイブリダイズし、免疫原性の高い 2 本鎖 RNA 構造を形成させることで、アジュバント機能を組み込んだ mRNA を設計した。この 2 本鎖 mRNA ワクチンは、RNA 分子のみからなるため安全であるほか、様々なデリバリーキャリアに搭載できる、抗原タンパク質発現とアジュバント活性が同じ抗原提示細胞に得られるといった利点を持つ。

【実験】

mRNA の全長に相補鎖を結合させた全長 2 本鎖 mRNA に加え、mRNA の poly A 配列にのみ、その相補鎖(poly U)を結合させた mRNA:pU を調製し、その免疫誘導作用を評価した。

【結果と考察】

培養樹状細胞(DC)を用いた実験で、全長 2 本鎖 mRNA は、1 本鎖 mRNA と比べて、強い自然免疫応答を誘導した一方で、mRNA のタンパク質翻訳活性は大きく低下した。一方で、mRNA:pU は、翻訳活性を維持したまま、全長 2 本鎖 mRNA と同様の強い自然免疫応答を誘導した。mRNA:pU はマウス及びヒト DC に対してその活性マーカーである CD86, CD40 の発現を上昇させた一方で、1 本鎖 mRNA では DC 活性化は観られなかった。mRNA:pU の免疫誘導メカニズムに関して、相補鎖 RNA の 5' 末端トリリン酸基の RIG-I による認識、及び Toll 様受容体(TLR)3 の関与が示唆された。最後に、モデル抗原(OVA)発現 mRNA をマウス単経リンパ節へ投与したところ、mRNA:pU は 1 本鎖 mRNA と比較して、OVA 特異的な細胞性免疫、及び液性免疫をより効果的に誘導した。この 2 本鎖 mRNA ワクチンは、様々な mRNA ワクチン導入システムと併用し、その効果を増強できる汎用性の高いプラットフォーム技術である。

10-19-Ⅲ

抗酸化ナノメディシンを用いた重度感染治療法の開発

¹筑波大院数理物質科学研究科、²筑波大学医学医療系、³筑波大学大学院人間総合科学研究科、⁴MANA-NIMS

○池田 豊¹ (Ikeda Yutaka), 庄司和弘¹, Chitho P. Feliciano¹, 斎藤慎二², 長崎幸夫^{1,3,4}

【緒言】

細菌やウイルス等の病原体が体内に侵入することで引き起こされる種々の感染症は、感染直後に免疫応答により活性酸素が大量に産出され、それに伴い大量の炎症性サイトカインが産出される。その結果、全身性炎症症候群、更には多臓器不全が併発され患者を死に至らしめる。感染初期における過剰な活性酸素を抑制することにより、この炎症性サイトカイン産出を抑制できれば、エボラのような致死性の高い感染症の緩和が期待できる。本研究ではリステリア感染症モデルマウスに対し当研究室においてこれまでに開発された抗酸化ナノメディシン(RNP)の単独投与及び抗菌剤であるアモキシシリンとの共投与を行うことで、様態改善効果を検証した。

【実験】

リステリア・モノサイトゲネスをマウスに腹腔投与する事で、リステリア感染症モデルマウスを作成した。抗酸化物質である 4-hydroxy-TEMPO を結合させた抗酸化ポリマーを自己組織化する事で作成した抗酸化ナノ粒子(RNP)を単独投与及び抗菌剤であるアモキシシリンとの共投与を行い、臓器中の細菌数及び、酸化ストレスによる臓器障害の指標である脂質過酸化を TBARS アッセイにより解析した。

【結果と考察】

感染症モデルマウスに対して、アモキシシリンと RNP の共投与（腹腔投与）を行ったところ、各臓器の細菌数の減少及び、臓器障害の抑制が確認された。更に、生存率の改善及び感染後に減少した体重の回復も確認された。この結果は、RNP の持つ抗炎症能が、感染症患者の生存及び様態に大きく寄与する医療用材料として活用される可能性を示唆している。

10-20-Ⅲ

ハイドロキシアパタイト・コラーゲン複合体 (HAp/Col) の抗菌剤担体としての評価

¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科整形外科学分野、²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科整形外科学先端治療開発学講座

○江川 聡¹ (Egawa Satoru), 松本連平¹, 平井敬悟¹, 早乙女進一², 大川 淳¹

【緒言】骨髄炎は血行性または開放骨折や骨関節手術などによる外因性の骨感染症である。現在のところその治療法は抗菌剤の全身投与と外科的なデブリドマンがメインである。しかし骨組織は抗菌剤の移行性が不良であることが知られており、十分な抗菌作用を発揮できず治療に難渋することも少なくない。また抗菌剤含有セメントによる局所投与法もあるが、セメントの抜去手術を要するという問題もある。多孔体 HAp/Col は柔軟性とむ人工骨として現在臨床使用されているが、今回抗菌剤の担体としての多孔体 HAp/Col の有用性を評価した。

【実験】抗菌剤は CEZ, MINO, VCM, TEIC, AMK, DPT について検討した。まず HAp/Col の抗菌剤吸着性を調べるため、抗菌剤溶液中 1ml に HAp/Col 粉末 50mg を添加し、震盪させて溶液中に残存した抗菌剤濃度を吸光度より求め、吸着した抗菌剤の量を算出した。続いて Wister rat の皮下に抗菌剤含有多孔体 HAp/Col (4x4x4mm) を埋植し術後 1, 3, 5, 7 日 (各 n=4) で摘出した。1x10⁷CFU/ml に調整した黄色ブドウ球菌菌液 1ml と普通寒天培地 20ml を混合してペトリ皿に入れ、その中央に摘出した HAp/Col を静置して 24 時間培養し、阻止円の様子を観察した。また抗菌剤の骨形成への作用を調べるため、Wister ラットの大腿骨外顆部へφ3mm の骨孔を作成し、3x3x4mm の抗菌剤含有 HAp/Col を埋植し CT、組織切片にて骨形成の様子を観察した。

【結果と考察】CEZ は HAp/Col にほとんど吸着しないのに対し、VCM や MINO はよく吸着した。阻止円の面積はいずれの抗菌剤も術後日数を経るごとに縮小傾向であったが、吸着の少ない CEZ では術後 3 日以降は極度に小さくなっていたのに対し、吸着性のある MINO、VCM は術後 5 日以降も阻止円の面積が保たれていた。また、大腿骨への埋植実験ではいずれの抗菌剤も明らかな骨形成の阻害は認めなかった。これらの結果より、VCM や MINO などの HAp/Col に吸着する薬剤はその徐放作用が期待できるため、骨髄炎に対し HAp/Col を担体とした局所投与が有効である可能性が示唆された。

1C-21-Ⅲ

乳癌骨転移モデルラットに対するパクリタキセル含浸 HAp/Col による局所制御実験

¹ 東京医科歯科大学医歯学総合研究科整形外科学, ² 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科整形外傷外科治療開発学講座

○松本連平¹ (Matsumoto Rempei), 江川 聡¹, 平井敬悟¹, 偉 雪濤¹, 吉井俊貴¹, 大川 淳¹, 早乙女進一²

【緒言】乳癌は骨転移をきたし易く、骨転移後の生存期間が長いいため骨折や麻痺などのリスクが高く、局所制御が治療戦略の一つと考えられる。孔質ハイドロキシアパタイトコラーゲン複合体 (HAp/Col) は湿潤化するとスポンジ状となるため、抗癌剤局所投与の担体として適していると考えられる。また HAp/Col は優れた骨伝導を有し、抗癌剤の局所投与と同時に骨再生も実現できる可能性がある。以前我々は、ラット正常大腿骨にパクリタキセル含浸 HAp/Col を移植し術後 8 週まではパクリタキセルの影響により骨形成が阻害されていたが、術後 12 週では HAp/Col 内部に骨形成が確認されたこと、またパクリタキセル含浸 HAp/Col は全身的な骨形成には影響を及ぼさないことを報告した。今回、我々はパクリタキセル含浸 HAp/Col の局所投与が乳癌骨転移の局所制御において有効か否かを、乳癌骨転移モデルラットを作成し検証した。【実験】マウス乳癌細胞 (CRL1666) を培養し F344 ラットの背部皮下に移植した。移植 1 週間後、結節状になった癌細胞を摘出、切断し癌細胞移植片とした。その後、F344 ラットの大腿骨に径 3mm の骨孔を作成し、癌細胞移植片と共に 400 μ g のパクリタキセルを含浸させた HAp/Col を移植した。癌細胞移植片と共に生食を含浸させた HAp/Col を移植した群を Control 群とし、 μ CT による画像評価や組織学的評価で癌細胞の進展を評価した。また術後平均生存期間についても評価を行った。

【結果と考察】 μ CT では、Control 群において全ての症例で術後 1 週には癌細胞の骨内から皮下への進展がみられたが、パクリタキセル含浸群では、少なくとも術後 2 週までは癌細胞の進展はみられず、そのうちの 2 例は術後 12 週でも癌細胞の進展はみられなかった。術後 12 週まで癌細胞の進展がみられず生存した 2 例を除いた術後平均生存期間はパクリタキセル含浸群が 26.5 日、Control 群が 17.4 日と有意差を認めた。組織学的所見では死亡例では両群共に癌細胞が増殖し、骨外・骨髄内浸潤を認めたが、生存例では乳癌細胞は消失していた。以上より、パクリタキセル含浸 HAp/Col は乳癌骨転移モデルラットの局所制御に有効であると考えられる。今後、人に対する安全性が確認されれば、抗癌剤の局所投与が骨転移に対する治療戦略の一つとなり得ると考えられる。

1D-01-Ⅱ

過飽和液中レーザー照射によるフッ素担持リン酸カルシウム成膜と抗菌性評価

¹ 産業技術総合研究所 ナノ材料研究部門, ² 北海道大学 大学院歯学研究院

A. Joseph NATHANAEL¹, ○大矢根綾子¹ (Oyane Ayako), 中村真紀¹, 薮佳奈子², 宮治裕史²

【緒言】歯周病の再生治療においては、細菌増殖により破壊されたペリオドンタルアタッチメントを早期に再構築させることが重要である。本研究では、歯周治療後の感染予防とペリオドンタルアタッチメント再構築に有効と期待される、フッ素担持リン酸カルシウム (CaP) を歯面上に迅速成膜する技術の確立を目指した。成膜法としては、発表者らが最近開発した過飽和液中レーザー照射法 (J. Mater. Chem. B, 4, 6289, 2016) を用いた。エナメル質・象牙質のモデル材料として焼結水酸アパタイト (sHA) 基材を用い、NaF を添加した CaP 過飽和液中で同基材表面にパルスレーザー光を照射した。得られた基材の表面構造と組成、フッ化物イオン徐放挙動、ならびに抗菌性を評価した。

【実験】種々の濃度 (0, 10, 100, 1000 μ M) で NaF を添加した CaP 過飽和溶液中に sHA 基材を設置した。同基材の表面に、非集光の Nd:YAG パルスレーザー光 (30 Hz, 355 nm, 6 W/cm²) を 5 分あるいは 30 分間照射した。得られた基材の表面構造と組成を SEM、EDX、TEM により評価した。また、基材からのフッ化物イオンの徐放挙動を調べるため、生理食塩水 (pH 7.4, 36.5°C) 中に基材を浸漬し、液中のフッ化物イオン濃度をイオン電極により経時的に測定した。さらに、基材の抗菌性を調べるため、基材上に *Streptococcus mutans* 菌 (ATCC35668) を生着させた後 24 時間嫌気培養し、培地の濁度を測定した。

【結果と考察】SEM、EDX 分析の結果によれば、いずれの NaF 添加濃度でも、照射 5 分以内に、ナノからマイクロスケールの微細構造を有する緻密な CaP 膜が sHA 基材上に形成された。EDX による組成分析、ならびに TEM 電子線回折による結晶構造解析の結果、過飽和溶液への NaF 添加濃度の増加に伴い、CaP 膜のフッ素担持量が增大するとともに、結晶構造がリン酸八カルシウム (NaF : 0 μ M) からアパタイト (NaF : 1000 μ M) へと変化することが分かった。得られたフッ素担持 CaP 膜 (NaF : 1000 μ M) は、生理食塩水中にフッ化物イオンを 24 時間以上にわたって徐放した。また、Sm 菌培養培地の濁度測定の結果から、フッ素担持 CaP 膜は、Sm 菌に対し抗菌性を示すことが確認された。以上の結果から、本過飽和液中レーザー照射法により、歯周治療後の歯面を改質できる可能性が示された。

【謝辞】本研究は、JSPS 科研費 (JP17H02093, JP15F15331) および天田財団の助成を受けて実施された。

1D-02- I

極薄フッ素ドーブ非晶質リン酸カルシウムシートによるエナメル質の修復効果

¹近畿大学生物理工学部, ²大阪歯科大学歯科理工学講座, ³大阪歯科大学歯科保存学講座

○本津茂樹¹ (Hontsu Shigeki), 平井瑞樹¹, 橋本典也², 吉川一志³

【緒言】我々は、新しく開発した極薄 HAp シートを歯質上に貼付することで、HAp の人工エナメル質によるエナメル質修復法の検討を行ってきた。しかし、HAp には耐酸性の問題が残されているため、耐酸性に優れたフッ素ドーブ非晶質リン酸カルシウム(F-ACP)に着目し、耐酸性を有する歯質修復用 F-ACP シートを作製したが、シートの耐酸性が上がると歯質に固着しにくいという問題が生じた。そこで本研究では、非晶質リン酸カルシウム(ACP)接着層をもつ F-ACP/ACP 複合シートの作製を試み、その象牙質への固着効果と象牙質上へのエナメル質修復効果について調べたので報告する。

【実験】フッ化アパタイト(FAp)とハイドロキシアパタイト(HAp)粉末(太平化学産業㈱)をプレス機にて約 20MPa で加圧成形することにより、直径 16mm, 厚さ約 3mm のバルク体を作製した。その後、電気炉にて 750°C・10 時間で焼結したものを成膜用のターゲットとした。このターゲットを用いて、パルスレーザー堆積(PLD)法により室温にてこれまでの報告と同条件[1]で、膜厚 1μm のレジスト塗布した Si 基板上に、膜厚 2 μm の F-ACP 薄膜と膜厚 0.1 μm の ACP 薄膜を成膜した。続いて、得られた積層膜をもつ基板をアセトンに浸漬し、中間層であるレジストを溶解させることで基板から積層膜を単離し、これを F-ACP/ACP 複合シートとして回収した。次にこのシートを、歯根歯冠境界部で切断して象牙質を露出させ、その表面を#2000 の耐水研磨紙で研磨したヒト抜去歯象牙質上に貼付した。貼付液として pH を 2.0 の飽和リン酸カルシウム水溶液を用いて複合シートを象牙質上に貼付し、シートと象牙質の界面を一度脱灰させた。10 分後に人工唾液を塗布して界面の再石灰化を行った。その後、37°C の恒温槽に 1 時間静置したのち、荷重 200g、ブラッシング回数 20 stroke の条件下でブラッシング試験を行うことで、シートの固着特性とエナメル質修復効果を評価した。

【結果と考察】シートを貼付後 1 時間でブラッシング試験をした結果、F-ACP 単体シートは象牙質から剥離したが、F-ACP/ACP 複合シートは剥離しなかった。このことより、ACP 接着層の固着効果と F-ACP/ACP 複合シートのエナメル質修復効果を確認することができた。 [1] S.Hontsu et al. *Key Engineering Materials*, 493-494, 615-619(2011)

1D-03- I

ナノ秒パルスレーザー照射を施した純チタンの生体活性に及ぼす表面性状の影響

¹慶應義塾大学理工学部機械工学科, ²東北大学大学院工学研究科機械システムデザイン工学専攻

○倉科佑太¹ (Kurashina Yuta), 村上 諒¹, 水谷正義², 小茂島潤¹

【緒言】インプラント材料として従来から使用されている純チタンの生体活性を向上させる方法には、様々な表面処理がある。その中でレーザー照射処理は、単一のプロセスで基材に局所的な高エネルギー密度の加工を施すことができ、微細な凹凸と酸化皮膜を同時に付与できるため注目されている。純チタンにナノ秒パルスレーザーを照射することで、被処理面の生体活性が向上することも報告されている。しかし、このとき創成される形状とハイドロキシアパタイトの析出量との関係について詳細な検討は行われていない。本研究では、レーザー照射時のデフォーカスの大きさを種々に変化させてナノ秒パルスレーザー照射を施した純チタンを準備し、その生体活性に及ぼす表面性状の影響について検討・考察を加えた。

【実験】鏡面状に仕上げた純チタンをアセトンと超純水により超音波洗浄し、基材全面にナノ秒 Nd:YVO₄ レーザ装置を照射して供試材とした。その際、デフォーカスは 0、2、4 mm とした。供試材の表面性状を評価するために、供試材の表面と断面を走査型電子顕微鏡 (FE-SEM) により観察し、表面積をレーザー顕微鏡により測定した。また、ラマン分光光度計を用いて供試材の表面に形成される化合物を同定した。さらに生体活性の評価は、供試材を 1.5 倍濃度の擬似体液 (SBF) に浸漬した状態で 37 °C の恒温槽に 1、2 週間静置し、表面の元素濃度の評価をエネルギー分散型蛍光 X 線分析装置 (EDX) で調べることに由り行った。なお、形成されたハイドロキシアパタイトは、FE-SEM により詳細に観察した。

【結果と考察】レーザー顕微鏡の結果から、レーザー照射処理を施すことで供試材の表面積が向上することが確認された。とくに、デフォーカスが 0、2 mm の際に表面積は大きく上昇した。また、ラマン分光光度計の結果から、レーザー照射を施すことでルチル型およびアナターゼ型の TiO₂ が形成されることが明らかとなった。一方で、EDX の結果から、SBF 浸漬後の供試材の表面には Ca および P が確認され、特にデフォーカスが 0、2 mm の際にこれらが顕著に検出された。また、SBF 浸漬後の FE-SEM 観察結果から、デフォーカス 0、2 mm では、板状と針状の混在するハイドロキシアパタイトの結晶、およびデフォーカス 4 mm では、網目状のハイドロキシアパタイトの結晶が観察された。これは、デフォーカスの短い条件では、形成した凹凸の表面積が大きく、形成したハイドロキシアパタイトの総量が多くなることを示唆している。

1D-04- II

低ヤング率骨インプラント創製のための積層造形法による β 型 Ti 合金の結晶集合組織形成

¹大阪大学大学院工学研究科マテリアル生産科学専攻, ²大阪大学大学院工学研究科知能・機能創成工学専攻

○石本卓也¹ (Ishimoto Takuya), 久本健太¹, 萩原幸司², 孫 世海¹, 中野貴由¹

【緒言】金属インプラントは骨医療において不可欠なデバイスであり、今日では骨機能代替のために多数使用されている。しかしながら、一般に金属材料と骨との間にはヤング率の大きな乖離があるため、金属インプラントの埋入によって応力遮蔽により骨に負荷される応力は減少し、骨がそのマクロ・ミクロ構造に於ける定常状態を維持するための十分に大きな応力が得られなくなる。その結果として骨吸収、骨質劣化が起こり、骨は力学機能低下を来す。応力遮蔽を回避するための 1 つの方策としてインプラントのヤング率をできるだけ低下させることが有効であると期待される。我々の研究室では、ISO 認可済の低ヤング率 β 型 Ti 合金である Ti-15Mo-5Zr-3Al 合金の単結晶化により、<100>にて 44.4 GPa という、骨類似レベルの低ヤング率化に成功している。一方で、3D プリンタの一種である積層造形法は、任意の三次元形状が作製可能であるのみならず、集合組織形成を可能とすることが近年示され始めており、形状と材質異方性を同時に付与可能な手法として我々は注目している。本研究では、積層造形法に基づく β 型 Ti 合金部材の造形と、造形体の集合組織形成挙動の解明を試みた。

【実験】ガスアトマイズ法により Ti-15Mo-5Zr-3Al 合金粉末を作製した。レーザビーム積層造形法を用いて、スキャンストラテジーをはじめとする造形パラメータを変化させて数種の緻密な造形体を作製した。作製した造形体に対し、FE-SEM-EBSD 法により集合組織解析を、ひずみゲージを用いての圧縮試験によるヤング率解析を行った。

【結果と考察】造形体の集合組織はスキャンストラテジーに依存して顕著に変化し、スキャンストラテジー X では造形方向に<100>、スキャンストラテジー XY では<110>が優先配向した単結晶ライクな造形体が作製された[1]。結果として、<100>が優先配向した方向での低ヤング率化が達成された。本手法が、金属集合組織制御に有用であるとともに、集合組織制御を通じた低ヤング率インプラント材の作製手法として極めて重要であることが示された。

<文献>

[1] T. Ishimoto, K. Hagihara, K. Hisamoto, S.-H. Sun, T. Nakano: Scripta Materialia, 132 (2017) 34-38.

1D-05- I

Effect of hot isostatic pressing on the microstructure of Zr-1Mo alloy builds fabricated by powder bed fusion process using fiber laser

¹Department of Materials Processing, Tohoku University, ²Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University

○Sun Xiaohao¹, Keiko Kikuchi¹, Naoyuki Nomura¹, Akira Kawasaki¹, Hisashi Doi², Yusuke Tsutsumi², Takao Hanawa²

【Introduction】Magnetic resonance imaging (MRI) is widely used as a powerful diagnostic tool in orthopedics and brain surgery. However, MRI diagnosis is inhibited when metallic implant exists in the human body. This is mainly due to the formation of artifacts around the implants in MR images caused by the magnetic susceptibility difference between human body and metals. On the other hand, powder bed fusion process using fiber laser (PBFL) has attracted increasing attention in biomedical and aerospace industries, because PBFL has the ability in fabricating complex parts with high yield ratio compared to conventional manufacturing routes. To decrease artifact, we fabricated a low magnetic Zr-1Mo alloy by PBFL and investigated the effect of hot isostatic pressing (HIP) which has been known as a post-treatment process for PBFL parts for decreasing the porosity in the builds.

【Experimental procedure】The Zr-1Mo alloy builds were fabricated by PBFL using an optimized processing parameters from the viewpoint of mechanical properties. HIP treatment was carried out at four different temperatures for 7.2 ks under a pressure of 110 MPa. Pore distribution was observed using optical microscope (OM). Microstructure was observed by scanning electron microscopy (SEM). Phase constitution was examined by X-ray diffraction (XRD). Mechanical properties were determined by tensile test.

【Results】Fully dense builds were obtained after HIP treatment and randomly distributed pore observed in as-build specimen almost disappeared. The SEM observation revealed that martensitic acicular structure observed in as-build specimens changed to lamellar structure at high HIP temperature and basket wave structure at low HIP temperature. Intercept length of α phase and the colony size also varied depending on the HIP conditions.

1D-06- I

Evaluation of microstructure and mechanical properties of additively manufactured β -type Zr-Nb-Sn alloy

Department of Materials Processing, Tohoku University

○Torun Gözden, Kikuchi Keiko, Nomura Naoyuki, Kawasaki Akira

【緒言】 One of the fundamental medical diagnosis technique used to visualize parts of human body in 3D is magnetic resonance imaging (MRI). However, the presence of foreign parts/objects in the body is one of the reasons of MR artifacts which may cause signal loss in their vicinity. Therefore, biomaterials with low magnetic susceptibility are required to overcome the problem. Withal, another problem associated with implants is the mismatch in the Young's modulus between the bone and implant. One way to solve the problem stress-shielding effect, is to reduce the Young's modulus of the implant. Previous studies showed that the as-cast β -type Zr-9Nb-3Sn has a lower magnetic susceptibility than most of commercial implants. In this study, Zr-9Nb-3Sn alloy was fabricated by the powder bed fusion process using a fiber laser (PBFL). The influence of process parameters on the microstructure and properties of PBFLed builds were examined.

【実験】 Gas atomized Zr-9Nb-3Sn alloy powder was prepared as the starting material. Dumb-bell shaped specimens were additively manufactured with different process parameters on a PBFL machine equipped with Yb fiber laser. The relative density, surface roughness of PBFLed builds was obtained by the Archimedes' method and laser microscope. The tensile properties, Young's modulus, hardness and magnetic susceptibility were measured by tensile test, Vickers hardness test, free vibration resonance methods and magnetic balance respectively. The microstructures were evaluated by SEM, EBSD, XRD and TEM.

【結果と考察】 All of the PBFLed builds showed a relative density of more than 99%. The metastable β -Zr was confirmed as the predominant phase. The dumb-bell specimen produced with higher energy density shows preferential growth along $\langle 100 \rangle$. The preferentially oriented specimen shows yield strength and tensile strength, 704 MPa and 743 MPa respectively. Young's modulus was successfully reduced by up to 55 GPa. Interestingly, the modulus tended to decrease with increase in elongation after cyclic tensile tests.

1D-07- I

Mechanical properties and magnetic susceptibility of swaged and heat-treated Zr-1Mo alloy

¹Department of Materials Processing, Tohoku University, ²Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University

○Zhou Weiwei¹, Kikuchi Keiko¹, Nomura Naoyuki¹, Kawasaki Akira¹, Doi Hisashi², Tsutsumi Yusuke², Hanawa Takao²

【Introduction】 Due to their low magnetic susceptibility, low cytotoxicity and high corrosion resistance, Zr-Mo alloy has enormous potential in the application of surgical implants. In particular, the swaged Zr-1Mo (mass %) alloy possessed a similar tensile strength as Ti-6Al-4V, and the magnetic susceptibility was decreased by two-thirds. Unfortunately, since a high dislocation density was induced by severe plastic deformation, the swaged Zr-1Mo showed a poor ductility. To improve this issue, heat treatment (HT) was conducted for the swaged Zr-1Mo in this work. Simultaneously, the effects of HT on the microstructures, mechanical properties and magnetic susceptibility were systematically investigated.

【Experimental】 Firstly, the as-cast Zr-1Mo alloy was fabricated by high-frequency induction melting process. Subsequently, the ingots were hot-forged at 1323 K, and machined into a rod with 18 mm in diameter for removing the surface oxide. After that, the initial rod was swaged into a bar with the diameter of 9 mm under an area reduction of 75 %. Finally, the swaged bars were cut into small pieces and heat-treated at 773 K for various periods. The tensile properties, Young's modulus and magnetic susceptibility were measured using instron-type universal testing machine, free vibration resonance methods and magnetic balance, respectively. The microstructures were evaluated by SEM, EBSD, XRD and TEM.

【Results and discussion】 All the heat-treated Zr-1Mo alloy mainly consisted of the α phase. Their grains remained the elongated shape. $\{10\cdot10\}$ texture formation was confirmed along the longitudinal direction for both the swaged and HT alloy. The Young's modulus showed slight increase after HT. The mechanical strength of swaged Zr-1Mo was slightly decreased with increasing HT time at 773 K, while the ductility was largely increased. That may be mainly attributed to the decrease of dislocation density.

1D-08- I

高い生体吸収性を備えた β -リン酸三カルシウム粉体の調製とその粉体性状

¹明治大学, ²岡山大学, ³シンガポール国立大学

○永田幸平¹ (Nagata Kohei), 本田みちよ¹, 小西敏功^{2,3}, 相澤 守¹

【緒言】

β -リン酸三カルシウム(β -TCP)は生体吸収性材料として臨床応用されている。我々はイノシトールリン酸のキレート能を利用することで β -TCPを主結晶相として硬化するキレート硬化型ペースト状人工骨の開発に成功している。本研究では、キレート硬化型ペースト状人工骨の吸収性をさらに向上させることを目的とし、出発原料である β -TCP粉体の溶解性を高めることに取り組んだ。具体的には、 β -TCP粉体をメカノケミカル法により調製し、得られた粉体の粉体性状を調査したので報告する。

【実験】

炭酸カルシウム(0.01 mol)とリン酸水素二ナトリウム(0.02 mol)と純水(40 cm³)をジルコニアポットに加え、300 rpmで3時間粉碎した。得られたスラリーを吸引ろ過後、110°Cで乾燥した。その後、700°C-1200°Cの温度範囲で加熱することにより原料粉体を調製した。得られた加熱粉体のキャラクタリゼーションとして、結晶相の同定、メジアン粒子径の測定、JIS T 0330-3に基づくCa²⁺イオン溶解性試験などを行なった。

【結果と考察】

加熱温度が700°C-1100°Cの範囲では粉体は β -TCP単一相であったが、1200°Cの場合、 β -TCPと α -TCPの混合相であった。これは β -TCPが α -TCPに相転移したためであると考えられる。加熱温度の増加に伴い、メジアン粒子径も増加した。この結果は加熱温度の増加により粒成長が進んだことによるものであると考えられる。また、溶解性試験を行なったところ、700°C-1100°Cの範囲では加熱温度が高くなると溶解速度は低下し、1200°Cでは逆に溶解速度は増加した。これは温度依存的に粒子径が増加することで、比表面積が小さくなったことが原因で溶解速度も低くなったものと思われる。一方、1200°Cでは、 α -TCPの存在により溶解速度が増加したと考えられる。これらのことから、700°Cで加熱した粉体は β -TCP単一相であり、優れた吸収性を持つ β -TCPセメント原料粉体として期待できる。

1D-09- II

酸および加熱処理を施したチタン合金のアパタイト形成能に合金元素が及ぼす影響

中部大学生命健康科学部生命医科学科

○山口誠二 (Yamaguchi Seiji), 橋本英樹、中井隆介、高玉博朗

【緒言】チタン合金は高い機械的強度と優れた生体親和性を示すので整形外科や歯科の分野に広く使用されている。しかし、これらは骨と結合しない。我々はチタン金属を硫酸と塩酸の混酸に浸漬して加熱すると、処理後の金属が擬似体液中で1日以内にアパタイトを形成し、生体内で骨と強固に結合することを報告した。しかし、同処理は多くのチタン合金には有効でない。本研究は、酸及び加熱処理を施したチタン合金のアパタイト形成能に合金元素が及ぼす影響を調べることを目的とする。

【実験】Ti-6Al-4V, Ti-15Mo-5Zr-3Al 及び Ti-15Zr-4Nb-4Ta 合金を#400のダイヤモンドパッドで研磨し、66.3% H₂SO₄と10.6% HCl混酸に70°Cで1h浸漬し、その後600°Cで1h加熱処理した(混酸-加熱)。また、研磨後の合金を5MのNaOH水溶液に60°Cで24h浸漬し、50mM HClに40°Cで24h浸漬し、加熱する処理も施した(NaOH-HCl-加熱)。処理後の表面の化学組成をEDX, XPS, GDSにより調べ、表面形態、構造、及びゼータ電位をFE-SEM, XRD、ゼータ電位測定装置により調べた。また、処理後の合金を擬似体液(SBF)に浸漬してそのアパタイト形成能を評価した。

【結果と考察】混酸-加熱処理を施した合金をSBFに浸漬したところ、いずれも3日以内にアパタイトを形成しなかった。純チタンを混酸-加熱処理を施すと、処理後の金属にSO₄²⁻やCl⁻の酸基が残存することが報告されている。これらはSBF中で解離して周囲の溶液を酸性雰囲気にし、金属表面を正に帯電させてアパタイトの形成を誘起する。本研究において処理後の合金をGDSにより分析したところ、これらの酸基はいずれの合金表面にも残存していたが、ゼータ電位はほぼゼロであった。EDX及びXPS分析によると、Al, V, Nbなどの合金元素のTiに対する割合は処理後に最大35倍にも達していた。また、XRD分析ではNb₂O₅, TiZrO₄の合金酸化物も検出された。これらの合金元素が表面電位を減少させ、アパタイト形成を抑制したと考えられる。一方、NaOH-HCl-加熱処理を施すと、いずれの合金も表面から合金元素が選択的に除去され、合金元素をほとんど含まないリチル及びアナタース型のTiO₂が形成された。同処理後の合金はいずれも正の表面電位を示し、SBF中で3日以内にアパタイトを形成した。同処理を施した合金は生体内でもアパタイトを形成し、骨と結合すると期待される。

1D-10- I

アパタイト核との複合化によるセルロースナノファイバーへのアパタイト形成能の付与

¹京都大学大学院エネルギー科学研究科, ²香川高等専門学校

○吉岡拓哉¹ (Yoshioka Takuya), 藪塚武史¹, 高井茂臣¹, 八尾 健²

【緒言】セルロースナノファイバーは、軽量、高強度、低熱膨張性を併せ持つ植物由来材料であり、近年様々な産業分野で注目を集めている。このセルロースナノファイバーに生体活性を付与することができれば、適度な強度と弾性率、骨伝導性の3点を併せ持つ新規骨修復材料への展開が期待できる。本研究では、体液または SBF 中で高活性にアパタイト形成を誘起するアパタイト核^[1]をセルロースナノファイバー母材に導入することで、セルロースナノファイバーへのアパタイト形成能付与条件の最適化を試みた。

【実験】ヒトの血漿とほぼ等しい無機イオン濃度を有する擬似体液 (SBF) の 2 倍濃度の水溶液を調製した。これを 36.5 °C、pH 8.2 に調整し 36.5 °C の恒温槽にて 4 日間保持し、アパタイト核を析出させた。得られたアパタイト核を 0 wt.%, 1 wt.%, 5 wt.%, 10 wt.%, 20 wt.% の重量割合でスラリー状のセルロースナノファイバーに混合し、金型を用いて一軸加圧成型を行い、50 °C の恒温槽にて乾燥させた。得られたアパタイト核とセルロースナノファイバーの複合体をダイヤモンドカッターにより切断して表面を研磨し、試験片とした。得られた試験片を 36.5 °C、pH 7.4 の SBF に浸漬し、アパタイト形成能を評価した。試験片表面を電界放出型走査型電子顕微鏡 (FE-SEM)、エネルギー分散型 X 線分析装置 (EDX)、薄膜 X 線回折測定装置 (TF-XRD) を用いて観察および分析を行った。

【結果と考察】複合体に対して 0 wt.%, 1 wt.%, 5 wt.% のアパタイト核を混合した試験片では、SBF に 7 日間浸漬後、試験片表面にアパタイト薄膜の形成は観察されなかった。一方、10 wt.% の試験片では SBF 浸漬 4 日後、20 wt.% の試験片では SBF 浸漬 1 日後において試験片表面が骨類似アパタイトに特徴的な鱗片状の結晶で被覆され、EDX における Ca と P のピーク強度が大きく増加した。さらに、TF-XRD において、アパタイトの回折ピークが強く検出された。

これらの結果から、本条件では 10 wt.% 以上のアパタイト核をセルロースナノファイバーに添加することで良好なアパタイト形成能を示すことが分かった。

[1] T. Yao et al, US Patent /US8,178,066 (2012), Japan Patent/5261712 (2013).

1D-11- I

ケイ酸カルシウム水和物を基材とした元素徐放体の創製：アルキルアンモニウムの導入

¹名古屋大学大学院工学研究科, ²名古屋大学工学部

○中村 仁¹ (Nakamura Jin), 生川涼介², 鳴瀧彩絵¹, 大槻主税¹

【緒言】生体微量必須元素は生命機能の維持に重要な役割を担っており、これらを徐放できる材料は、生体の自己修復機能を促進する機能を持つインプラントになると期待される。一方、骨伝導性を示すセラミックスの基礎組成としてケイ酸カルシウム化合物が利用できることが知られている。ケイ酸カルシウム水和物は、構造中にケイ酸を骨格とするナノシートを有しており、その層間を有機修飾し、生体微量必須元素を導入すれば、層間の構造に依存したイオンの徐放機能が付与できると考えられる。しかし、ケイ酸カルシウム水和物の層間を有機修飾するための合成条件は未解明である。そこで本研究では、ケイ酸カルシウム水和物 ($C-S-H$; $Ca_xSi_yO_{x+2y} \cdot 2y \cdot ZH_2O$) への、アルキルアンモニウムの導入について調べた。

【実験】ケイ酸ナトリウムと水酸化テトラブチルアンモニウム (TBAOH) を含む水溶液に、硝酸カルシウム水溶液を $Ca:Si:TBAOH = x:1:y$ (mol 比、 $x = 0.7 \sim 1.0$, $y = 0 \sim 2$) の組成となるように混合し、沈殿を得た。得られた沈殿を濾別し、超純水で洗浄した後に 100 °C で 24 h 乾燥させた。試料を C_xS-TBA_y と表記する。試料を粉末 X 線回折装置 (XRD) およびフーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR) を用いて調べた。

【結果と考察】 C_1S-TBA_y ($y = 0 \sim 2$) の粉末 XRD 図形からは、 $C-S-H$ に帰属される顕著なピーク (ICDD No.34-0002) とカルサイト型炭酸カルシウムに帰属される微弱なピークが検出された。原料やシリカゲル由来するピークは検出されなかった。

。FT-IR スペクトルからは、試料の TBA/Si (mol 比) の増大に伴い、 $Si-O$ 結合のバンド (1000cm^{-1}) に対する $C-H$ 結合のバンド (2900cm^{-1}) の相対強度が増大した。 C_xS-TBA_2 ($x = 0.7 \sim 1.0$) の粉末 XRD 図形からは、 $C-S-H$ に帰属される顕著なピークが確認された。 $C-S-H$ の積層周期に由来する $2\theta = 7^\circ$ 近傍のピークから層間距離を求めたところ、出発原料の Ca/Si モル比が 0.9 の時に最も層間が拡大し、FT-IR スペクトルにおいても顕著な $C-H$ 結合のバンドが検出された。これらの結果から、ケイ酸カルシウム水和物を合成する際の Si/Ca 比により TBA カチオンの導入が促進されることを示唆された。

1D-12- I

反応性スパッタリングでシリカを被覆したジルコニア基材の安定性

¹大阪市立大学工学研究科, ²朝日大学歯学部歯学科

○横川善之¹ (Yokogawa Yoshiyuki), 森嶋大志¹, 宇野光乗², 倉知正和², 石神 元², 土井 豊², 川木晴美², 堀田正人²

【緒言】ホワイトメタルと呼ばれるジルコニアが、歯冠（クラウン）として実用化されている。上皮組織細胞の接着性の向上の観点から、ジルコニア基材の親水化が検討されている[1]。UV照射、オゾン処理など光酸化分解処理を施すと、超親水性になるが、大気中で保管すると静的接触角は経時的に高くなり、元の高い接触角に戻る。我々は、反応性スパッタリングでジルコニア基材表面にシリカ薄膜を被覆することで親水性が長期にわたり保持できることを見だし、形成されたシリカ薄膜の安定性について検討したので報告する。

【実験】東ソー製 8Y-TZP を一軸加圧成形、大気中焼成した直径 10mm のジルコニア基材を用いた。ターゲットにシリコンウェハ（ノンドープ、2 インチ、99.999%）を用い、rf マグネトロンスパッタリング装置を用いて高周波電圧 100W 一定、プラズマガスは高純度 Ar ガス(99.999%)、ガス圧 5 mTorr (=0.67pa) とした。マスフローコントローラーを用い、プラズマガス中の高純度 O₂ ガスの体積割合を 2, 5, 8, 10% としてスパッタリング処理を行った。スパッタリング処理したジルコニア基材表面に、ピンオンディスク法により力学的作用を与え、その接触角変化等から薄膜の安定性を検討した。

【結果と考察】ジルコニア基材の結晶相は正方晶と単斜晶であり、スパッタリング処理前後で変わらず、ジルコニア基材の相変態は見られなかった。スパッタリング処理直後、ジルコニア基材に滴下した水滴はジルコニア基材全体に広がり、メニスカスにより基材表面に留まっていた。O₂ ガス体積割合が 5% でスパッタリング処理を施すと、デシケーター中保管 3 週間後も接触角は 20~30° であり、親水性を示した。3 週間後のスパッタ処理したジルコニア基材の XPS スペクトルに Cls ピークが見られることから、接触角の増大は大気中の炭化物等の吸着によると考えられた。ジルコニア基材は白色であるが、反スパッタリング処理を施すと、見る角度により色が異なる干渉色を示す。薄膜は干渉色を示す通り極めて薄く、密着強度測定は困難である。ピンオンディスク法等で薄膜に一定荷重を与え、力学的作用と薄膜の安定性について検討した。

【参考文献】 [1] 吉成正雄, 歯科学報, 113, 485 (2013)。

1D-13- I

血管内皮新生を目的としたチタン粒子焼結による多孔性チタン表面の軟組織癒合性評価

徳島大学大学院医歯薬学研究部

○関根一光 (Sekine Kazumitsu), 山下菊治, 浜田賢一

【緒言】補助人工心臓に利用される血管カニューレの吻合部では、術後の早い段階での血液接触表面における血管内皮新生が、血栓形成などのリスク低減に繋がる。それらを早期に達成することを目的として、チタン (Ti) マイクロ粒子焼結による“多孔性チタン材の作成”と基材チタンの“細胞賦活効果表面処理”の2つを特徴とした足場材の検討をおこなっている。今回、両者の組合せによる軟組織癒合性評価をおこなったので報告する。

【実験】平均粒径 170 μm に粒度調整した球形 Ti マイクロ粒子を 10wt% 比のワックス樹脂と加熱混和し、直径 4 mm 厚み 2 mm に成形したものを opened 試料、直径 4 mm 厚み 1 mm の Ti 円板上に同直径厚み 1 mm で成形したものを semi-opened 試料として作成した。これらは成形後に 1, 100°C、Ar 置換下の条件で試料を焼結した。また、直径 4 mm 厚み 2 mm の Ti 円板を用意し、closed 試料（比較対称試料）とした。また、各群の一部試料は表面処理として、60°C、48 時間の 30% 過酸化水素水による水酸化 Ti 化処理の後、0.5 mg/mL のコラーゲン溶液を塗布した後に風乾処理した。さらに 60°C、2 時間のイソシアネート処理をおこなった。計 6 群の各試料は、洗浄後に EOG 滅菌し、埋入用試験片として準備した。各試料を麻酔下とした 10 週齢雄性ラットの背部筋層にポケットを作成し、左右側で表面処理の群を隔て、ランダムに opened、semi-opened、closed の各群試料を固定せずに配置して縫合した。埋入 1 週間後、麻酔下でポケット上方側から切開し、各試料を固定治具に固定した状態での垂直方向への引き抜き試験をおこなった。

【結果と考察】非表面処理群について、closed 試料では試料の癒合がおこっておらず、測定不能であった。Semi-opened 試料および opened 試料ではそれぞれ約 40kPa、約 50kPa の引き抜き強度であった。また、表面処理群では、closed 試料はわずかな強度を確認できたのみであったが、semi-opened 試料および opened 試料ではいずれも約 90kPa となり、表面処理による癒合促進効果が確認でき、また両者での差はほとんどなかった。以上の結果は、多孔性形状および表面処理による術後早期での癒合性の促進を示すものであった。チタン試料の水酸化処理法は優位な細胞賦活効果を示したことから、チタン多孔体などの表面積の広い足場材料には極めて有効であることが示せた。

1D-14- I

各種起泡剤を用いた骨充填材用β型リン酸三カルシウム多孔体の調製

¹千葉工業大学大学院生命環境科学専攻・²千葉工業大学生命環境科学科、³株式会社福山医科

○竹田力哉¹ (Takeda Rikiya), 佐々木捷利², 柴田裕史¹, 福山茂雄³, 目黒 嵩³, 橋本和明¹

【緒言】近年、骨欠損部の充填剤としてリン酸三カルシウム(Tricalcium Phosphate: TCP、 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)などのセラミック材料が臨床使用されている。TCPは徐々に吸収されて骨に置き換わることが知られていて、実用化されているβ-TCPセラミックスには緻密体、多孔体、顆粒状のものがある。そのなかでもβ-TCP多孔体は適切な気孔性状を有するため、細胞伸展の良い足場材料として使用されている。多孔体の作製方法はさまざまあるが、演者らは多孔体の作製が比較的簡易である発泡法に注目し、β-TCP多孔体を作製した。そこで本研究では、発泡法を用いて各種起泡剤が及ぼす影響について検討した。

【実験】リン酸水素カルシウム二水和物($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)と炭酸カルシウム(CaCO_3)をβ-TCPの出発原料とし、Ca/P mol比が1.50となるように調製した。その後、80℃の純水を加え、ジルコニアボールを用いて24時間粉碎混合をおこない、70℃乾燥機にて24時間乾燥後、めのう乳鉢を用いて粉碎をおこなった。粉碎した粉末試料は仮焼温度750℃、昇温速度3℃/min、大気雰囲気下で10時間仮焼した。再度めのう乳鉢を用いて粉碎をおこない、X線回折(XRD)測定、フーリエ変換赤外吸収(FT-IR)スペクトル測定および電子型走査顕微鏡(SEM)観察によって評価した。つぎに、作製した粉末試料に分散剤として10%ポリアクリル酸アンモニウム水溶液を加え、5分間超音波照射をおこないながら混合し分散させた。その後、所定量の各種起泡剤を加え5分間超音波照射をおこないながら混合し起泡させた後に、70℃乾燥機を用いて15時間乾燥させた。その後、焼成温度1000℃、昇温速度5℃/min、大気雰囲気下で40分間焼成した。作製した多孔体をXRD測定、FT-IRスペクトル測定、SEM観察、アルキメデス法による気孔率測定等によって評価した。

【結果と考察】XRD測定結果とFT-IRスペクトル測定結果より、作製した試料はβ-TCPの回折ピークと一致し、また、β-TCPに帰属される PO_4 の吸収帯だけが確認された。以上のことより、作製した試料粉末はβ-TCPであることが示唆された。SEM像より、作製した多孔体は各種起泡剤の種類や添加量によってさまざまな気孔の数や気孔のサイズが観察された。また、起泡剤の添加量を増やすことで気孔のサイズが大きくなっていくことが確認された。以上のことより、発泡法による多孔体の作製において、起泡剤の種類や添加量の検討により多孔体の気孔を制御できることがわかった。

1D-15- I

無機・有機複合ビーズを用いた3次元多孔質構造体の開発

¹九州大学大学院総合理工学府、²福岡歯科大学、³九州大学応用力学研究所

○今村勇気¹ (Imamura Yuki), 中牟田佑昌¹, 荒平高章², 都留寛治², 東藤 貢³

【緒言】骨腫瘍や事故により大規模な骨組織の欠損が生じた場合に、人工骨を埋め込んで骨組織を再生させる治療が行われるようになってきている。人工骨の材料としてはリン酸カルシウム系バイオセラミックスが主に使用されているが、セラミックス単体であるために、脆的な力学的特性を示すことが問題となっている。一方、最近ではバイオセラミックスとポリマーを複合化した微小なビーズが開発され医療用材料としての応用が検討されている。そこで本研究では、医療用バイオセラミックスであるβ-TCPとアルギン酸を複合化したマイクロビーズを作製し、さらにビーズを3次元状に組み立てることで構造体の作製を試みた。さらに、3D構造と力学特性の関係について検討した。

【実験】β-TCPの微粉末をアルギン酸ナトリウム水溶液に溶かしスラリーを調整した。これを1% CaCl_2 溶液にインジェクトしてβ-TCPとアルギン酸が複合化した球状のゲルを作製した。これら球状ゲルをエタノールにより段階的に脱水後、24時間自然乾燥させβ-TCP/Algビーズを作製した。ビーズ粒径の分布状態は100-1000 μmであり、ある程度粒径を揃えるために、ふるいを使い粒径ごとに区分した。作製したビーズを円柱形の型に規則的に詰め込むことで、アルギン酸またはポリL乳酸PLLAをバインダーとして3D構造体を作製した。FE-SEMにより3D構造体の観察を行った後、圧縮試験を行い荷重-変位関係を記録した。得られた力学特性データから、圧縮状態での剛性と強度を評価した。また、試験後の構造体をFE-SEMで観察し、変形・損傷のメカニズムについて考察した。

【結果と考察】FE-SEMによるビーズ断面の観察結果より、β-TCPとアルギン酸は均一に分布していることが分かった。圧縮特性の測定結果より、バインダーとしてアルギン酸よりポリ乳酸を使用した構造体の方が、剛性や強度が高く、バインダーであるポリマー相を制御することで、構造体の力学特性の制御が可能であることが示唆された。また、3D構造体におけるビーズの配置の仕方も力学特性に影響を及ぼし、同粒径ビーズの構造体では細密構造をとると力学特性が向上すること、さらに異なる粒径ビーズを組み合わせることでさらなる向上が期待できることが明らかになった。以上のことからビーズの粒径やビーズの配置により3D構造体の力学特性の制御が可能であることが示唆された。

1D-16- I

ケイリン酸塩ガラス/ポリ乳酸ファイバーマットを用いた骨芽細胞の配向制御

¹大阪大学, ²名古屋工業大学

○李 誠鎬¹ (Lee Sungho), 春日敏宏², 中野貴由¹

【緒言】骨組織は、アパタイトの結晶方位・コラーゲンファイバーの配向からなる異方性構造を示す。当研究グループでは、骨の力学特性は骨量より骨組織の配向に支配的に影響されることを初めて報告し、骨芽細胞を配向させることで骨配向構造の形成が可能であることを明らかにした。よって、生体材料上の骨芽細胞の配向方向を制御することにより、配向化した骨組織の再生及び、力学特性を早期に回復することが期待される。当研究グループで開発された、ケイリン酸塩インバートガラスは、オルトリン酸・オルトケイ酸を Mg がクロスリンクすることでガラスのネットワークを形成する、長鎖構造持たないガラスである。その構造により、優れたイオン溶出能を示す。今回は、ケイリン酸塩ガラスと生分解性ポリマーであるポリ乳酸(PLLA)を複合化させ、細胞の配向性を制御可能なスキャフォールドをエレクトロスピンニング法にて作製した。得られたファイバーマットのイオン溶出能及び、細胞増殖性を評価した。

【実験】15MO・15MgO・8P₂O₅・4SiO₂ (モル比, $M = \text{Ca, Zn}$, 略称:PSG-M)組成のガラスを熔融法(1500°C, 30min)にて作製し、ボールミルにて粉碎した。PLLA を 14wt% となるようクロロホルムに溶解させ、PLLA に対する PSG-M の含有率が 10, 30 vol% (略称: PSG-M_x, $M = \text{Ca, Zn}$, $x = 10, 30$) のガラス粉末が混合された紡糸溶液を用いて、エレクトロスピンニング法にてコレクターを回転させることにより配向化ファイバーマットを作製した。作製したファイバーマットは、Tris 緩衝溶液中でのイオン溶出挙動を評価し、新生マウスの頭蓋冠より初代骨芽細胞を抽出し、培養 3 日後の細胞数を評価した。

【結果と考察】作製したファイバーマットの繊維径は約 16 μm で、回転方向に対する繊維配向度は 0.85 であった。PSG-Ca30 と PSG-Zn30 の溶出挙動は、含有するガラスの溶出挙動と類似しており、高いイオン溶出能を示した。PSG-Ca10, PSG-Zn10 は、それぞれ PSG-Ca30, PSG-Zn30 と比べ 1/10 程度の溶出量を示した。ファイバー表面に存在する粉末が少なくなるためと考えられる。培養 3 日後の PSG-Ca10, PSG-Ca30, PSG-Zn10 細胞数は有意差を示さなかったが、PSG-Zn30 は有意に小さい細胞数を示した。PSG-Zn30 は、Zn²⁺イオンの溶出量が多く細胞増殖を阻害したと考えられる。3 日間培養後の細胞は、ファイバー上に配向方向に沿って進展していた。

1D-17- I

抗菌性と骨芽細胞活性を兼ね備えた分散性アパタイトナノ粒子の開発

¹近畿大学大学院生理工学研究科, ²物質・材料研究機構機能性材料研究拠点

○古菌 勉¹ (Furuzono Tsutomu), 岡田将典¹, 大下真璃¹, 東 慶直¹, 田口哲志²

【緒言】

我が国では高齢化時代を迎えており、椎体圧迫骨折等の整形外科領域における疾患が増加傾向にある。特に椎体圧迫骨折の治療に椎体形成術が行われているが、生体親和性の欠如、治療効果の不十分さや細菌感染等の治療上および管理の問題点が指摘されているのが現状である。そこで我々はハイドロキシアパタイト(HAp)に亜鉛(Zn)をドーブした分散性アパタイト(Zn-HAp)ナノ粒子を調製し、そのキャラクターゼーション、材料特性および生物学的評価を行ったので報告する。

【実験】

硝酸カルシウム四水和物、硝酸亜鉛六水和物およびリン酸水素二アンモニウムを用い、Zn 置換率の異なる Zn-HAp ナノ粒子を湿式法により調製した。キャラクターゼーションは XRD、FT-IR、ICP-OES、SEM および DLS を用いた。また生物学的評価として、骨芽細胞増殖試験および抗菌性評価を実施した。前者についてサンプル粉末添加後、1 日後および 3 日後の MC3T3-E1 細胞の増殖率を評価した。後者について、OD₆₀₀=0.1 に調製した菌液と Zn-HAp 粉末を加えた NaCl 水溶液を 1 時間接触させ、培養後コロニー数を計数して殺菌率を評価した。

【結果と考察】

XRD および FT-IR 結果より、調製したサンプルは HAp に由来する構造を呈しており、Zn 置換率の増加に伴う軸長の減少が認められた。これは Zn イオン(0.74 Å)が Ca イオン(1.00 Å)に置換されたことによると考えられた。また ICP 結果より、仕込みに対して約 9 割の Zn イオンが HAp 中に含有されていた。SEM 観察および DLS 測定結果より、得られたナノ粒子は平均粒径が約 60~100nm のほぼ均一な球状ナノ粒子であることが認められた。骨芽細胞活性試験では、3 日後に Control(HAp)と比較して高い骨芽細胞活性が認められた。抗菌試験結果では、大腸菌等に対する抗菌性が認められた。さらに徐放試験結果より、Zn イオンの徐放が極めて僅かであったことから、当該ナノ粒子の抗菌機序および骨芽細胞活性機序は、接触および細胞内への取り込みによるものと考えられた。

1D-18- I

ハイドロキシアパタイト メガ結晶合成の試み

昭和大学歯学部保存学講座歯科理工学部門

○成澤英明 (Narusawa Hideaki), 大和田弘幸, 片岡 有, 宮崎 隆

【緒言】ハイドロキシアパタイト (以下 HAP とする) の合成については多くの先行研究が存在するが、良質かつ大きな結晶を得る簡便な方法は示されていない。低倍率の光学顕微鏡で観察、操作可能な HAP 単結晶を研究室で容易に得られれば骨や歯の研究の一助となると考えられる。演者らはポリリン酸と酸化カルシウムの混和物を起点に水熱合成によって光学顕微鏡で観察可能な結晶の生成を得たので報告する。

【実験】116%の強リン酸 (太平化学工業) 4g と電融カルシア (0.3mm 以下、タテホ化学) 4.8g を混和し 20ml の蒸留水を加え、50ml 容量のテフロン製容器を水熱容器に入れ 5 日間 200℃ に昇温した電気炉で係留加熱した。放冷後に開放して再度 200℃ で加熱し水分を取り除き、XRD 測定 (rigaku ultimaIV) および光学顕微鏡 (Nikon Eclipse 600E) で観察を行った。XRD のデータは付属のアプリケーションで Rietveld 解析を行い定量分析し、顕微鏡像は motic image Plus で取り込んだ後、Helicon Focus 6 で深度合成を行った。

【結果と考察】本サンプルの定量分析結果は、HAP 58.3% Monetite 30.5% Ca(OH)₂ 7.3% TCP 3.9% (Rwp=13.4% S4.3) であった。光学顕微鏡の観察では 10 ミクロン以上の短径をもつ棒状の結晶が認められ、いくつかは明瞭な六角柱形状を認めることができた。この方法は酸化カルシウムとポリリン酸のキレート物と余剰ポリリン酸の水溶液で酸性の状態から反応を開始するため、炭酸の混入を起こさない。酸化カルシウムは水と反応し膨張しながら水酸化カルシウムになる。ポリリン酸は最終的には分解し、強アルカリ性で反応を終了する。室温で長期間係留すれば Monetite が HAP に変換することが予測されるが、大きな結晶に発達するとは考えにくい。結晶表面がポリリン酸で封鎖された状態からある程度分解した段階でカルシウムイオンと水酸イオンが高温高压の環境に放たれる。この段階で遊離したリン酸が優位にあれば PH が低い場合 monetite が生成すると考えられる。酸化カルシウム結晶粒径とポリリン酸の重合度の組み合わせに最適値が存在すると考えられる。また、この結晶の大きさは単結晶解析にはやや小さいが、放射光を用いれば解析可能と考えられた。

1D-19- I

ナノアパタイト表面修飾における細胞取り込み向上が及ぼすトランスフェクションの効果

¹ 東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ² 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科, ³ 東京医科歯科大学保険衛生学研究科

○小室博明 ^{1,2} (Komuro Hiroaki), 笹野哲郎 ³, 山下仁大 ¹, 永井亜希子 ¹

【緒言】

遺伝子治療はガンなどの疾患の治療に革命を起こす可能性がある治療法として期待されている。そこで、高いトランスフェクション効率と安全性を兼ね備えた遺伝子デリバリーシステムの進歩は臨床における遺伝子治療成功に向けて必要不可欠である。非ウイルスベクターの中のハイドロキシアパタイト (HAp) は優れた生体親和性や低毒性のため研究されてきたが、トランスフェクション効率が低いために臨床にはいたっていない。本報告では、ナノ粒子のハイドロキシアパタイトを作製し、これに生体分子を修飾させることでトランスフェクション効率に与えた効果について報告する。

【実験】

ナノアパタイトの作製には W/O エマルション法を用いた。表面修飾は糖類をナノアパタイトと混合した後の沈殿物として得た。作製したナノアパタイトの物性は XRD、FT-IR、TEM で評価した。ナノアパタイトとプラスミド DNA の相互作用はアガロースゲル電気泳動を用いて評価した。トランスフェクション実験で用いるナノアパタイト濃度を決定するために、ブタ血管内皮細胞 (EC) へ 1、10、100、1000 µg/ml の濃度の粒子を加えて培養後、MTT assay にて細胞毒性を行った。ナノアパタイトとプラスミド DNA を混合し、EC への遺伝子導入効率を蛍光顕微鏡で観察した。FITC で修飾したナノアパタイトを用いて、粒子の取り込みや細胞内動態を共焦点レーザー走査型顕微鏡にて観察した。

【結果と考察】

XRD から HAp 単相であることが確認できた。FT-IR から HAp に存在するイオンと炭酸イオンがあり、また、表面修飾も炭化水素基から観察できた。TEM からナノアパタイトの粒径は長さ 40 nm、幅 15 nm の結晶が観察できた。細胞毒性は 1000 µg/ml でのみ有意に観察された。表面修飾したナノアパタイトを用いたところ、ナノアパタイトのみと比較して遺伝子導入効率と細胞への粒子の取り込み量の増加を認めた。遺伝子導入効率の違いには表面修飾による、細胞への取り込みが優位に働いたと推測される。

1D-20- I

Fundamentals of the theory of biodegradable metals

¹International Research Organization for Advanced Science and Technology, Kumamoto University, ² Graduate School of Science and Technology, Kumamoto University, ³Department of Materials Science and Engineering, Kumamoto University

○Yufeng Zheng¹, Liqun Ruan², Kazuki Takashima³

Abstract

Biodegradable polymers and bioactive glasses for biomedical applications have been developed for decades, forming mature theory including definition, classification, criteria and design strategy. However, currently no such strategy and theory are applicable in the field of biodegradable metals despite thousands of publications have been made. In this talk we propose the theory on biodegradable metals, based on biodegradability and biocompatibility. Most metallic elements with accessible data have been reviewed and discussed from both aspects of biodegradability and biocompatibility. As for biodegradability, electrode potential and reactivity have been used as parameter to classify biodegradable and non-biodegradable metals. For the biocompatibility, a comprehensive insight with “ADI”, “RDI”, “LD₅₀” and “IC₅₀” have been used describe. Based on it, guidance on biodegradable metal design with suitable content have been made. In addition, the definition of Biodegradable Metals (BMs) have been revised and the category have been illustrated more detailed.

1D-21- I

バイオミメティック法で作製したアパタイトカプセル表面における酵素吸着特性の評価

¹京都大学大学院エネルギー科学研究科, ²香川高等専門学校

○山本雅也¹ (Yamamoto Masaya), 薮塚武史¹, 高井茂臣¹, 八尾 健²

【緒言】

ヒドロキシアパタイト (HAp) は生体親和性が高く、結晶表面にリン脂質やタンパク質、糖などが吸着する性質を有している。擬体液 (SBF) の pH を上昇させるとリン酸カルシウムナノ粒子が析出する。我々は、このナノ粒子が体液または SBF 中で HAp の形成を高活性に誘起することを発見し、アパタイト核と名付けた[1]。本研究ではアパタイト核を用いて $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 粒子を HAp で被覆し、磁性アパタイトマイクロカプセルを作製した。作製したカプセルを用いて様々な等電点を持つ酵素を固定化し、カプセルの酵素吸着特性を調べた。

【実験】

$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 粒子表面にアパタイト核を付着させて SBF に浸漬し、磁性アパタイトマイクロカプセルを作製した。PBS (pH=7.4) を溶媒として作製した酵素溶液にカプセルを分散し、24 時間攪拌して酵素の固定化を行った。酵素はペプシン (pI=2.6)、ウレアーゼ (pI=5.0)、トリプシン (pI=10.1)、リゾチーム (pI=11.0) を使用した。攪拌後、遠心分離機でカプセルを分離して上澄みを採取し、ブラッドフォード法により酵素濃度を測定した。測定した酵素濃度から固定化効率を求めた。

【結果と考察】

SEM 画像から、作製したカプセル表面には鱗片状結晶が観察され、直径は 1~2 μm であることがわかった。EDX から HAp 由来と思われるリンとカルシウムのピークが見られ、 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 粒子が HAp で被覆されたことがわかった。固定化効率はペプシン、リゾチーム、トリプシン、ウレアーゼの順に高くなった。すなわち、等電点と溶液の pH の値の差が小さいほど固定化効率が高くなることがわかった。これは、酵素の溶解度が等電点で最小となって溶媒相から析出し、吸着相であるカプセル表面に吸着されたことによるものである。

【参考文献】 [1] T. Yao, M. Hibino, S. Yamaguchi H. Okada, Japanese Patent 5261712 (2013), U.S. Patent 8178066 (2012).

【謝辞】 本研究の一部は関西エネルギー・リサイクル科学研究振興財団の研究助成を受けたものである。

1E-01- I

セルロースナノファイバー・チキソトロピックゲルでの三次元培養による長大な筋管形成

¹ 早稲田大学大学院先進理工学研究所, ² 早稲田大学ナノ創新研究機構, ³ 早稲田大学大学院ナノ理工学研究所
○米田憲司¹ (Yoneda Kenji), 今任景一¹, 尹 棟鉉², 関口哲志², 庄子習一³, 武田直也¹

【緒言】マイクロ流体デバイスを用いて連続的に作製する二層ゲルファイバーの芯層に細胞を包埋させて、再生組織を構築する研究が行われている。しかし細胞培養において一般的に用いられるコラーゲン系の材料では、この培養系において細胞を確実に担持できず、細胞がゲルファイバーから漏出・凝集するといった問題点がある。そこで本研究ではチキソトロピー性を示すセルロースナノファイバー (CNF) のゲルを細胞培養層 (芯層) に用いた。チキソトロピー性の CNF ゲルは、マイクロデバイス内での送液の加圧時に流動するが、出口で射出され圧力が解消した後はゲル化し三次元包埋培養場として機能する。さらに、強度に優れるアルギン酸ゲルで鞘層を形成し CNF を同軸状に覆うことにより、長期培養も可能な安定な三次元培養場となる。これら材料を用いてマウス筋芽細胞株 (C2C12) を包埋し培養することで、筋管組織への誘導と骨格筋組織の構築を目指した。

【実験】CNF 懸濁液の濃度を変化させ粘度測定を行い、マイクロデバイスで安定して送液が可能な条件を検討した。また作製したゲルファイバー内で C2C12 を培養し、Day21 で細胞核と筋管形成の指標となるミオシン重鎖を蛍光染色することで筋管形成の有無を確認した。

【結果と考察】CNF 懸濁液は、従来用いていたアテロコラーゲンと同様の粘度をもつ濃度において十分な流動性を示した。マイクロゲルファイバーは数十 cm の長さで作製でき、C2C12 は芯層全体にわたり 2 週間以上も安定的に担持できることも見出した。ゲル包埋当初には球状であったこれら細胞は、わずか 1 日目にはゲルファイバーの長軸方向に配向した cm スケールの以上の連続した構造体を形成した。さらに 21 日目にこの構造体の細胞核と筋管形成の指標となるミオシン重鎖を蛍光染色したところ、多数の細胞が融合し多核化した長さ 300 μm 以上の筋管組織の形成が確認できた。以上より、チキソトロピー性 CNF ゲルの三次元培養場としての新たな有用性を見出した。筋管組織の更なる成熟化と積層化により長大な骨格筋組織の作製が期待できる。

1E-02- I

細胞足場材料を目指した分解性感温性ハイドロゲルの合成と細胞接着評価

東京理科大学大学院基礎工学研究科¹・大阪大学大学院工学研究科²

○小松周平¹ (Komatsu Syuuhei), 麻生隆彬², 石原 量¹, 菊池明彦¹

【緒言】

細胞足場材料として、感温性ハイドロゲルが注目されており、生体近傍の温度でゲル表面の親水性・疎水性を制御できれば、刺激に応じ細胞接着因子の吸着などを制御できる細胞足場材料として有望である。一方、体内で使用する際は、分解性を有することが望ましい。我々はラジカル重合により感温性と分解性を有する、poly(2-methylene-1,3-dioxepane (MDO)-co-2-hydroxyethyl acrylate (HEA))を報告している。本研究では、架橋剤存在下における MDO と HEA とのラジカル共重合で、分解性感温性ハイドロゲルを合成し、温度応答挙動とその分解特性を明らかにするとともに、ハイドロゲル表面における細胞接着挙動を解析することを目的とした。

【実験】

MDO と HEA を架橋剤存在下で、ラジカル共重合させハイドロゲルを合成した。合成したハイドロゲルの温度による膨潤度の変化と、加速実験としてアルカリ加水分解試験を行った。またウシ血管内皮細胞を用い、Poly(D-Lysine) (PLys) 修飾ハイドロゲルへの細胞接着評価を行った。

【結果と考察】

合成した P(MDO-co-HEA)ゲルは、昇温により膨潤度が低下し、体積相転移温度を示したため、感温性を有することが分かった。またゲルの組成比に応じて体積相転移温度の制御が可能であった。さらに 37 °C におけるアルカリ加水分解では、反応時間の延長に伴い膨潤し、最終的には分解、溶解した。分解時の温度で収縮しているゲルでは、分解初期において、分解の抑制が確認されたことから、感温性により分解の制御が可能であった。また、PLys 修飾ゲルを用いてウシ血管内皮細胞の細胞接着性を評価したところ、疎水的なゲルほど細胞が伸展、接着していることがわかった。以上の結果から、分解性と感温性を有し、細胞接着因子の導入で 37°C での細胞接着を可能とする材料として、細胞足場材料へ応用が期待できる。

1E-03- I

フィブロイン基質に対する CP フラクシオンの混合が軟骨細胞の移動挙動に与える影響

¹京都大学工学研究科, ²京都大学工学部, ³京都大学ウイルス・再生医科学研究所, ⁴信州大学繊維学部

○建島祥司¹ (Tatehata Shoji), 中村祐樹¹, 福島慎之介², 有馬祐介³, 玉田 靖⁴, 富田直秀¹

【緒言】フィブロインスポンジ内において軟骨細胞は脱分化せずに増殖して、良好な軟骨組織を形成することが報告されている。我々の研究室では、フィブロイン基質上ではプロネクチン基質上と比べ、軟骨細胞の移動速さが大きく、この移動速さがフィブロイン基質上での軟骨組織形成に影響する可能性がある事を報告してきた。一方、フィブロイン分子はアミノ酸配列が規則正しく並んでいる結晶領域と、不規則で無秩序に並んでいる非晶領域からなり、プロネクチン分子はフィブロイン分子の結晶領域を構成するアミノ酸配列を含んでいることが知られている。本研究では、フィブロイン基質上での軟骨細胞の移動挙動と結晶領域と非晶領域の割合との関係を調べるために、フィブロイン基質に対して CP フラクシオン(フィブロイン分子のうち結晶部配列のみを分離させた結晶部試料)を混合した表面上での軟骨細胞の移動挙動を評価した。

【実験】CP フラクシオン、フィブロイン、及びこれらの二つの混合物質をコートしたディッシュ上に、日本白色家兎の軟骨細胞を播種し、24 時間のタイムラプス観察を行った。得られた画像データより細胞の中心座標を取得し、各基質上での細胞の移動速さ、細胞形状別の割合及び移動速さをそれぞれ算出した。

【結果と考察】CP フラクシオンの割合が高くなるにつれ、細胞の平均の移動速さが低下し、その傾向は伸展状態にある細胞においてより顕著に見られた。また、CP フラクシオンの割合が高くなるにつれ、伸展状態にある細胞の割合が上昇した。さらに、仮足が見られ、かつ球形の輪郭線が見られる細胞が、フィブロイン基質上において最も多く観察された。以上の結果より、フィブロインスポンジ内における軟骨細胞の挙動及び形態の特徴は、フィブロインの非晶領域に由来していることが示唆された。

1E-04- I

生分解性繊維を用いたシート状足場材料の創製と評価

¹九州大学大学院総合理工学府物質理工学専攻, ²九州大学応用力学研究所

○遠藤喜嗣¹ (Endo Yoshitsugu), 東藤 貢²

【緒言】 組織工学において、細胞培養のための基材として重要な役割を担う足場材料は、連通多孔質構造が基本であり、力学的特性を付与するためにランダムにポリマー繊維を配向させた足場材料も検討されている。より微細な繊維構造の作製方法として、エレクトロスピンニング法が注目を集め広く用いられているが、作製条件の最適化が難しい等の問題も存在する。近年、より簡便に繊維構造を得る方法として、メルトスピニング法が検討されているが、本手法を持ちいた足場材料の作製に関する研究は少ないのが現状である。本研究では、医療用生分解性樹脂である乳酸とカプロラク톤の共重合体 (PLCL) を原料とし、市販の簡易的な綿菓子製造機を用いて繊維シートの作製を試みた。また、エレクトロスピンニング法を用いて作製した繊維シートを用いて、細胞親和性と力学的特性の観点から比較検討を試みた。

【実験】 メルトスピニングの場合は、180℃程度に加熱した回転釜に PLCL ペレットを装填し、溶融した PLCL が遠心力で飛ばされ空気中で冷却されることで繊維状に成形される。その繊維をアルミ фольで包んだ棒で巻き取ることで、中空円筒状の試料を得た。一方、エレクトロスピンニングの場合は、ジクロロメタンで溶解させた PLCL を、25kV の電圧下でシリンジにより噴出させることでシート状に成形した。作製した繊維シートを適当な大きさに切断し、細胞培養実験の足場材料とした。播種し培養した細胞は、ヒト間葉系細胞 (hMSC) と iPS 細胞由来心筋細胞 (iPS-CM) である。37 °C の環境下で培養実験を行い、細胞の接着・増殖状態について観察し、細胞数評価を試みた。また、引張試験による力学特性変化を測定した。

【結果と考察】 メルトスピニングで作製したポリマーシートは、エレクトロスピンニングに比べ繊維径の分布がより広範囲であったが、細胞培養実験の結果より、細胞培養の足場材料として十分に適用可能であることがわかった。また、径が大きな繊維の影響により引張りの機械的特性はメルトスピニングの方がより高いことも明らかになった。以上より、メルトスピニング法を応用することで、より簡便で安価な方法で足場材料としての繊維シートを作製可能であることが示唆された。

1E-05- I

骨再生用材料としての2相連通多孔質構造体の創製と力学特性評価

¹九州大学大学院総理工学府, ²福岡歯科大学, ³九州大学応用力学研究所

○井上朋美¹ (Inoue Tomomi), 中牟田侑昌¹, 荒平高章², 東藤 貢³

【緒言】 骨再生用の人工骨として、バイオセラミックスの連通多孔体が開発され広く臨床応用されている。最近では、特に力学特性向上の観点からバイオポリマーとの複合構造体の研究も進められている。これまで我々の研究グループは、バイオセラミックス多孔体の空孔内にポリマースポンジ構造を導入した2相多孔質構造体を開発し研究を進めてきた。本研究では、HA多孔体に生体吸収性ポリマーブレンド PLLA/PCL のスポンジ構造を導入した2相多孔質構造体を作製し、圧縮力学特性に及ぼすブレンド比の影響について調査した。

【実験】 HA多孔体はテンプレート法を用いて作製した。HA粉末とPVA溶液の混合溶液にPUスポンジを含浸し乾燥させた後、電気炉を用いて1300℃、4時間で焼結させHA多孔体を得た。次にペレット状のPLLAとPCLをジオキサン溶液に溶解して3wt%の溶液を調整した。PLLA/PCLの混合比は100/0、80/20、60/40、40/60、20/80、0/100とした。これらの溶液にHA多孔体を浸漬し凍結乾燥を施すことで、2相多孔質構造を有する複合体を作製した。これらの複合体に関して、FE-SEMによる微細構造の観察を行った。また、小型材料試験機を用いて圧縮試験を行い応力-ひずみ関係を評価した。初期直線部の傾きから圧縮弾性率を求め、さらに応力が大きく低下する直前のピーク値を圧縮強度と定義して評価した。

【結果と考察】 FE-SEM観察結果より、すべての混合比に対してHAの骨格構造内にポリマー相の多孔質構造が形成された事が確認できた。次に圧縮試験の結果より、HA多孔体にポリマーのスポンジ構造を導入することで、圧縮弾性率および強度が増加することが分かった。弾性率増加の原因は、空隙(弾性率ゼロ)内にポリマー相が導入されることで、複合効果によりその分の弾性率が増加したことが考えられる。また、強度増加の主因としては、HA多孔体の骨格内部にスポンジ状ポリマーが存在することで、HA多孔体の柱構造が破壊した後も全体の構造が維持されることで、大規模な破壊の開始が遅れることが考えられる。また、より高弾性で高強度のPLLAの含有率が増加すると、複合体の弾性率および強度はほぼ線形的に増加する傾向を示すことが分かった。これらの結果より、混合比を変化させたPLLA/PCLポリマーブレンドの導入により、HA/PLLA/PCL複合体の圧縮力学特性の制御が可能であることが示唆された。

1E-06- I

血管内膜誘導活性と抗血栓性を併せもつ新たな機能性ペプチドの探索

国立循環器病研究センター研究所生体医工学部

○山岡哲二 (Yamaoka Tetsuji), Munisso Maria

【緒言】

我々は、ダチョウ頸動脈由来の小口径脱細胞血管の長期開存化を目指して研究を続けている。これまでに、インテグリン $\alpha 4 \beta 1$ のリガンドとして知られているREDVペプチドで内腔を修飾することで、早期の内膜形成とその開存化に成功してきた。その詳細解析により、ペプチド修飾脱細胞組織表面が強く血栓形成を抑制している事を見いだした。この系では、①REDVによる血中循環血管内皮前駆細胞(EPC)の補足と②血栓形成が競争的に進むと考えられるが、速度的には、後者がドミナントと考えられる。詳細は不明であるが、その一つのメカニズムとしてREDVペプチド自身がEPC親和性に加えて抗血栓性に優れていることが考えられる。そこで、本研究では、強いEPC補足能に加えて優れた抗血栓性を有する新たなペプチド配列をファージディスプレイ法(PD法)により探索し、その効果を*in vitro* および *in situ* にて検討した。

【実験】

7量体あるいは12量体ペプチドのPDライブラリーを用いて*in vitro* バイオパニング実験を進めた。まず、EPC細胞をターゲットとして従来型のPD法により、EPC親和性ペプチドの候補分子を探索した。この際、細胞親和性以外に、配列の細胞内での増殖効率がバイアスとなり、サイクル数を増やすごとにその効果が大きく影響する。そこで、候補となったファージ・クローンの親和性を定量的に決定するために、ファージバインディングインデックス(PBI)という指標を導入してその効率を向上させた。得られたペプチド配列で、延伸ポリテトラフルオロエチレンを修飾し、*in vitro* にて細胞接着選択性試験を実施した。さらに、上述の目標を達成するために、血小板に対して結合しないファージを回収するネガティブセレクションステップを併用することで、目的となるダブル活性ペプチドの探索を進めた。

【結果】

有意な特異性を得られるクローンのうち12株について詳細に検討した結果、EPC親和性に優れるクローンを得た。さらに、その中に有意に血小板粘着性を抑制するクローンが見いだされ、今後の血管開発に有用であると期待される。

1E-07-Ⅲ

血液適合性候補ペプチド分子の in situ スクリーニングシステムの構築

国立循環器病研究センター研究所生体医工学部

○山岡哲二 (Yamaoka Tetsuji), 馬原 淳, Munisso Maria

【緒言】

我々は、インテグリン $\alpha 4 \beta 1$ のリガンドである REDV ペプチドで脱細胞ダチョウ頸動脈内腔面を修飾することによって高い開存性を報告してきた。長期開存化のため、あるいは、この戦略を合成材料表面に適応するためには、さらに活性の高い修飾プローブが必要と考えている。そこで、独自に改良したファージディスプレイ法により、強いEPC補足能に加えて優れた抗血栓性を有する新たなペプチド配列を見いだした。しかしながら、これらの候補配列の性能を評価する有用なスクリーニングシステムが無い。血液適合性と血管内皮前駆細胞接着性を、従来の in vitro 試験で進めることはできるが、移植血管の環境とは大きく異なる。また、修飾脱細胞血管の内腔表面では、①REDV による血中循環血管内皮前駆細胞(EPC)の補足と②血栓形成が競争的に進み、前者が勝った場合に開存するので、別々の定性的評価では信頼できる選択はできない。そこで、ミニブタ体外循環回路に取り付ける評価モジュールを開発し、多サンプルのスクリーニングシステムを構築した。

【実験】

基材として延伸ポリテトラフルオロエチレン縫合糸を選択し、その表面を候補ペプチドにより修飾した。繊維状サンプルを静脈内に留置して血栓形成性を評価する手法が野一色らにより報告されているが、1動物で1サンプルであり大動物で進めるには適していない。そこで、内径10mmの透明チューブ内に6～12本の繊維を留置するためのカートリッジを3種類設計した。ミニブタ体外循環システムに設置して所定時間循環させた後に、サンプル縫合糸に対して、顕微鏡観察、SEM観察、EPCに対する免疫染色、血小板に対する免疫染色、等を施し、内膜形成活性と抗血栓性について比較評価した。

【結果】

それぞれの候補配列は多聞異なるEPC補足能と抗血栓性を示した。本来はチューブ状の血管内腔で起こる現象であるが繊維状サンプルモジュールにより一度に12種類のサンプルを簡便に評価することが可能となった。

1E-08-Ⅲ

高圧処理による母斑組織の不活化・再移植と自家培養表皮を用いた皮膚再生臨床研究

¹ 関西医科大学形成外科学講座, ² 国立循環器病研究センター研究所生体医工学部

○森本尚樹 (Morimoto Naoki) ¹, 馬原 淳², 光井俊人¹, 覚道奈津子¹, 楠本健司¹, 山岡哲二²

【緒言】

先天性巨大色素性母斑は悪性黒色腫の発生源ともなり、その再建に用いる自家皮膚が不足し治療に難渋する疾患である。この治療のブレイクスルーとなるべく、2016年12月より自家培養表皮(ジェイス[®]: J-TEC社)が世界に先駆けて先天性巨大色素性母斑に保険適用された。しかし、培養表皮の母床となる自家真皮の再生方法は未だに確立されていない。組織再生研究分野では、1990年代に製品化された二層性人工真皮もしくは同種皮膚移植(同種皮膚製品を含む)によって真皮再生方法が既に確立されているかのよう誤解されているが、臨床的に自家培養表皮の母床として使用可能な真皮再生方法は確立されておらず、そのような治療も実施されていない。我々は、母斑組織を高圧処理によって不活化し、脱細胞化せずに移植し、自家真皮を再生する治療を着想し非臨床研究を行い、臨床研究を開始している。

【実験】

高圧処理は、組織深部の細胞まで均一に処理可能で、真皮マトリックスは損傷しない理想的な方法である。非臨床研究で、200MPa以上での細胞の死滅、600MPa以上での表皮基底膜構造の変性および表皮細胞の接着率低下を明らかにした。細胞残渣は有害な炎症を惹起しないこと、大型動物実験で自家不活化皮膚の方が同種脱細胞化皮膚よりも拘縮が少なく優れていること、メラニン色素は再移植後吸収されるため、取り除く必要はないことも確認した。そして、臨床研究で用いる処理条件を200MPa、10分間と設定し、高圧処理母斑組織の再移植による真皮再生および自家培養表皮移植による皮膚再生治療の臨床研究を、再生医療等安全性確保法に基づく第二種再生医療等技術を用いる再生医療研究として開始した。

【結果と考察】

現在、目標症例数10例で開始し症例登録が完了する見込みである。まだ試験途中であり、最終結果は得られていないが、今後先進医療を目標にさらに研究を継続する予定である。

1E-09-Ⅲ

内皮系前駆細胞による血管修復過程を人工的に誘導するペプチド修飾脱細胞血管

¹ 国立循環器病研究センター研究所生体医工学部, ² 関西大学化学生命工学部

○馬原 淳¹ (Mahara Atsushi), 古島健太郎², 平野義明², 山岡哲二¹

【緒言】血管内皮へ分化する前駆細胞や幹細胞は、恒常性の維持や損傷した部位の再生過程における微細血管網の構築に寄与していることが知られている。近年、血液内を循環していることが報告されている血管内皮前駆細胞は、血管形成や炎症部位での微細血管網の構築、さらには虚血部位における血管再構成にも関わることが報告された。これまでに我々は、内腔にインテグリン $\alpha 4 \beta 1$ 結合リガンドである REDV ペプチドを固定化した脱細胞血管がミニブタ大腿動脈バイパス移植において良好な開存を示すことを報告した。移植した血管は内径 2 mm、長さ 20-30 cm であり人工血管中央部においても 1 週間後に内皮化形成していることから、吻合部からの内皮細胞の増生ではなく血中を循環する前駆細胞の関与が考えられていた。そこで本研究では、ミニブタへの血管移植モデルにより移植 1 日から 3 ヶ月間の組織染色と細胞表面マーカーの解析データに基づいて、早期内皮化形成メカニズムを検証した。

【実験】従来法にもとづいて内腔に REDV ペプチドが固定化された脱細胞化人工血管を作製した。移植 1 時間における血管内腔での血栓形成を調べるために、人工心肺回路に人工血管を接続し 1 時間血液を通液した。また大腿動脈へ人工血管を移植し 1, 3, 7 日の人工血管中央部の組織を摘出して内腔に形成される細胞層を免疫染色、電子顕微鏡により評価した。さらに捕捉された細胞を *in vitro* で培養し FACS により表面マーカーの発現を定量した。

【結果と考察】1 時間血液を通液した場合、未修飾の脱細胞血管表面では微細血栓が形成したが、REDV ペプチドを固定化することで血栓形成は完全に抑制された。移植 1 日後には内腔に細胞が捕捉され 3 日後には細胞間が接着した内膜層を形成した。この細胞層は CD34, Flk-1 陽性を示し、99% の細胞で CD34 を発現しており、62% の細胞で Flk-1 陽性細胞を認めた。この細胞は内皮系マーカーである CD31 や CD105 を発現していることから、内皮系の前駆細胞であることが判明した。移植 3 ヶ月後には内皮層において CD34, Flk-1 マーカーが消失していたことから、ペプチド修飾脱細胞表面は、血中に循環している内皮系前駆細胞を補足して人工的に血管修復過程を誘導することで内皮化形成している事が示唆された。

1E-10-Ⅲ

生体内初期石灰化過程を模倣したミネラル形成に関する考察

¹ 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科, ² 岡山大学歯学部先端領域研究センター

○ハラ エミリオ サトシ¹ (Hara Emilio Satoshi), 長岡紀幸², 岡田正弘¹, 松本卓也¹

【緒言】近年、骨再生を目的とした新材料の研究開発が進められているが、より効果的な骨誘導材料が必要とされている。生体内における石灰化過程を生命科学・材料学の双方向から検討することは、より生体内骨アパタイトに近い材料のデザインと合成につながると考えられる。本研究では、生体内における初期石灰化過程、つまり無機物が初めて有機物内に析出するステージに注目し、生命科学・材料学の双方向からの検討を行った。さらに獲得された情報をもとに *in vitro* での生体擬似的ミネラル形成を行った。

【実験】マウス大腿骨骨端部を摘出し、石灰化領域を X 線マイクロ CT (SkyScan 1174 compact microCT, Bruker, Aartselaar, Belgium) を用い、初期石灰化を同定した。また、摘出したサンプルをもとに凍結切片を作製し、組織学的に検討した。骨ミネラルの定性・定量解析を行うため、摘出した組織を樹脂包埋し、走査型電子顕微鏡 (FE-SEM, JSM-6701F, JEOL) または透過型電子顕微鏡 (TEM, JEM-2100, JEOL) にて観察を行った。得られたデータをもとに *in vitro* 軟骨細胞、骨芽細胞存在下での物理化学環境を制御し、石灰化形成能についての検討も行った。

【結果と考察】大腿骨骨端部では生後 6 日目に初期石灰化が認められた。初期石灰化物の定性について、結晶化していないアモルファスリン酸カルシウムとハイドロキシアパタイトの存在を認めた。初期石灰化クラスターの面積は約 1200 nm² を示した。次に、軟骨細胞、骨芽細胞を用いて、物理化学環境を制御した *in vitro* ミネラル形成を行った結果、迅速な石灰化物形成を認めた。

1E-11-Ⅲ

ケモカイン CCL21 を用いた軟骨再生のためのインテリジェントマテリアルの開発

¹北海道大学大学院医学研究院整形外科科学教室

○上徳善太 (Joutoku Zenta), 小野寺智洋, 松岡正剛, 馬場力哉, 本谷和俊, 宝満健太郎, 岩崎倫政

【緒言】自然修復能の低い関節軟骨の再生は困難であり、新たな治療法の開発が必要である。幼若個体は組織自然修復能が高いことが知られており、その機序の解明は再生医療の発展に重要である。本実験では組織修復に重要な役割を担うケモカインに着目した。本研究の目的は、軟骨修復に関わるケモカインを同定し、そのケモカインを用いた軟骨再生のためのインテリジェントマテリアルを開発し、その効果を検証する事である。

【実験】軟骨修復に関わるケモカイン選別の為、以下の実験を行った。1. 骨髄間葉系幹細胞(BMSC)の軟骨細胞分化過程で、遺伝子発現の上昇するケモカインレセプターを抽出。2. BMSC 平面培養による脱分化過程で、遺伝子発現の上昇しないケモカインレセプターを抽出。3. 抽出されたケモカインの BMSC 遊走能の評価。次に、軟骨修復過程における候補ケモカインの発現を確認した。抽出されたケモカインレセプターの全身性 Knockout マウス (KO)を用いて軟骨修復能を評価した。KO と野生型マウス (WT)に、軟骨全層欠損を作成し、3 週齢(幼若)及び 8 週齢(成熟)の軟骨修復能を評価した。最後に、ウサギ軟骨欠損部に候補ケモカインを混和した高純度アルギン酸ゲル(UPAL[®] gel)を移植し、未治療群、UPAL[®] gel 単独群、ケモカイン群に分け軟骨修復能を評価した。

【結果と考察】本実験の結果、CCL21、そのレセプターである CCR7 が抽出された。幼若齢(WT)では、損傷早期に CCL21、及び CCR7 の一過性集積を認めたが、成熟齢ではどちらも集積しなかった。幼若齢の WT で良好な自然修復が得られたのに対し、CCR7KO の修復能は著しく低かった一方で、成熟齢では両群の修復能に差は認めなかった。成熟ウサギ軟骨損傷モデルに対して、CCL21 を加えた UPAL[®] gel を埋植したところ、良好な軟骨修復を認めた。渉猟する限り CCL21/CCR7 と軟骨修復に関する報告はない。幼若個体では、CCL21 は軟骨修復過程に発現を認め、CCR7KO マウスでは軟骨修復能が低下したことから、CCL21/CCR7 は幼若個体における軟骨修復に寄与すると考えられた。また、CCL21 を UPAL[®] gel に加えることで成熟個体でも軟骨修復が促進した。CCL21 を加えることで内在性幹細胞を損傷部に誘導し、軟骨分化誘導能を有する UPAL[®] gel が Scaffold として働くことで、軟骨修復を促進した可能性が示唆された。

1E-12-Ⅲ

椎間板再生治療における組織修復材の開発

¹北海道大学大学院医学研究院脊椎・脊髄先端医学分野, ²北海道大学大学院医学研究院整形外科科学教室, ²北海道大学大学院工学研究院

○須藤英毅¹ (Sudo Hideki), 辻本武尊², 東藤正浩³, 山田勝久², 大西貴士², 岩崎倫政²

【緒言】椎間板は生体内における自然再生能力が著しく低く、例えば椎間板ヘルニアに対する手術治療では、摘出部に生じた空隙は術後容易に変性を来す要因となる。我々は、AMED の革新的医療技術創出拠点プロジェクトによる支援のもと、アルギン酸ナトリウムを基盤とした高純度硬化性ゲルを椎間板ヘルニア術後の椎間板再生を促す組織修復材として開発しているので報告する。

【実験】非臨床 POC 取得のため PMDA 薬事戦略相談 (対面助言) による合意を得て、1) GLP 下生物学的安全性試験として家兎を用いた埋植試験による全身及び埋植局所への影響、2) 信頼性基準による性能試験として大型動物 (成羊) を用いた埋植試験、3) 生体力学試験として成羊屍体腰椎を用いた動的軸圧縮試験 (±300N, 1Hz, 1000 回) を行った。

【結果と考察】1) 埋植 4, 24 週後に全身毒性及び神経毒性がないことを確認した。2) 埋植手術後の 3T-MRI 及び病理組織にて、術後 4, 12, 24 週のいずれの時期においても、ゲル投与群は椎間板部分摘出単独群に比べ椎間板変性が有意に低く、免疫組織染色による Type II collagen 陽性細胞率も高かった。3) 動的圧縮試験後もゲルが椎間板外へ逸脱せず、椎間板摘出単独群より高い脊柱剛性を示した。

椎間板再生に対する最先端治療戦略は、幹細胞移植や組織変性を抑制する遺伝子工学的治療である。しかし、自家細胞移植では二期的手術である他、採取する細胞数に限られる点や、遺伝子工学的手法は導入効率の課題など超えるべきハードルは高い。そこで我々は、生体内における組織修復環境を最適化することで組織再生が促進されるという仮説のもと、エンドトキシン含有量を極限まで排除した高純度硬化性ゲルを用いた無細胞移植椎間板組織自然再生誘導法を検討した (PCT 国際出願中)。細胞を用いた cell-based medicine に対し、matrix-based medicine といわれる本治療戦略に対する臨床への橋渡し研究の成果が証明されたことで、現在、探索的治験の準備に移行している。

1E-13-Ⅲ

テリパラチド酢酸塩によるリン酸オクタカルシウム・コラーゲン複合体の骨形成促進効果

¹ 東北大学大学院医工学研究科骨再生医工学分野, ² 東洋紡株式会社, ³ 東北大学大学院歯学研究科顎顔面・口腔外科学分野

○梶井文彦^{1,2} (Kajii Fumihiko), 岩井敦史², 田中秀典², 川井 忠³, 松井桂子³, 鎌倉慎治¹

【緒言】リン酸オクタカルシウム (OCP) とコラーゲン (Col) を複合化させたリン酸オクタカルシウム・コラーゲン複合体 (OCP/Col) はこれまで種々の動物実験において有意な骨再生能を示し、現在は臨床試験を実施し実用化を目指している。今回私たちは、骨粗しょう症治療薬として用いられるヒト副甲状腺ホルモンの N 端側の 1-34 ペプチド断片であるテリパラチド酢酸塩 (PTH) を OCP/Col に滴下含有させ、骨欠損部に直接的に局所埋入することによって、骨形成促進作用が向上するかどうかについて検討した。

【実験】湿式合成法にて作製した OCP とブタ真皮由来のアテロコラーゲン (Col) を複合化させ、直径 9mm・厚さ 1.5mm のディスクを作成し熱脱水架橋を施した後、滅菌する目的で電子線照射 (約 15Kgy) した。ラット頭蓋冠に直径 9mm の臨界骨欠損を作製し、OCP/Col のみを埋入した「OCP/Col 群」、埋入時に OCP/Col へ PTH 溶液 0.1 μ g を滴下含有させた「OCP/Col/PTH0.1 群」、同様に PTH 溶液 1.0 μ g を滴下含有させた「OCP/Col/PTH1.0 群」の 3 群 (各群 5 匹) を用意し、観察期間は術後 12 週までとした。術後 4 週時、12 週時には生存状態で CT 撮影を行い、12 週時に標本採取後、軟エックス線写真撮影ののち脱灰標本から組織学的・組織定量学的観察を行った。

【結果】エックス線学的観察では、OCP/Col 群よりも PTH が含まれる 2 群 (OCP/Col/PTH0.1 & 1.0) の両方とも 4 週時の時点で欠損内の不透過像の充進が著しく 12 週時においても同様であった。また、12 週時の組織学的定量的結果、新生骨の割合が有意に高値であった。

【考察】OCP/Col 埋入時に PTH を滴下含有させ局所作用させることによって、OCP/Col の骨形成促進効果を向上させることが示唆された。

1E-14-Ⅲ

うろこコラーゲンを使用した培養口腔粘膜の開発

¹ 新潟大学大学院医歯学総合研究科小児歯科学分野, ² 新潟大学大学院医歯学総合研究科生体組織再生工学分野, ³ 新潟大学大学院医歯学総合研究科高度口腔機能教育研究センター, ⁴ 新潟大学大学院医歯学総合研究科歯学教育研究開発学分野, ⁵ 多木化学株式会社

○鈴木絢子^{1,2} (Suzuki Ayako), 加藤寛子^{2,3}, 干川絵美², 塩見 晶⁴, 河上貴宏⁵, 兒玉泰洋⁵, 齋藤一誠¹, 早崎治明¹, 泉 健次²

【緒言】これまで我々は、人獣共通感染症がない海産物由来材料を足場材とする口腔内移植可能な培養口腔粘膜の開発を行ってきた。これまで、キトサンを主成分とする多孔質の足場材を開発し培養口腔粘膜を作成したところ、上皮再生は認めたものの、口腔への移植材として操作性、物性に難点があった。この課題を解決するために、昨年の本学会で報告したように、1%魚うろこ (I 型) コラーゲングルを足場材とし、かつ、生体模倣の観点から上皮細胞播種面に凹凸構造を付与して培養口腔粘膜を作成した。この結果、移植材としての操作性が改善され、組織学的に生体の口腔粘膜に類似した上皮層が形成された一方で、作成中に培養口腔粘膜が著明に収縮していた。本研究では、コラーゲングルにコンドロイチン硫酸 (CS) を添加することが収縮の抑制に有効という仮説に立ち、CS を加えたうろこコラーゲングルの足場材を作成し、足場材の物性と、作成中の培養口腔粘膜の収縮、および形成された上皮の組織像について検討した。

【実験】インフォームドコンセントを得た患者から採取した口腔粘膜から、角化細胞を単離し連続培養した。使用する足場材は、1%うろこコラーゲングルに (1) CS 無添加群 (2) 1%CS 添加群、(3) 2%CS 添加群とし、細胞播種面には、ナイロンメッシュの圧接により凹凸を付与した。作成した足場材に対して、引っ張り強度と圧縮強度を測定。また、本学の培養口腔粘膜臨床応用プロトコールに準じて作成した培養口腔粘膜は、経時的にサイズを測定し、完成後に 4%パラホルムアルデヒドで固定し、パラフィン切片を作成後、HE 染色を行い上皮の組織像を観察した。

【結果と考察】CS 添加濃度が増すにつれて、1%コラーゲングルの引っ張り強度と圧縮強度は減少した。とくに (3) の足場材は摂子で把持すること自体が困難であった。一方、濃度に関わらず CS を 1%コラーゲングルに添加すると、作成中の培養口腔粘膜の収縮が (1) に比べ大きく改善した。組織学的には、いずれの群においてもゲル上には重層化した上皮が形成されていた。従って、1%CS 添加した 1%コラーゲングルは、培養口腔粘膜の足場材としての良好な操作性と収縮が少ないというバランスを兼ね備えていることが明らかとなった。

1E-15-Ⅱ

超音波振動刺激が軟骨前駆細胞（ATDC5）の分化に及ぼす影響

¹慶應義塾大学理工学研究科, ²慶應義塾大学

○井田雄太¹ (Ida Yuta), 岩永健太郎², 倉科佑太², 宮田昌悟², 小茂島潤²

【緒言】

軟骨前駆細胞の分化は、超音波振動刺激の付与により促進されることが知られている。しかしながら、従来の研究では、プラスチック製の培養器の直下にシリコーンゲルや水を介して低強度超音波パルス（LIPUS）を置き、それによって振動を付与する手法がとられており、細胞に付与する振動の周波数や振幅の大きさを制御することは困難であった。そこで本研究では、細胞に付与する超音波振動の特性を制御することが可能な金属製の培養器をまず作製した。つぎにこれを用いて、超音波振動刺激が軟骨前駆細胞の分化に及ぼす影響について検討・考察を加えた。

【実験】

細胞が接着する培養面は、微粒子ピーニング処理により微細凹凸を加工した SUS316L とした。その下部に、ボルト締めランジュバン型振動子を具備することで、細胞に所望の特性の超音波振動を付与することができる細胞培養システムを作製した。このシステムを用いて、周波数を 25kHz とし、振幅を 0.05、0.1、0.5、1.0、5.0 および 10 μ m とした超音波振動刺激を、1 日 30 分間、マウス由来軟骨前駆細胞（ATDC5）に付与し、合計 14 日間培養を行った。分化の度合いは sGAG 量を測定することにより評価した。また、DNA 量の測定も行った。

【結果と考察】

0.05 から 1.0 μ m の振幅の超音波振動は、軟骨細胞への分化には影響を及ぼさないことが明らかとなった。それに対して、5.0 μ m の振幅の超音波振動を付与した場合には、軟骨細胞への分化が促進され同時に増殖性が低下することが明らかとなった。なお、10 μ m の振幅の振動を与えた場合には、細胞の増殖性が著しく低下した。これは、実験中にキャビテーションが発生し、それにより細胞膜が大きく損傷したためと考えられる。

1E-16-Ⅱ

シングルファイバーを用いた神経膠芽腫細胞遊走におけるミトコンドリア動態の解析

¹福井大学院工学研究科繊維先端工学専攻, ²福井大学学術研究院医学系部門統合生理学分野

○河合佑介¹ (Kawai Yusuke), 竹内綾子², 松岡 達², 藤田 聡

【緒言】

癌は日本人の死因第一位である。特に高い浸潤能を有し、治療困難な部位に発現する脳腫瘍細胞について、早急な理解が求められている。腫瘍細胞は、転移と浸潤を繰り返して身体中に広がっていくため、腫瘍細胞の遊走性を理解することは癌の理解には欠かせない。腫瘍細胞の遊走にはエネルギー（ATP）が不可欠であるが、ATP 産生場であるミトコンドリアが腫瘍細胞遊走能にどの程度関与するか、明らかになっていない。本研究においては、脳腫瘍細胞遊走の方向性や移動速度とミトコンドリア局在やミトコンドリア膜電位の関連を 1 細胞レベルで明らかにすることで、神経膠芽腫細胞の遊走能とミトコンドリアの細胞内局在と機能との関係を明らかにすることを目的とする。

【実験】

神経膠芽腫細胞（U-87）をミトコンドリア膜電位感受性色素（TMRE）で染色し、二次元平面上の細胞遊走を 1 分間隔で 1.5 時間タイムラプス観察を行った。また、酸化的リン酸化、解糖系を阻害する試薬をそれぞれ用いて遊走を観察することでミトコンドリア動態と腫瘍細胞遊走との関係を調べた。さらに、細胞の前後方向を明確にする目的で、遊走方向を一次元方向に限定することが可能であるエレクトロスピンニング法によりシングルファイバーを作成し、より生体内を模倣した 3 次元環境下で細胞遊走を観察できる実験系を構築し、腫瘍細胞遊走時におけるミトコンドリア局在の定量化を行った。

【結果と考察】

タイムラプスによる観察から、ミトコンドリアが核周囲から仮足の方向へ流動的に移動していくと共に、アクチンの重合が活発に行われている様子が観察された。ミトコンドリアの分布は、非常に動的であり、エネルギーの需要が高い場所での富化を示すといった報告もあることから、突出先端部において、アクチン単量体、分子モーター等の働きにより、エネルギー需要が高まった結果ミトコンドリアが流入したと考えられる。また、ファイバー上での観察ではミトコンドリア局在が進行方向前方に存在し、本実験系において腫瘍細胞遊走とミトコンドリア局在についての関係性を明らかにできると期待される。

1E-17-II

生分解性高分子を用いた細胞・ナノ薄膜複合体の電気化学的マニピュレーション

¹東北大学大学院工学研究科, ²東北大学大学院医学系研究科

○鈴木 仁¹ (Suzuki Jin), 永井展祐², 西澤松彦¹, 阿部俊明², 梶 弘和¹

【緒言】

近年、細胞シートを用いる再生医療が広く検討されているが、細胞シートは脆く壊れやすいため、扱いが難しい。それを改善するために我々は細胞の足場材料として高分子ナノ薄膜を用いた検討を行ってきた。しかし細胞・ナノ薄膜複合体を基板からオンデマンドで回収する技術はまだ確立されていない。そこで本研究では、自己組織化単分子膜(SAM)が金属基板から還元脱離する性質に着目し、細胞・ナノ薄膜複合体の基板からの剥離を電気化学的に制御する方法を開発した。

【実験】

SAMとしてL-cysteineを、高分子ナノ薄膜として乳酸-グリコール酸共重合体(PLGA)を用いて検討を行った。シリコンゴムシートを用いてガラス基板上にAuをパターンニングし、その上にSAMを形成して電極基板を作製した。SAMの上にPLGAナノ薄膜を載せ、その上で網膜色素上皮細胞を培養することで細胞・ナノ薄膜複合体を作製した。乾電池を用いて電極基板に還元電位を印加し、SAMの還元脱離によって細胞・ナノ薄膜複合体を剥離させる実験を行った。また、細胞・ナノ薄膜複合体を動物に移植するin vivo試験を行った。ラット眼球網膜下へ細胞・ナノ薄膜複合体を送達し、眼球を摘出して観察を行った。

【結果と考察】

-1.5V乾電池を用いた簡便な手法で細胞・ナノ薄膜複合体を基板から短時間で剥離させることに成功した。また回収後の細胞の生存率が約100%に保たれていることを確認した。さらにポーラス薄膜を基板に用いることでノンポーラス基板と比較してより早く高分子ナノ薄膜を回収することができた。In vivo試験では細胞・ナノ薄膜複合体をラット眼球という非常に狭小なスペースに送達できたことを確認した。

1E-18-II

クローン性株細胞を用いた臍組織再構築系の開発

¹東京理科大学基礎工学研究科, ²神戸大学大学院工学研究科

○上妻 雅¹ (Kozuma Miyabi), 安富 諒², 中島忠章¹, 大谷 亨², 友岡康弘¹

性同一性障害のための性転換手術には臍組織を移植する必要がある。臍は単層上皮から成るミュー管から分化し、間質から分泌される因子によって、多層角質化の臍上皮となるが、その形成メカニズムは解明されていない。そこで、本研究では臍由来のクローン性株細胞を用い、マウス体内への移植による臍組織の再構築を試みた。

新生仔期の臍間質から樹立された株細胞とコラーゲン溶液を混合して固め、そのゲルの上にミュー管上皮のクローン性株細胞(E1細胞)を播種し、気相液相界面で3週間培養を行った(3D培養)。その結果、E1細胞は臍上皮様の多層上皮を形成した。また、その臍間質株細胞から2種類の細胞(M2細胞、M6細胞)を樹立し、それぞれをE1細胞と3D培養したところ、M2細胞は単層上皮を、M6細胞は多層上皮を誘導した。さらなる分化を誘導するため、3D培養サンプルを腎被膜下に移植したが、血管新生に乏しく、体循環に接続されず退縮した。そこで、組織再構成のカギとなる血管新生を移植片に誘導するため、われわれは、ヒアルロン酸にポリエチレングリコール(PEG)をグラフトした高分子(PEG-g-HA)を架橋したヒドロゲルにfibroblast growth factor 2(FGF2)を浸漬させることで、腎被膜下への血管新生誘導を促し、E1細胞の多層化および分化の誘導を試みた。PEG-g-HA架橋ゲルは、成長因子を極めて安定に保持し、組織再生に適した放出制御を可能とする独自のヒドロゲルである。FGF2を含浸したPEG-g-HA含有コラーゲンを移植した結果、コラーゲンゲルのみでの移植と比較して、移植片への血管誘導が促進され、退縮が阻害された。その移植片においては、内腔側に多層化した上皮組織が確認できた。この血管新生効率の定量的評価についても発表する。

再生医療の分野においては、iPS細胞の臨床応用に向け、分化誘導効率の向上と細胞分離技術の向上によって単一細胞群を得ることが近い将来に期待されている。したがって、単一細胞群から組織構造を再構築可能なこの系は、多種多様な組織の再構築に応用可能だと考えられる。

1E-19-Ⅱ

フィブリンゲルを用いた骨格筋組織の構築と組織モデルとしての応用

東京女子医科大学先端生命医科学研究所

○高橋宏信 (Takahashi Hironobu), 清水達也, 大和雅之, 岡野光夫

【緒言】再生医療の実現に向けた組織工学技術の発展に伴い、様々な組織を構築することが可能となってきた。温度応答性基材で培養した細胞は培養温度を変化させることで培養基材から剥離させ、細胞シートとして回収することができる。この技術により、細胞を高密度に集積させた組織を作製することが可能になっているが、より複雑な構造・機能を有する組織を再現できる技術がさらに望まれている。本研究では、高分子パターンニング技術によって表面修飾した温度応答性基材を用いて構造制御した骨格筋細胞シートを作製し、より生体に近い構造・機能を有する骨格筋組織の構築を試みた。

【実験】温度応答性基材表面に部位選択的にポリアクリアミドをグラフトすることで2種類のポリマーがストライプ状に形成されたパターン化温度応答性基材を作製した。筋芽細胞をこの基材に播種し、細胞がコンフルエント状態になるまで培養した後、培養温度を 20℃にすることで細胞シートとして回収した。これをフィブリンゲル上に転写した後、筋管分化を誘導するために分化誘導培地で培養した。筋組織の分化に関しては、筋芽細胞の形状変化および筋細胞特異的なタンパク質の発現から評価を行った。さらに、電気刺激による筋収縮挙動について観察し、作製した筋組織の機能評価を行った。また、リアノジンを培地に添加し、筋収縮に及ぼす影響を観察することで筋組織の薬剤応答性を評価した。

【結果と考察】パターン化基材に播種した筋芽細胞は同一方向に配向し、低温培養することにより細胞シートとして回収できた。回収した細胞シートは配向構造を維持した状態のままフィブリンゲル上に転写することが可能であった。さらに分化誘導 3 週間後、筋収縮に必須のサルコメア構造を有する配向した筋管組織を得ることに成功した。次に、作製した筋組織を電氣的に刺激したところ、電気刺激に反応して筋組織が収縮する様子を観察することができた。さらに、筋組織モデルとしての有用性を評価するため、培地中にリアノジンを添加したところ、電気刺激下において筋収縮が徐々に抑制されていく様子が見られた。この抑制効果はリアノジンの濃度に依存的であり、作製した骨格筋組織は生理的な薬剤応答性を持つことが示された。本手法により作製した筋組織は構造的にも機能的にも生体を模倣しており、優れた組織モデルとして創薬開発などに応用できると期待される。

1E-20-Ⅱ

束状構造ゲルによる神経足場材料の開発

¹東京大学生産技術研究所, ²東京理科大学基礎工学部, ³東北工業大学大学院工学研究科

○高橋治子¹ (Takahashi Haruko), 立澤彩佳^{1,2}, 小田原あおい³, 鈴木郁郎³, 菊池明彦², 松永行子¹

【緒言】柔軟性、含水性に優れたハイドロゲルは、生体に近い環境を模倣するのに適した材料であり、様々な組織の再生を指向した細胞足場としての利用が期待される。特に生体に存在する、筋線維・神経線維などの束状線維構造を有する組織の再生のためには、束状構造をもつハイドロゲル足場材料が適していると考えられるが、束状構造ゲルを、ゲル繊維を撚り合わせて作製するのは一般的に難しい。そこで我々は、溶液の相分離状態とマイクロ流路技術を組み合わせることで、ゲル化と束化を同時に行うことのできる「動的ゲル化法」を用いて束状構造ゲルを作製した。本発表では、さまざまな固さの束状構造ゲルを作製し、その物理科学的な特性評価および神経細胞足場への応用を検討した。

【実験】生体適合性および温度応答性を有するヒドロキシプロピルセルロース(HPC) 5 wt%に対し、アルギン酸ナトリウム(Na-Alg)の濃度を 1.0、1.5、2.0 wt%に変化させたポリマーブレンド溶液を調製した。これらのポリマーブレンド溶液を、同軸フロー型マイクロ流路デバイスの内層流側に送液し、外層流側に Na-Alg の架橋剤である塩化カルシウム水溶液を送液することで、束状構造ゲルファイバーを作製した。ポリマーブレンド溶液の相分離状態、得られたゲルファイバーの顕微鏡による構造観察、引張試験による力学的強度測定を行った。さらに、ゲルファイバー上にマウス・ラット由来の神経細胞である PC-12、DRG 細胞およびヒト iPSC を播種し、神経細胞の接着およびネットワークの形成を検討した。

【結果と考察】HPC と Na-Alg のブレンド比を変化させると、Na-Alg の含有量が増大するにつれて、ブレンド溶液中のポリマーリッチ相の減少および束状構造ゲルを構成する微小線維直径の減少が観察された。これは水合力の高い Na-Alg 量が増大したことで、ポリマーリッチ相の水分子が溶媒リッチ相へ移動し、結果としてポリマーリッチ相内での凝集力が高まったためと考えられる。さらに、Semi-wet 状態の束状構造ゲルの破断強度を測定したところ、Na-Alg 含有量の増大に伴って破断強度が大きくなった。得られた束状構造ゲルに神経細胞を播種したところ、Na-Alg の含有量が多いゲルファイバーにおいて、神経細胞の伸展とネットワーク形成が見られた。以上のことから、束状構造ゲルの微細構造と固さを適正に制御することによって、神経細胞の接着とネットワーク形成を誘導できることが明らかとなった。

1E-21-II

細胞外マトリックスを高密度に有する三次元がんー間質組織体の構築

¹大阪大学大学院工学研究科, ²JST さきがけ

○松崎典弥^{1,2} (Matsusaki Michiya), 米田美咲¹, 加藤菜津子¹

【緒言】

がん細胞は、周囲の間質（線維）組織に含まれる線維芽細胞や免疫細胞、血管網と密接に相互作用し、腫瘍を形成している。そこで、生体の腫瘍に類似した三次元微小環境を有する *in vitro* ヒトがんモデルを構築できれば、がん細胞と周囲の線維芽細胞や免疫細胞、血管網との相互作用の理解や抗がん剤の開発などに有用である。生体の間質組織（結合組織）は、20-30 wt%という高濃度の膠原繊維（コラーゲン線維）を有するが、コラーゲンは中性水溶液への溶解性に乏しく、高濃度化は困難であった。そこで、我々は、I型コラーゲンのマイクロファイバー（CMF）を作製し、マイクロファイバーと細胞を懸濁・沈殿させて組織化する新規手法「沈殿培養法」を考案した。本手法により、高密度なコラーゲン線維を有する三次元がんー間質組織体の構築が期待される。

【実験】

ブタ皮膚由来I型コラーゲン（日本ハム（株）より提供）をリン酸緩衝生理食塩水（PBS）中でホモジナイザーを用いて細断し、無血清培地で洗浄後、CMFを得た。得られたCMFを大腸がん細胞（HT29）と正常ヒト皮膚線維芽細胞（NHDF）と混合し、沈殿培養によりがんー間質組織体を構築した。

【結果と考察】

得られた組織体の組織標本をヘマトキシリン・エオジン（HE）染色や抗サイトケラチン抗体染色により評価した。その結果、緻密なコラーゲン線維の内部にHT29がコロニーを形成して存在し、周囲にNHDFが存在する様子が観察された。組織体のコラーゲンの濃度を計算すると約30 wt%であり、生体の間質組織に類似した高濃度化を実現できた。組織体内部の細胞生存率を評価するため、1週間培養後にDNA量を定量評価した。その結果、CMFを用いない通常のスフェロイドでは生存率が40%以下まで低下したが、組織体では条件を最適化することで、ほぼ100%の生存率を維持できることを見出した。本三次元がんー間質組織体は、生体の三次元環境を反映した *in vitro* ヒトがんモデルとして応用が期待される。

**日韓バイオマテリアル学会若手研究者交流
AWARD セッション（ポスター発表）
11 月 20 日（月）**

F 会場 （1F 展示ホール）

JK-01—JK-06

**一般演題（ポスター発表）
11 月 20 日（月）**

F 会場 （1F 展示ホール）

*** 日本バイオマテリアル学会 優秀研究ポスター賞応募ポスター**

金属・無機材料（1）	1P-001—1P-009
高分子材料（1）	1P-010—1P-031
マテリアルと細胞（1）	1P-032—1P-061
血液とマテリアル（1）	1P-062—1P-065
DDS, イメージング（1）	1P-066—1P-094
医療用デバイス（1）	1P-095—1P-100
再生医療・組織工学（1）	1P-101—1P-122
検査・診断法, バイオセンサー（1）	1P-123—1P-125

JK-01

Surface design of polyrotaxane-based materials with growth factors for enhancing cell differentiation

Department of Organic Biomaterials, Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University

○Arisaka Yoshinori, Yui Nobuhiko

Polyrotaxane (PRX) is a supermolecule with many cyclic molecules threaded onto an axis polymer and PRX-coated surfaces have the potential for molecular mobility of the threading cyclic molecules along the chain. Previously, we have reported the PRX surfaces can modulate cell differentiation by mechano-signaling through the surface molecular mobility. In addition, we have also reported that sulfonated-PRXs can form polyelectrolyte complexes with bone morphogenetic protein-2 (BMP-2), resulting in the acceleration of the osteogenic differentiation of preosteoblasts (MC3T3-E1 cells). Hence, we hypothesized that sulfonated-PRX surfaces would be useful substrates for inducing cell differentiation by the effects of modulating molecular mobility and surface-tethering BMP-2 via electrostatic interactions. In the present study, we synthesized sulfopropyl ether-modified PRX (SPE-PRX) triblock copolymers, which consist of an SPE-PRX as a middle block segment and poly(benzyl methacrylate) as both terminal segments, and coated the copolymers onto polystyrene surfaces. Subsequently, BMP-2 was tethered on the SPE-PRX surfaces by electrostatic interactions. MC3T3-E1 cells were cultured on various PRX surfaces, and the mRNA expression levels of *runx2*, *alp* and *ocn* genes were analyzed by qRT-PCR. BMP-2 tethered SPE-PRX surfaces with the low mobility induced the highest expression levels of specific genes among all culture conditions. This result indicated that BMP-2 tethering via electrostatic interactions using PRX architectures contributed to the osteogenic differentiation of MC3T3-E1 cells. Therefore, it may be concluded that the SPE-PRX surfaces can effectively potentiate the induction of osteogenic differentiation by both mechano-signaling through the molecular mobility of PRXs and cytokine-signaling through tethered BMP-2 on the surfaces.

JK-02

Design of biomimetic polymer brush surfaces with autonomous property changes

Department of Materials Engineering, School of Engineering, The University of Tokyo

○Masuda Tsukuru, Akimoto Mizutani Aya, Yoshida Ryo

Functional surfaces modified with stimuli-responsive polymers are great focus because they can change the property dynamically in response to external stimuli. In the past decades, they have been investigated as various biomaterials including bioseparation system, bioanalysis, and cell culture dishes. On the other hand, living systems regulates mechanical motion, mass transport, or signal transduction autonomously. If the “autonomous” function can be mimic by artificial materials as functional surfaces, it would be versatile for novel nanotechnologies and applications. It is possible to create a novel dynamic functional surface by modifying a self-oscillating polymer that that involves a built-in system of energy conversion from oscillating chemical reaction to mechanical motion. The basic structure of the self-oscillating polymer is a copolymer of *N*-isopropylacrylamide and Ru(bpy)₃ as a catalyst for the oscillating chemical reaction (BZ reaction). Periodic hydrophilic/hydrophobic change of the polymer chain is spontaneously induced by the BZ reaction and the polymer can act as a molecular motor. In this study, self-oscillating polymer brush as an autonomous functional surface has been designed by surface-initiated atom transfer radical polymerization (SI-ATRP). The prepared polymer surface was characterized by ATR/FT-IR and UV-vis. Swelling behavior of the grafted polymer in respond to the oxidization of Ru(bpy)₃ was observed by QCM-D. For the characterization of the autonomous functions, fluorescence microscopy observation revealed that autonomous propagation of chemical occurred on the self-oscillating polymer brush. This study would contribute novel application of functional surface such as autonomous mass transport or fluid control.

JK-03

Development of oral redox nanomedicines for gastrointestinal disorders

Department of Materials Science, University of Tsukuba

○Long Binh Vong, Nagasaki Yukio

Excessive generation of reactive oxygen species (ROS) cause oxidative damage to biomolecules including nucleic acids, lipids, and proteins. ROS-mediated injuries are strongly related to numerous human diseases such as inflammatory, stroke, myocardial infarction, diabetes, neurodegenerative diseases, aging, and cancer. Low-molecular-weight (LMW) drugs are not completely effective due to their low bioavailability, non-specific drug distribution, causing severe adverse effects. Recently, we have been developing a novel redox nanoparticle (RNP⁰) prepared by self-assembly of an amphiphilic block copolymer possessing stable nitroxide radical TEMPO, an ROS scavenger, as a nanotherapeutics for treatment of various ROS-associated disease models in mice including kidney injury, inflammatory bowel disease, cerebral damage, cancer, myocardial infarction. In this research, we focused on oral administration of redox nanomedicine RNP⁰ for treating ulcerative colitis and colon cancer models in mice. Unlike LMW nitroxide radicals, which spread to entire body after oral administration, RNP⁰ tended to accumulate in colon mucosa particularly in inflamed and cancer tissues. As the result, RNP⁰ effectively scavenged overproduced ROS in inflamed sites to suppress the inflammation in colitis model in mice. Interestingly, by scavenging ROS in tumor tissues, RNP⁰ could also enhance anticancer efficiency and suppress the adverse effects of conventional chemotherapies. In addition, the extremely low toxicity of RNP⁰ was confirmed using zebrafish embryos as compared to LWM drugs. Oral administration of redox nanomedicine is promising therapy for treatment of gastrointestinal disorders.

Reference

- 1) T. Yoshitomi, A. Hirayama, Y. Nagasaki, *Biomaterials*, **32**, 8021-8028 (2011)
- 2) L.B. Vong, T. Tomita, T. Yoshitomi, H. Matsui, Y. Nagasaki, *Gastroenterology*, **143**, 1027-1036 (2012)
- 3) L.B. Vong, M. Kobayashi, Y. Nagasaki, *Molecular Pharmaceutics*, **13**, 3091-3097 (2016)
- 4) L.B. Vong, J. Mo, B. Abrahamsson, Y. Nagasaki, *Journal of Controlled Release*, **201**, 19-25, (2015)
- 5) L.B. Vong, T. Yoshitomi, H. Matsui, Y. Nagasaki, *Biomaterials*, **55**, 54-63 (2015)
- 6) L.B. Vong, Y. Nagasaki, *Molecular Pharmaceutics*, **13** (2), 449-455 (2016)

JK-04

In situ direct formation of organic/inorganic hybrid hydrogels for tissue engineering

¹Center for Biomaterials, Korea Institute of Science and Technology, ²Department of Nano-biomedical Science, Dankook University, ³Department of Biomedical Science, Cha Bio Complex

○Cheol-Min Han¹, Jun-Sung Oh², Jeong-Soon Park², Eun-Jung Lee², Yoon Ki Joung¹, Dong Keun Han³

Hydrogels have been widely studied as three-dimensional scaffold materials in tissue engineering field. Naturally sourced polysaccharides, including alginate are frequently used as hydrogel materials due to their biocompatibility and biodegradability. These materials, however, require chemical cross-linking, which may cause cellular damages. In this study, sol-gel based silica was introduced for *in situ* direct formation of hydrogel without additional cross-linking process. An aqueous sodium alginate solution and a silica sol with a molar ratio of tetramethyl orthosilicate : water of 1 : 10 were prepared and then mixed each other with various weight ratios (alginate/silica: 80/20, 60/40, 40/60 and 20/80). The gelation of hybrid hydrogels was accelerated with increasing silica content. In addition, compressive modulus of the hydrogels dramatically increased with increasing silica content. In this hybrid hydrogel system, gelation process mainly occurs by formation of semi-interpenetrated polymer network between silica networks and alginate chains. Therefore properties of hybrid hydrogels were directly affected by silica content. *In vitro* cytotoxicity of hydrogels was assessed by Live/Dead assay using fibroblast cells. After 7 days of culturing, pure alginate hydrogel cross-linked by CaCl₂ possessed a number of dead fibroblast cells, while hybrid sample rarely had dead cells. *In vivo* biocompatibility of cell-laden hydrogels was evaluated under rat subcutaneous tissue using mesenchymal stem cells (MSCs). Under *in vivo* condition, MSCs encapsulated in the hybrid hydrogels survived well without any significant inflammation. Silicon ions released from silica network might stimulate cell growth. These results suggest that alginate/silica hybrid hydrogels have great potential in tissue engineering field.

JK-05

Photodynamic Therapy in Cancer Treatment via Stimuli-Responsive Polymeric Photosensitizers

Department of Biotechnology, The Catholic University of Korea

○Hee Sook Hwang,, Jeongdeok Seo, Kun Na

【緒言】

Photodynamic therapy(PDT) is a clinically approved therapeutic method that uses a photosensitizing drug to treat cancer and many diseases. When photosensitizers(PS) are exposed to a specific wavelength of light, it generates cytotoxic reactive oxygen species that can rapidly destroy cells. However, there are severe side effects including photosensitivity reactions and swelling in the treated area. To overcome these side effects of PDT, we designed and prepared polymeric PS that are sensitive to tumor microenvironment such as pH, and enzyme. The pH-responsive PS is designed to respond tumor pH, where solid tumor pH is 6.8. Tumor also has been reported that it expresses about 104-fold higher enzyme concentration than normal tissue. Thus, the enzyme-responsive PS is designed to activate upon enzyme concentration in tumor regions.

【実験】

To prove the stimuli-responsive polymeric PS, we have been demonstrated the physicochemical characterization of these materials to show the tumor responsive activity. Physicochemical characterizations include NMR, HPLC/GPC, zeta potential, particle size, and release study. In addition, In vitro and vivo studies in cancer cell lines and animal models have been also conducted to prove stimuli-responsive reactions and cell death upon laser irradiation in cells and tumor models.

【結果と考察】

Based on the tumor microenvironment, polymeric PS have been shown to response in specific stimuli in tumor regions. As a consequence, tumor targeted ability was enhanced upon laser irradiation. Therefore, the tumor environment sensitive polymeric PS are able to provide tumor targeted treatment and enable tumor selective PDT for enhanced cancer treatment.

JK-06

Prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity and liver injury by systemic cellular delivery of protein nanoparticles

School of Pharmacy, Sungkyunkwan University

○Min Sang Lee, Ji Hoon Jeong

Acetaminophen (APAP) is one of the most frequently prescribed drugs and the leading cause of drug-induced liver toxicity and hepatic failure. Reactive oxygen species (ROS) is known to play critical roles in the pathogenesis of APAP-induced liver injury. Although superoxide dismutase (SOD) is an excellent ROS scavenger, its clinical implementation requires safe and effective delivery of the enzyme into the cells of the target tissue. To achieve the effective removal of cellular ROS in the liver, an injectable carrier should have the capability to deliver the enzyme to target cells, escape from the endosome, and maintain its colloidal and enzymatic stability in the blood and the cytosol. In this study, we combine a hydrophilic natural polymer with inorganic calcium phosphate for the facile preparation of an SOD-containing bio-hybrid nanoparticle system having multiple functions such as liver-targeting property, endosomal escape function, and desirable stability both in the blood stream and the cells.

1P-001-I

c 面配向ハイドロキシアパタイトの結晶性に対するフッ化アパタイトバッファ膜質依存性

近畿大学大学院生物理工学研究科

○岡田悠希 (Okada Yuki), 楠 正暢

【緒言】

我々は、パルスレーザーデポジション(PLD)法によりアモルファス基板上にフッ化アパタイト(FA)をバッファ層として用いることで、c 面配向のハイドロキシアパタイト(HA)を結晶化させることに成功した。これまで、高品質な c 面配向 HA 膜を得るにはサファイア単結晶基板が必要であったが、ディスプレイ型デバイスへの応用を考えた場合、単結晶基はコスト面で不利である。そこで、1/10 以下のコストで入手可能なアモルファス石英ガラス基板上で実現する手法を考案した。今回、アモルファス基板上で HA 膜を高結晶化させる方法について検討したので報告する。

【実験】

HA はアモルファス基板上で一軸配向させることは困難であることがこれまでの研究で明らかになっているため、アモルファス石英基板上にでも自己配向する FA をバッファ層として用いた。今回、バッファ FA 膜の結晶性を高めることにより、メイン層の HA を高結晶化させることを試みた。レーザー周波数が異なる 1Hz と 5Hz の FA バッファを準備し、その上に同一条件で HA を成膜した。その後、X 線回折(XRD)でそれぞれの膜質を比較した。

【結果と考察】

1Hz、5Hz で成膜した FA バッファ膜に対し、いずれの試料においても HA が c 面配向しているのが確認できた。XRD の半値幅はレーザー周波数 1Hz で成膜した試料の方が小さくなり、結晶性が高くなっていることが明らかとなった。

1P-002-III

ハイドロジンカイトとシモンコライト間の創傷治癒効果の比較

¹山形大学大学院理工学研究科, ²JFE ミネラル株式会社

○永島美希¹ (Nagashima Miki), 中山賢典¹, 佐々木優¹, 中田圭美², 宇田川悦郎², 山本 修¹

【緒言】 現在、皮膚創傷治療には自家皮膚移植が用いられているが、患者への侵襲性が高いという欠点がある。したがって、患者自身の治癒能力を利用して治療を行うことができる創傷治療材料の開発が求められている。本研究では、細胞遊走や血管新生の促進に寄与する Zn^{2+} イオンに着目した。創傷部に対して Zn^{2+} イオンの溶出が期待できる亜鉛含有創傷治療材料として、ハイドロジンカイト($HZ; Zn_{5\pm x}(CO_3)_{2\pm y}(OH)_{6\pm z}$)及びシモンコライト($SK; Zn_5(OH)_8Cl_2 \cdot 5H_2O$)を選択した。本研究の目的は、異なるアニオンを持つ HZ と SK を創傷部に適用した際の創傷治癒効果を明らかにすることである。

【実験】 HZ は硫酸亜鉛と炭酸水素ナトリウムを、SK は塩化亜鉛と塩化アンモニウムを原料として、中和反応により粉末合成を行った。合成した試料に、X 線回折装置、pH 測定及び誘導結合プラズマ発光分光分析装置を用いて粉末特性評価を行った。動物実験は、山形大学動物実験委員会の承認の下、SD ラットの腹側部に皮下組織に至る創傷を作成し、control 群は医療用創傷被覆材のみ適用した。Sample 群は HZ または SK 粉末 0.005g を塗布後、control 群同様に医療用創傷被覆材を適用した。経過観察期間を創傷作成後 1 及び 2 週間とし、巨視的観察、統計学的評価及び組織学的評価を行った。

【結果と考察】 X 線回折パターンにより HZ は $Zn_{5\pm x}(CO_3)_{2\pm y}(OH)_{6\pm z}$ 、SK は $Zn_5(OH)_8Cl_2 \cdot 5H_2O$ と同定された。測定された pH 値はいずれの試料も角化細胞及び線維芽細胞増殖における至適 pH の範囲内であった。測定された Zn^{2+} イオン溶出量は、いずれの試料とも同程度の溶出量であり、細胞増殖を阻害しない $500\mu mol/L$ 以下であった。創傷作成 1 及び 2 週間後の巨視的観察では、いずれの試料を塗布した場合でも白色組織の形成が認められた。ヘマトキシリン・エオシン染色による組織学的な評価は、観察された細胞種による違いは認められなかった。マッソントリクローム染色によるコラーゲン形成について観察したところ、試料を塗布した方が control よりコラーゲン形成は進行していたが、粉末試料間による違いは認められなかった。新生血管数計測の結果は、創傷作成 1 週間後ではいずれの試料においても炎症期～増殖期、2 週間後では control 及び HZ は炎症期～増殖期、SK は増殖期～再構築期に相当した。以上の結果より SK が血管新生を促進していることから、HZ より SK の方が創傷治療材料としてより良い材料であると示唆される。

陽極酸化処理を施した Ti-Cu 合金の抗菌性

¹名古屋大学大学院工学研究科, ²名古屋大学未来材料・システム研究所, ³北見工業大学工学部地球環境工学科
○北澤 丈¹ (Kitazawa Joe), 黒田健介², 興戸正純², 大津直史³

【緒言】Ti は優れた生体適合性を示すものの、抗菌性に乏しいため、Ag や Cu の添加などによる抗菌性付与が試みられてきた。一般に、銀や銅による抗菌性は、金属によるものよりイオンの方が効果的と考えられているが、そのイオン添加手法は多いとは言えない。当研究室では、Ti 合金に陽極酸化を施すと、①合金元素がイオンとして酸化皮膜中に混入すること、②平滑でかつ親水性の高骨伝導性を期待できる酸化皮膜が得られる場合があること、そして Ti-Ag 合金の陽極酸化により作製した Ag⁺を含有した皮膜が抗菌性を有することを明らかにした。そこで本研究では、①と②の結果を組み合わせ、あらかじめ溶製した Ti-Cu 合金に陽極酸化を施すことにより、合金表面に銅を Cu イオンとして含む酸化皮膜を形成させ、その酸化皮膜の抗菌性を調べることを目的とした。

【実験】アーク溶解炉により Cu 濃度が～5 mass%となるように Ti-Cu 合金を溶製し、直径 1 cm 程度の円形平板に切断後、表面粗さ Ra/μm < 0.1 となるようにバフ研磨した。室温にて 0.1M H₂SO₄、2M H₃PO₄、0.1M NaOHaq で最大印加電圧をそれぞれ 100 V、200 V、70 V、昇圧速度は 0.1 Vs⁻¹で陽極酸化を施し酸化皮膜を作製した。酸化皮膜の Ra 測定 (150 × 112 μm) にはレーザー顕微鏡を、表面観察には SEM を用いた。表面親水性評価には水滴接触角 (WCA) 測定 (2 μL) を用いた。合金ならびに酸化皮膜中での銅の存在状態を調べるため、XPS 分析および XRD 分析を行った。酸化皮膜からの Cu イオンの徐放性を調べるため、37 °C に保持した 0.9 mass%NaClaq 中で最長 14 d 浸漬し、ICP-AES を用いて水溶液中に溶出したイオンの定量分析を行った。酸化皮膜の抗菌性評価には、大腸菌と表皮ブドウ球菌を用いた (JIS Z2801)。

【結果と考察】Ti-Cu 溶製試料の XPS 分析の結果、添加 Cu 濃度に依存せず Cu は 0 価として合金中に存在していた。0.1M NaOHaq 中で陽極酸化を施したところ、酸化皮膜表面ならびに皮膜内部には、Cu が Cu⁺ならびに Cu²⁺として存在していることが確認された。生理食塩水中への酸化皮膜からの Cu イオンの徐放性を静的溶出試験により調べた結果、どの試料でも定量下限以下であった。陽極酸化材の抗菌性試験の結果、抗菌性を有することが確認された。Ti-Ag 合金の陽極酸化材の抗菌性と比較して議論する。

表面親水性を制御した Ti への Ag イオン吸着による抗菌性の付与

¹名古屋大学大学院工学研究科, ²名古屋大学未来材料・システム研究所, ³北見工業大学工学部地球環境工学科
○大脇充裕¹ (Owaki Mitsuhiro), 黒田健介², 興戸正純², 大津直史³

【緒言】Ti は高強度・高靱性であり、優れた生体適合性を示すため生体材料として広く用いられているものの、単独では抗菌性に乏しいため、金属 Ag や Ag⁺の添加などによる抗菌性の付与が試みられてきた。これまでに著者らは、Ti-Ag 合金に陽極酸化を施すことにより合金表面に Ag⁺を含む酸化皮膜を作製し、それが抗菌性能を発揮することを報告した。その一方で、表面を高度に清浄化した Ti を金属イオンを多量に含有する水溶液に浸漬することで、Ti 表面に金属イオンが強固に吸着し、脱離しにくいことをすでに見出している。そこで本研究では、表面を清浄化した Ti を Ag⁺を含む水溶液に浸漬することにより Ti 表面に Ag⁺を吸着させ、その抗菌性能を調べることを目的とした。

【実験】表面粗さ Ra/μm < 0.1 となるように湿式研磨を施した Ti 試料に、180 °C の蒸留水中に 3 h 保持する水熱処理を施した後、室温の大気中に最長 7 d 保存することで表面親水性 (10 < WCA < 65 deg.) を制御した。その後、～0.75 M AgNO₃ 水溶液あるいは飽和 AgCl 水溶液に最長 7 d 浸漬し、蒸留水中で 5 min 超音波洗浄を行うことで試料を作製した。表面粗さ評価としてレーザー顕微鏡を用いて試料表面の Ra 測定 (測定範囲: 150 × 112 μm) を行い、表面親水性評価には水滴接触角 (WCA) 測定 (滴下量: 2 μL) を用いた。試料表面の銀の存在状態の調査には XPS 分析を用いた。また、生体模擬環境に保存した際の試料表面の Ag⁺吸着量の変化を調べるため、37 °C の PBS(-) 中に 7 d 浸漬した試料について XPS 分析を行った。試料の抗菌性評価には、大腸菌と表皮ブドウ球菌を用いた (JIS Z2801 に準拠)。

【結果と考察】各種の処理を施した試料表面は初期表面粗さを維持していた (Ra/μm < 0.1)。AgNO₃ 水溶液、AgCl 水溶液のどちらに浸漬した場合でも、4 d 程度の浸漬で Ti 表面に Ag⁺が最大量吸着することが分かった。また、Ag⁺の最大吸着量は表面 WCA に依存し、WCA が大きくなるほどより多くの Ag⁺が存在していた。AgNO₃ 水溶液、AgCl 水溶液への浸漬により、WCA ≒ 65 deg. の試料は WCA ≒ 30 deg. へ、WCA ≒ 10 deg. の試料は WCA ≒ 15 deg. へと変化した。当日は試料の抗菌性ならびに生体模擬環境に保存した際の試料表面の Ag⁺吸着量の変化についても報告し、Ti-Ag 合金を陽極酸化した抗菌性能を有する試料と比較する。

1P-005- I

Ti へのタンパク質模擬物質吸着挙動

¹名古屋大学大学院工学研究所, ²名古屋大学未来材料・システム研究所

○森 祐輔¹ (Mori Yusuke), 黒田健介², 興戸正純²

【緒言】骨内に埋植された材料表面に骨が形成するには、タンパク質が吸着し、その上に、骨芽細胞（様細胞）が接着する必要があるとされる。しかし、インプラントに吸着するタンパク質の種類の骨伝導性への影響は必ずしも明らかになっていない。本研究では、吸着タンパク質種が骨形成に与える影響を明らかにすることを最終目的とし、タンパク質を模擬した界面活性剤およびポリペプチドのインプラントへの吸着挙動ならびにその表面へのタンパク質吸着の評価を行った。

【実験】湿式鏡面研磨（表面粗さ $Ra/\mu\text{m} < 0.1$ ）した Ti 板に、水熱処理（180°C、蒸留水、3 h）を施した後、室温の大気中に最長 7 d、または 240 の密閉容器中で 24 h 保持した。その後、試料に界面活性剤またはポリペプチドの水溶液を滴下し、吸着させた（37°C、最長 3 d）。タンパク質には、アルブミン（平均分子量 66 k）あるいはフィブロネクチン（440 k）を用いた。ポリペプチドには、アンギオテンシン II（1046）あるいは副甲状腺ホルモン（9425）を用いた。界面活性剤には、末端にカルボキシ基とアミノ基の両方をもつ 4-アミノ酪酸のほか、片末端にカルボキシ基をもつ酪酸ナトリウムあるいはアミノ基をもつプロピルアミン塩酸塩を用いた。これらの物質を蒸留水、HCl または NaOHaq に溶解した。界面活性剤およびポリペプチド吸着試料にタンパク質の吸着を行った。各試料表面を XPS、水滴接触角（WCA）測定（2 μL ）により、タンパク質吸着量を FT-IR のスペクトル面積（1650 cm^{-1} ）から評価した。

【結果と考察】ポリペプチドはタンパク質と同様、親水性 Ti 表面に吸着したが、分子量の小さい 4-アミノ酪酸は吸着しなかった。副甲状腺ホルモン吸着後の WCA は約 39 deg. となったが、アンギオテンシン II 吸着後に WCA は変化しなかった。界面活性剤およびポリペプチドの吸着試料にタンパク質を吸着させると、未吸着試料に吸着させた場合より WCA 値は小さくなっており、タンパク質の吸着量は吸着表面の WCA に依存していた。これらのことから、吸着物質上にタンパク質がさらに吸着したものと考えられる。プロピルアミン塩酸塩は Ti 表面に吸着し、酪酸ナトリウムは吸着しなかったことから、タンパク質はカルボキシ基ではなくアミノ基で材料表面に吸着していることが示唆された。当日は各種物質の吸着量の WCA 依存性についても報告する。

1P-006- I

フッ化物溶液中における MDF チタンの腐食特性

¹鶴見大学歯学部有床義歯補綴学講座, ²神奈川歯科大学口腔機能修復学講座, ³豊橋技術科学大学機械工学系, ⁴鶴見大学歯学部歯科理工学講座

○鈴木銀河¹ (Suzuki Ginga), 星 憲幸², 木本克彦², 三浦博己³, 早川 徹⁴, 大久保力廣¹

【緒言】多軸鍛造（MDF）法は巨大加工ひずみ法の 1 つであり、結晶組織の超微細化により純金属の組成を変化させることなく、強度を向上させることが可能である。これまで、インプラント材料として広く利用されている純チタンに対して MDF 法を適応し、引張強さやビッカース硬さが向上したことが報告されている。本研究では、この MDF 純チタンのフッ化物溶液中における腐食特性について評価した。

【実験】直径 15 mm、厚さ 1 mm の MDF 純チタンディスク（川本重工）および一般的な純チタンディスク（フルウチ化学）を用いた。以下、単純に MDF チタンと純チタンと称す。それぞれ耐水研磨紙（#1200 まで）を用いて研磨した後、純水中およびエタノール中で超音波洗浄し、デシケーター内で 1 日間保存した。これらの試料を用いて、電気化学的測定とフッ化物溶液への浸漬実験を行った。電気化学測定の溶液には生理食塩水を用い、自然電極電位と不動態保持電流密度、不動態破壊電位を計測した。浸漬実験には 2% フッ化ナトリウム溶液とリン酸酸性フッ化ナトリウム溶液（ビーブランド・メディコーデンタル）を用い、1 日、3 日、7 日間浸漬後、SEM にて表面状態の観察を行った。

【結果と考察】不動態保持電流密度および不動態破壊電位は、MDF チタンと純チタンの間に有意差を認めなかったが、自然電極電位は MDF チタンが有意に大きかった。2% フッ化ナトリウム溶液への浸漬では、MDF チタン、純チタンどちらも SEM 像において明瞭な腐食を認めなかった。一方、リン酸酸性フッ化ナトリウム溶液への浸漬ではどちらも明らかな腐食形状が確認でき、MDF チタンの方が純チタンよりも腐食の程度が進行している像が観察できた。これは結晶粒微細化の影響と考えられる。以上の結果から、MDF チタンは生理食塩水中では純チタンよりも腐食しにくい、酸性条件下では純チタンよりもフッ素による腐食が進行しやすい可能性が示唆された。また、MDF チタンの酸環境下でのより速い腐蝕進行により、均一な表面酸処理が容易になると考えられる。

1P-007- I

マイクロアーク酸化によってチタン表面に導入した銀、銅、亜鉛、ガリウムの抗菌効果

¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科, ²東京医科歯科大学学生体材料工学研究所

○島袋将弥¹ (Shimabukuro Masaya), 堤 祐介², 山田理沙¹, 野崎浩介², 蘆田茉希², 陳 鵬², 土居 寿², 永井亜希子², 塙 隆夫²

【緒言】体内に埋入したインプラント表面でのバイオフィーム形成に起因する炎症や感染症の長期化によるインプラント体の緩みが近年になって問題視されている。バイオフィーム形成防止のためには、抗菌性を有した材料表面の創出が肝要である。本研究では、電気化学的陽極酸化処理の一つであるマイクロアーク酸化 (Micro-arc oxidation (MAO)) 処理に着目し、チタン表面への抗菌元素の導入を試みた。抗菌元素には抗菌効果の期待される銀、銅、亜鉛に加えて、多剤耐性菌 *Acinetobacter baumannii* に対しての有効性が近年報告されたガリウムを、MAO によりチタン表面にそれぞれ導入し、抗菌効果を比較検討した。

【実験】工業用純チタン (JIS2 種, 25 mmφ) を厚さ 1.5 mm に切断し、表面を #800 まで湿式研磨した試料に対して、上限電圧 400 V、処理時間 600 s、電流密度 251 Am⁻² の条件でマイクロアーク陽極酸化処理を行った。電解液の基本組成を 0.15 M 酢酸カルシウム、0.10 M グリセロリン酸カルシウムとし、これに 0~2.5 mM の硝酸銀、塩化銅、塩化亜鉛、塩化ガリウムのいずれかを添加した混合溶液を処理に用いた。MAO を施した試料を用いて SEM/EDS による表面観察と元素分析を行い、生理食塩水中での各イオンの溶出挙動を ICP-AES によって評価した。また、極表面の抗菌元素濃度を XPS により定量分析し、JIS Z 2801 に準拠して黄色ブドウ球菌および大腸菌に対する抗菌性評価を行った。

【結果と考察】SEM/EDS による表面観察と元素分析の結果から、チタン表面上での多孔質酸化物層の形成と各抗菌元素の導入が確認された。ICP-AES による溶出挙動評価では、抗菌元素によって特有の溶出挙動が確認された。XPS による極表面の定量分析では、抗菌元素によって存在量が異なり、2~13 at.% の抗菌元素が極表面で検出された。抗菌性評価の結果では、銀を導入した試料は大腸菌、黄色ブドウ球菌に対しての殺菌効果、銅、亜鉛を導入した試料は増殖抑制効果を示し、ガリウムを導入した試料では抗菌効果を示さなかった。また、抗菌元素によって抗菌メカニズムは異なり、主として銀はイオンの徐放により殺菌効果を発現し、銅は接触、亜鉛は腐食生成物との接触によって増殖抑制効果を発現した。

1P-008- I

抗菌性を備えた銀含有リン酸カルシウム微小球の合成とその特性評価

¹明治大学大学院, ²オルソリバーズ株式会社, ³名古屋工業大学

○横田倫啓¹ (Yokota Tomohiro), 本田みちよ¹, 大坂直也², 牧田昌士², 西川靖俊², 春日敏宏³, 相澤 守¹

【緒言】

骨充填材や人工関節などのインプラント材は整形外科領域において広く普及されているが、それらの使用に伴う術後感染症は重篤な合併症の一つであり、近年大きな問題となっている。本研究では、骨充填材の無機フィラーとして利用することを想定し、生体内で吸収されるリン酸三カルシウム (TCP) に銀を担持させ、それが溶解するタイミングで抗菌性を発現する「銀担持 TCP (Ag-TCP) 粉体」の合成を目的とした。Ag-TCP の合成にはマイクロメーターサイズの粒径をもつ中空球状粒子が得やすい超音波噴霧熱分解法¹⁾を適用し、今回は合成した粉体の特性を調査した。

【実験】

Ag-TCP 粉体は、超音波噴霧熱分解法を用いて合成した。噴霧熱分解に用いた出発溶液の Ag イオン濃度は、TCP に対して Ag が 1, 5, 10, 20 mol% となるよう調製した。試料の略号は出発溶液の Ag 濃度に応じて、“Ag-TCP(20)” のように表記する。得られた粉体は、粉末 X 線回折法 (XRD)、誘導結合プラズマ発光分光法 (ICP-AES)、走査型電子顕微鏡法 (SEM) により評価した。また、粉体の溶出試験は中性および酸性条件下で行ない、Ca, P および Ag を ICP により測定した。

【結果と考察】

得られた Ag-TCP 粉体は、いずれも α-TCP と β-TCP の混合相であり、Ag 濃度が高くなるにつれて、β-TCP 相の割合が増加する傾向が見られた。ICP による元素分析の結果、Ag 濃度が 10 mol% までは仕込みとほぼ同等の Ag 含有量を示したが、Ag-TCP(20) では仕込み値より低い Ag 含有量であった。また、いずれの Ag-TCP 粉体も、約 2.0 μm のメジアン粒子径をもつ球状粒子であり、Ag 添加量による違いは見られなかった。溶出試験の結果、Ca および P については、Ag 濃度による違いはなかったが、中性条件に比べて酸性条件で著しく溶出量が増加していた。このときの Ag 溶出量も中性条件と比べて増加しており、基材である TCP の溶解とともに Ag⁺ イオンが溶出されたものと考えられる。

[1] M. Aizawa, K. Itatani and I. Okada, *Phosphorus Res. Bull.*, **20**, 61-78 (2006).

1P-009- I

スパッタ製膜したチタン酸化物薄膜の結晶構造制御

¹成蹊大学大学院理工学研究科, ²成蹊大学理工学部, ³東海大学

○竹内将人¹ (Takeuchi Masato), 吉澤慶祐², 細谷和輝³, 大家 溪^{1,2,3}, 岩森 暁³, 中野武雄^{1,2}

【緒言】

チタンは優れた生体親和性をもつことからバイオマテリアルとして広く使われている。チタンは表面に細胞適合性に優れる TiO_2 をはじめとする複数の酸化物を形成して不働態化している。これまでに、皮膜中のチタン酸化物の組成比や結晶構造が、細胞応答に影響をおよぼすことが示唆されている。これらの関係性を解明することは、新規チタン製バイオマテリアルの開発につながると期待できる。そこで本研究では、反応性スパッタを用い、酸素流量を制御してチタン酸化物薄膜を作製し、作製した薄膜に対して熱処理を行った。製膜した試料および熱処理をした試料に対して、表面化学組成と結晶構造を評価した。

【実験】

DC 反応性マグネトロンスパッタを用いてシリコンないしガラス基板上にチタン酸化物薄膜を作製した。ターゲットにチタン、雰囲気ガスに Ar を使用し、流量 10 sccm 一定とした。Ar 圧力: 1.0~3.0 Pa、 O_2 流量: 0.1~2.0 sccm、電力: 100 W とした。また、製膜後、酸素雰囲気下で温度を 400~600°C とした熱処理を 1 h 施した。熱処理前後の表面化学組成を X 線光電子分光 (XPS)、結晶構造を X 線回折 (XRD) により評価した。

【結果と考察】

酸素流量を制御して反応性スパッタを行うことにより、 TiO_2 量を 71% から 94% の間で変化させることができた。600°C で熱処理を施すと、すべての試料表面はほぼ完全に酸化され、 TiO_2 量は 95% 以上となった。Ar 圧力 1.0 Pa、酸素流量 2.0 sccm の試料に対して 600°C の熱処理を行った結果、ルチル (110) ピークが確認された。Ar 圧力を上げた試料に対して 400°C の熱処理を行った結果、アナターゼ (101) ピークが確認され、600°C ではルチル (110) ピークとアナターゼ (101) ピークの共存状態が確認された。酸素流量と Ar 圧力の制御により、結晶構造の制御が可能であることが示唆された。これは、スパッタ時の薄膜の内部組成や構造が関わっていると考えられる。

1P-010- II

Development of chemically applicable blood compatible materials using MPC copolymer and poly olefin elastomer

Department of polymer Science & Engineering, Sungkyunkwan University

○Seung Kyun Yoon, Dong June Chung

【緒言】 abstract

There are few blood compatible materials in spite of many researches. One of artificial blood compatible material is MPC(2-Methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) complex. MPC acts as phospholipid in living body that can show blood compatibility. But MPC has good hydrophilicity and solubility in body fluids. MPC copolymer with hydrophobic monomer will be one solution for commercially available polymer based-blood compatible material. We select as hydrophobic monomers methacrylate-derivative monomer e.g. lauryl methacrylate. MPC copolymer with hydrophobic monomer can blend with poly ethylene or poly propylene elastomer.

【実験】 experiment part

MPC and hydrophobic monomers are polymerized with DMSO or THF/EtOH as solvent, AIBN(Azobisisobutyronitrile) as initiator. Acetone and water are used for extraction solvent, freeze drying is to remove the solvent. NMR analysis, FT-IR analysis are used to confirm the polymerization product. Obtained copolymer is blended with polyolefin and do platelet adhesion test to check the blood compatibility.

【結果と考察】 result and discussion part

MPC copolymerization with hydrophobic monomers is confirmed and synthesized copolymer is well blend with poly olefin.

Copolymer blend shows good at antiplatelet adhesion and also good blood compatibility.

MPC copolymer is good candidate for blood bag additive and blood contact polymer product.

1P-011- I

MPC ポリマーによる歯科用修復物の *in situ* 処理によるう蝕予防

¹自治医科大学歯科口腔外科学講座, ²東京大学大学院工学系研究科

○小山 潤^{1,2} (Koyama Jun), 深澤今日子², 井上祐貴², 石原一彦², 森 良之¹

【緒言】現在、う蝕治療の歯科用修復物としてコンポジットレジン(CR)が広く使用されている。しかしながら、CRの表面に *Streptococcus mutans* (*S.mutans*)などのう蝕原因菌が付着することによって二次う蝕が起こることが問題となっている。う蝕原因菌はタンパク質の吸着層が主となるデンタルプラークの中に存在するため、二次う蝕を抑制するためにはCR表面へのタンパク質吸着層の形成を抑制することが必須である。そこで、タンパク質や細胞、細菌の付着を抑制する 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine(MPC)ポリマーに着目した。本研究では、MPC ポリマーにより口腔内でCR表面を処理し、タンパク質吸着層形成および細菌付着を抑制することを目的とする。口腔内で処理するためには、歯肉、頬粘膜、舌等の口腔内軟組織に侵襲を与えないような溶媒の選択や反応条件が必要となる。そこで、歯科治療で通常用いられている光反応を用いてCR表面にMPCポリマーを結合させることにした。具体的には、側鎖に重合性基を有するMPCポリマー(PMAMA)溶液をCR表面に塗布し、光照射することで、CR表面の未反応の重合性基とMPCポリマーを化学結合させた。表面処理後のCR基板の表面特性およびタンパク質吸着、細菌付着挙動を評価した。

【実験】PMAMAを高分子反応により合成した。PMAMAのエタノール溶液をCR表面に小筆を用いて塗布した後、光照射を20秒間行った。試料の表面解析としてX線光電子分光法による表面元素分析、静的接触角測定、ムチンの吸着量測定及び*S.mutans*菌の付着試験を行った。

【結果と考察】PMAMA70をCR表面に処理した場合、CR表面の水接触角は66°から32°に低減し、親水性表面となった。また、ムチンの吸着量は8.0µg/cm²から0.54µg/cm²に大きく減少した。*S.mutans*の付着試験においても、大きな付着細菌数の減少が観察された。これらの結果から、PMAMAは20秒間の実用時間での光照射でCR表面に結合可能であり、ムチンの吸着、*S.mutans*菌の付着を有効に抑制したといえる。本技術は、歯科用修復物の二次う蝕を予防する新しい表面処理方法として期待できる。

1P-012- I

エレクトロスピンングを用いたコラーゲンゲルファイバーの創製と異方性組織への応用

¹福井大学大学院工学研究科繊維先端工学専攻, ²福井大学大学院学術研究院工学系部門繊維先端工学分野

○和久田弓加¹ (Wakuda Yuka), 末信一朗², 藤田 聡²

【緒言】細胞外マトリクス(ECM)は、コラーゲンやプロテオグリカンなどから構成されている繊維状あるいは網目状で異方性を有するハイドロゲルである。再生医療等の実現に向け、特にコラーゲンはハイドロゲル材料としておれまでよく研究されてきた。しかし、現在用いられているコラーゲンゲルは、等方的であるためECMが本来的に有する異方性のある構造を十分に反映したものではない。等方的なゲル中では、細胞が周辺の微細環境から受ける物理的なシグナルも生体ECM中の異方性のある環境とは異なり、結果として細胞の生理活性も異なるとの報告もある。そこで異方性を有したコラーゲンハイドロゲルの作製が強く望まれている。本研究では、これを実現するために、芯鞘エレクトロスピンング法を用いた。本手法によれば、化学架橋や熱架橋を施すことなく、繊維状のコラーゲンゲルを作製することができ、生体が有するECMの異方性を反映したnativeな材料を作製できると期待される。

【実験】芯鞘型のノズルを有するエレクトロスピンング装置を用いて、コラーゲン酸性溶液を芯材、繊維化しやすい水溶性高分子溶液を鞘材として紡糸することで、芯鞘構造のナノファイバーを得た。ファイバー回収時にドラム型コレクタを高速で回転させることにより、一方向に揃った異方性ナノファイバーシートを作製した。その後、37℃、塩基性バッファに浸漬させることでゲル化させ、ガイド高分子を除去することで異方性のあるコラーゲンゲルファイバーのみを得た。

【結果と考察】免疫染色および円二色性測定により、コラーゲンゲルファイバーの作製を確認し、作製ファイバー表面の鞘材高分子も完全に洗浄され、コラーゲンが変性せず異方性を保っていることを明らかにした。作製した異方性コラーゲンゲルファイバー上で血管内皮細胞を培養することで、無配向ゲルとは違い、細胞を一方向に配向させることもできた。このゲルファイバーは、加工が容易で架橋剤等の添加物を必要としないことから、人工血管等の異方性組織の作製に応用できる安全な材料として期待される。

1P-013- I

創傷被覆材への応用を目指したキトサン-高分子ミセル複合化ゲルシートの開発

東京農工大学大学院工学府応用化学専攻

○伊藤朋紀 (Ito Tomoki), 高見 拓, 村上義彦

【緒言】

近年、創傷部位を「湿潤環境」に保つことで、創傷がより速く、綺麗に治癒されることが報告され始め、ゲル状の創傷被覆材の開発が進んでいる。ゲルは水分を保持する性質に優れ、創傷部位に湿潤環境を提供することが可能である。一方、甲殻類に多く含まれるキトサンは、創傷治癒促進効果を有し、さらに抗菌剤との併用により治癒効果が向上することも報告されている。しかし、キトサンは、強固な分子間水素結合により水への溶解性が非常に低く、キトサンを素材としたゲルの開発の妨げとなっている。そこで本研究では、生体適合性が高い両親媒性ブロック共重合体が形成する自己組織化体（反応性高分子ミセル）に着目し、PEG 修飾によって溶解性を大幅に改善したキトサンと反応させることによって形成される、「薬物徐放効果と創傷治癒効果を兼ね備えた新しいハイブリッド型ゲルシート」の開発を目指した。

【実験】

酢酸緩衝液中でキトサンと片末端アセタール化 PEG を反応させて PEG 修飾キトサンを得た。TNBS 測定によりキトサン主鎖に含まれるアミノ基量を評価し、PEG 修飾率を算出した。PEG の分子量や修飾率がキトサンの水溶性に及ぼす影響を評価した。さらに、ゲルシートの歪みに対する弾性率の値を評価し、低歪領域での弾性率をゲル強度の、降伏点歪みの値を柔軟性の指標として評価した。強度および柔軟性がともに高いゲルシートを用いて、その薬物放出特性を評価した。

【結果と考察】

PEG 修飾率、分子量の増加にともない、キトサンの水溶性が向上した。これは、キトサン主鎖上に存在する PEG の量の増加にともない、キトサン主鎖同士が離れ、水素結合が抑制されたためであると考えられる。ゲルシートの力学的特性を評価した結果、分子量 10000 程度の PEG を少量修飾したキトサンが、高い強度と柔軟性を示す傾向が確認できた。これは、架橋点となるアミノ基の量と水溶性を両立できたためであると考えられる。薬物を内包した高分子ミセルを架橋点として用いることによって、ゲルシートからの放出速度を制御することができた。

1P-014- I

溶液処理を用いたポリマー表面の親水化ならびにタンパク質吸着能評価

¹名古屋大学大学院工学研究科, ²名古屋大学未来材料・システム研究所, ³東北大学大学院歯学研究科

○秋山洋輝¹ (Akiyama Hiroki), 黒田健介², 興戸正純², 金高弘恭³

【緒言】ポリエーテルエーテルケトン (PEEK) をはじめとする多くのポリマーが生体材料として利用されている。材料を体内で用いる場合には、その表面特性が骨伝導性などの生体親和性に強く影響することが知られている。著者らのこれまでの研究により、金属 Ti では、表面の水滴接触角 (WCA) が 65 deg. 程度より親水性または疎水性となるほどタンパク質吸着能が向上し、また高い骨伝導性を示すことが明らかになっている。しかし PEEK などのポリマー材料の多くは、タンパク質吸着能が低いため、生体親和性が期待できない。そこで本研究では、タンパク質吸着能の向上を目的とした各種ポリマー表面の溶液処理を用いた親水化を試み、タンパク質吸着試験により生体親和性を評価した。

【実験】ポリマー材料としてアクリロニトリル・ブタジエン・スチレン樹脂 (ABS 樹脂)、ポリアミド (PA)、ポリカーボネート (PC)、ポリエーテルエーテルケトン (PEEK)、ポリオキシメチレン (POM)、ポリプロピレン (PP)、ポリテトラフルオロエチレン (PTFE)、ポリ塩化ビニル (PVC) を用いた。親水化処理として、あらかじめ湿式研磨 (表面粗さ $Ra/\mu m < 0.1$) を施したこれらを、薬品耐性を考慮して選定した薬品に濃度、時間、温度を変化させて浸漬後、必要に応じて紫外線、大気圧プラズマを照射した。親水性評価として静的水滴接触角測定 (2 μL)、表面形態観察・構造分析として SEM, FT-IR を用いた。タンパク質吸着試験として材料表面にフィブロネクチン含有水溶液 40 μL を滴下・吸着させ、十分に洗浄後、FT-IR 分析にてペプチド結合 (1650 cm^{-1}) のスペクトルからタンパク質吸着能を評価した。

【結果と考察】ポリマーの構造によって、親水化の生じやすさが異なった。アミド結合をもつ PA では加水分解、ベンゼン環をもつ ABS 樹脂ではスルホン化を行い、親水基を付与することで、WCA 値 20 deg. 程度の親水化を達成した ($Ra/\mu m < 0.1$)。また、PP や PEEK などでは化学的安定性から溶液処理のみでの親水基の付与は困難であり、溶液処理で破壊した結合を紫外線やプラズマ処理でオゾン酸化させる二段階プロセスで、カルボキシル基を付与することができ、WCA 値 20 deg. 程度の親水化を達成した ($Ra/\mu m < 0.1$)。イオン性水溶液中で保存することでいずれの親水性表面も保持できた。当日はそれぞれのポリマー表面の親水化処理の結果とタンパク質吸着試験による生体親和性の評価についても報告する。

1P-015- II

Studies of core – shell type hyaluronic acid – chitosan particle for degradable tissue augmentation filler.

Department of polymer Science & Engineering, Sungkyunkwan University

○Seo Won Kim, Dong June Chung

【緒言】 abstract

Nowadays, hyaluronic acid (HA) is widely applied as a biocompatible filler for soft tissue augmentation. But HA shows fast degradation behavior to adjust long term durable filler material. To overcome such instability of HA after injection as filler, additional X-linker is adapted as an auxiliary material in this study. By crosslinking HA with chitosan(CS) through ionic interaction and amide bond formation, core – shell structure was able to obtain and the in vivo stability and auto sterilization are improved. In this study HA(Core) - CS(Shell) and CS(Core) - HA(Shell) structured particles were synthesized, and compared to each other through an animal experiment.

【実験】 experiment part

To form HA(Core) – CS(Shell) structure, HA was dissolved in DI water with NaOH. After removing unsolved HA, DVS(divinyl sulfone) was added to HA solution as coupling agent. Spheres of HA was first manufactured by the aluminium mold. And then HA spheroid particles were dropped into CS solution. To form CS(Core) – HA(Shell) structure, HA was dissolved in DI water, then EDC (1-ethyl-3-(3dimethylaminopropyl)carbodiimide), NHS (N-hydroxysuccinimide) were added to activate carboxylic groups, and TPP(Sodium tripolyphosphate) was added for CS crosslinking by ionic interaction.

【結果と考察】 result and discussion part

From SEM images, the core – shell structure having double layer were confirmed. EDS show increased nitrogen content in CS layer which showed the formation of twin layers composed of HA and CS.

In vivo analysis shows that HA(Core) – CS(Shell) showed late degradation rate than that of CS(Core) – HA(Shell).

1P-016- I

多糖複合フィルムが異なる細胞種へ与える影響の評価

¹ 東京理科大学大学院総合化学研究科, ² 東京理科大学薬学部

○栗城和泉¹ (Kuriki Izumi), 辻 優奈¹, 柿本敦史¹, 二ノ宮理恵², 飯島一智¹, 伊豫田拓也², 深井文雄², 橋詰峰雄¹

【緒言】

我々は熱プレス法によりコンドロイチン硫酸 (CS) などのアニオン性多糖とカチオン性のキトサン (CHI) から水に不溶な複合フィルムの作製に成功している。以前種々のフィルム上で線維芽細胞を培養し、用いるアニオン性多糖により細胞接着・増殖性が異なることを明らかにした。フィルムを構成する CS やヒアルロン酸 (HYA) などのグリコサミノグリカンには様々な認識能や生理活性を有している。本研究では CS や HYA の細胞膜受容体である CD44 を高発現するヒト肺癌基底上皮癌細胞株 A549 細胞の接着・増殖性を評価し、フィルムが異なる細胞種へ与える影響について評価した。

【実験】

アニオン性多糖溶液と CHI 溶液を混合することでポリイオンコンプレックスゲルを形成させた。このゲルを遠心分離によって回収後凍結乾燥し、120 °C で熱プレスすることでフィルムに成膜した。作製したフィルムを穴あけパンチで組織培養用ポリスチレンプレートのウェルに収まる大きさに裁断し、UV 滅菌 (254 nm, 9 W) と血清含有ダルベッコ変法イーグル培地中での膨潤後、各ウェルへ設置した。このフィルム上へ細胞を播種し、6~48 h 培養した。培養後、ヘマトキシリンによる核染色後に光学顕微鏡を用いた形態観察によって接着性評価、WST アッセイによって増殖性評価を行った。

【結果と考察】

マウス胎児皮膚由来線維芽細胞株 NIH3T3 細胞と A549 細胞の各フィルムに対する細胞接着性において両細胞間に差異はみられなかった。ヘパリン (HEP) /CHI フィルムに関しては増殖性の差異もみられなかったが、CS/CHI あるいは HYA/CHI フィルム上の A549 細胞は NIH3T3 細胞と比較して高い増殖性を示すことが示唆された。これはフィルム表面に存在する、あるいはフィルムから遊離した CS あるいは HYA と CD44 との相互作用を介した増殖シグナルの活性化に起因すると推測される。すなわちフィルムを構成するアニオン性多糖の種類に依存して、フィルム上で特定の細胞の機能を制御できる可能性が見出された。

1P-017- II

In vivo 表面再修飾を目指した光反応性リン脂質ポリマーによる生体親和性表面の創出

東京大学工学系研究科

○辻 和志 (Tsuji Kazushi), 深澤今日子, 井上祐貴, 石原一彦

【緒言】人工関節や人工心臓などの生体内埋め込み型医療デバイスには、生体親和性を付与するために機能性高分子や生体分子による表面修飾が行われる。しかし、デバイスの長期間の使用により表面特性が失われ、炎症反応などの生体応答が誘起されることが懸念される。この医療デバイスの機能回復手法には再置換手術があるものの、患者への負担は甚大である。しかし、生体内で医療デバイスの表面修復を直接行う技術が実現すれば、患者への負担を小さくすることが可能である。生体内表面修飾において他の組織を傷つけずに反応を進行可能な光エネルギーの利用が有効である。そこで本研究では、光エネルギーを用いた生体内表面修飾の実現を目指し、医療デバイスに生体親和性表面を再構築することを目的とする。具体的には 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) ユニットと光照射により炭化水素との結合を形成する光反応性基を有するモノマーユニットから構成されるポリマーを設計・合成し、これを用いた表面修飾を検討する。

【実験】 光反応性モノマー 4-methacryloyl oligo(ethylene glycol) oxycarbonyl-4-phenylazide (MOEPAz) を合成し、MOEPAz unit を 8 mol% 含む poly(MPC-*co*-MOEPAz) (PMEPAz) を合成した。水溶液中での表面修飾におけるポリマーの挙動の表面修飾における重要性を評価するため、ポリマー水溶液の表面張力およびポリマーの吸着量測定を行なった。その後、PMEPAz 水溶液中で光を照射することで基材の表面修飾を行い、ポリマー修飾層の膜厚を測定した。修飾表面の生体親和性を、タンパク質吸着量測定を行うことで評価した。

【結果と考察】 PMEPAz 水溶液の表面張力測定の結果、 $\text{Log}[\text{Polymer}] \text{ (mg/mL)} = -3$ 程度からポリマーは会合体を形成し始め、0 以上では安定な会合体を形成していることが示された。また、基材に対するポリマー吸着量は濃度の増加に従い、増加するのではなく、 $\text{Log}[\text{Polymer}] \text{ (mg/mL)} = -1$ で極大値を示した。光照射後の表面修飾層の膜厚測定においても同様の傾向が見られた。この結果より、表面修飾において会合体の状態が不安定であることが、表面吸着と光反応において重要であることが示された。この条件で表面修飾を行った表面は、未処理に対してタンパク質吸着量を 1/8 以下に抑制した。本研究は戦略的イノベーション創出推進プログラム(AMED)によった。

1P-018- I

水溶液中で安定にパクリタキセルを保持するための水溶性・両親媒性ブロック型 MPC ポリマー

東京大学大学院工学系研究科

○牟 鳴薇 (Mu Mingwei), 金野智浩, 石原一彦

【緒言】パクリタキセル (PTX) は、肺ガンなどの治療に利用されており、有効な抗腫瘍剤であるが、使用にあたって水溶性が低い (0.3mg/L 未満) ことが問題となっている。患者に投与する際には、界面活性剤などの可溶化剤による乳化製剤とされている。しかしながら、使用する可溶化剤の副作用が強いために、投与治療する前に、ステロイドなどによる抗炎症処置が必要となっている。ここでは、構造明確な水溶性で両親媒性 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)ポリマーを利用し、PTX の可溶化を行い、ポリマー構造が特性に与える効果について検討した。

【実験】リビングラジカル重合を利用して MPC および n-ブチルメタクリレート (BMA) からなる水溶性・両親媒性ポリマー(PMB)を設計、合成した。ここでは、4 種類の PMB をランダム型およびジブロック型で調製し、疎水性の BMA ユニット組成 (モル比で 40% および 20% BMA) を変化させた。ポリマー水溶液を調製し、溶存状態を解析した。この水溶液に PTX を可溶化し、血清タンパク質への移行をゲル透過クロマトグラフィーにより解析した。

【結果と考察】 全ての合成された両親媒性ポリマーは水溶性であった。ランダム型 PMB を水に溶解すると、1mg/mL の濃度以上で水溶液の表面張力が低下し、ポリマー会合体が形成されることが認められた。一方で、ジブロック型 PMB では表面張力の低下は認められなかった。しかしながら、疎水性蛍光色素を用いた極性測定では、水中に疎水性領域が形成されていることがわかった。これより、ジブロック型 PMB は安定なコア-シェル型ミセル構造を取ると考えられる。PTX はいずれの PMB も、PTX の溶解度を劇的に向上させることがわかった。血清タンパク質(BSA)への PTX の移行を追跡した結果、40%BMA ユニットを含むジブロック型 PMB は、安定に PTX を保持できることが明らかとなった。

【参考文献】 Mingwei Mu, Tomohiro Konno, Yuuki Inoue, and Kazuhiko Ishihara. Colloids Surf. B: Biointerfaces, 2017, 158: 249-256. DOI: doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.06.040

1P-019- I

新規生体素材の開発を指向したシクロデキストリンポリカテナンの one-pot 合成

¹熊本大学大学院生命科学研究部, ²National University of Singapore, ³東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ⁴熊本大学リーディング大学院 HIGO プログラム

○森田健太郎 ¹ (Morita Kentaro), 東 大志 ^{1,2}, Xia Song², Jingling Zhu², Jun Li², 田村篤志³, 由井伸彦³, 本山敬一¹, 有馬英俊^{1,4}

【緒言】

近年、分子マシンや生体素材の基盤分子として、ポリロタキサンやポリカテナンが注目されている。特に、環状オリゴ糖であるシクロデキストリン (CyD) は、汎用性や生体適合性に優れるため、CyD ポリロタキサンの生体素材への応用研究が精力的に行われている。しかし、CyD ポリカテナンの合成・単離に成功した報告例は皆無である。ここで、CyD ポリカテナンを簡便に合成・単離することができれば、エンドキャップフリーの新たな生体素材として有効利用が期待できる。そこで本研究では、 β -CyD を用いて、ポリカテナンの one-pot 合成ならびに単離を行った。

【実験】

軸分子としてポリエチレングリコール-ポリプロピレングリコール-ポリエチレングリコール共重合体 (PEG-PPG-PEG) を、環状分子として PPG 鎖と選択的にポリ擬ロタキサンを形成する β -CyD を選択した。まず、PEG-PPG-PEG の両末端をチオール化し、 β -CyD とポリ擬ロタキサンを形成させた。その懸濁液に H_2O_2 を添加し、ジスルフィド結合を形成させ、ポリ擬ロタキサンを環化させた。粗生成物を DMSO に溶解し、未反応のポリ擬ロタキサンを解離させた後、水およびアセトンで洗浄することにより、ポリカテナンを単離した。

【結果と考察】

得られたポリカテナンのゲル浸透クロマトグラフィーを測定した結果、1 本、2 本あるいは複数本のポリ擬ロタキサンが環化したポリカテナンの調製が示唆された。また、¹H-NMR の結果より、約 14 個の β -CyD が 1 本の PEG-PPG-PEG を包接していることが示唆された。以上の結果より、 β -CyD を含有するポリカテナンの one-pot 合成および単離に成功した。本知見は、新たな生体素材を開発する際の有益な基礎資料になり得る。

1P-020- I

ムチンとボロン酸含有合成高分子とのハイブリッドに基づいた糖刺激応答性ゲルの開発

大阪大学大学院基礎工学研究科

谷野雄哉 (Tanino Yuuya), 中畑雅樹, 境 慎司, 田谷正仁

【緒言】生体高分子と合成高分子のハイブリッド化により、所望の特性を付加しつつも生体適合性を保持した材料の創製が可能である。生体高分子の一種であるムチンは、胃液などに含まれる上皮の保護膜の主成分である。これまでに、ムチンを他の物質と物理的に混合することによって、ムチンの特性を付加した材料の開発が行われてきた。本研究では、ムチンを化学的に組み込んだハイブリッドゲル材料の開発を目指した。また、合成高分子にはボロン酸修飾ポリマーを使用した。ボロン酸はジオール化合物と結合し、ジエーテル化合物を形成することが知られている。この知見に倣い、ボロン酸とムチンに含まれる糖鎖のジオールの架橋によるゲルの合成を行った。また、ムチンの糖鎖とボロン酸の架橋が外部から注入する糖(フルクトースなど)によって解離するかどうかを検証することで、得られたゲルの機能を評価した。

【実験】NaOH aq. によって中和し可溶化したムチン水溶液を溶媒として、ボロン酸モノマーとビニルモノマーとの共重合によりムチンを骨格に組み込んだゲルの形成を試みた。この際、NaOH 濃度、ムチン濃度、ボロン酸モノマーおよびビニルモノマーの種類、ビニルポリマー重合時のモノマー濃度、ボロン酸モノマーの比率、モノマーと重合開始剤との比率をパラメーターとして、最適化を行った。最適化によって合成した材料の粘弾性測定によりゲルであることの確認を行い、さらに、ゲルをフルクトース溶液 (in PBS) もしくは PBS に浸漬し、ゲルの糖刺激に応答した分解性の評価を行った。

【結果と考察】最適化の結果、NaOH 濃度を 0.05 M、ムチン濃度を 1 w/v%、ボロン酸モノマーを (3-acrylamidophenyl)boronic acid (APBA)、ビニルモノマーを *N,N*-dimethylacrylamide (DMA)、ビニルポリマー重合時の総モノマー濃度を 0.7–0.9 mol/kg とすることにより、ゲル状物質の合成に成功した。このゲル化は粘弾性測定 (周波数分散) において、測定周波数範囲で $G' > G''$ を示したことから確認された。さらに、作製したゲルをフルクトース溶液 (in PBS) もしくは PBS に浸漬したところ、フルクトース溶液 (in PBS) 中の方が PBS 溶液よりも膨潤が速く進んでおり、糖-ボロン酸結合による架橋ゲルの合成とゲルの糖応答性が確認できた。これにより、ムチンを化学的に組み込んだハイブリッドゲルに基づいた糖刺激に応答するゲルの開発に成功した。

1P-021- I

折り畳み様形状回復を発現する生分解性形状記憶ポリマー材料の作製

¹ 関西大学化学生命工学部, ² 関西大学 ORDIST, ³ 関西大学医工薬連携研究センター
○川岸弘毅¹ (Kawagishi Koki), 能崎優太², 葛谷明紀^{1,3}, 大矢裕一^{1,3}

【緒言】近年、形状を変形・固定させた後、温度変化に応答して元の形状へ回復する生分解性温度応答性形状記憶ポリマーの研究が行われており、医療材料への応用も期待されている。形状記憶特性の発現には、高分子鎖に元の形状(永久形状)を記憶するための架橋点と、一時的な形状(一次記憶)へ固定する可逆的な固定相(結晶相)が必要であり、その結晶相が温度上昇に伴い融解することで、一時的な形状から元の形状へ回復する。しかし、従来の形状記憶ポリマー作製方法では、作製できる形状に制約がある。小さく折り畳んだ状態から広がる方向への形状回復は容易であるが、その逆の広がった状態から折り畳まれた状態への形状変化は困難である。これは、折り畳まれた状態の鋳型を作成することが難しいことが主要因である。我々はこれまでに、鋭敏な温度応答性を示す生分解性形状記憶ポリマーとして分岐型ポリカプロラクトン(Branched PCL: br-PCL)架橋体を開発した¹⁾。今回、我々は架橋前の溶融ポリマーを平面支持層全体の両側に塗布して、目的の形状へ折り畳んだ後に架橋することで、鋳型を用いることなく、複雑な形状を永久記憶とした形状記憶材料の開発に成功した。この手法を用いれば、折り紙細工のように複数回折り畳んだ複雑な形状へと段階的に回復する材料を作成できると期待できる。本発表では、br-PCL フィルムを折り畳むことによって作成した形状記憶材料の形状回復能について検討した結果を報告する。

【実験・結果・考察】平均8個の水酸基を有する polyglycerine の水酸基を開始点とした ϵ -caprolactone (CL) のバルク開環重合により、1本あたりの重合度(DP)=19、26の br-PCL を合成した。得られた br-PCL を加熱溶融し、Hexamethylene diisocyanate (HMDI) と混合後、架橋反応させることにより、br-PCL フィルム(支持層)を作製した。そして、DP=19、26の br-PCL を支持層の異なる折り目部分に対して形状回復層として幅約2 cm で塗布し、4つ折りにしてから架橋反応を行うことで、3層構造を有する形状記憶フィルムを得た。DP=26の br-PCL は、DP=19の br-PCL と比較して約10 °C 形状回復温度が高いことを利用して、折り目ごとに異なるポリマーを塗布して折り畳み順序を制御した。その結果、温度上昇に伴って意図した通りの順序で、段階的に2回折り畳まれた構造の元の形状に回復する形状記憶フィルムを作製できた。

【参考文献】1) K. Nagahama, Y. Ohya *et al.*, *Biomacromolecules*, **2009**, *10*, 1789–1794.

1P-022- I

メトキシ基を有するメタクリレート系ポリマーの血小板適合性について

東海大学大学院工学研究科医用生体工学専攻
○小野 大 (Ono Dai), 望月 明

【緒言】

我々はこれまで、血液適合性に優れる poly(2-methoxyethyl acrylate): PMEA について、熱分析に基づくポリマー中の水の構造の観点から研究を進め、-40°C付近で低温結晶化する特異な水(中間水:適度な分子運動性を有する)が血液適合性発現に関わると考えるに至った。中間水は、PMEA の側鎖末端にある、分子運動性の高いメトキシ基(エーテル基)の部分で形成されることが知られている。そこで今回、末端及び側鎖エステル部が同一の構造で、かつメトキシ基を有するメタクリレート系ポリマーを合成し、そのメトキシ基の運動性と血小板適合性の関係について検討したので報告する。

【実験】

- 1) ポリマー合成: 原子移動ラジカル重合法にて $M_n = 5000 \sim 7000$ のメタクリレート系ポリマーを合成した。
- 2) 接触角測定: 各ポリマーにおいて液滴法及び水中気泡法より表面接触角を測定した。
- 3) 血小板刺激性評価: 各ポリマー表面と血小板とを接触させ、走査型電子顕微鏡にて血小板粘着数を定量した。
- 4) 運動性評価: NMR を用い、ポリマー側鎖(メトキシ基) ^{13}C - T_1 緩和時間、及び重水を含むさせた各ポリマーにおける重水の ^2H - T_1 緩和時間を求め、これを運動性の指標とした。

【結果と考察】

メトキシ基を有する末端及び側鎖が直鎖構造又は分岐鎖構造となるメタクリレート系ポリマーを6種類合成し、実験を行った。側鎖が直鎖型のポリマーでは鎖長が長くなるにつれ、接触角は疎水性の傾向を示し、メトキシ基 ^{13}C の運動性は小さくなることがわかった。側鎖分岐型のポリマーでは分岐鎖が嵩高くなるにつれ、接触角は疎水性の傾向を示し、メトキシ基 ^{13}C の運動性は小さくなることがわかった。また、メトキシ基の運動性が大きくなると血小板粘着数が減少し、血小板適合性が良くなることが示唆された。含水ポリマーにおいては、適合性の良いポリマーで適度に束縛された水が観測され、この水が適合性発現に関与することが示唆された。

1P-023- I

三分岐型オリゴ(エチレングリコール)からなる温度変化により物質を濃縮可能な材料の設計

¹東京理科大学大学院基礎工学研究科, ²大阪大学大学院工学研究科

○茅野英成¹ (Kayano Hidenari), 麻生隆彬², 石原 量¹, 菊池明彦¹

【緒言】ポリ(エチレングリコール)(PEG)誘導体は温度応答性を有することが知られている。下限臨界溶液温度 (LCST) 型温度応答性を有するポリマーから形成されるコアセルベート液滴は水中で LCST 以上に加熱すると形成する。また、LCST は疎水性部位と親水性部位の比により制御可能なため直鎖 PEG では疎水性部位の導入が必要となる。そこで、三分岐型オリゴ(エチレングリコール) (trisOEG)に注目した。trisOEG は末端数が多く疎水性部位の導入量を制御可能であり、LCST 制御の点で優位である。また、誘導体形成の際にジスルフィド結合を導入することで、還元環境下での分解が期待できる。本研究は温度変化で物質の濃縮が可能な高分子の調製を目的に、trisOEG からなる温度/還元環境応答性高分子の調製を行った。

【実験】TrisOEG-*p*-nitrophenyl carbonate エタノール溶液と、シスタミン (CA)、触媒の *N,N*-dimethyl-4-aminopyridine を加えた 3 mmol L⁻¹ NaHCO₃ 水溶液を 72 h 攪拌し、CA で結合された trisOEG (trisOEG_x: *x* は CA 導入率)を調製した。次に、10 °C で trisOEG_x 溶液に疎水性低分子の Rhodamine B (RB) 0.1 wt%を溶解させ、LCST 以上で静置(70 °C, 7 days)した後に、上澄み溶液の蛍光強度を測定した。さらに、10 mmol L⁻¹ Dithiothreitol PBS 溶液中での trisOEG_x の分解試験を行った。直鎖構造の linear OEG からなるポリマー (LOEG_x)を同様に調製し、比較対象とした。

【結果と考察】調製した trisOEG₇₂ ($M_n = 7.6 \times 10^3$) 溶液は温度上昇に伴いコアセルベート液滴を形成し、冷却すると透明化したことから、LCST 型の温度応答性を有することがわかった。また、RB は LOEG₉₁ ($M_n = 7.1 \times 10^3$) ではポリマー相への濃縮がされなかったのに対し、trisOEG₇₂ は水相と比較して 320 倍濃縮されることがわかった。これは、trisOEG は分岐構造による水和半径の拡大により水溶性が増加し、水和した状態で温度応答性を示したためコアセルベート液滴を形成したのに対し、LOEG は温度上昇に伴い凝集体を形成したためと考えられる。一方、trisOEG₇₂ の Dithiothreitol での分解試験を行った後は温度応答性を示さず、還元環境下において水溶性分子となることがわかった。以上から、調製した trisOEG_x は LOEG_x では見られない生体内温度付近に LCST をもち、さらに物質を濃縮し、還元環境下において分解可能な材料である。

1P-024- II

脂質とタンパク質からなる生体ナノ粒子のワンステップ再構成法

¹富山県立大学工学部, ²富山県立大学大学院工学研究科, ³金沢大学新学術創成研究機構, ⁴京都大学物質-細胞統合システム拠点

○齊藤実央¹ (Saito Mio), 福田亮介², 角野 歩³, 村上達也^{1,2,4}

【緒言】高比重リポタンパク質 (High-density lipoprotein, HDL) は、ディスク状リン脂質二重膜の側面に脂質結合タンパク質 apoA-I が吸着した生体ナノ粒子である。HDL は試験管内で再構成することができ、その代表的な方法はコール酸透析法と呼ばれる。我々は、遺伝子改変・薬物内包された HDL が、がん (1)・後眼部疾患治療のためのナノ粒子製剤として機能することを明らかにしている。一方で、コール酸透析法では脂質膜とコール酸水溶液からの脂質ミセルの形成、脂質ミセルと apoA-I 水溶液との脂質膜相転移温度での混合・静置、コール酸除去のための長時間の透析など、多段階の繊細な操作を必要とする。今回我々は、意外な方法で HDL を再構成できることを見いだしたので報告する。

【実験】リン脂質 (1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, DMPC) のエタノール溶液と apoA-I の PBS 溶液 (尿素含む) をマイクロチューブに入れ、すぐにボルテックス混合した。得られた混合液をサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) で精製し、HDL に相当する画分を電気泳動、動的光散乱法 (DLS)、原子間力顕微鏡 (AFM) により分析した。

【結果と考察】脂質：タンパク質モル比 200 対 1 でボルテックス混合した溶液を SEC 分析すると、コール酸透析法で作製された HDL と同じ保持時間にピークが出現した。この HDL 相当画分を DLS と液中 AFM で分析したところ、平均粒子径は 8-9 nm、粒子高さは約 5 nm となった。タンパク質と脂質の組成モル比は 1 対 96 となり、これらの値はすべてコール酸透析法で得られる HDL の値と同等であった。脂質：タンパク質混合モル比を種々検討した結果、200 対 1 の時に HDL 画分のピーク面積が最大になった。またこのピーク出現にボルテックス混合は必須であり、その時間は 10 秒で十分であることもわかった。以上の結果から、わずか 10 秒のボルテックスという極めて迅速・単純な方法で、HDL を再構成できることが明らかになった。現在、様々な脂質、apoA-I 変異体および疎水性薬物を用いて本手法の汎用性を検討中である。

(1) Murakami, T. et al. *Nanomedicine (London, U. K.)* **2010**, *5*, 867.

1P-025- II

アフィニティーリガンド含有感温性ポリマーブラシ表面とタンパク質の相互作用

東京理科大学大学院基礎工学研究科

○上原功己 (Uehara Koki), 石原 量, 菊池明彦

【緒言】 固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィー (IMAC)は、標的タンパク質の分離・精製法として有用と考えられるものの、IMAC における煩雑なタンパク質脱着プロセスと標的タンパク質変性の可能性が問題とされている。そこで本研究では、簡便なタンパク質脱着プロセスの検討として、IMAC リガンドとなるニトリロトリ酢酸 (NTA)を側鎖に有するポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAAm)ブラシ表面を構築し、PNIPAAm の感温性を用いて、リガンド-タンパク質間の特異的相互作用を温度により制御してきた。しかし、PNIPAAm の感温性がリガンド-タンパク質間の特異的相互作用へ与える影響の解明は未だ不十分である。そこで本研究では、PNIPAAm ブラシに導入されたりガンド-タンパク質間の特異的相互作用変化を明らかにすることを目的に、研究を行った。

【実験】 ガラス基板上に(PNIPAAm- α -NTA) (PIN)ブラシを表面開始原子移動ラジカル重合により修飾し、原子間力顕微鏡(AFM)を用いて表面形状を観察した。調製した PIN ブラシ表面に吸着したタンパク質の蛍光観察と AFM によるフォースカーブ測定により、温度及びリガンド導入位置がリガンド-タンパク質間の特異的相互作用に与える影響を解析した。

【結果と考察】 AFM を用いて調製した PIN ブラシ表面の形状を観察し、調製した PIN ブラシ表面が均一であることを確認した。また、タンパク質修飾カンチレバーを用いた AFM によるフォースカーブ測定を行ったところ、表面とタンパク質修飾カンチレバーとの間に強い引力が観察されたことから、調製した PIN ブラシ表面はタンパク質と特異的に相互作用することを定量的に確認した。また、リガンドをランダムに導入した PIN ブラシ表面では両温度で吸着した FITC-BSA の蛍光強度差が生じなかったのに対し、リガンド導入位置を基材近傍のみに制御した PIN ブラシ表面では 4 °C における FITC-BSA の吸着が 37 °C における吸着よりも抑制された。これは、4 °C で水和伸長した PIN 鎖の排除体積効果により FITC-BSA の吸着を抑制したためと考えられる。以上より、本研究で調製した PIN ブラシ表面は温度変化のみでリガンド-タンパク質間の特異的相互作用を制御できることが示唆され、新規タンパク質脱着プロセスへの応用が期待できる。

1P-026- I

PEG グラフト鎖を有する polyallylamine による二酸化チタン基板への表面修飾

大阪府立大学大学院工学研究科

○戸田 樹 (Toda Tatsuki), 青野圭剛, 弓場英司, 遠藤達郎, 原田敦史

【緒言】 生体材料の開発において、細胞や細菌、生体高分子が吸着すると、体内の異物反応や医療器具の故障のような重大な被害を引き起こすことから、材料表面の吸着を抑えることが重要である。非特異的な吸着を抑制する方法として、柔軟な水溶性高分子鎖であるポリエチレングリコール (PEG) の排除体積効果を利用したポリマーブラシ層や、双性イオン型ポリマーコーティングすることによる材料表面への水和構造の付与が、医療材料で実用化されている。一方、屈折率の高い二酸化チタン (TiO₂) 結晶はセンシング材に有用であるが、TiO₂ 表面のタンパク質の非特異的な吸着による感度の減少が課題となっている。我々は、ポリアリルアミン (PAA) に、生体適合性の高いポリエチレングリコール (PEG) をグラフト化した PAA-g-PEG と、TiO₂ ナノ粒子を静電相互作用により複合化させたポリイオンコンプレックス (PIC) ミセルについて研究を行ってきた。この PIC ミセルの特性として、PAA 主鎖が多価アニオンを効果的に濃縮できる対イオン濃縮効果を示すことを確認されている (Langmuir 31, 8583-8588 (2015))。PAA-g-PEG による TiO₂ 基板の表面修飾により、PAA-g-PEG アミノ基の対イオン濃縮効果による静電遮蔽及び抗体等のセンシング分子の固定化、PEG グラフト鎖による非特異的な吸着抑制を示す界面の構築について検討を行った。

【実験】 Methoxy-PEG-OH (平均分子量 2000) を 4-nitrophenyl chloroformate と反応させることで片末端を活性エステル化した後、PAA 側鎖のアミノ基と反応させることで、異なる PEG 導入率 (18, 20, 30, 40, 52 mol%) の PAA-g-PEG を合成した。液相析出法によって、TiO₂ 基板を作製し、原子間力顕微鏡 (AFM) 観察により基板表面の観察を行った。ローダミン B で蛍光標識した PAA-g-PEG を用いた蛍光測定 (Ex = 555 nm, Em = 580 nm) により TiO₂ 基板への PAA-g-PEG の修飾を評価した。

【結果と考察】 液相析出法で作製した TiO₂ 基板の表面を AFM により観察した結果、TiO₂ 層とガラス基板の境界が観察され、TiO₂ 層の厚さ (84nm) が確認された。蛍光標識した PAA-g-PEG 溶液に TiO₂ 基板を浸し、蛍光顕微鏡を用いて基板表面を観察したところ、ローダミン B 由来の赤色蛍光が均一に分布していることが観察された。さらに浸漬前後の蛍光強度差により、静電相互作用により PAA-g-PEG が TiO₂ 基板に修飾されていることが確認された。

1P-027- I

非球状会合体を形成する両親媒性ブロック共重合体が及ぼすスフェロイド培養への影響

¹山形大学工学部, ²山形大学大学院有機材料システム研究科, ³山形大学大学院理工学研究科, ⁴山形大学有機材料フロンティアセンター (FROM), ⁵九州大学先端物質化学研究所

○藤村 望¹ (Fujimura Nozomi), 大治雅史², 松崎広大³, 土屋 遥⁴, 田中 賢^{4,5}, 福島和樹^{1,2,4}

【緒言】 組織再生医療の実現や普及には、細胞を低コストで大量培養する技術が必要である。スフェロイド培養はボトムアップ的の三次元組織の構築法として期待されている。一方で近年、培養基板のトポロジーが細胞の増殖・伸展に作用する例や、ロッド状の高分子ミセルが血中循環時間や細胞取り込みに対する優位性を示す例などが報告されており、高アスペクト比のナノ構造を利用したバイオマテリアルへの関心が高まっている。我々はこれまでに水中で非球状の会合形態を示す両親媒性ブロック共重合体を合成し、疎水ブロックの結晶性によってアスペクト比が調節できることを見出している。本研究ではそれらのポリマー会合体の形状異方性がスフェロイド形成過程に与える影響について調べた。

【実験】 ω -methoxypoly(ethylene glycol) (MeO-PEG-OH_{5k})に N-(4-(ureidomethyl)benzyl)benzamide (4UMBA)構造を導入したマクロ開始剤 PEG_{5k}-4UMBA-OH を用いて、L-lactide (LLA)、 ϵ -caprolactone (CL)、trimethylene carbonate (TMC)をそれぞれ重合し、ブロック共重合体を得た。その後、透析によって会合体の水分散液を作製し、住友ベークライト社製 PrimeSurface®(U 底)内で細胞培養培地(α -MEM+10%FBS)と混合後 (ポリマー濃度 0.05 wt%)、ヒト皮膚線維芽細胞 (NHDF)を播種し 5%CO₂、37 °C のインキュベーター内で培養し、位相差顕微鏡を用いて細胞の集合形態の観察を行った。

【結果】 ポリマー無添加系では一貫して等方的な細胞凝集が観察され、培養 12 時間でスフェロイドが形成された。一方、ブロック共重合体の会合体を添加した培地内では、培養 2 時間後から、細胞凝集の粗密勾配が見られ、異方的な凝集形態が観察された。その後、徐々に細胞塊の異方性は減少していったが、細胞の粗密が解消された培養 12 時間後においても細胞塊の形態に異方性は残っていた。発表では、細胞凝集過程と最終的な細胞塊の形状に対する会合体のアスペクト比との相関についての詳細も議論する。

1P-028- I

骨再生のための生分解性コアセルベート液滴を用いたピッカリングエマルションの調製

¹東京理科大学大学院基礎工学研究科, ²大阪大学大学院工学研究科

○池戸佑衣¹ (Ikedo Yui), 小松周平¹, 麻生隆彬², 石原 量¹, 菊池明彦¹

【緒言】 骨粗鬆症は、海綿骨の骨密度の低下により、大腿骨や椎体の骨折を引き起こす。現在、ヒドロキシアパタイト焼結体などの無機材料を用いた骨欠損修復及び骨再生のための人工骨による治療が行われている。しかし、高骨転換、非侵襲的な治療方法が必要となる。そこで我々は、生体適合性を持ち、骨成分である炭酸カルシウム (CaCO₃)を用いた、有機-無機ハイブリット粒子に注目した。当研究室では、2-methylene-1,3-dioxepane (MDO)と、2-hydroxyethyl acrylate (HEA)の共重合により、コアセルベート液滴を形成する生分解性温度応答性高分子を合成してきた。このコアセルベート液滴表面に CaCO₃ の固体微粒子を付着させ結晶成長を行うことで CaCO₃ をシェルにコアセルベート液滴をコアに持つコア-シェル粒子を調製可能であると考えられる。そこで、本研究では骨再生をめざした海綿骨類似構造を持つ有機-無機ハイブリット粒子の調製を目的とした。

【実験】 合成した P(MDO-*co*-HEA)水溶液 1.0 mL に、CaCO₃ 20 mg、1.0 mol/L CaCl₂ 1.0 mL、Rhodamine B 1 mg/L を加え、30°C、2.5 h 攪拌し、ピッカリングエマルションを調製した。次に、30°C で CO₂ 雰囲気下において調製したピッカリングエマルションを 4 日間静置させ液滴表面に付着した CaCO₃ を結晶成長させた。

【結果と考察】 P(MDO-*co*-HEA)コアセルベート液滴に CaCO₃ を付着させ顕微鏡観察すると、液滴同士は互いに融着せず、安定に存在した。これは、コアセルベート液滴表面に CaCO₃ が付着し、CaCO₃ が物理的なシェルの役割をしたことで、液滴同士の融着を防いだためと考えられた。Rhodamine B を加え蛍光観察すると、ピッカリングエマルション内に強い蛍光を観察したことから、疎水性低分子の内包が可能であった。次に、ピッカリングエマルション表面の CaCO₃ を結晶成長させると、平均粒径 $24.6 \pm 4.5 \mu\text{m}$ ($n = 10$) の粒子が観察された。この粒子は LCST 以下の温度においても安定に存在した。付着した CaCO₃ の周りに新たな CaCO₃ が結晶成長することで、コアが P(MDO-*co*-HEA)、シェルが CaCO₃ の有機-無機ハイブリット粒子が作製できたと考えられる。以上より、本研究により調製した粒子は、新規の手法を用いた骨再生の材料としての応用が期待できる。

1P-029- I

カチオン性くし型共重合体／ペプチドナノ複合体による脂質膜形態の時限応答制御

東京工業大学生命理工学院

○落合拓郎 (Ochiai Takuro), 嶋田直彦, 丸山 厚

【緒言】

我々は、膜融合 E5 ペプチドとポリアリルアミン-*graft*-デキストラン(PAA-g-Dex)による複合体を中性条件下で脂質小胞に作用させると、脂質シートへと構造変換後、時間経過とともに小胞へ再復帰することを見出してきた。E5/PAA-g-Dex 複合体がむき出しになった脂質シートの疎水部を覆い、PAA-g-Dex の親水性側鎖であるデキストランが界面を安定化することで形成されると考えられている。そこで本研究では、デキストランのグラフト率に注目し、様々なグラフト率を有する PAA-g-Dex を合成することで E5 との複合体が脂質二重膜にどのように作用するか評価した。その結果、グラフト率をコントロールすることで脂質膜形態の時限応答制御が可能であることが明らかになった。

【実験】

グラフト率の異なる PAA-g-Dex を作製した。蛍光標識したリポソームの懸濁液 (組成比 0.2 mol% Rhodamine labeled-DOPE, 0.2 mol% PEG2k-DSPE, 99.6% DOPC) に様々な濃度の E5 と各 PAA-g-Dex (600 μ M) を混合後、カバーガラスに乗せ共焦点顕微鏡で観察した。脂質シートを形成した E5/PAA-g-Dex 複合体においては、37 $^{\circ}$ C における経時的観察を行った。各条件で 10 視野撮影し、脂質膜全体に対する脂質シートの割合をカウントした。

【結果と考察】

グラフト率の異なる PAA-g-Dex (PDx: x はデキストランのグラフト率(mol%))のうち PD8、PD10、PD13 は E5 とともに脂質小胞を脂質シートへと展開した。効果的なベシクル-シート転移には、適切なグラフト率が必要であることがわかった。脂質シートの経時的な安定性を評価したところ、面白いことに PD8 では約 30 分、PD10 では約 60 分でそれぞれ小胞に復帰するのに対し、PD13 ではシート構造を約 2 時間保持した後、速やかに小胞に復帰することがわかった。PAA-g-Dex の親水性側鎖が脂質シートの安定性に寄与することが示唆された。これらを利用すると、PAA-g-Dex のグラフト率により脂質シートから小胞の復帰時間をプログラムでき、自律応答的な脂質膜の構造制御ができると期待される。

1P-030- I

がん選択的に相互作用するグルタミン担持高分子の創製と機能評価

東京工業大学科学技術創成研究院化学生命科学研究所

○山田直生 (Yamada Naoki), 本田雄士, 武元宏泰, 野本貴大, 松井 誠, 友田敬士郎, 西山伸宏

【緒言】がん細胞は亢進したグルタミン代謝を維持するため ASCT2 に代表されるグルタミントランスポーターを過剰発現し、グルタミンを正常細胞に比べ多量に取り込んでいる。したがって、グルタミンはがんへの薬物送達などにおいて利用される標的指向性分子(リガンド分子)として大きな可能性を秘めていると考えられるものの、グルタミンとトランスポーターとの結合力は既存のリガンド分子に比べ非常に弱いため、グルタミン単体のままではリガンド分子として利用しにくい。そこで本研究では多価結合によるトランスポーター密度選択的な結合力の強化に着目し、がん細胞と選択的かつ強固に相互作用するグルタミン担持高分子の創成と機能評価を行った。

【実験】アミノ酸無水物の開環重合により重合度の異なるポリリシンを重合し、縮合反応と脱保護反応によりこれらポリリシン側鎖にグルタミン構造を導入した後、蛍光色素を高分子末端に導入した。合成したグルタミン担持高分子とヒト膵臓がん由来細胞の BxPC3 細胞(グルタミントランスポーター過剰発現)およびヒト腎由来細胞の HEK293 細胞(グルタミントランスポーター低発現)との相互作用をフローサイトメトリーにより評価した。

【結果と考察】 ^1H NMR および GPC による分析から、全ての合成した高分子において定量的な側鎖修飾($\sim 100\%$)と単分散な分子量分布($M_w/M_n < 1.2$)を確認した。フローサイトメトリーによる細胞内取り込みの評価では、重合度 100 のグルタミン担持高分子は重合度 50 および 30 のものに比べそれぞれ約 10 倍、18 倍の取り込みを示した。この細胞内取り込みの向上はグルタミン担持高分子側鎖のグルタミン構造と BxPC3 細胞表面のグルタミントランスポーターとの多価結合によるものと推察される。実際にグルタミントランスポーターの阻害剤は重合度 100 のグルタミン担持高分子の細胞内取り込みを有意に阻害した。続いて BxPC3 細胞および HEK293 細胞における重合度 100 のグルタミン担持高分子の取り込み挙動を経時的に評価したところ、BxPC3 細胞での細胞内取り込みは HEK293 細胞と比べ非常に速く、8 時間インキュベーション後における取り込み量は約 5 倍多かった。このことから重合度 100 のグルタミン担持高分子はグルタミントランスポーターを過剰発現するがん細胞と選択的に相互作用することが示唆された。

1P-031-I

アゾベンゼンを有する UCST 型ウレイド高分子の合成と相転移の光制御評価

東京工業大学生命理工学院

○池内 尚 (Ikeuchi Nao), 嶋田直彦, 丸山 厚

【緒言】

我々は、ウレイド基を有する高分子が生理的条件下、体温付近においてコアセルベート滴形成を伴う上限臨界溶液温度 (UCST) 型の温度応答性を示すことを見出した。また、相分離を利用したタンパク質分離や細胞培養形態制御の基材としてのバイオマテリアル応用を行ってきた。本研究では非侵襲的な光刺激によるウレイド高分子の相転移制御を目的とした。光官能基であるアゾベンゼンを導入したウレイド高分子を合成し、光応答性について報告する。

【実験】

ポリビニルアミン ($M_w = 150k$) にシアン酸カリウムを添加することでウレイド基が 92 mol% 導入されたポリビニルアミン- α -ビニルウレア (PVU) を調製した。PVU に 4-(フェニルアゾ)安息香酸を加え縮合を行い、アゾベンゼンが 4.4 mol% 導入された PVU (Azo-PVU) を合成した。Azo-PVU 水溶液 (1.0 mg/mL in 10 mM HEPES-NaOH, pH7.5, 150 mM NaCl) に対して UV 光 (372 nm) あるいは Vis 光 (453 nm) を 2 分間照射し様々な温度において透過率を測定した。

【結果と考察】

Azo-PVU 溶液の透過率の温度依存性を測定した。Azo-PVU 溶液は高温側で透過率が高く溶解、低温側で透過率が低く相分離状態であり UCST 型挙動を示すことが確認された。透過率が急激に変化する温度 (T_p) は、疎水基であるアゾベンゼンの導入により導入前に比べ 40 °C 上昇した。また、UV 照射後と Vis 照射後では、透過率曲線に差が生じ、 T_p は Vis 照射後で 41 °C に対し UV 照射後では 32 °C に低下した。これは側鎖のアゾベンゼンが光刺激によってシス体となり極性が大きくなったためと考えられる。さらに、光照射による相転移の可逆性を評価した。生理的条件下、35 °C において UV、Vis を交互に照射後 700 nm の透過率を測定した。Azo-PVU 溶液の透過率は、UV を照射することによって 80 % まで上昇し、Vis を照射することで 35 % まで低下した。以上から、アゾベンゼンを有するウレイド高分子は光刺激によって可逆的に相転移を制御可能なバイオマテリアルとして期待される。

1P-032-II

細胞培養基材としての増殖因子固定化ジスルフィド架橋型ハイドロゲルの設計

¹九州大学工学研究院応用化学部門, ²九州大学未来化学創造センターバイオテクノロジー部門

○香川元気¹ (Kagawa Genki), 濱田祐成¹, 南畑孝介¹, 若林里衣¹, 後藤雅宏^{1,2}, 神谷典穂^{1,2}

【緒言】

細胞の増殖や分化には培地に増殖因子成分を添加することが必須となるが、増殖因子は一般的に不安定であり、且つ非常に高価である。従って、細胞培養において増殖因子添加量の低減は強く求められている。そこで、我々は増殖因子を固定化可能な細胞培養基材を設計することで課題解決を試みた。基材には、当研究室で開発された新たな酵素触媒ゲル化法により得られるハイドロゲルを採用した。チオール基修飾高分子、フェノール誘導体、西洋わさび由来ペルオキシダーゼ (HRP) の各水溶液を混合するだけで得られるハイドロゲル中に、増殖因子を固定化するための新たなタンパク質性因子を導入し、ハイドロゲル中への増殖因子の固定化ならびにハイドロゲル上での細胞増殖性を評価した。

【実験】

4 分岐型 SH 基修飾ポリエチレングリコール、フェノール誘導体としてのグリシルチロシン、HRP に加えて、細胞接着性を有するゼラチンに SH 基修飾を施した gela-SH、ヘパリンに SH 基を修飾した hepa-SH を準備した。また、固定化増殖因子として、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) を選択した。異なる条件下でハイドロゲルを形成した後、ゲル上に NIH3T3 線維芽細胞を播種し、3 日間培養を行い、トリプシン処理後、細胞数を計測した。また、増殖因子の固定化効率の向上を目指し、異なる様式で bFGF を固定化可能な組換えタンパク質を設計し、その効果についても検証した。

【結果と考察】

ゲル上での接着性細胞の培養に際して、Gela-SH を導入したハイドロゲルにのみ細胞が良好に接着した。一方、細胞増殖性の評価の結果、hep-SH 濃度の増加に伴い細胞増殖性が向上した。これはハイドロゲル内に導入されたヘパリンユニットが、bFGF の固定化及び徐放に寄与し、ゲル表面での細胞増殖を促進したためと考えられる。以上より、ゼラチン及びヘパリンを導入したハイドロゲルは増殖因子添加量を低減可能なことが示唆された。発表では、固定化用タグが導入された組換え増殖因子の細胞培養基材への固定化に向けた基礎検討結果も報告する。

1P-033- II

単層/スフェロイド培養における NT2 細胞の神経分化特性

¹北九州市立大学大学院, ²北九州市立大学

○北野温女¹ (Kitano Otome), 吉田詩朗¹, 宮本大輔¹, 中澤浩二²

【緒言】

培養基材上において細胞が二次元的な伸展形態を形成する単層培養法は、汎用的な細胞培養法として幅広く利用されている。一方、近年では培養下において生体構造を模倣することを目的に、細胞を三次元組織化させる技術が確立されてきており、スフェロイド（球状細胞組織体）培養法はその代表例の一つである。本研究では、神経研究のモデル細胞として知られる NT2 細胞の単層（二次元）培養とスフェロイド（三次元）培養を行い培養法の違いが神経分化特性に与える効果を明らかにした。

【実験】

スフェロイド培養基材として、PMMA 基板（24mm 角）上に 195 個のマイクロウェル（直径 600 μm ）を規則的に配置し、その表面を細胞非接着分子である PEG で修飾したマイクロウェルチップを作製した。また、組織培養ディッシュを単層培養基材として用いた。これらの基板に NT2 細胞を播種し、神経分化誘導剤として知られるレチノイン酸（RA）含有培地にて培養を行い、単層培養とスフェロイド培養の細胞特性を比較した。

【結果と考察】

単層培養では、細胞が基板上に接着・伸展し、培養経過に伴って増殖した。スフェロイド培養では、培養 24 時間以内に各マイクロウェル内において細胞同士が凝集してスフェロイドを形成し、その形態を維持したまま増殖した。細胞の増殖性はスフェロイド培養よりも単層培養が高く、また、両培養系ともに RA 処理によって細胞の増殖性は抑制された。培養経過に伴う NT2 細胞の分化特性を比較した結果、神経分化は単層培養よりもスフェロイド培養が高く、さらに RA 処理を施すことによってスフェロイド培養の神経分化は飛躍的に向上した。この現象を理解するため、細胞接着分子の解析を行ったところ単層培養よりもスフェロイド培養では N-カドヘリンの高発現がみられた。この活性が下流に位置する転写因子の発現を促し、神経分化を促進していると考えられる。これらの結果から、NT2 細胞の神経分化は培養法の違いによって影響を受け、スフェロイド培養は神経分化を促進できる培養法であることが示された。

1P-034- I

基板弾性率変化に伴う肝細胞特性の変動

北九州市立大学大学院

○長谷川千裕 (Hasegawa Chihiro), 中澤浩二

【緒言】

培養細胞に加わる力学的作用は細胞の応答性に影響を与えることが知られており、細胞が接着する培養基板の弾性率を変化させることは細胞と力学的刺激の関係性を知るための有効な手段の一つといえる。現在、このような基板弾性率と細胞特性の関係は、線維芽細胞や間葉系幹細胞などを中心に多くの研究が行われているが、上皮系細胞を用いた報告例は少ない。そこで本研究では、上皮系細胞の代表例として肝細胞に注目し、基板弾性率が肝細胞特性に与える影響を評価した。

【実験】

培養基材としてシリコンエラストマーである PDMS（ポリジメチルシロキサン）を用いた。この基材は主剤と副剤の混合反応によって硬化が進むことから、副剤の混合比を減少させることで柔らかい培養基板を作製することができる。そこで本研究では、主剤：副剤の混合比を 5：1、10：1、20：1 の 3 条件とすることで弾性率の異なる培養基板を作製した。また、ポリスチレン製組織培養基板（TCPS）をコントロール条件とした。すべての基板条件は I 型コラーゲンの表面コートを行うことで細胞接着性を高め、初代ラット肝細胞の形態や機能発現の違いを比較した。

【結果と考察】

すべての基板表面においてラット肝細胞は接着したが、相対的に硬い培養基板である TCPS と PDMS 5：1 の条件では細胞はよく伸展し、ストレスファイバーの形成が発達した。これに対し、PDMS 10：1 と PDMS 20：1 の条件では細胞伸展が抑制される傾向にあり、立体的な細胞形態が維持された。また、本検討のなかで最も柔らかい基板である PDMS 20：1 の条件では、細胞間ギャップ結合を形成するコネキシン 32 の発現比が有意に高く、かつアルブミンの産生活性も最も高かった。これらの結果から、柔らかい培養基板では細胞の伸展が抑制されることによって細胞間コミュニケーションが向上し、その結果として細胞の高機能発現へとつながっていると考えられる。

以上の結果より、基板弾性率は肝細胞の形態や機能発現に大きく影響することが示された。

1P-035- I

上皮間葉転換における細胞周辺微小環境の影響

¹ 福井大学大学院工学研究科繊維先端工学専攻, ² 福井大学学術研究院工学系部門繊維先端工学分野, ³ 国際科学振興財団

○早水亮貴¹ (Hayamizu Ryoki), 末信一朗², 赤池敏宏³, 藤田 聡²

【緒言】

上皮間葉転換 (EMT) とは、細胞間接着分子である E カドヘリン (E-cad) を介した細胞間接着が消失し、細胞外マトリクス (ECM) との接着を高めて遊走性が亢進する現象であり、発生のみならず癌細胞の浸潤の過程でも見られる。たとえば高転移性の乳癌では、腫瘍組織の周辺に高配向したコラーゲン繊維が蓄積しており、細胞が繊維軸方向に伸展して接着し、EMT 様の変化を示す。このように EMT にともなう細胞形態の変化はよく知られているが、細胞形態の変化は EMT の結果なのか原因なのかは十分に理解されていない。

そこで本研究では、細胞-基材間の接着様式と細胞形態が EMT の進行にどのように影響するか調べた。接着様式については E-cad の細胞接着部位と IgG の Fc 部位を結合させた E-cad-Fc キメラタンパクを吸着させた表面により、E-cad 依存接着で細胞を接着させた。またフィブロネクチン (FN) を吸着させた表面により FN 依存接着で細胞を接着させた。細胞形状の制御は、極細繊維を作製する手法であるエレクトロスピンニング法を用いてファイバーシートを作製しこの上で細胞を培養することで細胞を伸展させ、平面フィルム上で培養した細胞と、細胞形態、タンパク質発現、細胞移動等を観察した。

【実験】

ポリスチレンのファイバー基材および、フィルム基材に E-cad-Fc 溶液 (10 µg/ml) または FN 溶液 (10 µg/ml) を添加してインキュベートすることにより基材に吸着させた。ここにマウス乳腺由来細胞株 NMuMG を播種し、数日間に渡り細胞形状の変化をタイムラプス顕微鏡ならびに表面マーカー発現をもとに解析した。

【結果と考察】

E-cad 上に接着した細胞は、FN 上よりも大きな接着面積を示した。また、ファイバーに接着した細胞は、繊維の配向方向に沿って長く伸展した形態を示した。本基材を用いて細胞の接着様式ならびに細胞形態を制御することができた。これらの基材上での EMT 挙動を観察したところ、細胞周辺微小環境が EMT に与える影響が示唆された。

1P-036- I

孔貫通型ポリウレタン多孔質薄膜による血管様構造構築を目指した HUVEC と AoSMC の共培養

¹ 山形大学有機材料システム研究推進本部ソフトバイオマテリアル研究センター, ² 豊田合成株式会社研究開発部,

³ 九州大学先端物質化学研究所

○土屋 遥¹ (Tuchiya Haruka), 高城誠太郎², 中川博之², 田中 賢^{1,3}

【緒言】

一般的な細胞培養法として単層培養がある。しかし、実際の組織は複数の細胞から構成されており、単層培養ではその細胞本来の機能を損なうことがある。一方、多孔質膜を介した共培養では実組織に見られるような異種細胞からなる層状構造を再現できない。そこで異種細胞の共培養により層状構造が再現できる足場材料を目指し検討を行ってきた。

本研究では、薄膜多孔質でも材料強度が保持できるポリウレタンに着目した。薄膜化したウレタン膜を発泡させることで細胞の大きさよりやや小さい孔径を持つ孔貫通型薄膜を作製することに成功した。この材料を足場として用いることで血管内皮細胞 (以下 HUVEC) と血管平滑筋細胞 (以下 AoSMC) の共培養を行い血管様構造形成を試みた

【実験】

孔貫通型ポリウレタン (表面の平均孔径: 5 - 12 µm、空孔率: 40 - 70%、裏面の平均孔径: 5 - 9 µm、空孔率: 7 - 15%、膜厚: 5 - 10 µm) を共培養用足場材料として、孔のない平膜ポリウレタンを単層培養用足場材料としてそれぞれ作製した。単層培養では HUVEC 専用培地にてプレコンディショニングを 24 時間後、HUVEC の培養を 3 日間行った。共培養では AoSMC 専用培地にてプレコンディショニングを 24 時間後、膜の表面で AoSMC の培養を 5 日間行った。その後、膜を反転させ HUVEC 専用培地にて HUVEC の培養を 3 日間行った。培養後に蛍光染色を行い、共焦点定量イメージサイトメーターにて HUVEC の細胞接着数を計測した。

【結果と考察】

孔のない平膜ポリウレタンに対し孔貫通型ポリウレタンでは HUVEC の接着量が 11.5 倍と高かった。本結果より貫通型ポリウレタンでは HUVEC と AoSMC が、孔を介して直接接触することや AoSMC から分泌される細胞外マトリクス成分により HUVEC の接着量が向上する可能性が示唆された。

1P-037-II

高強度化アパタイトファイバースキャフォールドビーズによる株化肝細胞培養と肝機能評価

¹ 明治大学理工学研究科, ² 東京慈恵会医科大学

○森田恵里香¹ (Morita Erika), 本田みちよ¹, 中村まり子², 松浦知和², 相澤 守¹

【緒言】

我々はこれまでに優れた生体活性を示すアパタイトファイバーからなり三次元連通気孔を有する「高強度化アパタイトファイバースキャフォールド (AFS)」を作製し、この AFS を三次元培養基材としてアルブミン生産能やアンモニア代謝能を有する「肝再生オルガノイド」の構築に成功している¹⁾。本研究の目的は、バイオリクターを用いて安価に血漿製剤などを製造するための物質生産能に特化した AFS を創製することである。今回は、球状の「高強度化 AFS ビーズ」を試製するとともに、株化肝細胞 (FLC-4) を培養し、細胞増殖性や侵入性と肝機能の評価を行なったので報告する。

【実験】

高強度化 AFS ビーズは既報²⁾にしたがって作製した。本研究では気孔率の異なる 3 種のビーズ (平均径 3.2 mm) に株化肝細胞 FLC-4 を播種し、7 日間静置培養した。細胞増殖性は WST-1 キットを用い、細胞の局在状態を調査するために、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色および免疫染色したのち、観察を行なった。また、肝機能評価として ELISA キットを用いてアルブミンの定量を行なった。

【結果と考察】

WST-1 キットの結果より、すべてのビーズにおいて良好な細胞増殖性が確認できた。また、HE 染色と免疫染色より、気孔率が高くなるほど基材の深部に細胞が侵入し、三次元的に細胞が培養できていることが観察された。アルブミンの定量結果では、気孔率が高くなるほど積算生産量が増加し、良好なアルブミン生産も確認できた。これらの結果より、高強度化 AFS ビーズは血漿製剤などの物質生産に特化した、株化肝細胞の新たな培養基材として有用であることが分かった。

1) T. Matsuura, and M. Aizawa, Polymeric Biomaterials: Medicinal and Pharmaceutical Applications, Volume 2, CRC press (2012) pp. 691-713.

2) 森田恵里香 ほか, 日本セラミックス協会 第 29 回秋季シンポジウム講演予稿集, 1F05(2016).

1P-038-II

ナノ周期構造による直交性骨基質配向化機構

¹ 大阪大学大学院工学研究科, ² キャノンマシナリー株式会社

○中西陽平¹ (Nakanishi Yohei), 松垣あいり¹, 川原公介², 二宮孝文², 沢田博司², 中野貴由¹

【緒言】骨組織が有する特徴的な異方性微細構造は骨系細胞の有機連携に基づき構築される。我々はこれまでに、材料表面形状制御により骨芽細胞配列パターンを自在に操ることで、骨アパタイトの秩序だった結晶学的配向性を作り出すことに成功している。一方で驚くべきことに、金属表面をナノオーダーで制御することにより、従来の科学的常識を根底から覆し、細胞方向に垂直に配向化した骨基質を形成することを初めて見出している¹⁾。このような「直交性」骨基質配向化機構の解明は、部位に応じて異なる配向方向・配向度を有する骨の配向化誘導に必須である。本研究では、生体用金属材料表面に、レーザ照射により自己組織的に形成される波長オーダーの微細周期構造 (レーザ誘起周期表面構造; LIPSS) を形成し、「直交性」「平行性」の二つの相反する骨配向化機構について、遺伝子レベルからメカニズム解明を目指す。

【実験】フェムト秒レーザ (パルス幅: 250 fs, 中心波長: 800 nm) の直線偏光照射により、Ti-6Al-4V 表面に LIPSS を導入した。対照群として、鏡面研磨 ($Ra < 0.01 \mu m$) 基板および表面粗さを保ちつつ指向性を持たない円偏光基板を作製した。マウス新生児頭蓋冠より単離した初代骨芽細胞を基板上で培養し、初期接着に基づく細胞配向性および細胞骨格タンパク質・接着斑の形態を免疫細胞化学にて定性的・定量的に解析した。長期培養では、石灰化誘導を行い、レーザラマン顕微鏡によりコラーゲン配向性を、微小領域 X 線回折法によりアパタイト結晶配向性を解析した。Total RNA 抽出後、マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析を行った。

【結果と考察】鏡面および円偏光基板に比較して、LIPSS 上でのみ有意に骨芽細胞の配列化が達成された。細胞はナノ周期構造に沿って優先配列した一方、細胞方向に垂直方向への骨基質形成が明らかとなった。このとき、細胞-材料表面の相互作用を司る接着斑は、表面形状に応じた特異的な形態を示し、接着斑成熟化が細胞配列化とともに、骨基質配向化を制御する可能性が示唆された。さらに、遺伝子発現解析から、材料表面-細胞間の界面で機能するタンパク質群 (接着斑構造・機能を制御) による新規の骨配向化制御機構の存在が明らかになった。

【参考文献】1) A. Matsugaki, T. Nakano et al., *Biomaterials*, 2015, 37, 134-143.

生細胞代謝の効率的制御を指向したレドックスリン脂質ポリマーの設計

¹ 東京大学大学院工学系研究科, ² 名古屋大学大学院工学研究科, ³ 産業技術研究所, ⁴ 大阪大学○金子真大¹ (Kaneko Masahiro), 石川聖人², 加藤創一郎³, 石原一彦¹, 中西周次⁴

【緒言】細胞内におけるレドックス状態は、代謝経路・活性と密接に関係している。したがって、細胞内レドックス状態を制御することは、生細胞が関与するエネルギー技術や医療の分野において極めて重要である。細胞膜透過性の電子伝達分子の利用は、細胞内レドックス状態を制御する一つの有効な方法である。しかし、従来用いられる脂溶性低分子化合物は細胞毒性を示し、細胞が育成できる条件下での代謝制御には適していない。こうした背景のもと、我々は、親水性の生体親和性ユニット 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) と疎水性の酸化還元ユニット vinyl ferrocene (VFc) からなる、細胞膜透過性の細胞親和性電子伝達ポリマー poly(MPC-co-VFc) (pMFc, $E = 0.5 \text{ V vs. SHE}$) を開発してきた。一方、任意の目的に応じた生細胞代謝制御を実現する上においては、より精密で柔軟な細胞内レドックス状態の調整が必要である。こうした課題認識の下、pMFc における分子量 (M_w)・疎水性 VFc ユニット含有比 (R) をパラメータとした、細胞膜透過性、ひいては電子伝達速度の制御を試みた。

【実験】pMFc は対応するモノマーのフリーラジカル重合により合成し、 $M_w \cdot R$ は、それぞれ開始剤濃度およびモノマー仕込み比を変えることにより制御した。pMFc の電子伝達速度の評価は、モデル生細胞 (大腸菌と酵母) においてグルコース代謝由来の代謝電流を測定することにより行った。また、電子伝達速度と代謝改変の度合いの関係を検討するため、pMFc 存在下、非存在化において、酵母の嫌気培養を行った。

【結果と考察】異なる $M_w \cdot R$ を有する pMFc の電子伝達速度を比較した結果、 M_w が小さく、 R が大きくなると電子伝達速度が向上すること、 R が電子伝達速度に対してより大きな影響を及ぼすことが確認された。また、pMFc 共存下では、通常培養時に比べ酵母エタノール生産量が減少し、生育が向上する傾向となった。これは、pMFc が酵母ミトコンドリア内電子伝達系から電子を受け取り、代謝様式を嫌気発酵から酸化的リン酸化に切り替えたことを示唆している。さらに、代謝改変の度合いは、電子伝達速度と良い相関を示していた。以上の結果から、pMFc の適切な分子設計により、電子伝達速度・代謝改変の度合いが制御可能であることが明らかとなった。

Hybrid ECM by MPC Polymer Network for Active Cell Immobilization

The University of Tokyo

○Ren Zhang, Yuuki Inoue, Tomohiro Konne and Kazuhiko Ishihara

【Introduction】In the field cell engineering, it is still an obstacle to regenerate tissues or organs from living cells. The control of the immobilized cells in the cytocompatible scaffold biomaterials is demanded. In the previous research, poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)-*co*-*n*-butyl methacrylate-*co*-*p*-vinylphenylboronic acid) (PMBV) and poly(vinyl alcohol) (PVA) spontaneously form a hydrogel under mild condition from these solutions with cell culture medium. Meanwhile, for effectively controlling and enhancing the activity of the immobilized cells in the hydrogels, some cytokines are added in the hydrogel previously. Basic FGF (bFGF) can stimulate the proliferation and ECM secretion of cells. Active ester groups were added in PMBV chain to introduce bFGF on PMBV to fabricate PMBV-bFGF. And hydrogel matrix was prepared with PVA. The PMBV-bFGF/PVA matrix would provide suitable circumstances for 3 dimensional-cell culture and tissue fabrication.

【Experiment】The hydrogels were fabricated by a simple mixing of PMBV-bFGF (5.0 wt%, with L929 cells) with PVA (2.5 wt%) under room temperature. After cell culture, hydrogel was dissolved by adding 5.0 wt% of the sorbitol solution for more than 1 h and by using trypan blue exclusion method to evaluate the proliferation of the L929 cells.

【Results and discussion】The gelation reaction between PMBV-bFGF and PVA was performed successfully. The storage modulus of the hydrogel was depended on the blend ratio of PMBV and PVA, and the storage modulus can be adjusted from 0.1 kPa to 12 kPa. The L929 cells were immobilized successfully in the PMBV-bFGF/PVA hydrogel. Evenly distributed cell immobilization was observed in the hydrogel with storage modulus from 3 kPa to 7 kPa. The bFGF is active after the fixation on the PMBV and gelation reaction with PVA. The proliferation of the immobilized cells was performed by the existence of bFGF. Also, ECM secretion was promoted by the existence of the bFGF from proliferated cells. Herewith, a hybrid ECM material capable of maintaining the cell environment can be obtained.

1P-041-Ⅱ

フェムト秒レーザーで表面修飾したジルコニア上における細胞挙動の評価

¹早稲田大学理工学術院, ²産業技術総合研究所健康工学研究部門, ³産業技術総合研究所電子光技術研究部門
○橋本祥吾¹ (Hashimoto Shogo), 安永栄由², 廣瀬志弘², 欠端雅之³, 屋代英彦³, 山崎淳司¹, 伊藤敦夫²

【緒言】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、分化などの基本的細胞挙動に影響を与えることが分かりつつある。これまで我々は、生体活性セラミックスである水酸アパタイトの表面性状がラット間葉系幹細胞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が逆相関することを見出した。生体不活性セラミックスの1つであるジルコニアは難加工材料であるが、フェムト秒レーザーを用いて表面の微細加工が可能である。そこで今回、フェムト秒レーザーで表面修飾したジルコニア上での初期の細胞接着挙動を評価したので報告する。

【実験】イットリア安定化正方晶ジルコニア多結晶体 (3Y-TZP) にフェムト秒レーザー (中心波長 810 nm、パルス幅 80 fs) を照射しレーザー誘起表面周期構造を形成させた。品質確認後、滅菌処理したものを細胞実験に使用した。表面修飾した 3Y-TZP での細胞接着の表面選択性および毒性の有無について検証するため、TCPS の well に 3Y-TZP を静置し、マウス線維芽細胞 (NIH3T3) を播種し、3 時間培養後、3Y-TZP 上と well 底に接着している細胞を区別し、生細胞数について CellTiter-Glo、Cell Counting Kit-8 を用いて解析した。さらに初期細胞接着面積への影響を解析するため、3Y-TZP 上で NIH3T3 を 2 時間培養し、Live/Dead 試薬を添加し、さらに 1 時間培養後、画像解析で細胞接着面積を測定した。

【結果と考察】NIH3T3 播種 3 時間後の 3Y-TZP 上と well 底に接着している生細胞数を測定した結果、表面修飾無し 3Y-TZP と比較して、表面修飾有り 3Y-TZP ではジルコニアに接着した細胞数が多く、細胞接着における表面選択性が高い可能性が示唆された。また、3Y-TZP 上と well 底に接着している生細胞数の総和は表面修飾の有無で変化しないことから、毒性は無いと判断した。さらに播種 3 時間後の表面修飾有り 3Y-TZP での細胞接着面積は、表面修飾無し 3Y-TZP と比較して小さくなる傾向が観察され、水酸アパタイトと同様に、生体不活性セラミックスにおいても表面性状が細胞接着に質的影響を与える可能性が示唆された。現在、材料の表面性状と細胞分化の相関性など、表面性状の細胞に対する機能の解析を、ラット間葉系幹細胞の骨分化能を指標に検討している。



図1. 表面修飾無し(左)及び表面修飾有り(右)のジルコニア上におけるNIH3T3の蛍光顕微鏡画像

1P-042-Ⅰ

血管内皮細胞を活性化するための硫酸化ポリロタキサン表面の設計

¹東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
○兵頭克弥^{1,2} (Hyodo Katsuya), 有坂慶紀¹, 山口 聡², 由井伸彦¹

【緒言】血管内皮細胞は、その細胞周囲環境や液性因子による細胞内シグナリングによってその機能が調節されている。例えば、血流や細胞周囲の細胞外マトリックスは細胞骨格タンパク質であるアクチン繊維の形成に関与し、血管新生や脈管形成に働く低分子量 GTPase である Rho ファミリーの活性化を制御している。また液性因子である血管内皮細胞増殖因子(VEGF)はこの Rho ファミリーの活性化を促進する働きがあり、細胞周囲環境と VEGF シグナルの両因子は血管内皮細胞の活性化に重要な役割を担っている。一方で、これまでに当分野では線状高分子(e.g. ポリエチレングリコール)が環状分子(e.g. シクロデキストリン)の空洞部を貫通したポリロタキサン(PRX)の構造特性に着目し、線状高分子鎖に沿って環状分子が運動し得る分子可動性を有した PRX 表面を用いて RhoA や Rac1 の活性制御に成功している。さらに硫酸化した PRX 表面を作製することによって、ヘパリン結合性成長因子を表面導入することが可能となり、液性因子シグナルと分子可動性に依存したメカノシグナルを両立した細胞育成環境が構築できることを報告している。そこで今回、ヘパリン結合性成長因子である VEGF を表面導入した硫酸化 PRX 表面を設計し、この表面が血管内皮細胞に与える影響について解析した。

【実験】PRX および硫酸化 PRX を被膜した表面を用いて、VEGF の表面導入群および添加群でのヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC)の細胞形態・細胞増殖評価を行った。細胞播種、12 h、24 h、48 h、72 h、96 h、120 h、144 h 後の細胞を位相差顕微鏡で撮影し、Image-J にて細胞形態・細胞数の解析を行った。

【結果と考察】HUVEC の細胞形態は、PRX 表面の α -CD 貫通数、VEGF の表面導入・添加群において有意な差は見られなかった。しかし細胞増殖は α -CD 貫通数が多い表面において促進される傾向が認められた。さらに VEGF 添加群と比較して、VEGF 表面導入群は効率的に細胞増殖を促すことが明らかとなった。これらの結果は、PRX 表面の分子可動性制御と VEGF の表面導入によってヒト由来血管内皮細胞に効率的にシグナル伝達できる可能性を示唆している。現在、他種細胞との共培養を組み合わせてヒト由来血管内皮細胞の機能について評価を行っている。

1P-043-Ⅱ

正電荷を有する温度応答性高分子を用いた細胞分離カラムの作製

慶應義塾大学 薬学部

○稲永大夢 (Inanaga Daimu), 永田勇貴, 長瀬健一, 金澤秀子

【緒言】

近年、細胞を用いて疾患を治療する細胞移植療法が行われており、原料となる細胞の分離・精製技術が必要不可欠である。しかし、フローサイトメトリー(FACS)・磁気細胞分離法(MACS)に代表される細胞分離法は、細胞表面への修飾を必要とするため、細胞移植等に用いる場合には問題となる。そこで本研究では、細胞表面に修飾をせずに温度変化のみで細胞を分離する細胞分離カラムを作製し、各温度による細胞の溶出挙動を観察した。

【実験】

球状のシリカゲルビーズ(粒子径: 75~150 μm)の表面に温度応答性の *N*-isopropylacrylamide (NIPAAm)、正荷電を有する *N,N*-dimethylaminopropyl acrylamide (DMAPAAm)、疎水性の *n*-butylmethacrylate (BMA)の架橋構造を有する共重合体 P(NIPAAm-*co*-DMAPAAm-*co*-BMA) を修飾した。作製した高分子修飾ビーズを固相抽出用カラム(1 mL)に充填した。37°Cの細胞培養液(RPMI)でカラムをコンディショニングし、ヒト骨髄性白血病細胞(HL-60)の細胞懸濁液 1 mL (1.0×10^6 cells/mL)をカラムに負荷させた。その後、温度 37°Cで細胞培養液 1 mL を 2 回流し、温度 20°Cで細胞培養液 1 mL を 3 回流した。それぞれの条件で流出した細胞培養液中に含まれる細胞数を生死細胞数計測機により測定し、細胞溶出挙動を観察した。

【結果と考察】

作製したカラムからの HL-60 の溶出挙動を観察したところ、正電荷を有する P(NIPAAm-*co*-DMAPAAm-*co*-BMA) を修飾した充填剤を用いたカラムの 37°Cでの HL-60 の保持が大きくなる傾向が確認できた。また温度 37°C一定の場合に比べて、温度 20°Cに変化させた場合では溶出量が増加し、温度変化によるビーズ表面の性質変化により細胞脱着を促進していることが示唆された。また修飾された温度応答性高分子層の厚さを増加させる事により細胞の溶出が増加することもわかった。これらの検討により、正電荷を有する温度応答性高分子を修飾したビーズを用いる事で細胞の保持・溶出を制御できることがわかった。

1P-044-Ⅱ

アポトーシス抵抗性細胞に殺作用を示すオートファジー誘導性ポリロタキサン機能評価

東京医科歯科大学生体材料工学研究所

○西田 慶 (Nishida Kei), 田村篤志, 由井伸彦

【緒言】アポトーシスに対する感受性の低下は、悪性腫瘍や動脈硬化性疾患などの治療抵抗性に関連している。これに対して、細胞内成分の分解機構であるオートファジーが関与する細胞死はオートファジー細胞死と呼ばれ、非アポトーシス型の細胞死機序であることからこの経路を利用した新規治療法が試みられている。そこで我々はオートファジー細胞死による細胞死誘導法を確立するために、メチル化 β -シクロデキストリン (Me- β -CD)を線状高分子に複数貫通させた超分子構造を有するポリロタキサン (Me-PRX)を設計した。Me- β -CD は強い細胞膜障害性を有することが知られているが、酸分解性を賦与した Me-PRX は細胞内のリソソーム局所に Me- β -CD を放出すると期待される。このような細胞内における Me- β -CD の作用は細胞小器官にストレスを負荷し、オートファジーならびにオートファジー細胞死の誘導に寄与すると考えられる。本発表では、酸分解性 Me-PRX によるオートファジー細胞死の誘導およびアポトーシス抵抗性細胞に対する殺細胞作用について評価した。

【実験】 末端封鎖基に *N*-(triphenylmethyl)glycine を用いて Me- β -CD を含有する酸分解性 Me-PRX を合成した。Me-PRX を作用したマウス胚線維芽細胞 (MEF)に対して LC3 の産生を評価した。また、Me-PRX のアポトーシス抵抗性細胞に対する殺細胞作用を、アポトーシス関連因子を複数ノックアウトした MEF に対する細胞生存率から評価した。

【結果と考察】 Me-PRX の超分子構造は pH 7.4 では安定に維持したが、pH 5.0 では 24 時間以内に完全な崩壊を示した。次に Me-PRX を MEF に作用した結果、Me-PRX はリソソームへの局在化とともにオートファジー誘導の指標となる LC3-I から LC3-II への転換を促進した。この結果より、Me-PRX はリソソーム pH 環境に応じて Me- β -CD を放出しオートファジーを誘導したと考えられる。さらに Me-PRX は作用時間に伴って、caspase-3 非依存的に MEF の細胞生存率が低下した。オートファジーの阻害下では細胞生存率の低下が有意に抑制されたため、Me-PRX によるオートファジー細胞死の誘導が示唆された。また Me-PRX は、アポトーシス抵抗性細胞に対しても通常の細胞と同程度の細胞生存率を示したことから、オートファジー細胞死の誘導によるアポトーシス抵抗性細胞の殺作用が明らかになった。

1P-045- I

二種類の可逆的な架橋により形成された形状記憶ゲルのメカノバイオマテリアルへの応用

大阪大学大学院基礎工学研究科

○前田純貴 (Maeda Junki), 中畑雅樹, 境 慎司, 田谷正仁

【緒言】生体内でバイオマテリアルは常に様々な力学的刺激に晒されており、それらの「力」に対する制御機構の解明を目指す「メカノバイオロジー」が近年注目を集めている。刺激応答性材料の一種である形状記憶材料は、刺激を加えるだけで材料の力学特性を制御できるため、メカノバイオロジー研究への応用が期待できる。しかし、細胞生育環境において生体適合性の高い刺激を用いて力学特性を制御することは未だ難しく、化学架橋を用いた多くの形状記憶材料は、使用後に分解できない等の問題がある。本研究では、ボロン酸-ジオール相互作用と金属-配位子相互作用の 2 種類の可逆的な架橋を組み込んだ水溶性高分子からなるヒドロゲルを作製した。相互作用の可逆性を活かして、力学的に活性な架橋点の数を競争反応により制御することで材料の硬さ・形状を制御した。また刺激に応答した分解可能性を調べた。更に、形状記憶されたヒドロゲル表面上での細胞の動態を時空間的に観察し、メカノバイオロジー材料への応用可能性を調査した。

【実験】アルギン酸にフェニルボロン酸を導入した Alg-3APBA とポリビニルアルコールにゼラチンを修飾した PVA-gel の 2 種類の高分子水溶液を混合し、ボロン酸-ジオール相互作用で架橋した超分子ヒドロゲルを調製した。さらに FeCl_3 水溶液に浸漬することでアルギン酸間の金属イオン相互作用による架橋を形成させた。ゲルに様々な濃度、種類の糖を加えることで制御されるゲルの硬さ変化を評価した。またゲルの培養基材としての利用可能性、および形状記憶されたゲル上の 10T1/2 細胞の動態を時空間的に評価した。

【結果と考察】ゲルに様々な濃度 (0-100 mM) のフルクトースを添加することで、ゲルのヤング率を 15-50 kPa の範囲で制御することができた。種々の糖 (グルコース、ガラクトース、フルクトース) を用いた場合、ボロン酸との結合定数の違いによりゲルの硬さを制御することができた。ゲル上で 10T1/2 細胞が接着・伸展可能であり、高い生存率を保ったまま増殖することを確認した。ゲルへの糖の添加と洗浄によるゲルからの糖の除去により、ゲルが所望の形に形状記憶可能であることが示された。この形状記憶はマイルドな刺激 (50 mM 程度のフルクトースの添加) によって制御でき、ゲルの上で細胞培養を行いながら形状記憶を行なうことにも成功した。

1P-046- II

薬物を用いないがん治療戦略：がん細胞表面でのゲル形成による細胞死誘導

甲南大学フロンティアサイエンス学部

○真田ゆか (Sanada Yuka), 長濱宏治

【緒言】がん組織内には、がん細胞だけでなく、悪性化に関与する細胞 (がん幹細胞、がん関連線維芽細胞、腫瘍関連マクロファージなど) も含まれている。そのため、がん根治のためには、がん細胞に加え、これらの細胞も死滅させる必要がある。その手法として、私たちはがん組織内のすべての細胞表面で高分子ゲルを形成させることで、栄養分やシグナル伝達分子の細胞内取り込みを抑制し、さらに老廃物の細胞外排出を抑制することで、がん組織内の細胞外環境を悪化させ、がん組織内の全ての細胞を死滅させるというアイデアを考案した。本発表では、細胞表面でのゲル形成、細胞表面でのゲル形成が細胞接着、細胞浸潤、細胞死、細胞増殖などに及ぼす影響について報告する。

【実験】細胞表面に高分子を結合するため、細胞の糖代謝反応を利用して、膜タンパク質の糖鎖末端シアル酸にアジド基を導入した。がん細胞 (MCF-7) 表面アジド基とアルキン化アルギン酸をクリック反応させ、細胞表面にアルギン酸を共有結合した。カルシウムイオンを添加し、細胞表面のアルギン酸分子間をイオン結合により架橋することで、細胞表面でのみゲルを形成した。共焦点顕微鏡と SEM 観察により、細胞表面で形成されたゲルについて解析した。WST-1 アッセイ及び Live/Dead アッセイにより、細胞表面へのアルキン化アルギン酸の結合、及びカルシウムイオン添加によるゲル形成が細胞の生存性にどう影響するかを調べた。担がんマウスの腫瘍内の細胞表面糖鎖をアジド化し、尾静脈もしくは腹腔内にアルキン化アルギン酸を投与することで、*in vivo* で腫瘍内細胞にアルキン化アルギン酸の共有結合が可能かを検証した。

【結果と考察】細胞膜タンパク質の糖鎖末端シアル酸にアジド基を導入し、アルキン化アルギン酸を与えると、30 分後には細胞表面にアルギン酸が共有結合した。また、カルシウムイオン (溶液濃度 0.5%) を添加すると、30 分後にはゲルが形成された。細胞表面にアルギン酸を共有結合したがん細胞では、細胞死は起こらず、細胞は増殖したが、ゲル形成したがん細胞の活性は徐々に低下し、細胞死が誘導された。最終的に、72 時間後には生存率が 30% 以下となった。以上より、がん細胞表面でゲルを形成させることは、がん細胞に細胞死を誘導する効果的な手法であることが示された。さらに、マウス体内でも、細胞のアジド化やアルギン酸との共有結合は起こることを確認した。

1P-047- I

機械特性に優れる二成分系ファイバー基材への温度応答性ブラシ修飾と細胞分離

¹早稲田大学大学院先進理工学研究科生命医科学専攻, ²東京女子医科大学先端生命医科学研究所, ³慶應義塾大学薬学部

○宿輪理紗^{1,2} (Shukuwa Risa), 長瀬健一^{2,3}, 高橋宏信², 武田直也¹, 岡野光夫²

【緒言】再生医療分野において、容易に大量の細胞を分離する技術の開発が求められている。我々は比表面積の大きなマイクロ形状の分離基材を充填したカラムに細胞懸濁液を通し、段階的に細胞を回収することで、基材への細胞の接着性の差を利用した細胞分離を行なっている。さらに、マイクロファイバーの表面に対して温度応答性高分子 Poly(*N*-isopropyl acrylamide) (PIPAAm) を修飾し、温度変化による大量の細胞の分離を目指している。本研究では、PIPAAm の重合開始点を有する Poly(4-vinylbenzyl chloride) (PVBC) とガラス転移点の低い Poly(*n*-butyl methacrylate) (PnBMA) を混合したファイバーの表面に PIPAAm を修飾することにより、機械的強度を向上させたファイバー分離基材を作製した。

【実験】PVBC と PnBMA を重量比 1:0、3:1、1:1、1:3、0:1 で混合し、エレクトロスピンニング法によりファイバーを紡糸した。これら 5 種類のファイバーに対して引張試験を行い、引張強度とヤング率を算出した。続いて、表面開始原始移動ラジカル重合法により PIPAAm をファイバー表面へ修飾した。このファイバー上にヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) と正常ヒト皮膚繊維芽細胞 (NHDF) を播種し、37℃で 3 時間培養後、20℃でさらに 1 時間培養した。各段階で核とアクチンを染色後に蛍光観察することにより、接着率を算出した。

【結果と考察】いずれのポリマー混合条件でも、紡糸したファイバーの直径は同じオーダーとなり、15-30 μm であった。また、PnBMA の比率が増加するにつれてファイバーの引張強度やヤング率が大きくなり、機械的強度が向上した。この 5 種類の中で最大強度を有する PVBC:PnBMA=1:3 のファイバー表面に PIPAAm (M_n : 1200, M_w/M_n : 1.14) をグラフトした後、このファイバー上で細胞の接着・脱着の挙動を評価した。37℃で 3 時間培養後にはファイバー表面に多くの NHDF が接着する一方で、ほとんどの HUVEC は接着しなかった。その後、20℃で 1 時間培養すると、接着していた NHDF の多くが脱着した。また、PIPAAm 重合や細胞播種などにおける物理的な負荷を与えた際にもファイバーの破損は見られなかった。この結果より、37℃で 3 時間培養して未接着の HUVEC を分離し、さらに 20℃で 1 時間培養後に脱着した NHDF を回収することで、2 種類の細胞を分離できることが示唆された。

1P-048- II

細胞培養基材への応用を目指した光・温度応答性ヒドロゲルの創製

¹関西大化学生命工, ²関西大 ORDIST

○松田安叶¹ (Matsuda Akana), 河村暁文^{1,2}, 宮田隆志^{1,2}

【緒言】細胞の接着挙動や分化挙動は周辺環境の化学的性質や物理的性質に影響されることから、これらの性質を変化できる細胞培養足場が研究されている。しかし、外部刺激を利用した時間ファクターを含む“四次元培養”によって細胞挙動を制御する研究はほとんど行われていない。そこで本研究では、光照射時間により弾性率を制御でき、温度により親水性-疎水性を変化させる四次元細胞制御基材の開発を目的として、可逆的な光二量化反応を示す 7-メタクリロイルオキシシクマリン (MAC) と下限臨界溶解温度 (LCST) を有するメトキシオリゴエチレングリコールメタクリレート (OEGMA) とを用いて、光照射によりゾル-ゲル相転移する新規な光・温度応答性ポリマーを合成した。このポリマーの光・温度応答挙動やそのゲル上で細胞培養した際の細胞挙動も調べた。

【実験】MAC と OEGMA との共重合により P(MAC-*co*-OEGMA) を合成した。得られたポリマー水溶液の各温度における透過率を測定し、その温度応答性を評価した。また、ポリマー水溶液に所定時間光照射した際の弾性率をレオメーターにより測定した。さらに、光照射時間により弾性率を変化させた P(MAC-*co*-OEGMA) ゲル上にマウス線維芽細胞 (L929) を播種した際の細胞接着挙動や異なる温度で培養した際の挙動も観察した。

【結果と考察】得られたポリマー水溶液の透過率は体温付近を境に大きく低下し、LCST を示すことがわかった。また、ポリマー水溶液に光を照射するとゾル状態からゲル状態に相転移し、その弾性率は光照射時間の増加に伴って増加することが明らかになった。これは、光照射により共重合体中の光二量化基が二量体を形成してゲルの架橋点として作用したためと考えられる。そこで光照射時間により弾性率を変化させた P(MAC-*co*-OEGMA) ゲル上で L929 を培養すると、弾性率の高いゲルの方が接着細胞数は多かった。これは、細胞が足場の弾性率の影響を受けたためと考えられる。さらに、30℃で細胞を培養すると、接着している細胞数の割合が低くなることがわかった。P(MAC-*co*-OEGMA) ゲルは 33℃に LCST を有しているので、33℃ではゲル表面が親水性となるために、細胞接着率が低下したと考えられる。以上の結果より、光・温度応答性共重合体は光照射により弾性率を変化でき、細胞接着を制御できる細胞制御材料として期待できる。

1P-049- I

フジツボ由来ペプチドを用いた組織工学用ハイドロゲルの設計と機能評価

¹関西大学化学生命工, ²関西大学先端機構, ³製品評価技術機構

○藤井大輔¹ (Fujii Daisuke), 紙野 圭³, 柿木佐知朗^{1,2}, 平野義明^{1,2}

【緒言】

医療の分野では幹細胞を用いた組織再生に注目が集まっており、様々な研究が盛んに行われている。しかし、組織再生において2次元培養では細胞同士の相互作用が少ないため、組織構築が困難である。そのため細胞を3次元的に培養する必要がある。そこで、 β -シート構造を有するフジツボ由来ペプチド RRKYSGILGDLIQVAVIRYY (R-Y)の利用を考えた。われわれはR-Yに細胞接着性配列RGDSを導入し3次元培養用足場への応用を考えた。本研究では、RGDSをC末端に導入したもの(RGDS-R-Y)、中央部に導入したもの(R-RGD-Y)、N末端に導入したもの(RGDS-RY)の3種類の導入位置が異なるペプチドを設計し、これらのペプチドが3次元培養用足場への応用が可能か検討した。

【実験】

ペプチドをFmoc固相合成法で合成し、円偏光二色性スペクトル法(CD)および赤外分光法(IR)で二次構造を解析した。次にペプチドゲルを作製し、電子走査顕微鏡(SEM)で内部構造の観察を行った。また、レオメーターを用いてペプチドゲルの強度を測定した。作製したゲルを用いて細胞実験を行い、細胞の形態および接着数を評価した。さらに、ペプチドゲルで2次元的に培養したものと、3次元的に培養したものとで細胞の機能の違いを評価した。

【結果と考察】

CDスペクトルおよびIRスペクトルの結果より、RGDSの導入位置により β -シート構造の安定性が異なることが明らかになった。これは、RGDSの電荷およびターン構造がR-Yの β -シート構造の形成を阻害するために起こっていると考えられる。SEMの結果から、すべてのペプチドゲルで多孔質な構造を形成していることが示唆された。また、レオメーターの結果よりすべてのペプチドゲルがコラーゲンゲル以上の力学強度を有していることが明らかになった。細胞実験の結果はポスターにて発表する予定である。

1P-050- I

種々の陽イオンを置換した水酸アパタイトセラミックスの作製とそれらの細胞応答性

明治大学大学院理工学研究科

○伊東莉菜 (Ito Rina), 横田倫啓, 相澤 守

【緒言】

ヒトの硬組織を構成している主な無機成分は水酸アパタイト($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; HAp)であり、それには多くの微量元素が含まれている。これら微量元素のHApへの置換は、純粋なHApと比較して高い生体適合性および生体活性を与えることができる。本研究では、硬組織中に含まれるミネラルの中でカルシウムの次に多く含まれる Na^+ , K^+ , Mg^{2+} の3種類の陽イオンに着目し、超音波噴霧熱分解法 [1]を用いて陽イオン置換HApを調製し、それらの細胞応答性について評価した。

【実験】

陽イオン置換アパタイト粉体は、出発溶液の陽イオン濃度を仕込み組成でHAp中に5 mol%含有されるように調製し、それらを噴霧熱分解することで合成した。なお、合成した試料粉体の略号は置換する陽イオンにもとづいて“NaAp”, “KAp”および“MgAp”と表記する。得られた粉体を成形・焼成することで陽イオン置換アパタイトセラミックスを作製した。得られた粉体およびセラミックスは粉末X線回折法(XRD)などにより評価した。さらに、各セラミックス上でマウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1)もしくはラット骨髄由来間葉系幹細胞(RBMC)を一定期間培養し、細胞の初期付着率や形態、骨分化レベルの違いなどについて評価した。

【結果と考察】

XRDの結果より、NaApおよびKApではHAp単一相であったのに対し、MgApでは一部 β -TCP相も検出された。また、陽イオン置換アパタイトセラミックスの相対初期付着率は、純粋なHApセラミックスのそれよりも低かったが、培養24 h後の細胞形態より、すべてのセラミックス上で細胞が伸展していることが確認できた。また、骨分化評価において、最も高いアルカリホスファターゼ(ALP)活性を示したのはMgApセラミックスであった。これらのことから、今回調査した3種類の陽イオンの中で、 Mg^{2+} が骨芽細胞の分化の促進に有用であることがわかった。

[1] M. Aizawa, K. Itatani and I. Okada, *Phosphorus Res. Bull.*, **20**, 61-78 (2006).

1P-051- I

免疫賦活剤を担持させた水酸アパタイトセラミックスの免疫細胞応答性

¹ 明治大学大学院理工学研究科応用化学専攻, ² 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子免疫学分野

○加々見早苗¹ (Kagami Sanae), 木造理萌子¹, 永井重徳², 相澤 守¹

【緒言】近年、がん治療では副作用の少ない免疫療法が注目されており、この療法に用いられる一般的な免疫賦活剤として抗 CD3 抗体とコンカナバリン A (Con A) があげられる。我々はこれまでに表面にナノ気孔を備えたリン酸カルシウム微小球を薬剤徐放システム (DDS) のキャリアとし、薬剤として血管新生抑制剤を担持させた、新しい化学塞栓療法を提案している[1]。本研究は、その微小球に免疫賦活剤 (抗 CD3 抗体, Con A) を担持させ、新しい免疫療法を確立することを目的としている。今回は、その予備的検討として、水酸アパタイト (HAp) 粉体およびセラミックスに免疫賦活剤を担持させ、その徐放特性およびそれらの免疫細胞応答性を調査したので報告する。

【実験】HAp-100 粉体 (太平洋化学) ~0.01 g に対し、免疫賦活剤溶液 1.5 cm³ を加え、マイクロチューブ内で 25 °C, 48 h 振とうすることで免疫賦活剤を担持した。その後、中性および酸性条件下で免疫賦活剤の徐放特性を調査した。また、HAp-100 粉体を成形、焼成後、Con A は 1500 ppm、抗 CD3 抗体は 5 ppm の溶液に浸漬させ、免疫賦活剤担持 HAp セラミックスを得た。セラミックスに C57BL/6N マウス由来脾臓細胞を播種し、培養 1 日後、フローサイトメーターを用いて活性化免疫細胞 (CD69 陽性細胞) の割合の決定し、走査型電子顕微鏡 (SEM) による形態観察を行なった。

【結果と考察】リリース実験では、どちらの薬剤も酸性条件下の方が中性条件下よりも多くの薬剤を放出した。サイトグラムの解析結果より、どちらの薬剤を担持したセラミックスでも、活性化マーカー発現細胞の割合は増加し、特に抗 CD3 抗体を担持したセラミックス上で活性化免疫細胞の高い割合を示した。さらに、SEM による観察結果から、球状の細胞が基材上に接触していることが観察された。これらの結果から、免疫賦活剤担持 HAp セラミックスは、がん免疫療法に用いる DDS のキャリア材料として期待できる。

[1] M. Emoto *et al. Cancer Sci*, **101**, 984-990 (2010).

1P-052- I

血清存在下で分解されるゲルを作製可能な溶解性の高いアミロペクチン誘導体の開発

¹ 大阪大学大学院基礎工学研究科

○服部晃治¹ (Hattori Koji), 境 慎司¹, 中畑雅樹¹, 田谷正仁¹

【緒言】近年、生体外でより機能的な 3 次元組織体を構築するためのキーマテリアルとして、細胞の足場となる様々な機能をもったヒドロゲルの研究が広く進められている。これまで、我々のグループではフェノール性水酸基を導入したアミロペクチン誘導体 (AP-Ph) を溶解させた水溶液と西洋わさび由来ペルオキシターゼ (HRP) を用いたヒドロゲルの開発を進めてきた。アミロペクチンはウシ胎児血清 (FBS) にも含まれるアミラーゼでの分解が可能ことから、このヒドロゲルは FBS を含んだ培地中で除去が可能であるため、血管構造の構築や細胞が伸展するための空間の付与などに応用することができる。一方で AP-Ph の溶解性の低さから、これまでのヒドロゲルは白濁によって視認性が悪く、また AP-Ph の溶解に長時間の攪拌が必要といった問題があった。これらを解決するために、本報告ではフェノール性水酸基だけでなく、新たに親水基であるカルボキシメチル基を導入したフェノール水酸基導入カルボキシメチル化アミロペクチン (CMAP-Ph) を作製した。また、作製したアミロペクチン誘導体の溶解性や HRP によるゲル形成能、得られるヒドロゲルの分解性に関する調査を行った。

【実験】トウモロコシ由来のアミロペクチンにクロロ酢酸を用いてカルボキシメチル基を導入し、次いで NHS、WSCD、チラミンを用いてフェノール基を修飾することで CMAP-Ph を作製した。この CMAP-Ph を PBS に溶解させ、吸光分析を行い AP-Ph の溶液と比較することで溶解性の変化を調査した。また、得られた高分子溶液に HRP (300 U/ml) 及び H₂O₂ (1 ml) を添加することでヒドロゲルを作製し、ゲル化に要する時間を調査した。また、作製したヒドロゲルを 10 % の FBS 含む DMEM 培地中に浸して 37 °C で 48 h 静置した。

【結果と考察】CMAP-Ph はフェノール性水酸基のみを導入した AP-Ph と比較して PBS に対する溶解性が改善されていることが確認された。この CMAP-Ph 溶液に HRP と H₂O₂ をそれぞれ 300 U/mL と 1 mM となるように添加したところ、約 4 s でゲル化が可能であった。さらに、作製したヒドロゲルは血清添加培地中で 48 h 以内に分解された。これらの結果より、CMAP-Ph のヒドロゲルを用いれば、任意の形に成形した後に異なる高分子から作製したヒドロゲルで覆い、血清を含む培養液に浸すことで、細胞に対して穏和に任意の形の中空構造を形成可能であると期待できる。

1P-053- I

リゾチーム金ナノクラスター/ローズベンガル複合体の創製と光線力学的評価

¹北海道大学大学院歯学研究院歯周・歯内療法学教室, ²関西大学化学生命工学部化学・物質工学科, ³北海道大学大学院歯学研究院生体材料工学教室

○岡本一絵¹ (Okamoto Ichie), 宮治裕史¹, 宮田さほり¹, 薮佳奈子¹, 川崎英也², 赤坂 司³, 菅谷 勉¹

【緒言】

歯周病等の口腔感染症に対する抗菌的光線力学療法 (aPDT) が注目されている。今回、我々は金ナノクラスター粒子を中心に、光感受性色素ローズベンガル (RB) を配置した複合体を新規に創製、aPDT に応用することを考えた。これは金ナノクラスターが吸収した光エネルギーを共鳴エネルギー移動 (RET) により RB に受け渡し大量の一重項酸素を発生する可能性がある。本研究では、リゾチーム (Lys) によって保護された金ナノクラスター (AuNCs) を RB と複合化した Lys-AuNCs/RB 複合体を創製し、その光線力学的特性を評価した。

【実験】

塩化金酸に Lys と NaOH を添加後、攪拌し Lys-AuNCs を作製、さらに RB を添加し 2 時間攪拌、遠心濾過を行って複合体を創製した。光源は白色 LED (SPF-D2、松電舎、420-750 nm) を使用した。まず複合体の粒径測定、一重項酸素の発生、RET の発生を評価した。次に Lys-AuNCs/RB 複合体 (1 µg/mL) を *S. mutans* 懸濁液へ添加して、光照射 (1 min) を行った際の細菌に与える影響を濁度測定、コロニーカウント、SEM 観察、LIVE/DEAD 染色により評価した。また、Lys-AuNCs、Lys-AuNCs/RB 複合体、RB による濁度の比較測定を行った。さらに細胞毒性の評価として、複合体と光照射の生体細胞 (NIH-3T3) への影響を LDH および WST 測定、LIVE/DEAD 染色、免疫染色によって評価した。

【結果と考察】

Lys-AuNCs/RB 複合体の分散性は良好で、粒径約 11nm であり、一重項酸素を発生し、RET の発生が確認された。抗菌評価の結果、複合体の添加と光照射によって濁度および細菌数は低い値を示し、バイオフィーム形成量の減少、死菌を認めた。また Lys-AuNCs、Lys-AuNCs/RB 複合体、RB の比較では複合体が有意に低い濁度を示した。細胞毒性評価の結果、複合体添加と光照射による LDH、WST の値に有意差はなく、死細胞数の変化や、細胞骨格に対する影響も認められなかった。これらのことから、Lys-AuNCs/RB 複合体の光照射によって発生した一重項酸素が殺菌効果を発揮したと考えられた。また、複合体の生体細胞に対する毒性は少ないと考えられた。

1P-054- I

Bacterial adhesion behavior influenced by environmental condition

¹Department of Bioengineering, School of Engineering, The University of Tokyo, ²LIXIL Corporation

○Zhou Lu¹, Aya Noguchi¹, Makoto Nakakido¹, Kohei Tsumoto¹, Norifumi Isu², Madoka Takai¹

[Introduction] Biofilm is a tough nut to crack in health care department, food industry, water treating system, etc. Antibacterial polymer modification supposed to be an effective and popular way of dealing with this problem. However, bacteria display various adhesion characteristics depend on the local condition, the design of antibacterial polymer modification should focus on the application problems. There are so many factors that affect the bacterial adhesion include the surface wettability, surface charge, nutrition contained and flow condition of the environment and so on. Additionally, bacterial species also play an important role in biofilm formation. Understanding the bacteria-material interaction story helps people solving the biofilm related problems. We aim to figure out the influence of material surface properties on bacterial adhesion behavior in this approach and discuss on the suitable bacterial species for an antibacterial material testing.

[Experiment] *Escherichia coli* (ATCC 8739) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) are used in the experiments. Glass and polydimethylsiloxane (PDMS) were employed as substrates with different surface characters. Bacteria were cultured in nutrient rich Lysogeny broth (LB, for *E. coli*), Tryptic soy broth (TSB, for *S. aureus*) and nutrient deficiency M9 minimal medium (for either), respectively. Fluorescence microscope and scanning electron microscope (SEM) were introduced to image the adhered bacteria.

[Result and discussion] *S. aureus* could be clearly detected on glass and PDMS surface within 24 hours incubation in TSB and M9, However, *S. aureus* in TSB grew to a substantial number, huge biofilm was formed and less adhered *S. aureus* was seen in M9. *E. coli* was not able to form biofilm on neither glass nor PDMS surface despite the incubation time extended to 6 days. Altering the medium made no difference. The *S. aureus*, but not *E. coli*, in this study was found to be an ideal species for antibacterial material testing.

1P-055- I

***a*面を多く露出した水酸アパタイトセラミックス上での間葉系幹細胞の細胞応答性**

明治大学大学院理工学研究科

○山田祐大 (Yamada Yuta), 玉澤成記, 相澤 守

【緒言】水酸アパタイト (HAp) は *a* 面と *c* 面の二つの結晶面を有しており、生体内において長骨では *a* 面を、歯のエナメル質では *c* 面を多く露出している。このような組織部位による HAp の配向性の違いは、細胞の接着や分化に影響を与えていると考えられる。本研究では間葉系幹細胞の分化を促進するセラミックスを作製するため、*a* 面を多く露出した HAp セラミックスを作製し、そのセラミックス上でラット骨髄由来間葉系幹細胞 (RBMC) を培養し、その細胞応答性について調査したので報告する。

【実験】既報¹⁾にしたがって、アパタイトファイバー (AF) に対してアパタイトゲル (AG) を 30 mass% の仕込み組成で添加して混合粉体を合成し、その粉体から作製したセラミックスを「AG30%AF セラミックス」とした。また、比較として等方的な HAp 粉体から作製したセラミックスを「iHAp セラミックス」とした。細胞応答性の評価は、control (ポリスチレンプレート)、AG30%AF セラミックスおよび iHAp セラミックスを培養基材とし、RBMC を播種することで接着、増殖および分化を調査した。細胞接着は播種後 1 日の細胞の核および骨格を染色して評価した。また、細胞増殖性は播種後 1, 3, 5, 7 日の細胞数をカウントして調べた。細胞分化は播種後 2 および 3 週間の細胞のアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性を染色および定量して調査した。

【結果と考察】細胞の接着形態観察では、AG30%AF セラミックス上で培養した細胞は iHAp セラミックス上で培養した細胞と比べ伸展面積が小さかった。細胞の初期付着率は AG30%AF セラミックスが最も低かったが、増殖性はどの培養基材においても同程度であった。ALP 活性は AG30%AF セラミックス上で培養した細胞が他の 2 つの基材上で培養したものよりも高かった。これらのことから、HAp の *a* 面は間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化を誘導しているものと考えられる。

【引用文献】1) Z. Zhuang *et al.*, *Acta Biomaterialia*, **9**, 6732-6740 (2013).

1P-056- I

高強度化アパタイトファイバースキャフォールドでの株化軟骨細胞の培養とその定量評価

明治大学大学院理工学研究科

○吉田友資 (Yoshida Yusuke), 本田みちよ, 相澤 守

【緒言】

軟骨組織は血管を持たず、自己修復能の乏しい組織である。そこで、近年ではティッシュエンジニアリングによる軟骨組織再生が注目されている。これまでに我々は、繊維状の水酸アパタイトを用いて、三次元的に細胞培養が可能なアパタイトファイバースキャフォールド (AFS) の開発に成功している^[1]。今回は AFS の機械的強度を向上させた高強度化 AFS^[2] を用いて株化軟骨細胞 ATDC5 を培養し、その細胞増殖性を調査するとともに軟骨基質の定量を行なったので報告する。

【実験】

高強度化 AFS は既報^[2]にしたがい、気孔形成剤である 150 μm 径のカーボンビーズ (CB) のみを添加したものと 150 μm 径と 20 μm 径の CB を等量添加したものと 2 種類の高強度化 AFS (直径約 15 mm ϕ , 高さ約 2.5 mm, 気孔率 93~95%) を作製した。各高強度化 AFS に ATDC5 (1×10^5 個) を播種し、細胞増殖性を DNA の定量によって評価した。軟骨基質の発現は Sirius red & Fast green (S&F) 染色および II 型コラーゲンの免疫染色によって調査し、軟骨基質の成分であるグリコサミノグリカンの定量を行なった。

【結果と考察】

ATDC5 は高強度化 AFS 内において良好な増殖を示した。S&F 染色の結果から、コラーゲンが産生されていることがわかった。免疫染色の結果より、ここで発現しているコラーゲンは II 型である可能性が高い。また、150 μm 径の CB のみを添加している高強度化 AFS では、より内部まで細胞が侵入し、II 型コラーゲンはより広い範囲で発現していた。これは 150 μm 径の CB 由来の気孔が細胞侵入および軟骨基質の産生に有利に働いたためと考えられる。さらに、高強度化 AFS 内において培養日数とともにグリコサミノグリカン量が増加することが確認された。以上の結果より、高強度化 AFS は株化軟骨細胞が増殖し、軟骨基質を産生するための優れた環境を提供していると考えられる。

[1] M. Aizawa *et al.*, *Phosphorus Res. Bull.*, **17**, 268-273(2004). [2] S. Motojima *et al.*, *Bioceramics*, **22**, 177-180(2009).

1P-057- II

REDV 固定化表面上での血管内皮前駆細胞ホーミングの定量解析

¹ 国立循環器病研究センター研究所生体医工学部, ² 龍谷大学大学院理工学研究科物質化学専攻

○北川和宜^{1,2} (Kitagawa Kazuki), 馬原 淳¹, 中沖隆彦², 山岡哲二¹

【緒言】血管の恒常性や微細血管網の発達に関与する血管内皮前駆細胞は、白血球と同様に血管内膜上の選択的なリガンドとの相互作用によりローリングして目的部位へホーミングする。我々はインテグリンリガンドとして知られている REDV ペプチドを脱細胞人工血管の内腔表面に固定化することで、早期内皮化に伴う小口径人工血管の開存を報告した。これには、内皮系前駆細胞がリガンドで捕捉され、ローリングしながら接着するという人工的な内皮化プロセスが関与しているものと考えている。しかしながら血管内皮前駆細胞のローリングに REDV ペプチドが関与することは未だ報告されておらず、ローリング細胞の割合や、細胞接着効率に対するリガンド密度の影響は明らかにされていない。そこで本研究では、REDV ペプチド固定化マイクロ流路を用いて、せん断流下における内皮細胞のホーミング過程の定量化を試みた。

【実験】マイクロ流路（幅：5 mm、深さ：0、2 mm）表面に MEONP ユニットを含む MPC ポリマーをコートした後、ジエチレングリコールを末端に持つ REDV (diEG-REDV) を固定化した。コントロール界面としてグリシン固定化表面を用いた。インテグリン $\alpha 4\beta 1$ が発現しているヒト臍帯内皮静脈細胞 (HUVEC、 1×10^5 cells/ml) 懸濁液をマイクロ流路へ注入し、 1 dyn/cm^2 のせん断応力下で細胞の流れを観察し、捕捉細胞、ローリング細胞、接着細胞の割合と、移動速度を定量化した。

【結果と考察】マイクロ流路に対する MPC ポリマーのコーティングとペプチドの固定化は、接触角、顕微鏡観察によって確認した。マイクロ流路へ細胞を流した場合、REDV ペプチド界面上では、50%の細胞が表面に捕捉されローリングし、その平均移動速度は $1, 5 \text{ mm/sec}$ だった。コントロール表面では、 $2, 4 \text{ mm/sec}$ で 29%の細胞がローリングしていたことから、21%の細胞は REDV リガンド選択的なローリングが誘起されていると考えられる。この系に対して、遊離の REDV ペプチドを添加した場合、ローリング細胞の割合は、コントロール界面で観察された値まで減少した。一方で、界面に接着する細胞はいずれの場合でも観察されなかった。これらの結果より、REDV ペプチド固定化表面はインテグリン $\alpha 4\beta 1$ を介してせん断流下で細胞ローリングを誘導できることが示された。また、細胞が界面で接着するためには REDV ペプチドの密度向上が重要であることも判明した。

1P-058- I

CaO-P₂O₅-SiO₂-B₂O₃ 系ガラスセラミックスと免疫細胞との相互作用

¹ 明治大学大学院理工学研究科, ² 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

○木造理萌子¹ (Kizukuri Rihoko), 本田みちよ¹, 永井重徳², 相澤 守¹

【緒言】

近年、がんの治療法として患者自身の免疫細胞を体外で培養・活性化し、再び患者の体内に戻すことにより治療する「養子免疫療法」が注目されている。我々は免疫賦活効果を備えた新規なバイオセラミックスの創製を最終目的とし、これまでにホウ素含有アパタイト (BAp) を主成分とする CaO-P₂O₅-SiO₂-B₂O₃ (CPSB) 系ガラスセラミックス上でのマウス由来脾臓細胞の応答性を調査したところ、ヘルパーT 細胞とキラーT 細胞の細胞比率が増加することを明らかにしている[1]。本研究では、その要因がセラミックスと細胞との直接的な相互作用によるものと作業仮説を立て、その検証を行なった。

【実験】

既報 [2] に準じて、ゾルゲル法により Ca/P モル比を 1.67, 2.00 および 2.50 に変化させた 3 種類の CPSB 系ガラスセラミックスを作製した。得られたセラミックスに C57BL/6N マウス由来脾臓細胞を播種した。また、Transwell® インサート上にセラミックスを置くことで、セラミックスと細胞が直接接触しない環境での培養を行なった。Control には細胞培養用ポリスチレンプレートをを用いた。培養 1 日後、フローサイトメーターを用いて各種免疫細胞の割合を調査した。

【結果と考察】

CPSB 系ガラスセラミックス上で直接培養した脾臓細胞は、Control と比較してヘルパーおよびキラーT 細胞の割合が増加していた。一方、セラミックスと接触させずに培養した際は、T 細胞の割合に大きな変化は見られなかった。すなわち、セラミックスに T 細胞が接触することで刺激が与えられていることが示唆された。BAp はその構造中に糖鎖と結合することができる BO₂ 基を有しており、セラミックス中の BO₂ 基と細胞表面の糖鎖が結合することによって、T 細胞へ刺激が与えられていると考えられる。

[1] R. Kizukuri *et al.*, 16th Australasian BioCeramics Symposium, Brisbane, Australia, 5th-6th, December 2016.

[2] M. Aizawa *et al.*, *J. Ceram. Soc. Jpn*, **103**, 547-551(1995).

1P-059- I

温度応答性高分子ブラシ修飾シリカビーズを用いた細胞分離の検討

¹慶應義塾大学大学院薬学研究科, ²東京大学大学院工学系研究科

○永田勇貴¹ (Nagata Yuki), 長瀬健一¹, 秋元 文², 金澤秀子¹

【緒言】近年、細胞移植により生体の治癒能力を引き出す再生医療が新たな治療法として展開されており、移植細胞を分離・精製する技術の重要性が高まっている。しかし、代表的な細胞分離方法であるフローサイトメトリー (FACS)、磁気細胞分離法 (MACS) は、細胞表面への修飾が必要となり、移植細胞の精製法としては望ましくない。そこで本研究では、温度応答性高分子ブラシをシリカビーズ表面に原子移動ラジカル重合 (ATRP) を用いて修飾し、これを用いた細胞分離カラムを作製した。このカラムを用いて、細胞を未修飾で分離する検討をおこなった。

【実験】シリカゲルビーズ (粒径: 75-150 μm) 表面にシランカップリング反応により ATRP 開始剤を修飾し、ATRP により温度応答性高分子ポリ *N*-イソプロピルアクリルアミド (PNIPAAm) ブラシを修飾した。この際、NIPAAm モノマーの仕込み濃度を調節することで表面に修飾される PNIPAAm 鎖長を制御した。作製したシリカビーズを CHN 元素分析により評価し、反応溶液中に生成した PNIPAAm の分子量をゲルろ過クロマトグラフィー (GPC) により測定した。温度応答性シリカビーズを固相抽出カラムに充填した。作製したカラムにヒト骨髄性白血病細胞 (HL-60) を負荷し、37°C での保持挙動、20°C での溶出挙動を観察した。

【結果と考察】CHN 元素分析の結果より、炭素、窒素の質量分率が ATRP の前後により増加していることから、ATRP により PNIPAAm がシリカビーズ表面に修飾されていることを確認した。また GPC の結果より、分子量が NIPAAm の仕込み濃度に伴い増加することがわかった。作製したカラムに HL-60 を 37°C で負荷したところ、シリカビーズ表面に修飾された PNIPAAm の鎖長により保持挙動が異なることがわかった。また 20°C での HL-60 の溶出率もシリカビーズ表面の PNIPAAm 鎖長により異なることがわかった。これらはシリカビーズ表面に修飾された PNIPAAm の濡れ性変化に起因すると考えられる。これらの結果により、温度応答性高分子ブラシ修飾シリカビーズを充填した細胞分離カラムを用いて温度変化による細胞の保持、溶出が可能であることがわかった。

1P-060- I

イノシトールリン酸を修飾した水酸アパタイト焼結体の免疫細胞に与える表面粗さの影響

¹明治大学, ²東京医科歯科大学

○上野太郎¹ (Ueno Taro), 木造理萌子¹, 山田清貴¹, 永井重徳², 相澤 守¹

【緒言】

現在、副作用の少ない新規のがん治療法として養子免疫療法が注目されている。我々は養子免疫療法における新規の培養基材の開発を目的として、イノシトールリン酸 (IP6) を水酸アパタイト (HAp) セラミックスに表面修飾した「IP6-HAp セラミックス」が高い免疫賦活効果を示すことを明らかにしている[1]。本研究では、表面粗さを変化させた IP6-HAp セラミックスを作製し、それらに対するマウス由来脾臓細胞の接着性について調査したので報告する。

【実験】

HAp セラミックスは太平化学製 HAp-100 粉体を用いて、1200 °C で 5 時間焼成して作製した。鏡面研磨後、#60 または #2000 の研磨紙でセラミックス表面を研磨して表面粗さの異なる HAp セラミックスを得た。このセラミックスを IP6 溶液にインキュベータ (37 °C, 5% CO₂) 内で 24 時間浸漬させた。ついで、 $1.0 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{cm}^{-3}$ の C57BL/6N マウス由来脾臓細胞を各セラミックス上に播種し、培養 1 日後、フローサイトメーターにより T 細胞の割合を測定するとともに、走査型電子顕微鏡法 (SEM) および抗 CD3 抗体を用いた免疫染色により形態観察を行なった。

【結果と考察】

#60 および #2000 の研磨紙を用いて作製した IP6-HAp セラミックスの表面粗さ R_a は、それぞれ $2.025 \pm 0.049 \mu\text{m}$ および $0.056 \pm 0.009 \mu\text{m}$ であった。これらのセラミックス上に免疫細胞を培養したところ、粗いセラミックスの方が平滑なものよりも T 細胞の割合は増加した。SEM による形態観察の結果から、細胞のセラミックス上への接着が観察され、特に粗いセラミックスでは研磨痕に沿って細胞が接着していた。また、免疫染色の結果から、各セラミックス上で CD3 陽性の細胞が観察されたことから、セラミックス上には T 細胞が接着していることが分かった。表面が粗くなると、材料と細胞との接触箇所が増えるため、T 細胞の割合が増加したものと考えられる。

[1] 相澤 守・中村まり子・山田清貴・永井重徳、特願 2014-192763

1P-061-Ⅱ

AFS 内三次元培養時の Hypoxia が P19.CL6 cells 心筋分化に与える影響の解析

上智大学大学院理工学研究科

○高野宏基 (Takano Hiroki), 神澤信行

【緒言】

新薬開発において心毒性に関する薬剤の安全性評価を行うための三次元 *in vitro* 心筋モデルが必要とされている。そこで我々は明治大学の相澤らによって作製された直径 150 μm のマクロポアと、apatite-fiber の絡み合いにより生じるミクロポアを合わせ持つ多孔体、かつ優れた生体親和性を示す apatite-fiber-scaffold (以下 AFS) を足場材料として用い、三次元心筋モデル作製を試みた。P19.CL6 cells は DMSO 存在下で浮遊培養することで凝集体を形成し、その後静置培養することで心筋分化誘導されることが報告されている。先行研究では、AFS 内で DMSO を用いず培養すると、心筋分化マーカー遺伝子(*nkx2.5*, *tnnt2*)を発現することが示された。このことから AFS 内培養が心筋様細胞への分化を促進する可能性が考えられた。本研究では AFS 内培養時の環境要因の一つとして低酸素状態(Hypoxia)に着目した。そして Hypoxia と心筋分化の関係を明らかにするために Hypoxia 時の P19.CL6 cells における心筋関連遺伝子の発現様式を調べた。

【実験】

1) AFS 内培養における細胞局在を SYTOX-Green 染色により観察した。2) 分化誘導時と AFS 内培養時の P19.CL6 cells において HIF1- α の核移行を免疫蛍光染色により観察した。3) Hypoxia の心筋分化への影響を調べるために酸素濃度 1.0% 下、dish 培養の P19.CL6 cells において心筋分化関連因子(*GATA4*, *nkx2.5*, *tnnt2*, *HCN4*)の遺伝子発現解析を行った。

【結果と考察】

1) より経時的に細胞塊が形成されることを確認した。2) より AFS 内培養された P19.CL6 cells において HIF1- α の核移行が確認された。3) より酸素濃度 1.0% 下で dish 培養した P19.CL6 cells では心筋最終分化を示す *tnnt2* のみ遺伝子発現を確認できなかった。2) 3) の結果から AFS 内培養時の Hypoxia は P19.CL6 cells における *GATA4*, *nkx2.5*, *HCN4* の遺伝子発現を促進すると考えられる。また 3) の結果から過去に AFS 内培養時の P19.CL6 cells で確認された *tnnt2* の遺伝子発現には AFS 内の三次元培養により生じる別の要因が関わっていると考えられる。

1P-062-Ⅰ

PMEA 類似高分子／水界面の微細構造とタンパク質吸着挙動の相関性評価

¹九州大学大学院工学府, ²九州大学先端物質化学研究所, ³山形大学有機材料システム研究推進本部

○上田智也¹ (Ueda Tomoya), 村上大樹^{1,2}, 田中 賢^{1,2,3}

【緒言】多くの医療現場で活用されている人工臓器や人工血管など、生体組織や生体成分に接触する材料には生体親和性が必須である。当研究室では合成高分子の表面に形成される水和層、特に高分子と緩やかに相互作用する「中間水」に着目して研究を行い、この中間水が生体親和性を定める重要な一因であることを明らかにしてきた。また最近新たに、中間水を有する合成高分子／水界面において高分子と水の相分離により高分子密部・疎部がナノメートルスケールで分布した微細構造の存在が確認され、中間水の存在や生体親和性との関係が注目されている。本研究では、原子間力顕微鏡を用いて吸着タンパク質分布を観察し、また微細構造／タンパク質間の相互作用を測定することで、微細構造と生体反応の重要な初期過程であるタンパク質吸着挙動との相関を解明することを目的とした。

【実験】中間水を有し優れた生体親和性を示す PMEA およびその類似高分子であり中間水を有さないポリ (*n*-ブチルアクリレート) (PBA) の各高分子膜をスピニング法により作製した。フォースカーブ測定はフィブリノーゲン (FNG) 修飾したカンチレバーを用い、37℃にて高分子／リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 界面で発現した高分子密部・疎部のそれぞれで行った。また FNG-PBS 溶液中および FNG 吸着後洗浄・乾燥を行った PMEA の界面観察もあわせて行った。

【結果と考察】フォースカーブ測定の結果、高分子密部では PMEA、PBA どちらにおいても FNG-界面間の吸着力が観察された。また、高分子疎部に着目すると中間水を有さない PBA では僅かな引力が働いていた。一方、中間水を有する PMEA では緩やかな斥力のみを示し、吸着力が観察されなかった。PMEA の高分子疎部に FNG が吸着しない様子は、FNG 溶液中の吸着 FNG が PMEA の高分子密部に選択的に分布していることから確認された。さらに、洗浄・乾燥後の界面では FNG 吸着量が明らかに減少していたことから PMEA 表面に存在する FNG は脱離しやすいと考えられる。これらの結果はこれまでにアルブミンや FNG の CD スペクトル測定や動的な吸着・脱離挙動解析から報告されている、PMEA 表面に吸着した FNG は変性が低く、脱離速度定数が大きく脱離しやすいという結果と一致している。講演ではフィブロネクチン等の他種タンパク質の吸着挙動についてもあわせて議論する。

1P-063- I

複数の血液凝固過程をブロックする抗血栓性 PEEK の創製

東京大学大学院工学系研究科

○矢野口聡 (Yanokuchi Satoshi), 井上祐貴, 石原一彦

【緒言】 本研究は、オールプラスチック製医療デバイスへの応用を志向した、優れた抗血栓性を有するスーパーエンジニアリングプラスチックの創製を目的とする。医療デバイスのオールプラスチック化は、3Dプリンター技術の併用によるテーラーメイド医療デバイスの創製や、CT や MRI といった医療機器による診断を阻害しない非干渉性の獲得を可能とする。スーパーエンジニアリングプラスチックは、優れた力学的強度と化学的安定性を持つことから、金属やセラミックスに代わる次世代医療材料として、これらのデバイスの設計に極めて有効である。とりわけ poly(ether ether ketone) (PEEK) は、モノマー溶液中での紫外光照射により表面にラジカルを発生し、ポリマー鎖を形成することから、材料と生体組織との接触界面における相互作用を制御することが可能となる。この自己開始光グラフト重合と呼ばれる表面修飾法により、PEEK 表面に 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) ポリマーとヘパリンを修飾する。MPC ポリマーとヘパリンは、それぞれ血小板吸着の抑制と血液凝固因子の活性化抑制を担うことから、複合効果による複数の血液凝固過程の進行抑制が期待できる。加えて MPC ポリマーのタンパク質吸着抑制によってヘパリンの活性維持を可能とする。本研究では、PEEK 表面に MPC ポリマーとカチオン性ポリマーをパターンニングし、負電荷を持つヘパリンを静電的相互作用によってカチオン性ポリマー表面に固定化することで MPC ポリマーとヘパリンのハイブリッド表面を構築する。

【実験】 自己開始光グラフト重合により、MPC、[2-(methacryloyloxy)ethyl]-trimethylammonium chloride (TMAEMA) を PEEK 表面にそれぞれグラフト化した。ヘパリンを 0.1 wt% となるよう PBS で調製し、TMAEMA-graft-PEEK 片を 6 時間浸漬後、洗浄、減圧乾燥した。表面解析として、XPS による表面元素分析および表面ゼータ電位測定を行った。

【結果と考察】 ヘパリン溶液浸漬後の TMAEMA-graft-PEEK について、表面元素分析では TMAEMA のアミン基およびヘパリンのスルホン酸基に由来するピークがそれぞれ検出された。表面ゼータ電位はヘパリン溶液浸漬の前後で 46 mV から -20 mV に低下した。以上の結果から、TMAEMA-graft-PEEK 表面へのヘパリンの固定化が示された。

本研究の一部は、AMED 戦略的イノベーション創出推進プログラム (S-イノベ) の研究費によった。

1P-064- I

側鎖長およびその間隔を制御した水酸基導入高分子の合成と抗血栓性評価

¹九州大学大学院工学府, ²九州大学先端物質化学研究所, ³山形大学有機材料システム研究推進本部

○藤田直輝¹ (Fujita Naoki), 小林慎吾², 田中 賢^{1,2,3}

【緒言】 人工心肺などの血液接触型医療機器の表面には、血栓形成を抑制する抗血栓性が要求される。我々はこれまでに、優れた抗血栓性を示す Poly(2-methoxyethyl acrylate) (PMEA) が抗血栓性を発現する機構の解明を目指した研究を進めてきており、水と接触した材料表面には、分子構造と運動性の異なる水分子からなる水和層が存在し、中でも材料表面に弱く束縛された「中間水」と呼ばれる水和構造が抗血栓性発現において重要な役割を果たしていることを報告してきた。本研究では、側鎖末端官能基をより水素結合能の高い水酸基に変更した高分子を合成し、高分子の一次構造と発現する中間水量および抗血栓性との相関について検討を行った。具体的には、水酸基を有する側鎖における側鎖長および側鎖間隔を制御した高分子の合成を行い、得られた高分子が発現する中間水量と、抗血栓性との相関性について検討した。

【実験】 モノマーとして、アリル位に水酸基を保護基で保護した置換基を有するシクロオクテン誘導体を合成し、第二世代 Grubbs 触媒 (G2) を用い、アルゴン雰囲気下、CHCl₃ 中で開環メタセシス重合 (ROMP) を行った。その後、水素添加反応および脱保護反応を行うことで、側鎖間隔が規則的な高分子を合成した。得られた高分子の構造解析は NMR を用いて行い、GPC 測定により分子量評価を行った。材料表面の親水性評価として、スピンコート基板を用いた静的接触角測定を行った。また、各高分子を脱イオン水中に浸漬させることで含水試料を調製し、示差走査熱量計 (DSC) を用いた高分子の水和構造解析を行った。さらに、抗血栓性評価として、ヒト全血より遠心分離で調製した血小板懸濁液を 37 °C で 1 時間ポリマーコート基板に接触させ、血小板の粘着数と形態を SEM 観察により確認した。

【結果と考察】 G2 を用いたシクロオクテン誘導体の ROMP は、アリル位に置換基を持つモノマーを用いた場合には regio 選択的に進行し、高い *trans*-head-to-tail 規則性を有する側鎖間隔が規則的な高分子が得られていることを確認した。DSC による解析では、いずれの高分子においても -40 °C 付近で中間水の低温結晶形成が観測され、高分子の側鎖長および側鎖間隔の違いにより異なる中間水量が観測された。ヒト血小板粘着試験により合成した高分子の抗血栓性評価を行い、中間水量との相関性について検討した結果、概ね中間水量の増大に伴って血小板粘着数が減少する傾向が得られた。

1P-065-Ⅱ

血管中膜異方性構造の部位依存性

¹大阪大学大学院工学研究科, ²大阪大学大学院医学系研究科

○永石武流¹ (Nagaishi Takeru), 小笹良輔¹, 神崎万智子², 坂田泰史², 森井英一², 倉谷 徹², 中野貴由¹

【緒言】血管中膜は、エラスチン線維とコラーゲン線維により構成され、*in vivo* 応力に対する荷重支持により、血管組織全体の形態維持を行う。従来の血管研究では、血管内腔径や血管厚さ変化など基質の量的変化についての議論が多く、マクロ構造の変化を伴わない、動脈解離などの血管疾患誘発メカニズムを十分に説明できていない。一方で、血流・血圧変化により惹起される応力場は、血管円周方向への異方性を示す。したがって、*in vivo* 応力の大きさ・方向に対応した、血管中膜の微細構造変化が血管の力学機能発揮に必須であると考えられるものの、未解明な部分が多い。本研究では、*in vivo* 応力場の異なる血管として、心臓近位の大動脈から末梢血管まで動脈各部位に注目し、中膜コラーゲン線維、エラスチン線維配向性変化を明らかにすることで、血管中膜における微細構造の部位依存性を解明するとともに、その制御要因を明らかにすることを目的とした。

【実験】ラットより動脈を摘出し、4% PFA にて組織固定を行った。パラフィン包埋後、5 μm に薄切した試料に対して、Picrosirius red 染色、Sulforhodamine B 染色を行い、コラーゲン線維とエラスチン線維をそれぞれ可視化した。コラーゲン配向性は、複屈折顕微鏡法を用いて、523・543・575 nm の3波長の円偏光にて定量解析を行った。エラスチン線維配向性は、共焦点レーザー顕微鏡にて取得した血管横断面画像を基に、Image J により各ピクセルの輝度を算出、エッジ検出アルゴリズムを用いて定量化した。One-way ANOVA により有意差検定を行った。

【結果と考察】血管円周方向への配向化コラーゲン量は、上部胸大動脈にて最大値を示し、剛性構造を有することが明らかとなった。一方で、エラスチン層数は、血流量の最も多い上行大動脈と大動脈弓において最大値を示し、血管種によって異なるエラスチン配向性を示した。以上の結果より、血管中膜の異方性構造は、局所的な血流、血圧によって規定され、*in vivo* 応力場に応じた、部位依存的な最適化構造を形成することが示唆された。

1P-066-Ⅱ

細胞の生物機能可視化のためのモレキュラービーコン内包ゼラチンナノ粒子の作製

京都大学ウイルス・再生医科学研究所

○村田勇樹 (Murata Yuki), 城潤一郎, 田畑泰彦

【緒言】

細胞移植治療のさらなる発展には、移植細胞の生体内における分布や機能を、生体の外部から非侵襲的に可視化するイメージング技術の研究開発が必要である。モレキュラービーコン (MB) は、両末端に蛍光分子と消光分子をもつ核酸誘導体であり、標的核酸との特異的結合を介した構造変化によって蛍光強度が変化し、細胞内でさまざまな生物機能に関係する mRNA を検出することができる。そこで本研究では、MB を効率よく細胞内に送達・機能させることができる担体 (キャリア) を作製することを目的とした。

【実験】

ゼラチン (等電点 9.0、重量平均分子量 100,000、新田ゼラチン株式会社より供与) のカルボキシル基に対して、異なる仕込みモル比のスペルミンを結合させることで、スペルミン導入ゼラチンを作製し、2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) 法によって、その導入率を算出した。次に、スペルミン導入ゼラチン水溶液にアセトンを滴下することでコアセルベーションを形成させた。その後、グルタルアルデヒド水溶液を添加し、ゼラチンを化学架橋することでゼラチンナノ粒子を得た。過剰量のグリシン水溶液により未反応のアルデヒド基をブロックし、遠心分離によりナノ粒子を水洗浄した。得られたナノ粒子のサイズおよびゼータ電位を、それぞれ動的光散乱測定 (DLS) および電気泳動光散乱測定 (ELS) により測定した。また、得られたゼラチンナノ粒子と MB を混合することで、MB 内包ゼラチンナノ粒子を作製した。

【結果と考察】

スペルミンの仕込みモル比の増加とともに、ゼラチンへのスペルミン導入率は増加し、ある仕込み比以上で一定となった。これは、ゼラチンと反応できるスペルミン分子数が増加したためであり、ゼラチンの立体障害により導入率が一定となったと考えられる。また、得られたスペルミン導入ゼラチンナノ粒子のサイズは 130~200 nm であり、ゼータ電位は +8~+10 mV であった。本発表では、MB 内包ゼラチンナノ粒子の機能評価および細胞内 mRNA のイメージング結果についても報告する。

1P-067-Ⅱ

ケイ酸ゲル被覆ポリイオンコンプレックスによるメッセンジャーRNA デリバリー

¹ 東京大学大学院工学系研究科, ² 東京大学大学院医学系研究科

○ 亀川凜平¹ (Kamegawa Rimpei), 内藤 瑞², 内田智士¹, 宮田完二郎¹

メッセンジャーRNA(mRNA)は、ゲノムへの挿入変異がなく、非分裂細胞にもタンパク質産生を誘導できることから、近年 DNA に代わる遺伝子治療用医薬として注目を集めている。しかし、mRNA は生体内において酵素分解を受けやすく、かつ細胞による取り込み効率が極めて低いことが知られている。したがって、mRNA による遺伝子治療の実現には、mRNA を酵素分解から保護し、標的細胞内へ送達する核酸キャリアの構築が重要だと考えられる。mRNA とカチオン性ポリマーの混合により得られるポリイオンコンプレックス(PIC)は、内包 mRNA を酵素分解から保護できるため核酸キャリアとして有望視されている。その一方で、生体内環境下における安定性が十分でないことや標的細胞指向性に乏しいことが改善すべき課題として残されている。

そこで本研究では、mRNA 内包 PIC の生体内環境下における安定性向上と標的能付与を目的とし、PIC 溶液とケイ酸溶液の混合による PIC 表面のケイ酸ゲル被覆を検討した。粒径が約 100 nm の mRNA 内包 PIC 溶液とケイ酸溶液を混合したところ、粒径が 10-20 nm 増加し、ゼータ電位が負へと反転した。このことから PIC 表面がケイ酸ゲルで被覆されたことが示唆された。また、ケイ酸ゲル被覆 PIC は被覆なしの PIC と比べ生理イオン濃度下における優れたコロイド安定性およびポリアニオン交換反応耐性を示した。また、ケイ酸ゲル被覆 PIC を用いて培養マクロファージに対するルシフェラーゼ mRNA 導入実験を行ったところ、PIC に比べて 100 倍以上のルシフェラーゼ発現が得られた。さらに、ケイ酸ゲル被覆 PIC は生理条件下でアニオン性表面を有し、マクロファージは細胞表面にポリアニオンを認識し取り込むスカベンジャーレセプターを有する。このことから、スカベンジャーレセプターの競合阻害剤であるデキストラン硫酸共存下での mRNA 導入実験を行ったところ、取り込み量が 60%低下したことから、ケイ酸ゲル被覆 PIC はスカベンジャーレセプターを介してマクロファージに取り込まれたことが示唆された。以上より、mRNA 内包ケイ酸ゲル被覆 PIC は、マクロファージ選択的な mRNA デリバリーに向けて有望な核酸キャリアとなり得ることが示された。

1P-068-Ⅱ

Prolonged secretion of IL-10 by transfected macrophages with cationized gelatin nanospheres incorporating IL-10 mRNA

京都大学ウイルス・再生医科学研究所

○ 許 峻睿 (Hsu Chun Jui), 城潤一郎, 佐久間恵, 田畑泰彦

The objective of this study is to design the non-viral nano carrier of mRNA delivery system for the anti-inflammatory cytokine secretion in a controlled manner. Ethylenediamine was chemically introduced to the carboxyl groups of gelatin to obtain a cationized gelatin. Coacervation was performed by adding acetone to the cationized gelatin aqueous solution, followed by the chemical crosslinking with glutaraldehyde to obtain cationized gelatin nanospheres. Anti-inflammatory related mRNA (Interleukin (IL)-10 mRNA) was prepared by the in vitro transcription method. The IL-10 mRNA was gently mixed in aqueous solution with different types of cationized gelatin nanospheres to obtain cationized gelatin nanospheres incorporating IL-10 mRNA (IL-10 mRNA C-NS). The size and surface charge of IL-10 mRNA C-NS changed by the amount of cationized gelatin nanospheres and the cationized extent of cationized gelatin used for nanospheres preparation. Gene transfection experiments revealed that the secretion level of IL-10 depended on the characteristics of IL-10 mRNA C-NS, such as their intracellular uptake and degradation. The internalization of IL-10 mRNA C-NS to macrophages and the release profile of IL-10 mRNA from the C-NS will be reported.

1P-069-Ⅱ

親水性物質の内包を可能とする PEG 修飾 encapsulin 中空ナノ粒子の開発

¹ 東京農工大学大学院工学府応用化学専攻, ² 東京農工大学大学院工学府生命工学専攻

○園瀧誠一¹ (Sonotaki Seiichi), 高見 拓¹, 野口恵一², 養王田正文², 村上義彦¹

【緒言】

タンパク質や核酸などの親水性の生体高分子を薬物として利用するためには、血中において目的部位への送達を補助する薬物キャリアが必要である。本研究では、親水性物質のための性能が良い薬物キャリアを開発するため、細菌由来のタンパク質である encapsulin 中空ナノ粒子の薬物キャリアとしての応用を目指した。encapsulin 中空ナノ粒子は、タンパク質である encapsulin のホモ 60 量体が形成する直径約 20 nm の強固な中空粒子である。この粒子は、発現過程において特定の酵素の内包が可能であることが報告されており、親水性物質を内包する薬物キャリアとしての応用が期待できる。そこで本研究では、ポリエチレングリコール (PEG) を表面修飾した encapsulin 中空ナノ粒子を調製し、その解離および再構成の制御方法を確立することで、粒子の薬物キャリアとしての応用を目指した。

【実験】

放線菌由来の encapsulin 遺伝子に変異を導入することで、表面にアミノ基を配置した encapsulin 中空ナノ粒子を構築した。次に、methoxy-PEG-SCM を粒子に反応させることで、表面が PEG に修飾された粒子を調製した。得られた PEG 修飾粒子をタンパク質変性剤で解離させ、透析による粒子の再構成を検討した。また、新奇な再構成法として、ゼオライトを利用した粒子の再構成を検討した。

【結果と考察】

透析による PEG 修飾粒子の再構成を検討した結果、高い再構成率で粒子の再構成が可能になったことが明らかになった。また、この方法によって、特定の酵素ではない親水性物質でも粒子に内包できることがわかった。しかし、透析による粒子の再構成過程においては、内包させる親水性物質がタンパク質変性剤に接触してしまうため、タンパク質の内包は困難である。この問題を解決するために、ゼオライトを利用した PEG 修飾粒子の再構成法を検討した結果、内包させる親水性物質をタンパク質変性剤に接触させずに、粒子の再構成が可能であることが示唆された。

1P-070-Ⅱ

多孔質粒子を「一段階乳化」で調製する新技術の開発と経肺投与 DDS への応用

東京農工大学大学院工学府応用化学専攻

○西村真之介 (Nishimura Shinnosuke), 高見 拓, 村上義彦

【緒言】

肺は広い表面積を有し、肺胞腔内と毛細血管の距離が非常に近い。肺を薬物の送達経路として利用する「経肺投与法」を実現するためには、高い肺送達能と肺内の免疫機構からの回避能を付与された薬物キャリアが必要である。我々は、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸からなる両親媒性ブロック共重合体の水-油界面への配向性と自己乳化特性を巧みに利用することによって、「一段階のみの乳化操作」による多孔質粒子の新奇な調製方法^[1]を提案してきた。本研究では、この新奇な調製法によって得られる多孔質粒子を経肺投与用の薬物キャリアとして応用することを目的とし、幾何学径および表面形態の異なるさまざまな粒子の空気動力学的動態を評価することによって、高い肺送達能および肺胞の免疫機構からの回避能を両立する粒子の開発を検討した。

【実験】

組成が異なる末端メトキシ化両親媒性ブロック共重合体 PEG-*b*-PLA を用い、一段階乳化による多孔質粒子形成法^[1]における乳化速度を調整することによって、約 5 あるいは 10 μm の幾何学径を有し、表面形態のみが異なる多孔質粒子を調製した。得られた粒子をアンダーセンノンバーブルサンプラー (模擬肺) によって分級することにより、肺内の各部位における粒子沈着率を評価した。さらに、分級後の粒子の表面形態を走査型電子顕微鏡 (SEM) によって評価した。

【結果と考察】

無空孔粒子は鼻腔において最も高い沈着率を示したのに対し、多孔質粒子は気管支において高い沈着率を示した。このことから、無空孔粒子に対する多孔質粒子の肺送達能の優位性が示された。また、分級後の粒子の形態を観察した結果、肺内の免疫機構を回避できると考えられる 3 μm 以上の粒径を有する多孔質粒子が、治療効果を期待できる気管支で深く沈着することが明らかとなった。以上の結果から、本研究において得られた多孔質粒子は、高い効率で肺内へ送達され、かつ、沈着後生体内の免疫機構を回避できることが期待される薬物キャリアであると考えられる。本発表では、肺結核の治療薬であるリファンピシンを内包した粒子の肺内沈着挙動も併せて示す。

[1] Takami, T., Murakami, Y., *Langmuir*, **30**, 3329-3336 (2014)

1P-071-Ⅱ

温度応答型生分解性インジェクタブルポリマーとリポソームを用いた薬物徐放システム

¹ 関西大 ORDIST, ² 関西大化学生命工, ³ 関西大医工薬研セ

○能崎優太¹ (Yoshizaki Yuta), 葛谷明紀^{2,3}, 大矢裕一^{2,3}

【緒言】近年、生体外ではゾル状態、生体内に注入すると *in situ* でヒドロゲルを形成するインジェクタブルポリマー (IP) に関する研究が注目を集めている。我々はこれまで、カプロラクトン-グリコール酸共重合体 (PCGA) とポリエチレングリコール (PEG) から成る ABA 型トリブロック共重合体 (PCGA-*b*-PEG-*b*-PCGA: tri-PCG) を用いた生分解性 IP に関する研究を展開してきた¹⁾。tri-PCG 水溶液は、室温下ではゾル状態であり、体温付近で即座にゲル状態へと転移するので、水溶性薬物の徐放システムとして有用であると考えられる。しかし、低分子量の薬物はゲルの網目に比べて小さいため、単に tri-PCG 水溶液に薬物を混合してゲルを調製しただけでは、薬物の徐放を達成するのは難しい。そこで本研究では、薬物キャリアとして様々な研究が行われてきたリポソームを tri-PCG 水溶液に混合することで薬物徐放システムの構築を試みた。

【実験】卵黄ホスファチジルコリンの脂質薄膜を蛍光物質ピラニン (モデル薬物) と消光剤 DPX を含む水溶液で分散した。分散液を孔径 100 nm のフィルター膜に通して粒径を調整し、遠心分離により未内包の蛍光物質を除去することでリポソームを得た。リポソーム分散液と tri-PCG の PBS 溶液を混合し、37°C に加温することでゲル化させた。そこに PBS を加えて 37°C で所定時間インキュベーションして PBS を回収し、放出されたピラニンの蛍光をモニターすることで放出挙動を評価した。さらに界面活性剤である Triton-X を加えて PBS 中のリポソームを崩壊させた際の蛍光もモニターすることでゲルからの薬物放出メカニズムを検討した。

【結果と考察】ピラニン水溶液のみを混合したゲルに比べてリポソームを用いるとゲルからのピラニン放出は著しく遅くなることが分かった。これは、tri-PCG 溶液がゲル化した後でもリポソーム内にピラニンが安定に保持され、リポソームの粒径がゲルの網目サイズより大きいので、ゲルからの拡散が抑えられたことを示唆する結果である。また回収した PBS 中に Triton-X を加えた際に蛍光強度の変化が無かったことからゲル中でリポソームからピラニンが放出され、そのピラニンがゲルから拡散するという放出メカニズムが示唆された。

【引用文献】1) Y. Ohya *et al.*, *Polym. J.*, **2014**, *46*, 632-635.

1P-072-Ⅰ

プロテインデリバリーを指向したゲルカプセルの創製とその薬物キャリアとしての機能

¹ 関西大化学生命工, ² 関西大 ORDIST

○中浦 宏¹ (Nakaura Hiroshi), 河村暁文^{1,2}, 宮田隆志^{1,2}

【緒言】タンパク質医薬品はその高い薬効と低い副作用から注目されているが、生体内の酵素により容易に分解されるため、十分な治療効果が発揮できないことが多い。そこで、タンパク質キャリアとしてリポソームやポリマーベシクルなどの内水相を有するカプセルが研究されている。しかし、これらのキャリアは低い機械的強度や内包効率が課題である。そこで本研究では、可逆的付加開裂連鎖移動 (RAFT) 重合を利用したエマルション表面へのゲル層の形成によりゲルカプセルの調製を試みた。親水性ブロックと両親媒性ブロックとを有するブロック共重合体を RAFT 重合により合成し、これを用いて w/o エマルションを形成させると両親媒性ブロックは油相に分配される。さらに、このエマルション表面から両親媒性モノマーを用いてゲル層を形成させることにより水相にも分散可能なゲルカプセルを調製した。

【実験】RAFT 重合により親水性である 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン (MPC) と両親媒性であるオリゴエチレングリコールメタクリレート (OEGMA) とのブロック共重合体 (PMPC-*b*-POEGMA) を合成した。得られた PMPC-*b*-POEGMA を水-クロロホルム混合溶液に加え、1 時間超音波照射して w/o エマルションを形成させた。その後、ミニエマルション表面 RAFT 重合によりポリエチレングリコールメタクリレートと還元応答性の架橋剤であるビス(2-メタクリロイル)オキシエチルジスルフィドとを共重合することによりゲルカプセルを調製した。さらに、得られたゲルカプセルの還元環境下での薬物放出挙動や細胞毒性を検討した。

【結果と考察】ゲル層を形成した後に反応溶液を水に置換し、動的光散乱測定を行ったところ、約 300 nm のゲルカプセルの形成が確認された。また、モデル薬物としてフルオレセイン修飾デキストラン (FITC-Dex) をゲルカプセルに内包させ、薬物放出挙動について検討した。その結果、還元剤であるジチオトレイトールの添加によりゲルカプセルからの FITC-Dex の放出が促進されることがわかった。また、ゲルカプセルをマウス線維芽細胞に接触させたところ、細胞内に取り込まれることがわかった。以上の結果から、本研究で調製したゲルカプセルは、親水性薬物を内包でき、細胞内などの還元環境に応答して薬物を放出する薬物キャリアへの応用が期待できる。

1P-073-Ⅱ

ヒアルロン酸被覆高分子ミセルによる肝星細胞への効率的デリバリー

¹ 関西大学化学生命工学部, ² 関西大学 ORDIST, ³ 奈良県立医科大学, ⁴ 関西大学医工薬連携研究センター
○永田拓也¹ (Nagata Takuya), 山田莉央¹, 能崎優太², 鍛冶孝祐³, 吉治仁志³, 葛谷明紀^{1,4}, 大矢裕一^{1,4}

【緒言】肝硬変とは慢性的な肝炎などによる肝損傷の修復の際に、過度に活性化した肝星細胞が過剰にコラーゲン線維を産出することで肝臓が硬化する疾病である。そのため、肝硬変の治療には肝星細胞の活性化を抑制する抗線維化薬剤を肝星細胞にデリバリーすることが第一選択肢となる。加えて肝星細胞は肝類洞壁内部に存在するため、肝星細胞へ薬物を送達するには、まず肝類洞内皮細胞(LSEC)層への薬剤分布および透過が必要であると考えられる。一方、我々はこれまで、生分解性のポリリシン-ポリ乳酸・AB ジブロック共重合体(PLys⁺-b-PLLA)から調製した表面に高密度の正電荷を有するナノサイズのコア-シェル型ミセルを、負電荷を持つ高分子電解質でポリイオンコンプレックス (PIC) 形成により被覆した PIC 被覆ミセルが、通常の高分子ミセルよりも著しく高い希釈安定性を示すことを報告している¹⁾。また、ヒアルロン酸(HA)は、LSEC 表面に存在するレセプターによって認識され、HA で被覆したミセルが *in vitro* において LSEC に取込まれることも見出している²⁾。そこで、本研究では、高効率な肝星細胞への薬物配送を目的として、抗肝線維化薬剤(OLM)を内包した HA 被覆ミセルの調製と機能評価を行った。

【実験および結果と考察】既報に従い合成した PLys⁺-b-PLLA を用いて OLM 内包 PLys⁺-PLLA ミセルを調製した。調製したミセルは正の表面電荷を有しており、薬物未内包のミセルと比較して粒径及びゼータ電位に変化はなかった。次に HA(MW=90,000Da)水溶液に PLys⁺-PLLA ミセル水溶液を滴下し、未反応の HA を限外ろ過にて除去した後に、上澄み液を凍結乾燥して、HA 被覆ミセルを調製した。粒径が大きくなったことと、ゼータ電位が正から負へと変化したことから、HA による被覆が進行したことが示唆された。一方、4-amino fluorescein を用いて HA を蛍光ラベル化した Flu-HA を用いて Flu-HA 被覆ミセルを同様に調製し、マウスに尾静脈注射した。3 時間後、マウスの各臓器を取り出し、生体蛍光イメージング装置を用いて評価した結果、Flu-HA 被覆ミセルは肝臓に多く集積していることが分かった。この結果から、HA 被覆ミセルは肝臓への高い集積性を示すことが示唆された。

1) Y. Ohya *et al.*, *Macromol. Chem. Phys.* **2010**, *211*, 1750-1756. 2) Y. Ohya *et al.*, *J. Contr. Rel.* **2011**, *155*, 104-110.

1P-074-Ⅰ

分子認識ポリマーを架橋部位とした生体適合性ヒドロゲルの開発と徐放システムへの応用

¹ 大阪大学大学院基礎工学研究科, ² 大阪大学大学院理学研究科
○吉川裕人¹ (Yoshikawa Yuto), 中畑雅樹¹, 境 慎司¹, 原田 明², 田谷正仁¹

【緒言】ドラッグデリバリーシステム (DDS) のキャリアとして、これまでに多くの高分子が開発されてきた。キャリアに求められる性能として①水溶性、②生体適合性、③ターゲット物質に対する認識能、④刺激に応答した徐放能、⑤生分解性などが挙げられる。生体内で使用できる刺激は限られており、材料の形成から機能発現、分解までをマイルドな刺激で行う必要がある。中でも酵素を介した反応は、温和な条件で行える点が大きな利点であり、生体適合性の面で大きなメリットを有する。DDS のターゲットである医薬品には数多くの種類があるが、中でも近年低分子医薬品だけでなくバイオ医薬品などの大きく複雑な分子が用いられつつあり、これらをテイラーメイドで認識・徐放できるキャリアの開発が望まれている。シクロデキストリン (CD) は、D-グルコース数分子が結合した環状オリゴ糖であり、その空孔内に水中で疎水性分子を取り込む性質をもつ。構成するグルコースの個数によってその物理的、化学的性質が異なり、ヒトの唾液や膵臓由来の α -アミラーゼによって分解可能であるという特徴もある。本研究では、CD を架橋ポリマーとし高分子ヒドロゲルの架橋点として用いることで、多点認識によるターゲットの認識と外部刺激に応じた徐放が行えるシステムの開発を目指した。

【実験】種々の CD をエピクロロヒドリンとの反応により架橋した CD ポリマーを合成し、さらに、CD にラジカル重合可能なビニル基を修飾することによって CD ポリマー架橋剤を合成した。この CD ポリマー架橋剤と生体適合性モノマーであるポリエチレングリコールアクリレートと、西洋わさび由来ペルオキシダーゼ (HRP)-H₂O₂-アセチルアセトンを用いた酵素反応による開始剤系を用いてラジカル重合した。得られたゲルのレオロジー特性を動的粘弾性測定により評価した。さらに、ターゲット物質の徐放可能性とゲルの分解性についても調査した。

【結果と考察】重合により系は流動性を失いゲル化した。レオメーターによる周波数分散測定を行ったところ、測定周波数範囲において貯蔵弾性率 G' が損失弾性率 G'' を上回っており、安定なヒドロゲルの形成が支持された。これにより、酵素反応による重合が可能であることが示された。CD へのビニル基導入量や重合時のモノマー比に応じてゲルの物性を制御することができ、必要に応じてゲルをアレンジできることが分かった。徐放特性とゲルの分解については当日詳細に報告する。

1P-075-II

がん幹細胞を標的とする細胞内酵素応答型遺伝子キャリアの開発

¹九大院工, ²九大未来化セ, ³九大分子 CMS, ⁴九大先端医療 IC

○遠山聖子¹ (Toyama Shoko), 中村雄太¹, 松本 蛍¹, 秀野智大¹, 岸村顕広^{1,2,3}, 森 健^{1,2}, 片山佳樹^{1,2,3,4}

【緒言】がんの再発や転移の原因とされるがん幹細胞は、化学療法による治療が困難である。現在までに、がん幹細胞の性質維持に関わる酵素に対し阻害剤を用いる治療法が研究されているが、阻害剤に対する耐性の獲得という本質的な問題がある。本研究では、がん幹細胞に対し高い治療効果を示す新しい治療法の開発を目指し、細胞内の酵素に応答して遺伝子発現を制御するシステムを応用した。近年、がん幹細胞性との関連や高活性化が報告されたプロテインキナーゼ $\text{C}\alpha$ (PKC α) に着目し、がん幹細胞において PKC α に応答する遺伝子発現の制御が可能か検討した。

【実験】直鎖状ポリエチレンイミン (LPEI) に PKC α 特異的な基質ペプチドのみを導入したポリマー (LPEI-1) と、さらにヘキサ酸を導入したポリマー (LPEI-hex-1) を合成した。コントロールとして PKC α 非応答性のポリマーも同様に合成した (LPEI-2, LPEI-hex-2)。各ポリマーが pDNA と複合体を形成することを確認し、その物性を評価した。がん幹細胞マーカー CD44v が高発現したヒト口腔がん細胞に対し、細胞取り込み効率を評価した。ルシフェラーゼ遺伝子をコードした pDNA を用いてトランスフェクションを行い、ルシフェラーゼ活性から遺伝子発現の制御を確認した。

【結果と考察】反応効率の高い縮合剤 COMU を用いて基質ペプチドを LPEI に直接修飾し、それぞれ同程度のペプチド修飾率をもつ LPEI-1/2 と LPEI-hex-1/2 を合成した。ヘキサ酸の導入により立体障害が生じ、LPEI-hex-1/2 のペプチド修飾率は LPEI-1/2 より低い結果となった。各ポリマーは同じ物性をもつ複合体を形成し、粒子径約 120-150 nm、ゼータ電位約 +25 mV を示した。細胞取り込み効率においても差は見られず、LPEI と同様に高い値を示した。トランスフェクションでは、LPEI-1 において LPEI と同様に高い遺伝子発現を確認したが、LPEI-2 は遺伝子発現を抑制しなかった。一方、ヘキサ酸導入ポリマーでは、LPEI-hex-2 において遺伝子発現が抑制され、LPEI-hex-1/2 の遺伝子発現量の差が 17 倍以上も向上した。ヘキサ酸の導入により、pDNA と強い正電荷をもつ LPEI との静電相互作用が抑制され、pDNA が基質ペプチド選択的に静電相互作用したことで、PKC α に応答した遺伝子発現の制御が達成されたと示唆された。今後は、がん幹細胞性の高い細胞を選別し治療効果を評価し、遺伝子発現制御の向上のため新たなポリマーの開発に取り組む。

1P-076

演題取り下げ

1P-077-II

外部刺激により薬物放出制御可能ながん幹細胞標的リポソームの特性評価

慶應義塾大学大学院薬学研究科

○山之内翔 (Yamanouchi Tsubasa), 長瀬健一, 米谷芳枝, 金澤秀子

【緒言】がん組織中にはその増殖や転移に関与するがん幹細胞が存在することが知られている。がん幹細胞は抗酸化ストレス機構を有し、従来の放射線療法等に耐性を持つため、がん幹細胞を標的とした薬物送達キャリアの開発が望まれている。がん幹細胞特異的に発現するマーカーの中でも特にヒアルロン酸(HA)レセプターである CD44 を介した薬物の送達を目指した研究が盛んに行われており、薬物と HA のコンジュゲートなどが開発されてきた。そこで本研究では、薬物を封入したリポソーム表面に HA 及び温度応答性高分子を同時に修飾することで、CD44 ターゲティングと温度変化による薬物放出制御の達成を目指した。

【実験】卵黄由来ホスファチジルコリン(EYPC)、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン(DOPE)、ジオレオイルトリメチルアンモニウムプロパン(DOTAP)を用いて、エタノール注入法により内相を硫酸アンモニウム Buffer とするリポソームを作製した。作製したリポソームに下限臨界溶液温度(LCST)を体温付近である 38°C となるように合成した温度応答性高分子 poly(*N*-isopropylacrylamide-*co-N,N*-dimethylacrylamide) P(NIPAAm-*co*-DMAAm)と HA を修飾し、リモートローディング法によりドキシソルビシン(DOX)を封入した。温度変化時のサイズや DOX 放出率などの物性評価を行い、温度応答性高分子修飾の効果を確認した。CD44 発現細胞である A549 細胞と非発現細胞である RAW264.7 細胞での細胞取り込み及び薬物放出について蛍光顕微鏡とフローサイトメトリーにより観察し、MTT 試験により細胞障害性を確認した。

【結果と考察】ゼータサイザーを用いたサイズ測定より HA 及び温度応答性高分子を表面に修飾した DOX 封入リポソームの生成を確認した。温度応答性高分子修飾リポソームは LCST 以上において顕著な DOX の放出が見られた。また、HA 修飾により CD44 発現細胞にのみ選択的に取り込みが起ることが確認され、MTT 試験においても強い細胞障害性を確認できた。以上のことから、本研究で作製したリポソームは CD44 を高発現するがん幹細胞への薬物送達キャリアとして有用であると考えられる。今後ターゲティングのための修飾分子や内封薬物を変更することにより、がん幹細胞のみならず幅広い標的に対する応用が期待できる。

1P-078-II

低侵襲な体内送達を可能とする多層構造を利用した自己展開型薬剤徐放シートの開発

¹東北大学大学院工学研究科, ²東北大学大学院医学系研究科

○佐藤悠人¹ (Sato Yuto), 鈴木 仁¹, 永井展裕², 西澤松彦¹, 阿部俊明², 梶 弘和¹,

従来の埋め込み型 DDS デバイスには患部に留めやすく、標準化した薬剤放出が出来るメリットがある一方で、薬剤の初期バーストや切開・縫合が必要で侵襲性が高いことなどが課題として挙げられる。そこで本研究では、薬剤の初期バーストを低減した長期徐放と細管からの射出による低侵襲な体内送達、体内送達後の自己展開を可能とする高分子シート型デバイスの開発を目指した。

高分子薄膜材料として Poly(ethylene glycol) dimethacrylate (PEGDM, Mw 750)、Tri(ethylene glycol) dimethacrylate (TEGDM, Mw 286.32)を用いた。PEGDM と TEGDM の比率を変えて光重合させることで、シート内の薬剤透過性を制御できる。PEGDM の比率が大きくなると透過性が高くなり、TEGDM の比率が大きくなると透過性が低くなる。はじめにモデル薬剤として蛍光色素 Fluorescein を含んだ薬剤層を作製した。次に徐放に方向性を持たせるため、薬剤層の下に薬剤透過率の極めて低いガード層を設けた。また、薬剤層の上に徐放制御のための放出制御層を設けることで三層構造シートとした。更に、細管からデバイスを体内に送達後に自己展開を可能とするため、ガード層の下側に四層目となる展開層の導入を検討した。まず、三層構造のシート型デバイスについて薬剤徐放特性を検証した。その後、三層構造及び四層構造シートについて理論と実験から自己展開性の検証を行った。また、インジェクターを用いて in vivo への射出試験も行った。

一層シートでは初期バーストが起きていたが、三層シートでは初期バーストが抑制され、約三カ月にわたって徐放の継続が確認された。このことからガード層と放出制御層が、初期バーストを抑え、長期的な薬剤放出を可能としていることが分かった。薬剤徐放の方向性について調べた実験では、放出制御層側と比較してガード層側で薬剤の放出が有意に抑制されていた。このことからガード層が徐放に方向性を付与していることが分かった。また、自己展開性についての実験では、展開のための四層目を設けることで自己展開が可能になるものと予想された。実際に四層シートを作製し展開試験を行った結果、展開し患部接着に適切な曲率の維持が確認できた。射出試験では、デバイスはインジェクターから射出され、ウサギの強膜上で展開する様子が確認された。

1P-079- I

インスリン徐放デバイスの開発と糖尿病網膜症治療への応用

東北大学大学院医学系研究科細胞治療分野

○星 絢子 (Hoshi Ayako), 永井展裕, 西條早絢, 大學玲子, 阿部俊明

【緒言】

糖尿病の合併症のひとつとして糖尿病性網膜症があげられる。糖尿病患者のうち15%が罹患するといわれる糖尿病性網膜症であるが、治療法は網膜症の原因になる網膜無血管領域をレーザー凝固する方法などに限られてくる。このため糖尿病初期から血糖値のコントロールを行うことにより新生血管の発生を抑えることは、糖尿病性網膜症の重要な予防法の1つであると言える。本研究はインスリン徐放デバイスを開発し、持続的な血糖コントロールによって糖尿病網膜症を予防する方法を検討した。

【実験】

ストレプトゾトシン(STZ)の皮下投与によって糖尿病ラット(血糖値400mg/dL以上)を作成した。糖尿病ラットの網膜症評価として、網膜電図(ERG)を経時的に評価した。インスリン徐放デバイスの基材としてゼラチンとキトサンの混合物を水溶性カルボジイミドで架橋したインジェクタブルゲル(iGel)を作成した。iGelからのインスリン徐放性を高速液体クロマトグラフィーで評価した。iGelを皮下投与した糖尿病ラットの血糖値を経時的に測定し、インスリン溶液の皮下投与群と比較した。

【結果と考察】

糖尿病ラットでは、糖尿病発症から4週目で暗順応ERGのb波の振幅値の低下および潜伏時間の遅れが見られた。iGelのキトサン濃度が高いほど、インスリンの放出性が低下した。これは正電荷のキトサンと負電荷のインスリンの静電的な作用によるものと推定された。iGelを皮下投与した糖尿病ラットの血糖値は、インスリン溶液の皮下投与と同様に低下傾向が見られた。iGelは、これまでの侵襲的なインスリン溶液の頻回皮下投与を減らし、低侵襲でより確実な血糖値コントロールに応用できると期待できる。今後はインスリン徐放デバイスによる血糖値コントロールの持続性と、網膜症発生に対する影響を検討する。

1P-080- I

細胞核ナノトランスポーターを用いた機能性タンパク質デリバリーによる細胞反応制御

甲南大学フロンティアサイエンス学部

○増田真鈴 (Masuda Marin), 佐野由倫, 前川紗恵子, 長濱宏治

【緒言】細胞核内は遺伝情報の保持・複製や発現など細胞の運命を決定する重要な反応場であるため、それらの反応に関わる物質を核内に輸送し機能させれば、人為的な細胞の運命制御が実現する。近年、私たちは、細胞内に存在する核輸送タンパク質であるインポーチンの核膜孔通過メカニズムに倣い、自発的に細胞質から核内に移行する高分子ナノ組織体(細胞核ナノトランスポーター)を作製した。本発表では、細胞核ナノトランスポーターを用いて核内に様々な機能性タンパク質を輸送し、核内の物質と反応させることで、細胞反応を制御した結果を報告する。

【実験】デキストランと疎水性アミノ酸誘導体のカップリング反応により、両親媒性分子を合成した。両親媒性分子の粉末を水で溶解することで自己会合させ、細胞核ナノトランスポーターを作製した。DLS測定により、サイズおよび分布を解析した。細胞核ナノトランスポーターに β -ガラクトシダーゼ(β -Gal)やヌクレアーゼなどを担持し、それらタンパク質の反応性について*in vitro*実験により解析した。機能性タンパク質を担持したナノトランスポーターをエレクトロポレーション法により細胞質に導入した後、核内輸送特性および核内での反応について調べた。また、輸送した機能性タンパク質の核内反応がもたらす細胞反応についても解析した。

【結果と考察】細胞核ナノトランスポーターと複合化した β -Galの酵素活性を*in vitro*実験により調べたところ、フリーの β -Galと同等であったことより、高次構造を維持した状態での複合化が示唆された。ナノトランスポーターにより β -Galを細胞核内へ輸送した1時間後、細胞培養液に基質TG β -Galを添加すると核内で酵素反応を示したことから、 β -Galの機能を保持したまま核内輸送し、核内で反応可能であると示された。ヌクレアーゼ担持ナノトランスポーターとDNAを*in vitro*で30分間反応させて電気泳動により解析したところ、DNA分解の半減期はフリーのヌクレアーゼと同等であったことから、ナノトランスポーターに担持したタンパク質は、ナノトランスポーター外にある巨大な生体高分子と特異的に反応できることが分かった。発表では、機能性タンパク質を核内輸送・反応させることにより、細胞の形質、機能、反応を制御可能かについて調べた結果もあわせて報告する。

1P-081-II

金ナノ粒子を用いた超音波による血液脳関門透過性向上機構の検討

¹ 東京大学大学院工学系研究科, ² 東京大学大学院医学系研究科

○菊地映美¹ (Kikuchi Emi), 石島 歩¹, 小林英津子¹, 東 隆^{1,2}, 佐久間一郎¹, 伊藤大知^{1,2}, 太田誠一²

【緒言】

アルツハイマー病や脳虚血などの中枢神経系疾患は高齢化に伴い患者数が増加しており、ナノ粒子を用いた脳への薬物送達による治療が期待されている。しかし、脳への薬物送達は血液脳関門 (BBB) が障壁となっている。近年、脳に超音波を照射することで BBB の物質透過性が一時的に亢進することが報告された。一方で超音波照射によってどの程度のサイズの物質がどれほどの期間脳に透過できるかは明らかとされていない。本研究では、培養細胞を用いた BBB *in vitro* モデルに超音波を照射してサイズが異なる金ナノ粒子を透過させ、粒子サイズと粒子透過性との相関を検討した。

【実験】

塩化金(III)の還元によって粒径 3 nm、15 nm、120 nm の 3 種類の金ナノ粒子を合成し、粒子表面をポリエチレングリコールで修飾した。 *In vitro* において超音波照射による BBB の開通を評価するため、トランズウェル上でマウス脳微細血管内皮細胞株 (bEND. 3) を培養して BBB モデルを作製し、超音波を照射した。超音波照射後に BBB モデルの経内皮電気抵抗の時間変化を測定した。また、超音波照射直後に BBB モデルの内側に金ナノ粒子を含む培地を加えてインキュベートし、12 時間後に BBB モデルの外側の培地を回収して透過した金ナノ粒子の濃度を ICP-MS で測定した。

【結果と考察】

3 種類の金ナノ粒子を透過型電子顕微鏡で観察したところ、粒径はそれぞれ 3.7 ± 0.5 、 14.4 ± 1.7 、 120.4 ± 7.6 (平均 $\pm$ 標準偏差) nm であり、均一な粒径を持つことが確認された。BBB の透過性の指標となる経内皮電気抵抗は、超音波照射前と比較して照射から 5 分後は 76.7%、1 時間後は 69.3%、80.9% となり、BBB モデルのバリア機能の低下が確認された。一方で 4 時間後は 105.1% となり、バリア機能が回復した。この結果より、BBB は超音波照射直後から 4 時間程度、一時的に開通すると唆された。超音波を照射しない場合と比較して超音波照射後の粒子の透過量は 3 nm、15 nm の粒子では有意に増加し、3 nm の方が 15 nm のものよりも 2.1 倍程度高かった。一方で 120 nm の粒子の透過量に有意差はなかった。

1P-082-II

Development of pH-sensitive polymeric micelles for intracellular delivery of bioactive molecules loaded through imine bond.

¹ Graduate School of Engineering, The University of Tokyo, ² Innovation Center of Nano Medicine (iCONM)

○Anqi Tao¹, Horacio Cabral¹, Sabina Quader², Kazunori Kataoka^{1,2}

【Introduction】

Two polymer platforms with functional aldehyde are proposed for conjugating with amine-bearing bioactive molecules including chemical drugs, peptides and proteins. This preliminary study of conjugating fluoresceinamine to aldehyde polymer was considered as a convenient and economic model to investigate the formation of endosomal-pH labile bond and the intracellular release based on pH-sensitive imine bond. Moreover, it lays the foundation for further selection and study on drug conjugation to the aldehyde polymer systems.

【Experiment】

Two aldehyde-containing block copolymers were synthesized and characterized by NMR and GPC. Polymer cytotoxicity was evaluated in HeLa-Luc and HUVEC cell lines using CCK-8. Fluoresceinamine was used as a preliminary model molecule and conjugated to the polymer. The drug-polymer conjugate made micelles in PBS buffer. Size and PDI of the micelles were determined by DLS. Release of fluoresceinamine-loaded micelles was measured by UV-spectrophotometer.

【Result and Conclusion】

A micelle system for loading amine-bearing drugs through Schiff base formation was successfully constructed. The polymer system was confirmed *in vitro* to be non-toxic. The fluoresceinamine-loaded micelles were successfully constructed with sub-100 nm size and narrow distribution, which could be a good model to observe intracellular disruption and drug release of the micelles. Given the large number of amine-bearing drug candidates and the incidence of mild acidic pH in pathological events, this micelle system represents a versatile platform for the development of a wide range of targeted therapeutic applications.

1P-083- I

pH 応答性コンドロイチン硫酸を修飾したリポソームの抗原キャリア機能

大阪府立大学大学院工学研究科

○大久保みのり (Okubo Minori), 弓場英司, 原田敦史, 河野健司

【緒言】効果的ながん免疫療法の実現には抗原特異的な細胞性免疫の誘導が必須である。そのためには、樹状細胞 (Dendritic cell, DC) の細胞質に抗原を導入すると同時に成熟化させ、MHC class I を介した抗原提示を誘導する必要がある。当研究室ではこれまで、弱酸性 pH に応答して膜融合性を示す 3-メチルグルタリル(MGlu)基または 2-カルボキシシクロヘキサン-1-カルボキシ(Chex)基をデキストランに導入し、これらを修飾したリポソームを用いて、DC への抗原キャリアを開発してきた(*Biomaterials* **35**, 3091-3101 (2014)., *J Control Release* **213**, e30 (2015))。一方、高活性な抗原キャリアには、抗原デリバリー機能に加えて、DC を成熟化させるアジュバント機能が必要である。そこで本研究では、アジュバント作用の報告があるコンドロイチン硫酸(CS)に MGlu/Chex 基を導入することで、CS に由来するアジュバント作用と pH 応答性基に由来する抗原デリバリー機能の相乗効果で強力な細胞性免疫を誘導できる抗原デリバリーシステムの開発を目的とした。

【実験】CS の水酸基と 3-メチルグルタル酸無水物または 1,2-シクロヘキサジカルボン酸無水物を反応させ pH 応答性基を導入した(MGlu/Chex-CS)。さらにリポソームへの固定化部位としてデシル基を導入した(MGlu/Chex-CS-A)。MGlu/Chex-CS で処理したマウス樹状細胞由来 DC2.4 細胞が産生するサイトカインを ELISA 法により測定した。MGlu/Chex-CS-A を修飾したピラニン封入卵黄ホスファチジルコリン(EYPC)リポソームを作製し、種々 pH における蛍光強度をモニターし、その pH 応答性を評価した。蛍光脂質でラベル化し、FITC ラベル化オボアルブミン(FITC-OVA)を封入したリポソームの DC2.4 細胞による取り込み量と細胞内挙動をフローサイトメーターおよび共焦点顕微鏡により評価した。

【結果と考察】Chex-CS で処理した DC2.4 細胞からは CS で処理した細胞に比べ IL-12・TNF- α が著しく産生された。MGlu/Chex-CS-A 修飾リポソームの粒径は 150 nm 程度であり、負の ζ 電位を示したことから、CS 誘導体の表面固定化が示唆された。MGlu/Chex-CS-A 修飾リポソームは、低 pH において内包物のピラニンを放出した。また CS 誘導体修飾リポソームは、未修飾リポソームに比べ樹状細胞に効率良く取り込まれた。これらのことから、樹状細胞の成熟化作用と pH 応答特性を併せ持つ CS 誘導体を修飾したリポソームは、免疫療法の抗原キャリアとして有用である。

1P-084- II

細胞外小胞の体内動態解析に向けた標識法の検討

¹東京大学大学院工学系研究科, ²ナノ医療イノベーションセンター, ³東京大学政策ビジョン研究センター

○乗松純平^{1,2} (Norimatsu Jumpei), 赤木貴則^{1,2}, 藤加珠子², John D. Martin^{1,2}, 一木隆範^{1,2}, 片岡一則^{2,3}, Horacio Cabral^{1,2}

【緒言】

エクソソームに代表される細胞外小胞 (EV) は、内部に細胞由来の核酸やタンパク質を含み、細胞間情報伝達を担っている。近年、種々の疾患の発症や悪性化への関与が報告され、疾患の病態解明や診断・治療への応用の観点で EV が注目されている。その際、EV の体内動態の正確な把握が重要となるが、EV を標識する手法が確立されていないことが問題となっている。そこで、本研究では、EV 標識手法を開発し、その正確な体内動態の把握を目指す。

【実験】

マウス乳がん 4T1 細胞の培養上清から超遠心法を用いて EV を回収した。従来は、脂溶性色素と EV 膜との疎水性相互作用を利用した標識が行われていたが、今回は SulfoCy5-NHS エステルを用いて EV 表面のアミノ基に共有結合により蛍光色素を付与した。この手法と従来の脂溶性色素 PKH を用いて EV を蛍光標識し、マウスへの投与後の血中滞留性・臓器分布を比較した。さらに、4T1 細胞が脳転移を示すことから、EV のその過程への関与を調べるために、生体内リアルタイム共焦点顕微鏡を用いて、脳内血管付近における EV の挙動を直接観察した。

【結果と考察】

従来の脂溶性色素 PKH で標識した EV は投与後数分で血中から消失したのに対し、SulfoCy5 を共有結合で標識した EV は 2 時間後も安定して血中を滞留した。PKH 標識 EV は肺へ多く集積すること、さらには、肺のリアルタイム観察により、PKH 標識 EV が血中で凝集し、肺の毛細血管に捕捉されることがわかった。PKH による標識では EV が凝集し、その体内動態を正しく評価できない可能性が示唆された。一方で、SulfoCy5 による標識ではこのような現象は観られなかった。さらに、この手法を用いることで乳がん細胞由来 EV が脳の血管内皮細胞と相互作用する様子の直接観察に成功した。本研究の EV 標識法は、疾患悪性化機構の解明、新規診断/治療法開発など、EV 分野全体の発展が期待される。

1P-085- I

酵素耐性向上を目指したメッセンジャーRNA ナノ集合体の設計

¹ 東京大学大学院工学系研究科, ² 川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター

○趙 オル¹ (Cho Eol), 吉永直人¹, 持田祐希², 内田智士^{1,2}, オラシオ カブラル¹

【緒言】

メッセンジャー(m)RNA 導入は、効率的かつ安全に生体へ遺伝情報を送達する手段として注目されているが、mRNA が生体内で急速に酵素分解を受ける点が大きな課題である。これに対して、mRNA 輸送担体の研究が盛んである一方で、mRNA 設計に関する検討はほとんどない。そこで、我々は、mRNA 鎖同士を、RNA リンカーを介して結合させることで、mRNA ナノ集合体を調製した。RNA の2本鎖形成や高次構造形成に伴う立体障害によって、酵素分解を抑制できることが期待された。

【実験】

mRNA に対して相補的な2つの同じ配列の17 nt RNA を10 nt アデニン RNA で繋いだ44 nt RNA をリンカーとし、それを mRNA にハイブリダイズさせることで、mRNA 鎖同士を結合させた。計8種類のリンカーを用い、多数の mRNA を結合させることで、mRNA ナノ集合体の調製を目指した。その後、その物性、酵素耐性、翻訳効率を評価した。

【結果と考察】

相補鎖長を20 nt 以下にした場合、2本鎖 RNA 形成に伴う免疫原性の増大や翻訳阻害は観られなかった。ハイブリダイズ過程で65℃への加温操作を行ったが、mRNA 分解や翻訳効率の低下は観られなかった。ハイブリダイズ後の動的光散乱法による解析では、mRNA 鎖同士の結合により、散乱光強度が増大し、径100 nm 程度の mRNA ナノ集合体が形成されたことが確認された。分析超遠心では、4分子以上の mRNA からなる集合体の形成が示唆された。次に血清中での酵素耐性を定量 PCR 法にて評価したところ、mRNA ナノ集合体で mRNA 単体と比べて、最大で10倍程度の酵素分解抑制効果を認めた。一方で、mRNA の翻訳活性を、無細胞翻訳系や、HuH-7 細胞への導入により評価したところ、mRNA ナノ集合体でも mRNA 単体と同程度の翻訳効率が得られた。以上のように、mRNA ナノ集合体の設計により、翻訳効率を維持したまま、酵素耐性を飛躍的に向上させることに成功した。今後、このナノ集合体を mRNA 輸送担体へ搭載することで酵素耐性を更に向上できるだけでなく、投与経路によっては輸送担体を用いない安全な mRNA 導入システム構築へと展開できることが期待される。

1P-086- II

高せん断応力下におけるディスク状粒子の接着挙動と血栓溶解能の付与

¹ 東海大学大学院工学研究科応用理化学専攻, ² 東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター, ³ 東海大学工学部機械工学科

○吉田翔太¹ (Yoshida Shota), 中川 篤², 横山 奨², 木村啓志^{2,3}, 岡村陽介^{1,2}

【緒言】血栓症とは、血管内に病的血栓が形成されて血流が閉塞する疾患である。その治療薬として、組織プラスミノゲン活性化因子(t-PA)が臨床応用されているが、血中半減期が短く過剰投与による出血傾向が課題とされている。他方、病的血栓形成部位におけるせん断応力は、正常血管と比較して10-100倍増大することが知られている¹⁾。本研究では、高せん断応力下において効率よく集積する t-PA 結合担体を創製することを目的とした。具体的には、球状粒子を変形させたディスク状粒子を調製し、高せん断応力下におけるマイクロ流路壁面への接着挙動と血栓溶解能を検証した。

【実験】膜乳化法にてアルギン酸ナトリウム修飾 PLGA 球状粒子(1.0 $\mu\text{m}\phi$)を調製した。また、熱プレス法によりディスク状粒子(2.1 $\mu\text{m}\phi$)へと変形させた。ポリ-L-リジンコートしたマイクロ流路内(モデル界面)に両粒子を流動させ(せん断応力: 10, 1000 dyn/cm^2)、接着挙動を比較した。また、両粒子表面に t-PA を結合させ、その血栓溶解能を検証した。

【結果と考察】膜乳化法にて調製した PLGA 球状粒子(1.0 $\mu\text{m}\phi$)を、熱プレス法にてディスク状(2.1 $\mu\text{m}\phi$)に変形させた。両粒子を高せん断応力下で流動させたところ、ディスク状粒子の接着数は球状粒子と比較して顕著に増加した。これは、ディスク状となることで界面に対して面接触となり接着性が向上したと考えられる。従って、ディスク状粒子は高せん断応力となる血栓形成部位への集積性が向上する可能性が示唆された。次いで、粒子表面のカルボキシル基を標的とし、縮合剤を用いて t-PA を結合させた。得られた t-PA 結合粒子はフィブリン塊を溶解できることから、化学修飾しても t-PA の機能は保持できることを確認した。現在、マイクロ流路内にフィブリン血栓を調製し、t-PA 結合ディスク状粒子の流動状態下における血栓溶解能評価を行っており、当日併せて報告する予定である。

1) N. Korin *et al.*, *Science* **337**, 738-742 (2012).

1P-087-II

経鼻吸収剤への応用を指向したフェノバルビタール内包ディスクの創製と機能評価

¹東海大学工学研究科応用理化学専攻, ²東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター, ³東海大学医学部基礎医学系,

⁴城西大学薬学部製剤学講座

○長島和希¹ (Nagashima Kazuki), 中川 篤², 畑中朋美^{3,4}, 小沢春香⁴, 金丸達哉⁴, 内田昌希⁴, 夏目秀視⁴, 岡村陽介^{1,2}

【緒言】抗てんかん薬は通常経口投与されるが、てんかん治療は長期に渡ることから、乳幼児や高齢者では嚥下困難な場合が想定される。経鼻投与は、薬物を安全かつ簡便に投与出来る利点を有していることから薬剤の有用な投与経路として注目されている。本研究では、抗てんかん薬(フェノバルビタール, PHB)の経鼻吸収剤への応用を指向し、PHB内包ディスク状粒子を調製することを目的とした。特に、粒子形状と鼻粘膜モデルへの接着性・薬剤放出挙動の相関を検証した。

【実験】分散相を乳酸/グリコール酸共重合体(PLGA)/PHB 溶液、連続相をポリビニルアルコール水溶液とし、SPG 膜乳化法 (細孔径 10 μm , 1 kPa, 800 rpm) により球状粒子を調製した。得られた粒子をアルギン酸ゲルに内包し加熱圧縮 (10 MPa, 55 °C, 30 s) してディスク化した。両粒子表面をポリ-L-リジン(10 mg/mL)によりカチオン化し、鼻粘膜モデルのゲル界面に対する接着性を比較した。また、フェノバルビタールを内包させた両粒子を PBS 中で転倒攪拌し、経時的な薬剤放出挙動を観察した。

【結果と考察】膜乳化法にて真球状の PLGA 粒子(30.0 $\mu\text{m}\phi$)を調製した。NMR 測定により薬剤内包率を算出したところ、12 $\pm$ 4.2 %であった。次いで、熱プレス法を用いることで、薬剤内包ディスク状粒子(55.1 $\mu\text{m}\phi$)を得ることに成功した。表面をカチオン化した粒子分散液をゲル上に滴下後、ゲル界面に対する粘着率を測定したところ、球状粒子と比較してゲル上に多く残留し、粒子形状により界面に対する接着性が飛躍的に向上することを見出した。また、分散体からの薬剤放出率を測定したところ、ディスクの放出速度は球状粒子より顕著に増大した。現在、粒子サイズの異なる粒子を用いて放出挙動を検討しており、当日併せて報告する。

1P-088-II

リガンド導入ポリグリセロールデンドリマーのアルギニンデリバリー評価

神戸大学大学院工学研究科応用化学専攻

○酒元 竜 (Sakemoto Ryu), 板倉幸枝, 大谷 亨

近年、L-アルギニン(L-Arg)をマクロファージへ送達することによって高濃度一酸化窒素(NO)を産生し、がん細胞死を誘導するがん免疫療法が注目されている¹⁾。われわれは、生体適合性に優れかつナノサイズのポリグリセロールデンドリマー(PGD)が L-Arg と極めて高い結合定数 (10^6 M^{-1}) を示すことを見出し、L-Arg デリバリーの可能性がある分子としての予備的知見を得た²⁾。そこで本研究では、PGD にがん細胞指向性を示すリガンドを導入することで、PGD の L-Arg キャリアとしての可能性を評価した。

葉酸(FA)もしくは Biotin をがん細胞標的リガンドとして第三世代の PGD (PGD-G3)に修飾し、がん細胞表面上に存在するこれら受容体との相互作用を介してがん細胞へ選択的に L-Arg を送達するキャリアとしての評価を行った。FA 受容体過剰細胞、biotin 受容体過剰細胞、どちらの受容体も無い細胞を用い、L-Arg 取り込み能を評価したところ、一部の細胞では L-Arg 取り込みに伴う蛍光強度の増大がみられた。さらに、マクロファージへの標的指向性を付与するために、グルコースを PGD に導入することを試みた。アリル基の導入された PGD (PGD-G2.5)を光開始剤存在下、1-チオ- β -D-グルコースを重 DMSO 中に溶解させ、2 分間 UV 照射した。¹H-NMR スペクトルから反応追跡を行ったところ、リガンド導入率が 100 %となった。等温滴定型熱量(ITC)測定により L-Arg との相互作用を確認したところ、グルコース導入後も相互作用が保持されていた。現在、血清存在下での L-Arg 保持能の解析、並びにマクロファージ様細胞の標的指向性について解析中であり、これらについても報告する予定である。

【参考文献】

1) S. Kudo, Y. Nagasaki, *J. Controlled Rel.*, **2015**, 217, 256.

2) T. Ooya, H. Lee, *ChemNanoMat* **2015**, 1, 264.

1P-089-Ⅲ

ドライアイ治療を目指した酸化能を有するインジェクタブルハイドロゲルの開発

¹筑波大学大学院数理物質科学研究科, ²徳島大学大学院社会産業理工学研究部, ³徳島大学大学院先端技術科学研究部, ⁴筑波大学大学院人間総合科学研究科

○岡田隆策¹ (Okada Ryusaku), 中川寛之¹, 宇都義弘², 勝占華世³, 楠橋由貴³, 二若真菜³, 林 佑美³, 長崎幸夫^{1,4}

【緒言】

ドライアイは涙液層の不安定化に特徴づけられる眼疾患の一つであり、涙液量の低下によって眼表面に生ずる酸化ストレスが角結膜での炎症を惹起し、視覚障害による患者のQOL低下を招く。ドライアイ治療薬としては主に点眼薬が用いられるが、従来の液剤型点眼薬では滞留性が低く、頻回投与が必要になるなどの問題があった。そこで我々は、既往研究において開発した酸化能を有するインジェクタブルハイドロゲル (Redox-active Injectable Gel: RIG) を点眼治療薬として用いることを考えた。投与された点眼薬は眼球表面温度に応答してゲル化するため滞留性の向上が期待できることに加え、構造中の酸化剤 TEMPO 部位が減少した涙液に代わって酸化ストレスを低減し炎症を抑える効果を併せ持つ。

【実験】

PEG の両末端に酸化ユニットを重合・修飾することで得た ABA 型トリブロックコポリマーをポリアクリル酸と作用させてポリイオンコンプレックスフラワーミセルを調整し、動的光散乱によって粒径を測定した。また、レオメータを用いて動的粘弾性を測定した。キットを用いて SOD 様酸化活性を測定した。受精鶏卵を用いた HET-CAM 法により毒性評価を実施した。またミセルを蛍光標識化し、IVIS を用いて眼表面での滞留性評価を行った。塩化ベンザルコニウムの投与によってドライアイモデルマウスを作成し、RIG の評価を行った。

【結果と考察】

得られたポリイオンコンプレックスフラワーミセルの粒径は 213nm 程度であり、温度不可逆的なゲル化が確認された。ゲル化温度点は 32℃であった。SOD 様活性は 84.2U/mL であり、RIG が構造中の TEMPO ユニットの酸化能を有することが確認された。HET-CAM 法による毒性試験では、RIG・酸化能を有さないコントロールゲルともに毒性は見られなかった。IVIS を用いた滞留性評価では、低分子酸化剤に比して RIG が長期に眼表面に滞留することが確認された。

1P-090-I

温度応答性デンドロン脂質-金ナノロッドハイブリッドベクターの開発

大阪府立大学大学院工学研究科

○橋本拓弥 (Hashimoto Takuya), 平田智哉, 弓場英司, 原田敦史, 河野健司

【緒言】遺伝子導入技術は、再生医療や遺伝子治療などの医療技術の実現に重要なバイオ技術であり、遺伝子を細胞内に導入して高効率な遺伝子発現を導く遺伝子ベクターの開発が急務である。遺伝子ベクターには、遺伝子との効果的な複合化能、細胞に取り込まれるための適切なサイズ、細胞取り込み後のエンドソーム脱出など、様々な機能が求められる。我々はこれまで、デンドリマーと脂質の融合分子であるポリアミドアミン(PAMAM)デンドロン脂質(DL, *J Control Release* **160**, 552-560 (2012))を、近赤外光発熱体である金ナノロッド(AuNR)に複合化したハイブリッドベクターを開発し、その遺伝子ベクターとしての機能を検討してきた。本研究では、エトキシジエチレングリコール(EDEG)鎖をデンドロン末端に導入した温度応答性 DL をベクターに組み込むことで、光と熱への応答性を有する多機能ベクターの創製を試みた。光照射により AuNR が発熱し、温度応答性 DL の EDEG 鎖が脱水和することで、疎水性相互作用による細胞取り込み・エンドソーム脱出の促進が期待される。ここではハイブリッドベクターの調製と、遺伝子導入の光制御について検討を行った。

【実験】温度応答性 DL は、既報(*Bioconjugate Chem.* **18**, 1349-1354 (2007))により合成した DL のデンドロン末端に、EDEG 鎖を導入することで合成した。シードレス法で作製した AuNR と 11-メルカプトウンデカン酸(MUA)との反応により MUA 修飾 AuNR を作製した。DL 分散液に対して種々の Au/DL 比となるように MUA-AuNR を加え、混合することでハイブリッドベクターを作製した。ベクターと pDNA を種々 N/P 比となるように混合することでリポプレックスを調製した。

【結果と考察】ハイブリッドベクターの Zeta 電位を測定したところ、MUA-AuNR の値とは異なり、ハイブリッドベクターは DL と同程度の値を示していることから DL が AuNR 表面に結合した構造をとっていると考えられる。pDNA との複合体形成をアガロースゲル電気泳動により評価すると、リポプレックスを形成していることが確認された。作製したリポプレックスの温度応答性を評価するために透過率測定を行ったところ、透過率は 37℃以下までは一定の値を示したのに対し、40℃付近まで加温すると減少に転じたことから、リポプレックスが温度応答時に脱水和して凝集したことが示唆された。作製したリポプレックスは、光照射により細胞取り込み・エンドソーム脱出の促進ができる遺伝子ベクターとして期待される。

1P-091-II

蛍光標識法によるリポソームの活性化血小板に対する結合能の評価法

¹ 早稲田大学大学院先進理工学研究科, ² 早稲田大学ナノ・ライフ創新研究機構

○中原景子¹ (Nakahara Keiko), 陳 素雲¹, 李 天舒², 武岡真司¹

【緒言】血小板輸血は血小板減少症や大量出血の治療法として有効であるが、長期保存が困難であり、感染やアレルギーなどの副作用が懸念されている^{1,2)}。当研究室では長期保存、大量調製可能な血小板代替物として H12-(ADP)リポソームを開発してきた。本リポソームはリポソーム表面上に担持されたフィブリノゲン γ 鎖 C 末端ドデカペプチドである H12 を介して活性化血小板上の GPIIb/IIIa と結合することで、出血部位特異的に集積し内包 ADP を放出して血小板凝集を増強する³⁾。H12-リポソームは活性化血小板凝集塊中に巻き込まれると考えられているが、これまで具体的かつ定量的なデータは得られていなかった。本研究では蛍光標識法によるリポソームの活性化血小板に対する結合能評価法の構築を目的とする。

【実験】96 ウェルガラスプレートに血小板、蛍光標識リポソーム、血小板を活性する ADP を添加し、固定した後、蛍光顕微鏡を用いて血小板凝集塊中の蛍光標識リポソームの観察及び蛍光定量を行った。始めに最適な血小板数、リポソーム濃度、洗浄回数を検討した。続いて血小板のタンパク量を測定し、タンパク量あたりの蛍光強度を比較することによりサンプル間の血小板数の差異を補正し評価法を構築した。構築した評価法を用いて血小板凝集塊中に巻き込まれる蛍光標識リポソーム量を H12 修飾の有無により検討した。

【結果と考察】蛍光顕微鏡を用いた血小板凝集塊中の蛍光標識リポソームの観察及び蛍光定量において、最適な血小板数は $20 \times 10^4 / \mu\text{L}$ 、リポソーム濃度は $200 \times 10^6 \text{ M}$ 、洗浄回数は 4 回であった。タンパク量あたりの蛍光強度を比較することによりサンプル間の血小板数の差異を補正することで評価法を構築した。また、H12 修飾リポソームは H12 未修飾リポソームに比べ 2 倍血小板凝集塊中に巻き込まれることが示唆された。

1) Blajchman M.A., *Transfus Clin Biol*, **8**, 267-271(2001), 2) Taguchi K *et al.*, *Drug Metab Dispos*, **41**, 1584-1591(2013), 3) Okamura Y *et al.*, *Transfusion*, **7**, 1221-1228 (2005).

1P-092-III

ナノ EPR 増強剤である NO 搭載型アルブミンダイマーを駆使した次世代型がん治療法の開発

¹ 熊本大学薬学部薬剤学分野, ² 徳島大学薬学部薬物動態制御学分野, ³ 崇城大学薬学部, ⁴ 崇城大学 DDS 研究所

○木下 遼¹ (Kinoshita Ryo), 異島 優², 池田真由美², 中村秀明^{3,4}, 方 軍^{3,4}, 渡邊博志¹, 小田切優樹^{3,4}, 丸山 徹¹

【緒言】ナノ粒子アルブミン結合パクリタキセルである Abraxane® は Enhanced Permeability and Retention effect (EPR 効果) を基盤として開発された高分子抗がん剤であり、臨床でも用いられている。しかしながら、近年の受動的経血管デリバリーでは、EPR 効果を利用しても、満足のいく治療効果を得るための十分量の薬剤を送達することはできていない。そのため、内因的な EPR 効果を向上させるため、我々は EPR 効果増強因子である一酸化窒素 (NO) に焦点を当て、さらに効果的な NO キャリアである一酸化窒素搭載型アルブミンダイマー (SNO-HSA Dimer) を開発した。そこで、本研究において、我々は SNO-HSA Dimer が Abraxane® 治療へ及ぼす効果を評価した。

【実験】SNO-HSA Dimer による EPR 効果の増強は in vivo における EPR 効果の指標であるエバンスブルー色素 (EB) を用いて評価した。Abraxane® の治療効果への SNO-HSA Dimer の効果を確認するために、我々は 3 種類の担がんモデル (マウス大腸がん (C26) 担がんマウス、マウスメラノーマ (B16) 担がんマウス、ヒト膵臓がん (SUIT2) 同所移植マウス) において、Abraxane® と SNO-HSA Dimer の併用療法を行い、Abraxane® の治療効果及び体内分布の評価を行った。

【結果と考察】C26 担がんマウスにおいて、SNO-HSA Dimer は腫瘍中の EB 濃度を向上させた。加えて、SNO-HSA Dimer は Abraxane® の腫瘍選択性を増強させた。これらの結果を反映して、SNO-HSA Dimer は Abraxane® の抗腫瘍効果を増強させ、Abraxane® の用量制限毒性である骨髄抑制を軽減した。さらに、血管透過性の低い B16 担がんマウスや、臨床条件を反映した SUIT2 同所移植モデルにおいても Abraxane® の治療効果を向上させた。

【結論】SNO-HSA Dimer はアルブミン結合型抗がん剤の増強剤として有望であり、我々の知見は Abraxane® の次世代型治療法開発のカギになると期待できる。

1P-093-Ⅱ

細胞送達キャリアとしてのリン酸カルシウム被覆 PLGA 微粒子封入アルギン酸ビーズの開発

武蔵野大学薬学部薬学科

○松林信人 (Matsubayashi Makoto), 照喜名孝之, 服部祐介, 大塚 誠

【緒言】

生体の自己再生能力を活かすために、幹細胞等を用いた細胞療法が徐々に実現されている。我々は、骨欠損部において骨芽細胞を生体内で安定に長期間機能することが可能な細胞送達キャリアの粒子設計を行った。アルギン酸は Ca^{2+} などの二価カチオンでゲル化するが、 Na^+ 存在下ではゾル化する。この性質を利用し、アルギン酸ビーズ内部から Ca^{2+} 供給源である各種リン酸カルシウム(CP)コーティング粒子 (シンバスタチン (SIM) 含有 PLGA ナノ粒子及びマイクロ粒子) を封入し、薬物徐放可能で病態応答性のあるアルギン酸ビーズの細胞送達キャリアとしての有用性を *in vitro* において評価した。

【実験】

SIM 封入 PLGA マイクロ及びナノ粒子はそれぞれ O/W 水中乾燥法及び水中拡散法を用いて調製後、高濃度疑似体液 (SBF) 中に浸漬し、各種リン酸カルシウムコーティング PLGA 粒子を得た。骨欠損部での病態応答性を評価するために、正常状態及び低 Ca^{2+} 血漿環境のモデルとして、それぞれ疑似体液 (SBF) 及びリン酸生理緩衝液 (PBS) 中での SIM の溶出挙動を *in vitro* 評価した。また、アルギン酸ビーズ内に細胞を封入し、細胞生存率を評価した。

【結果と考察】

走査型電子顕微鏡、X 線結晶回折及び Ca^{2+} の定量の結果から、リン酸カルシウムコーティングした各 PLGA 粒子が得られたことが示唆された。次に、各 PLGA 粒子を封入したアルギン酸ビーズを SBF 中で溶出試験を行った結果、アルギン酸ビーズは崩壊に時間を要した一方、PBS 中では速崩壊性を示し、崩壊後は PLGA の粒子径に応じた溶出挙動に依存した薬物放出性を示唆した。また、リン酸カルシウムコーティング粒子が封入されたアルギン酸ビーズにおいて、細胞生存率の上昇が示唆されたため、病態応答性細胞送達キャリアとしての応用が期待される。

1P-094-Ⅱ

バキュロウイルス発現系による機能性膜タンパク質提示細胞外ベシクルの構築と機能

¹ 京都大学大学院工学研究科, ² JST-ERATO

○石川良賀¹ (Ishikawa Raga), 吉田昭介¹, 澤田晋一^{1,2}, 佐々木善浩¹, 秋吉一成^{1,2}

【緒言】バキュロウイルスゲノムに膜タンパク質遺伝子を組込むことで作製した組換えバキュロウイルスを昆虫細胞に感染させると、目的膜タンパク質は昆虫細胞膜、および細胞外ベシクル (Extracellular Vesicle: EV) に提示される。本システムは、目的膜タンパク質が大量に提示された EV を得られるだけでなく、真核細胞を用いるため、タンパク質の翻訳後修飾が期待できるなどの特徴がある。本研究では、生体内の過剰な免疫応答を抑制する免疫チェックポイントタンパク質、PD-1 に着目した。癌細胞は PD-1 のリガンドである PD-L1 が高発現しており、PD-1/PD-L1 シグナルにより免疫細胞を不活性化することで免疫システムから巧妙に逃れている。本研究では、バキュロウイルス発現系により PD-1 が提示された組換え EV を作製し、その機能解析を行った。

【実験】バキュロウイルスゲノムのポリヘドリンプロモーター下流に PD-1 遺伝子を組込んだ組換えバキュロウイルスを作製し、Sf9 昆虫細胞に感染させた。感染 4 日後、培養上清を回収し、ショ糖密度勾配遠心によりウイルス遺伝子を含まない組換え EV (PD-1 EV) を分取した。ナノ粒子トラッキング解析 (NTA) により PD-1 EV の粒径を測定し、透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察により PD-1 EV の形態観察を行った。抗 PD-1 抗体を用いたウェスタンブロット解析により、Sf9 昆虫細胞、EV における PD-1 の発現を調べた。また、脂質膜を蛍光標識した PD-1 EV を PD-L1 発現細胞である Hela 細胞に添加し、共焦点レーザー顕微鏡で観察し、EV の局在を調べた。

【結果と考察】NTA 解析と TEM 観察により、平均粒径 158 nm のベシクル様構造体が確認された。ウェスタンブロット解析により、Sf9 昆虫細胞、EV の両方において PD-1 の発現が確認された。また、PD-1 EV と Hela 細胞との相互作用評価において、PD-1 を発現していない EV と比較して、PD-1 EV が Hela 細胞内により多く取り込まれている様子が観察された。これらの結果から、EV 上に発現した PD-1 がその機能を保持しており、PD-L1 発現細胞と相互作用することが示唆された。

1P-095-Ⅲ

ナノ秒パルスレーザジルコニアの表面性状評価

¹ 東北大学大学院工学研究科, ² 鶴見大学歯学部歯科理工学講座, ³ 東北大学大学院医工学研究科

○原井智広¹ (Harai Tomohiro), 廣田正嗣², 早川 徹², 嶋田慶太¹, 水谷正義¹, 厨川常元³

【緒言】

近年、白色で審美的であるという理由から、ジルコニア製の歯科用インプラントへの注目が高まっている。しかし、その骨親和性に関しては不明な点が多く、これを向上させる適切な表面処理法の確立には至っていない。

著者らは、チタン材に対してナノ秒パルスレーザを適用することにより、微細な凹凸の創成と表面の組成変化に起因した骨親和性の向上に成功している。一方、セラミクス材であるジルコニアに対しても同様の効果が得られるかは明らかとなっていない。そこで本報では、イットリアまたはセリア添加型の部分安定化正方晶ジルコニアに対してナノ秒パルスレーザ照射を行い、表面性状の変化を確認するとともに、本手法の有用性について検討・考察を行った。

【実験】

供試材は、Y-TZP および Ce-TZP を用いた。同材を 2 mm × 3 mm、厚さ 1 mm の平板状に機械加工し、一方の端面に耐水研磨紙 (#320~#1200) を用いて鏡面状に仕上げた。本実験では、パルス幅 3 ns の Nd:YAG レーザのスポットを 30 μm × 60 μm のトップハット形状に整形し、波長 1064 nm、出力 150 μJ/pulse、周波数 50 Hz、送り速度 7 μm/s、標準大気雰囲気中で基材鏡面に對し垂直にレーザ照射を行った。

【結果と考察】

SEM 観察により、両材のレーザ照射面には幅 30 μm、深さ 30~40 μm 程度の溝が創成されていることを確認した。以上より、形状に起因する骨親和性の向上が期待できる。しかし、レーザ照射面の様子は Y-TZP はある程度原色を保っていたが、Ce-TZP は黒化しており審美性を欠く結果となった。表面の組成変化を確認するため、EDX により酸素原子数濃度分析を行ったところ、レーザ照射後の Ce-TZP は 25%程度低下していた。さらに、表面ゼータ電位を取得したところ、レーザ照射後の Ce-TZP の表面ゼータ電位は 80%程度低下していた。これより、表面ゼータ電位のアパタイト析出依存性を考慮すると、Ce-TZP へのレーザ照射は骨親和性を低下させる可能性が示唆された。

1P-096-Ⅱ

血液透析代替システムを目指した吸水性ナノファイバーメッシュの作製及び性能評価

¹ 東京理科大学大学院基礎工学研究科, ² 物質・材料研究機構 (NIMS) 国際ナノアーキテクトゥクス研究拠点 (MANA),

³ 筑波大学大学院数理工学物質科学研究科

○柘植美礼^{1,2} (Tsuge Mirei), 栗本理央^{2,3}, 菊池明彦¹, 荏原充宏^{1,2,3}

【緒言】腎臓は、血液から老廃物や余分な水分を濾過及び排出し、また再吸収することで体液の恒常性を維持している。この機能が低下した慢性腎不全患者の多くは、血液透析を始めとする血液浄化法により延命・社会復帰している。日本国内において透析患者数は 32 万人を超えている。しかし、現行の透析治療は高度なインフラを要するため、東日本大震災 (2011 年) では、現地の透析患者は集団疎開を余儀なくされた。このような背景のもと当研究室では、ライフラインが寸断された緊急時や通院できない非常時においても、一時的に急性尿毒症の応急処置が可能な新規治療システムの開発を行っている。本研究では、体内からの速やかな水分除去を目指し、高吸水性ポリマーである poly(sodium acrylate) (PSA) からなるナノファイバーメッシュの開発を行った。

【実験】methanol 中に poly(acrylic acid) (PAA) ($M_n=250,000$) と ethylene glycol を溶解した。調製した溶液に硫酸を加え、エレクトロスピンニング法によりナノファイバーを作製した。その後、130℃で 2 時間静置した。また比較として、同じ材料からなるフィルムも作製した。続いて、フィルム及びナノファイバーを水酸化ナトリウムと塩化ナトリウムの混合溶液に 1 時間浸漬させ、PSA フィルム及び PSA ナノファイバーを作製した。さらに、作製した PSA フィルム及び PSA ナノファイバーの形状及び吸水能について評価した。

【結果と考察】作製した PSA フィルム及びナノファイバーの走査型電子顕微鏡 (SEM) 画像から、フィルムは平滑で明らかな孔は認められなかったのに対し、ナノファイバーは比較的均一な繊維径を有することを確認した。PSA フィルム及びナノファイバーの吸水能を、マウス血液中における吸水量を測定した。PSA ナノファイバーは、約 10 倍の膨潤度を示し、PSA フィルムは約 4 倍であった。したがって、ナノファイバーはフィルムの約 2.5 倍の吸水能を示しており、これは、ナノファイバーの繊維状ナノ構造による毛細管現象に起因すると考えられる。この結果から、ナノファイバーの形状をとることで、より効率的に吸水可能であることが示唆された。

1P-097-Ⅲ

タラゼラチンの疎水化による組織・臓器接着性の向上

¹筑波大学大学院数理物質科学研究科, ²物質・材料研究機構機能性材料研究拠点

○水野陽介^{1,2} (Mizuno Yosuke), 水田 亮^{1,2}, 西口昭広², 田口哲志^{1,2}

【緒言】外科手術において、接着剤は肺縫合部からのエアリーク防止や血管等の吻合部などに用いられている。しかし、現在医療現場で使用されている外科用接着剤は接着強度と生体親和性の両立に課題があり、両者を併せ持つ接着剤が求められている。我々はこれまでにブタ由来ゼラチンにコレステリル基を導入することで湿潤組織に対して高いシーリング効果を示す組織接着剤を開発した。しかし、ブタ由来ゼラチンは高濃度・低温において流動性が低いため、使用前に加温の必要があった。そこで、ブタ由来ゼラチンと比較してイミノ酸含有量が低いことにより常温流動性を示すタラ由来ゼラチン(Alaska Pollock-derived gelatin, ApGltln)に着目し、疎水化 ApGltln を用いた接着剤の調製と機能について評価した。

【実験】ApGltln の疎水化は、ApGltln に含まれるリジン残基にドデカノールを反応させ、その後 2-ピコリンボランにより還元することでドデシル基導入 ApGltln(C12-ApGltln)合成し、4S-PEG 架橋剤と混合することで接着剤とした。C12-ApGltln 接着剤の生体組織に対する耐圧試験は、穴を開けたブタ大動脈およびラット肺エアリークモデルに対して行った。一方、生体内分解性は接着剤を硬化させたディスク状接着剤をラット皮下に埋入することで評価した。

【結果と考察】C12-ApGltln 接着剤のブタ大動脈組織およびラット肺に対する耐圧強度は Org-ApGltln 接着剤およびフィブリン系接着剤と比較して有意に高い耐圧強度を示した。これは、C12-ApGltln 中のドデシル基がコラーゲン・エラスチンなどの疎水性タンパク質や細胞の脂質二重層と疎水性相互作用をすることに起因すると考えられた。接着剤の生体内分解性については、C12-および Org-ApGltln 接着剤は強い炎症が確認されることなくラット皮下において 28 日以内に完全に分解・吸収された。

以上の結果から、C12-ApGltln 接着剤は高い組織接着性を有するだけでなく、優れた生体親和性も有していることから、既存品に代わる組織接着剤として、医学応用が期待される。

【参考論文】

Y. Mizuno, R. Mizuta, M. Hashizume and T. Taguchi, *Biomater Sci*, 2017, **5**, 982-989.

1P-098-Ⅰ

水溶液法を用いた生体吸収性マグネシウム合金の結晶性リン酸カルシウム被覆

京都大学大学院エネルギー科学研究科

○渡邊 慎 (Watanabe Shin), 藪塚武史, 高井茂臣

【緒言】

生体吸収性を有する Mg 合金は次世代の金属生体材料として近年注目を集めている。しかし Mg 合金は生体内での吸収が速すぎる欠点を持つ。この合金を安定な結晶相からなる十分な膜厚のリン酸カルシウム (CaP) で被覆することができれば、適度な生体吸収性と骨結合性を併せ持つ新規生体材料を開発することができる。Mg イオンはアパタイトの結晶成長を阻害することが報告されており、従来の水溶液法では Mg 合金の結晶性 CaP 被覆には長期間を要する。本研究では、前処理として陽極酸化を施すことで、擬似体液(SBF)のイオン濃度を改変した水溶液を用いて、Mg 合金表面に結晶性 CaP を短時間で成長させた。これらの各過程での Mg 合金の表面、断面形態および結晶相の変化を評価した。

【実験】

CaP 被覆に用いる反応溶液として、従来の SBF の 3 倍の Ca^{2+} 、 HPO_4^{2-} と低い Na^+ 、 Cl^- 濃度をもつ水溶液(conc.SBF)を調製した。# 400 研磨紙で研磨した Mg 合金(AZ-31)を陽極、白金板を陰極、電解液を 1.0 M NaOH 水溶液として定電圧 10 V を 10 分間印加し、合金表面に酸化被膜を形成させた。この試料を、36.5 °C、pH 5.0 に調整した conc.SBF に浸漬し、36.5 °C 恒温槽中で 1 日静置した。コントロールとして、未処理の Mg 合金も同条件で浸漬した。浸漬後の試料表面および断面を XRD、SEM、EDX を用いて分析した。

【結果と考察】

conc.SBF 浸漬 1 日後、未処理の試料表面では ACP が形成していた。一方、陽極酸化を行った試料では、浸漬 1 日以内で表面全体に鱗片状結晶が観察され、XRD 測定ではアパタイトに帰属されるピークが検出された。断面を観察したところ、アパタイト層は約 7 μm の厚みであった。これらの結果から、conc.SBF の高い Ca^{2+} 、 HPO_4^{2-} により CaP 成長が加速したことに加え、陽極酸化皮膜が Mg 合金からの Mg イオンの溶出を抑えたことにより、1 日以内という短期間でアパタイトが成長したと考えられる。

膝関節機能の改善効果に優れた新規ヒアルロン酸誘導体の開発および特性評価

東京電機大学大学院理工学研究科生命理工学専攻

○金子 凜 (Kaneko Rin), 柳田湧太, 関口はつ美, 田島佑也, 村松和明

【緒言】初期の変形性膝関節症（膝 OA）における対症療法の一つに、生体多糖である高分子量ヒアルロン酸（HA）の関節内投与が挙げられる。しかし、OA などの関節症患者の関節液では健常者と比較してヒアルロニダーゼ活性が高く、関節内投与された HA の半減期は短い傾向にあることから、効果の持続性は乏しいことが示唆されている。それ故、複数回の経皮的投与の必然性が生じるが、感染リスクの増加や局所組織の炎症・損傷といった課題が存在する。そこで演者らは、効果の持続性に優れた単回投与型の新規な HA 誘導体の開発を試み、新規誘導体の機能性や有効性を評価した。【実験】カルボジイミド縮合剤を用いて、低分子量ポリグルタミン酸（PGA）を高分子量 HA にグラフト化した誘導体（PGA-g-HA）を作製した。この PGA-g-HA がヒアルロニダーゼに対し分解抵抗性を示すことを検証するため、酵素反応物を SDS-PAGE および Stains All 染色で可視化した。グラフトされた PGA 鎖に起因する PGA-g-HA の免疫原性は、骨髄由来樹状細胞（BMDCs）に対するサイトカイン産生誘導を指標として、RT-PCR 法により解析した。また、PGA-g-HA の生理活性を評価するため、*in vitro* において IL-1 β で刺激された軟骨細胞に対する細胞外マトリックス代謝調節機能を RT-PCR 法にて評価した。さらに、モノヨード酢酸（MIA）で誘導されたラット膝関節炎モデルに対する軟骨保護効果を確認するため、投与 2 週間後に関節軟骨を組織化学的手法にて評価した。【結果と考察】未修飾 HA が完全に分解される酵素反応条件において、見かけ上、PGA-g-HA の分解は確認されなかったことから、グラフトされた PGA は HA 主鎖の分解抵抗性に寄与することが示された。未修飾 HA および PGA-g-HA がそれぞれ暴露された BMDCs を比較した結果、PGA-g-HA 群で IL-10 の発現が有意に増加した点を除き、免疫原性を示唆する主要なサイトカインの発現挙動に統計的な差は見られなかった。IL-1 β で刺激された軟骨細胞に対する *in vitro* 活性も未修飾 HA と PGA-g-HA で同等であった。一方、MIA 誘導ラット膝関節炎モデルに対する *in vivo* 有効性は、未修飾 HA 投与群と比較し PGA-g-HA 投与群で相対的に優れることが示され、これらの差は分子の分解性の違いに起因したものと推察された。以上の結果より、分解抵抗性と生理活性が両立された PGA-g-HA は、未修飾 HA よりも OA における関節機能の改善に有望であることが期待された。

アパタイト核を用いた摺動グレード PEEK への生体活性付与

¹ 京都大学大学院エネルギー科学研究科, ² 香川高等専門学校

○昼田智子¹ (Hiruta Tomoko), 藪塚武史¹, 福島啓斗¹, 高井茂臣¹, 八尾 健²

【緒言】骨に近い弾性率（4.50 GPa）を特徴とし、摺動性・耐摩耗性に優れた摺動グレード PEEK に生体活性を付与することで、材料の特性を活かした人工骨材料の開発を目指した。本研究では摺動グレード PEEK 表面に、硫酸処理により細孔を形成後、体液または擬似体液（SBF）中で高活性にアパタイト形成を誘起するリン酸カルシウム微粒子（アパタイト核）を析出する手法[1]により、生体活性を有する摺動グレード PEEK を開発した。

【実験】摺動グレード PEEK（炭素繊維、グラファイト、PTFE 含有）の基板を、98 wt%硫酸に浸漬することで、表面に細孔を形成させた。この基板に、酸素雰囲気下で出力 200 W、4 分間のグロー放電処理を行い、表面の親水性を向上させた。この基板を、速やかに 25.0 °C、pH 8.40 に調整した SBF に浸漬し、70 °C の恒温槽中で 1 日保持することで、細孔内にアパタイト核を析出させた。得られた材料を、SBF（pH 7.40、36.5 °C）に浸漬することで、SBF 中でのアパタイト形成能を評価した。試料表面を TF-XRD、FE-SEM、EDX を用いて分析した。また、基板表面に形成したアパタイト層と基板間の接着強度を、万能材料試験機による引っ張り試験で測定した。

【結果と考察】硫酸により摺動グレード PEEK 表面に網目状の細孔が形成された。アパタイト核を析出させた基板を SBF に 1 日浸漬したのち FE-SEM で観察すると、基板表面全体が骨類似アパタイトに特徴的な鱗片状結晶で覆われていた。EDX では P と Ca のピークが確認され、TF-XRD ではアパタイトの回折ピークが確認された。また形成されたアパタイト層と摺動グレード PEEK 間の接着強度は、13.3 $\pm$ 3.27 MPa（試験片 10）であった。硫酸処理を行わなかった試験片ではアパタイト層が剥がれやすく、接着強度の測定が困難であった。グロー放電処理を行わなかった試験片では 6.79 $\pm$ 1.58 MPa（試験片 9）であった。以上の結果から硫酸による細孔形成が、アパタイト層と基板とのより強い接着強度に寄与することが示唆された。

【参考文献】 [1] T.Yabutuka, K. Fukushima, T. Hirura, S. Takai, T. Yao, *Mater. Sci. Eng. C*, in press.

【謝辞】 本研究の一部は、科研費（16K16401）の助成を受け遂行した。

1P-101-III

頭蓋骨臨界欠損モデルにおける rhBMP-2 担持ナノシートの骨形成促進効果

¹ 東京大学大学院医学系研究科整形外科, ² 東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻, ³ Graduate Institute of Clinical Medical Sciences, College of Medicine, Chang Gung University, ⁴ 東京大学医学系研究科疾患生命工学センター, ⁵ 東海大学工学部応用化学科, ⁶ 東京大学大学院医学系研究科関節機能再建学講座
○村橋靖崇¹ (Murahashi Yasutaka), 石原一彦², Kuo-Chin Huang³, 矢野文子¹, 北浦義昭⁴, 張 成虎¹, 田中 栄¹, 岡村陽介⁵, 齋藤 琢¹, 茂呂 徹⁶

【緒言】我々は以前、医療材料として汎用されているポリ乳酸 (PLLA) を材料に、60-100 nm 厚のシート (ナノシート) を簡便に構築する手法を開発した。PLLA ナノシートは、ナノ厚特有の柔軟な構造により臓器や組織の細かい凹凸に合わせて密着し、高い接着性を示すとともに、生体で分解、吸収される。今回我々は、ナノシートを二重にして間に薬剤を封じ込めることで、ラッピングとドラッグデリバリーの両方の効果を併せ持つナノシートを新たに開発した。本研究では、rhBMP-2 を担持させたナノシートを作成し、マウス頭蓋骨臨界欠損モデルを用いて骨形成促進効果を検証した。

【実験】C57BL/6J マウスの 8 週齢オスの頭蓋骨に直径 3.5mm の骨欠損を作成し、ナノシートを移植しない群 (自然経過群, n= 29)、溶媒 (PBS) のみ担持させたナノシートを移植した群 (PBS ナノシート群, n= 27)、rhBMP-2 (50 µg) を担持させたナノシートを移植した群 (BMP ナノシート群, n= 15) に分けて、骨形成能を経時的に評価した。PBS ナノシート群は自然経過群と比較し、術後 2 週目から骨欠損面積がやや小さい傾向はあったが、移植後 20 週までの間では統計学的な有意差は認めなかった。一方、BMP ナノシート群では自然経過群と比較し、術後 2 週から骨欠損面積は有意に小さく、再生骨の体積も有意に大きくなり、移植後 8 週の時点で骨欠損部の半分近くまで骨再生がみられた。組織学的変化を Masson' s trichrome 染色で評価したところ、自然経過群、PBS ナノシート群では術後 2 週から欠損部辺縁に線維性組織の肥厚が見られたが、術後 8 週の時点では消失していた。一方、BMP ナノシート群では術後 2 週の時点で欠損部辺縁から中央にかけて旺盛な新生骨形成が認められ、8 週まで骨組織の増大と成熟が続いた。薬剤徐放性を調べるため、BMP ナノシートを細胞培養液に浸し、培養液中に放出される rhBMP-2 を経時的に ELISA で定量したところ、2 か月以上にわたって rhBMP-2 が緩やかに徐放されることが確認された。【結果と考察】 rhBMP-2 を担持させたナノシートには強力な骨形成促進作用があり、優れた徐放効果を持つことが明らかになった。PLLA ナノシートは、ラッピングと薬剤徐放の 2 つの効果を併せもち、骨再生以外の多くの分野で応用が期待できる。

1P-102-III

硫酸化ポリロタキサン/骨形成因子複合体によるマウス頭蓋骨欠損モデル骨形成促進効果

¹ 東京医科歯科大学学生体材料工学研究所, ² 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
○寺内正彦¹ (Terauchi Masahiko), 稲田大佳輔², 田村篤志¹, 山口 聡², 由井伸彦¹

【緒言】

BMP-2 は強力な骨誘導能を有することから骨再生において注目されているが、生理的条件下での速やかな失活、多量投与による副作用の懸念から臨床応用が疑問視されている。負電荷を有する硫酸基を多く含むヘパリンは、正電荷の BMP-2 と静電相互作用による複合体を形成することで BMP-2 の失活を防止し、骨誘導能力を増強することが知られており、低投与量での骨再生が期待される。しかし、ヘパリンは強力な血液抗凝固作用を有するため、臨床応用は難しいことが想定される。本研究では、線状分子上に α -シクロデキストリンが複数貫通した超分子ポリロタキサン (PRX) に着目し、ヘパリンの機能を模倣することを目的に硫酸基を導入した硫酸化 PRX (SPE-PRX) を設計し、マウス頭蓋骨欠損モデルにおける骨形成能及び、生体安全性を評価した。

【実験】

5 週齢・雄の ICR マウス頭頂骨上に直径 3.5mm に生検用パンチにて頭蓋骨欠損を作製し、SPE-PRX / BMP-2 複合体溶液を浸したアテロコラーゲンスポンジを欠損部に埋入した。各マウスの骨形成量は、手術後 1、2、3、4 週目にマイクロ X 線 CT 及び、ヘマトキシリン・エオジン染色切片を作製し評価した。また、術後 24 時間での血液生化学検査を行い、腎・肝機能を評価した。

【結果と考察】

SPE-PRX/BMP-2 群は術中・術後の止血が容易であったことに對し、ヘパリン/BMP-2 群は術後 30 分経過しても創部からの出血を認めた。SPE-PRX/BMP-2 群は、術後 4 週でヘパリン/BMP-2 群及び、BMP-2 単体群よりも優位な骨形成能を示した。血液生化学検査では腎・肝機能に異常な値を認めなかった。以上より、SPE-PRX は、毒性および抗凝固活性を有さず、BMP-2 の骨誘導能を増強する有望な高分子材料として期待される。

1P-103- I

血管内皮細胞増殖因子を特異的に捕捉する RNA アプタマー修飾材料の機能評価

¹国立医薬品食品衛生研究所, ²株式会社リボミック, ³東京大学医科学研究所

○森下裕貴¹ (Morishita Yuki), 野村祐介¹, 福井千恵¹, 中村義一^{2,3}, 靄島由二¹

【緒言】生体内に埋植した材料の表面に形成される蛋白質層の組成を人為的に制御できれば、同材料に特定の機能を発揮させることが可能と考えられる。RNA アプタマーは任意の標的を選択的に捕捉する機能を持ち、自在に設計できると共に、化学合成可能であるため、抗体や成長因子等を固定化した材料と比較して、コスト、安全性、品質管理等の点で優れた機能性材料の創成に応用できる可能性がある。本研究では、埋植部位への血管内皮前駆細胞の遊走や血管新生を促進可能な医用材料の開発を目指し、活性を保持した状態で血管内皮細胞増殖因子 (VEGF₁₆₅) を選択的に捕捉する RNA アプタマーを修飾した材料を作製し、その機能を評価した。

【実験】試験管内選択法により取得した VEGF₁₆₅ 捕捉型 RNA アプタマー候補の VEGF₁₆₅ 結合能及び RNA アプタマー/VEGF₁₆₅/VEGF 受容体三者複合体形成能は表面プラズモン共鳴法により評価した。三者複合体形成時の VEGF₁₆₅ 活性は、ヒト臍帯静脈内皮細胞に RNA アプタマーと VEGF₁₆₅ の混合溶液を添加した際の VEGF 受容体のリン酸化を指標としてウェスタンブロットにより評価した。VEGF₁₆₅ 捕捉能は、RNA アプタマー候補を固定化した金板を作成し、VEGF₁₆₅ 添加血清中でインキュベート後、材料表面に吸着した VEGF₁₆₅ を回収し、ELISA により定量した。

【結果と考察】表面プラズモン共鳴法による解析の結果、RNA アプタマー候補はランダム配列 RNA アプタマーと比較して、VEGF₁₆₅ に対して高親和性 ($K_d = 58.9 \text{ pM}$) を示すと共に、RNA アプタマー/VEGF₁₆₅/VEGF 受容体複合体を形成可能であった。また、ウェスタンブロットによる解析の結果、ヒト臍帯静脈内皮細胞に RNA アプタマー候補と VEGF₁₆₅ を共添加しても、VEGF₁₆₅ 単独添加時と比較して、VEGF 受容体のリン酸化は減弱しなかったことから、当該 RNA アプタマーは、活性を保持した状態で VEGF₁₆₅ を捕捉可能であることが明らかとなった。この RNA アプタマーを固定化した金板上への VEGF₁₆₅ 吸着挙動を評価した結果、未修飾の金板や、対照群として poly dT を固定化した金板と比較して、VEGF₁₆₅ の吸着量が有意に増加することが明らかとなった。今後、VEGF₁₆₅ 捕捉型 RNA アプタマー材料の in vivo における有用性を評価していく予定である。

1P-104- I

細胞間の接着を誘起するアンカー分子の合成と新規三次元細胞パターンニング技術への応用

¹大阪大学大学院工学研究科, ²JST さきがけ

○柳澤公祐¹ (Yanagisawa Kosuke), 松崎典弥^{1,2}

【緒言】

生体の組織や臓器では、複数の細胞が三次元的に集合、相互作用することで高い細胞機能を発現している。これを再現した三次元組織体の構築は再生医療や創薬の観点で重要である。これまで、基板表面での二次元の細胞パターンニングは報告されているが、細胞層の上での細胞パターンニングの報告例はわずかであり、1細胞レベルで細胞表面へのパターンニングをした例はない。細胞表面での細胞の精密配置制御が可能になれば、複雑な形状の三次元組織体の構築を実現できると期待される。本研究では、細胞間接着を誘起するアンカー分子を考案した。まず、脂肪酸の細胞膜挿入能に着目し、蛍光ラベル化脂肪酸を合成することで、細胞間接着に最適な脂肪酸を見出した。得られた最適脂肪酸を多分岐ポリエチレングリコール (PEG) の末端に修飾することでアンカー分子を合成し、実際に細胞間接着能を評価した。

【実験】

各種脂肪酸 (FA) とフルオレセイングリシンアミド (FGA) を混合し、FA-FGA を合成した。これを正常ヒト皮膚繊維芽細胞 (NHDF) の表面上に添加し、培養した後、リン酸緩衝生理食塩水で洗浄し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

【結果と考察】

飽和 FA はいずれも低い挿入能であったが、不飽和 FA は炭素数・二重結合数の増加につれて高い挿入能を示し、特にエイコサペンタエン酸 (EPA) が最も高い値を示した。この結果より、最適な脂肪酸として EPA を選択した。次に、末端に EPA を修飾した 4-arm-PEG-EPA を合成し、細胞-細胞間接着能を検討した。本分子を吸着させた NHDF を、あらかじめ数日間培養した NHDF の表面にインクジェットでプリントしたところ、細胞毒性を示さずに安定的に留まることが確認された。細胞間の接着を誘起することから、本分子の細胞表面への 1細胞パターンニングの可能性を見出した。また、イオン応答性ゲル転移を示すゼランガムを補助剤として用いることで、824 個の細胞クラスターのパターンニングが可能であった。これらの結果より、アンカー分子は細胞の三次元パターンニングに有用だと期待される。

1P-105-II

がん細胞周囲の弱酸性環境を認識してがん殺傷効果を示すモレキュラーブロックの創製

¹大阪大学大学院工学研究科, ²JST さきがけ

○塩路雄大¹ (Shioji Yudai), 松崎典弥^{1,2}

【緒言】 がん治療を目的としたドラッグデリバリーシステム (DDS) では、薬物を担持させるキャリアが必要である。しかし、高濃度で薬物を担持するためには、キャリアのサイズを大きくする必要があり、また、細胞内に薬物を届ける多段階プロセスが必要であった。そこで、細胞内部へ薬物を送達するのではなく、がん細胞の周囲で作用させることでがん細胞を死滅させる手法を考案した。この手法では、血管を通して分子レベルでがんに到達し、がん細胞周囲で自己集合することによって、がんを死滅させることが期待される。がん周囲への自己集合の駆動力として、がん周囲の微小環境がおおよそ pH6.5 の弱酸性であることに着目した。二次胆汁酸の一種であるデオキシコール酸 (DCA) は、 $pK_a = 6.6$ であり、 pK_a 以下でゲル化が起こることが報告されている。この DCA を用いて、がん周囲の弱酸性環境を認識して自己集合し、がん細胞殺傷効果を示すモレキュラーブロックを考案した。本研究では、モレキュラーブロックとして、4-arm polyethylene glycol-deoxycholate (4-PEG-DCA) を合成し、その自己集合挙動を、pH を調製したがん細胞培養モデルで評価した。

【実験】 弱酸性環境に応答したがん細胞への影響を評価するために、1 mg/mL の 4-PEG-DCA 培地溶液を pH7.4 と 6.2 で調製した。1 日培養後のヒト結腸腺がん由来細胞 (HT-29) の培地を、調整した 4-PEG-DCA 培地に交換し、さらに 1 日培養した。培養後のがん細胞の状態を顕微鏡で観察し、細胞生存率を計測した。

【結果と考察】 4-PEG-DCA 培地交換 1 日後において、多数の浮遊細胞が観察された。そこで、浮遊細胞と接着細胞を別々に回収し、生存率を計測したところ、pH6.2 で浮遊細胞が多く、また接着細胞の生存率が低いことが分かった。また、顕微鏡観察において、がん細胞の接着と細胞間の結合が阻害されていることを見出した。これらの結果より、4-PEG-DCA は弱酸性環境で pH 応答性を示し、がん細胞の周囲に集合することで細胞死を誘導したことが考えられる。がん周囲の微小環境を認識して自己集合により殺傷する本分子は、新規のがん治療法として期待される。

1P-106-III

人工真皮への応用を指向したコラーゲンナノシートの創製と機能評価

¹東海大学大学院工学研究科応用理化学専攻, ²東海大学医学部再生医療科学, ³東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター

○五十嵐敦¹ (Igarashi Atsushi), 住吉秀明², 稲垣 豊², 岡村陽介^{1,3}

【緒言】 現在、皮膚全層欠損創の治療には、コラーゲンスポンジが人工真皮として使用されている¹⁾。しかし、その最表面は多孔質の構造であるため表皮細胞が伸展しにくく、患者の他部位からの表皮移植が必要となる。他方、高分子を超薄膜 (ナノシート、面積 $> \text{cm}^2$, 膜厚 $< 100 \text{ nm}$) に加工するとナノ厚特有の高接着性が発現し、物理吸着のみで種々の界面を被覆できる²⁾。本研究では、コラーゲンナノシートの調製法ならびにコラーゲンスポンジ表面を閉鎖する手法を提案する。

【結果と考察】 シリコン基板上にアルギン酸ナトリウム水溶液をスピンコートした後、塩化カルシウム水溶液にてゲル化させ、犠牲層とした。次に、コラーゲン水溶液をスピンコートし、加熱操作で不溶化させた。クエン酸ナトリウム水溶液中に浸漬させたところ、犠牲層が瞬時に溶解し、基板の形状を維持したナノシートが水面に浮いた状態で回収できた (膜厚: $41 \pm 13 \text{ nm}$)。その表面を電顕観察したところ、平滑な表面であることが確認できた。さらに、AFM 観察にてコラーゲン特有の 67 nm 周期の線維束構造も一部に観察できたことより、コラーゲンからなるナノシートの調製に成功したといえる。続いて、液体窒素にて凍結させたコラーゲンスポンジを水面に浮遊させたコラーゲンナノシートと面接触吸着させ、瞬時に凍結乾燥することにより、コラーゲンスポンジの形状を維持したまま回収できた。その最表面を電顕観察したところ、ナノシートが貼付されている領域を境に孔が閉鎖され、平滑になっている様子を確認することができた。以上、コラーゲンナノシートを用いたスポンジ表面の閉鎖法を確立した。現在、ナノシートを貼付したコラーゲンスポンジの *in vivo* における表皮再生能評価を検討しており、当日併せて報告する。

1) Koide M. *et al. J Bio Mater Res.* 27, 79-87 (1993).

2) Okamura, Y. *et al. Adv. Mater.* 21, 4388-4392 (2009).

1P-107-I

多糖・コラーゲンをを用いたペプチド高機能化足場材料の開発

¹名古屋大学大学院創薬科学研究科, ²名古屋大学大学院医学系研究科, ³農研機構生物機能利用研究部門

○金子喬士郎¹ (Kaneko Kyoshiro), 蟹江 慧¹, 堀川美希¹, 緒方藍歌², 成田裕司², 竹澤俊明³, 加藤竜司¹

【緒言】

細胞足場材料には、合成高分子から生体由来高分子まで、多くの有用な材料が報告されている。合成高分子は、極めて高度なデザイン性と工業生産の容易さを有する半面、細胞との親和性や機能性付与能については限定的な側面があり、生体組織と近い柔軟性と強度のバランスをとることが難しい側面もある。一方、タンパク質などの高分子は、生体内に近い細胞の応答性や機能性を与えることが可能であり、生体組織に近い力学的強度を実現できる性質を持つ半面、工業的な生産においてはコスト的に高くなってしまいう側面がある。このため、再生医療応用の為の足場材料には、化学合成可能な高分子の利点と生体高分子の利点とをハイブリッドした材料の開発が求められている。さらに、特色ある力学特性を有した材料開発には、合成方法に加え、その加工・形成方法も極めて重要な設計因子であることが知られている。我々はこれまで、細胞接着ペプチドや細胞外マトリクス集積ペプチドなどをはじめとした細胞機能を制御する生体由来短鎖ペプチドの探索を行い、目的細胞と目的外の細胞のバランスを制御するような機能的ペプチドを報告してきている。本研究では、多糖やコラーゲンなどを基材としてペプチドと組み合わせ、細胞機能を制御する短鎖ペプチドの機能性を提示できる低コストかつ特色ある足場材料の開発を試みたので、これを報告する。

【実験】

種々のタンパク質や多糖を基礎材料とした足場材料の配合比や強度を調整し、これに対して機能性ペプチドを修飾する条件検討および in vitro 評価を行った。機能性ペプチドとしては、我々のグループがこれまで報告してきている細胞選択的接着ペプチドを用い、ペプチドの機能が足場材料表面で発揮できるかを検証した。

【結果と考察】

今回開発した足場材料において、極めて短いペプチドである細胞選択的接着ペプチドが多糖やコラーゲンの存在下でも目的の機能性示し、目的の細胞の接着を促進し、目的外の細胞の接着を抑制できることを示すことができた。

1P-108-II

マイクロ流路チップを用いた脈絡膜毛細血管培養モデルの開発

¹東北大学大学院工学研究科, ²東北大学大学院医学系研究科

○伊藤 竣¹ (Ito Shun), Li-Jiun Chen¹, 永井展祐², 西澤松彦¹, 阿部俊明², 梶 弘和¹

現在、加齢黄斑変性と呼ばれる疾患が失明の主要な原因の一つとなっている。これは網膜中心部の黄斑において、脈絡膜からの新生血管が上層の網膜色素上皮に侵入して網膜が障害される病気である。また、近年、Organ on a Chipの開発により生体内の臓器や組織をマイクロ流路チップ内に再現することが可能となり、疾患モデルの開発や薬剤スクリーニングに大きな期待が持たれている。そこで本研究では、加齢黄斑変性において見られる脈絡膜新生血管を再現するためにマイクロ流路チップを用いて毛細血管網である脈絡膜を模倣した培養モデルを開発した。

【実験】

チャンネル間にマイクロポストアレイを形成した流路チップを用いて眼底組織モデルを作製した。まず、ソフトリソグラフィの技術を用いてポリジメチルシロキサン(PDMS)製のマイクロ流路チップを作製した。ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)、ヒト肺線維芽細胞(NHLF)を懸濁させたフィブリノーゲンとトロンビンの混合溶液を中央と両脇のチャンネルにそれぞれ注入し、ゲル化させた後、培養液で満たした。インキュベータで培養を続け、血管が形成した後、血管上面から網膜色素上皮細胞(RPE)を播種することで共培養系を作製した。

【結果と考察】

HUVECは単独培養において、播種直後粒状であり時間の経過とともに細胞の伸長のみが観察された。一方でHUVECとNHLFの共培養においてはHUVECが単独培養のものよりも早く成長し、細胞同士が結合して毛細血管網を形成することが観察された。この作製した血管において蛍光粒子を導入したところ、血管内に粒子が灌流した様子が観察されたことから管腔構造が形成されていることが示唆された。今後は、マイクロ流路チップ内に灌流可能な毛細血管網を作製し、血管層の上ではRPE細胞を培養することで脈絡膜毛細血管培養モデルを構築することを予定している。また、細胞周辺環境を制御することで病的新生血管を誘導し、病態モデルとしての評価を行う。

1P-109-Ⅱ

生分解性インジェクタブルゲルを用いた血管再生医療技術の開発

甲南大学フロンティアサイエンス学部

○角谷真菜美 (Sumiya Manami), 長濱宏治, 大山菜穂

【緒言】幹細胞や体細胞を移植し機能化・組織化させる再生医療が多く研究されている。再生医療を行うため再生させる組織に栄養や酸素を運搬する血管を速やかに新生させることが重要である。本研究では組織を再生させるため移植細胞と同時に血管細胞の血管新生を促進させる薬物を移植細胞の足場となるゲルに担持し共に移植することで、薬物により速やかに移植細胞を増殖、組織化させ、担持した薬物の効果により再生させる組織に酸素や栄養などを運ぶ血管をゲルの内側から作らせ、ゲルの外側からも血管の侵入を促進することで再生効率を良くしようと研究している。その研究結果について報告する。

【実験】体温に応答しゲル化する生分解性ポリマーの PLGA-PEG-PLGA と、高分子電解質を強く吸着する特性を持つクレイナノ粒子である Laponite を複合したインジェクタブルゲルに鉄除去剤である Deferoxamine (以下、DFO) を担持させたゲルを作製した。ゲル内に担持されている DFO がどの程度の時間経過でゲル外に放出されるのかをゲル上清の PBS を吸光度測定することで調べた。複合ゲルに DFO を担持させる際 DFO 濃度の変化によりゲルのネットワーク形成にどのような影響がみられるのか、ゲルを SEM 観察し確認した。DFO 担持複合ゲルと DFO を担持しない複合ゲル上に HUVEC 細胞を播種し細胞の接着性と増殖性を調べた。

【結果と考察】ゲルの上清を吸光度測定した結果ゲルに担持させた DFO は 2 週間ではほぼ全量放出された。これより本複合ゲルは薬物運搬材料としての働きが可能であるとわかる。複合ゲルを SEM 観察したところ DFO 濃度が高くなるにしたがってゲルの孔が密になった。DFO 担持複合ゲルの上で HUVEC 細胞を培養すると培養シャーレ上では見られない血管形成初期にみられる細胞同士が集合し分岐構造が形成される現象が観察された。また DFO を含まない複合ゲル上でも細胞の分岐構造形成が確認されたことから本複合ゲルは血管再生の足場として大変優秀であるとわかった。本複合インジェクタブルゲルは既存のインジェクタブルゲルの性能をはるかに上回っており、in vivo 組織工学の実用化に推進可能な基盤材料であることが示された。

1P-110-Ⅱ

生体高分子により成分置換されるインジェクタブルゲルを用いた皮膚再生技術の開発

甲南大学フロンティアサイエンス学部

○小野公佳 (Ono Kimika), 長濱宏治

【緒言】皮膚には多くの種類の細胞が存在し、それらが組織化して表皮・真皮・皮下組織からなる階層構造を形成しており、さらには内外分泌腺や毛胞など付属器を形成する。皮膚の構造的かつ機能的再生には、これらの階層構造と付属器の再構築が求められる。現在、皮膚の再生医療では主に人工真皮（コラーゲンスポンジ）や自己培養表皮が用いられているが、これらの手法では皮膚の構造・付属器の一部しか再建できない。従って、皮膚を構造的かつ機能的に完全に再生する技術の開発は重要な課題である。私たちは、in vivo で生体高分子（細胞外基質や増殖因子など）により成分置換されるインジェクタブルゲルを開発し、ゲル内部が生体本来の細胞外環境のようになることで、ゲル内での細胞の組織化や機能発現を誘導することを見出した。本研究では、本インジェクタブルゲルを用いて、皮膚組織の完全再生技術の開発を試みた。

【実験】本インジェクタブルゲルは、PLGA-PEG-PLGA と高分子電解質を強く吸着するクレイナノ粒子 (LAPONITE) から成る。In vitro 実験において、ゲルの細胞足場として機能を調べるため、ゲル上に線維芽細胞を播き、接着・伸展・増殖を共焦点顕微鏡により調べた。また、ゲルに線維芽細胞などを内包し、三次元増殖や遊走について、共焦点顕微鏡により調べた。In vivo 実験では、皮膚創傷マウスへゲルを塗布したのち経過観察し、創傷治療および再建した皮膚組織の構造解析を行った。また、あらかじめマウス皮下に投与しておくことで生体組織に置換させたゲル（コンディションドゲル）を取り出し、皮膚創傷マウスに塗布した。in vitro で作製したゲルとコンディションドゲルの創傷治癒効果を比較した。

【結果と考察】ゲル上で線維芽細胞は接着・伸展し、増殖した。また、ゲル内においても線維芽細胞や血管内皮細胞、脂肪組織由来幹細胞など様々な細胞種で増殖が見られたことから、ゲルは細胞の足場として機能することを確認した。In vitro で作製したゲルを用いて処置した皮膚創傷マウスでは、肉芽形成が初期から観察され、効果的に創傷縮小が起こった。また、組織切片の解析より、再建された皮膚には表皮・真皮が形成され、さらに血管や腺、毛包などの付属器も見られた。コンディションドゲルを用いた処置では、より早い段階から創傷縮小が起こり、厚みのある皮膚組織が再建された。以上より、本インジェクタブルゲルは、皮膚の完全再生技術を開発するために有用な医療材料になると期待できる。

1P-111-I

マクロファージに作用する 2 種類の疎水性薬物の徐放化材料の作製

京都大学 ウイルス・再生医科学研究所

○百鳥直樹 (Momotori Naoki), 田中隆介, 田畑泰彦

【緒言】

マクロファージは炎症性と抗炎症性の 2 つの性質をもつ細胞に分極することが知られている。その中で抗炎症性マクロファージは、炎症を抑制して組織再生修復を促す働きをすることが知られている。そこでこのマクロファージを損傷部位に移動させることができれば組織再生を助けることができるであろう。骨髄で作られた単球が血液循環を経て体内の組織へ移動しそこでマクロファージへと分化する。そのため必要部位で抗炎症性マクロファージを出現させるためには、単球の血中での遊走および抗炎症性マクロファージへの分極という 2 つを達成することが必要である。本研究では、単球動員活性をもつ薬物である SEW2871、および抗炎症性マクロファージに分極させる作用をもつ薬物である pioglitazone を取り上げた。これらの 2 種類の薬物を同時に徐放化できる材料を調製し、その徐放挙動と細胞への作用を調べた。

【実験と結果】

ゼラチン（重量平均分子量 100,000、等電点 5、新田ゼラチン株式会社より供与）にコレステロールを化学導入した疎水性ゼラチンを作製した。この疎水性ゼラチンを難水溶性の SEW2871 と混合、ゼラチンミセルにより SEW2871 を水可溶化させた。ゼラチンとコレステロールの仕込み比を変化させることによりコレステロール導入率が変化した。SEW2871 の水可溶化量はコレステロール導入率に依存した。この SEW2871 内包ゼラチンミセルの in vitro 単球移動活性を調べたところ、単球が移動することがわかった。pioglitazone を内包した乳酸-グリコール酸共重合体（乳酸/グリコール酸 75 : 25、重量平均分子量 10,000、和光純薬工業株式会社株式会社、以下 PLGA）粒子を作製し、pioglitazone の内包量を評価した。pioglitazone 内包 PLGA 粒子を骨髄由来マクロファージとともに培養することで抗炎症性マクロファージへの分極について評価した。pioglitazone 内包 PLGA 粒子の in vitro において pioglitazone の徐放が認められた。SEW2871 水可溶化ミセルおよび pioglitazone 内包 PLGA 粒子を同時に組み込んだゼラチンハイドロゲル（ゼラチンの重量平均分子量 100,000、等電点 9、新田ゼラチン株式会社より供与）を調製し、in vitro での SEW2871 および pioglitazone の徐放も評価した。

1P-112-II

微量の過酸化水素を含む空気と HRP を用いた微量押し出し式 3D-Bioprinting 技術の開発

大阪大学基礎工学研究科物質創成専攻化学工学領域

○望月 佳 (Mochizuki Kei), 境 慎司, 中畑雅樹, 田谷正仁

【緒言】

細胞の配置や組織の形状を制御できる組織作製法「3D-Bioprinting 技術」が注目を集めてきた。3D-Bioprinting 技術に用いられてきたゲル化方法の中で、西洋わさび由来ペルオキシダーゼ (HRP) を用いたゲル化には、過酸化水素を基質とし生体に穏和な条件下で、フェノール性水酸基をもつ様々な高分子からゲルを作製できるという利点がある。HRP を用いた先行研究では、高分子溶液と過酸化水素溶液の接触によってゲル化を達成してきた。しかしこの方法には、ゲル周囲に存在する過酸化水素溶液によって細胞が悪影響を受ける危険性があった。そこで我々は、微量の過酸化水素を含む空気と高分子溶液を接触させることで過酸化水素を供給する手法を考案した。本手法を用いれば、ゲル化後に過酸化水素の供給を即座に止められるだけでなく、形成したゲルを順次培養液に浸していくことで、過酸化水素の過剰供給を抑えられる。

【実験】

過酸化水素 1.0 M 水溶液に流量 540 mL/min の空気を送り込み、過酸化水素を 16 ppm で含む空気を発生させた。フェノール性水酸基導入ヒアルロン酸 0.38 w/v%、フェノール性水酸基導入ゼラチン (type B) 0.30 w/v%、ヒアルロン酸 0.75 w/v%、HRP 5.0 U/mL の高分子溶液を用いて、過酸化水素を含む空気の下で微量押し出し式 3D-Bioprinting を行ない、ゲル構造物を作製した。作製した円柱状のゲルを培地中に 2 週間浸し、膨潤率を測定した。また、マウス胎児由来繊維芽細胞を 2.0×10^6 cells/mL で含む高分子溶液を用いて細胞含有ゲル構造物を作製し、培養 1、3 日目に細胞の生存率と挙動を観察した。

【結果と考察】

培地に浸したゲルは分解することなく形状を維持し、2 週間後の膨潤率は直径比で約 5% と極めて安定であった。作製した細胞含有ゲル構造物を培養し、3 日目に細胞生存率を測定したところ、高い値 (>90%) を維持した。また共焦点顕微鏡を用いた解析により、内部の細胞が 3 次元的に伸展していく様子が見られた。以上の結果から、微量の過酸化水素を含む空気を用いたゲル化が細胞の挙動に悪影響を与えないこと、本手法での 3D-Bioprinting の有用性が確認された。

1P-113-Ⅲ

人工多能性幹細胞をソースとした口腔上皮細胞様細胞作製の効率化

¹ 広島大学大学院医歯薬保健学研究科生体材料科学, ² 広島大学大学院医歯薬保健学研究科歯科矯正学

○大西 梓^{1,2} (Onishi Azusa), Aimi N. Abdullah^{1,2}, 谷本幸太郎², 加藤功一¹

【緒言】

口腔上皮細胞は発生初期の歯堤に出現し、間葉系細胞との相互作用を通して歯牙の形成の主役をなす細胞である。この口腔上皮細胞を取得することができれば、歯の完全再生やエナメル質を対象とする再生治療への道が開けるものと期待される。しかしながら、口腔上皮細胞は成体には存在せず、その取得が困難であることから、口腔上皮細胞を得るための方法を確立することには大きな意義がある。このような背景のもと当研究室では、マウス人工多能性幹細胞 (miPS 細胞) に神経栄養因子の一種である neurotrophin-4 (NT-4) を作用させることにより口腔上皮細胞特有の遺伝子を発現する細胞が誘導されることを見出した。本研究では口腔上皮細胞様細胞をより効率的に分化誘導する方法について検討した。

【実験】

フィーダー細胞上で未分化維持培養された miPS 細胞を回収し、NT-4 含有培地を使用してハンギングドロップ法により胚葉体を形成させた (Stage 1)。6 日後に胚葉体を回収し、その後 9 日間接着培養を行った (Stage 2)。口腔上皮細胞様細胞を効率的に分化誘導させる培養条件を模索するため、Stage 1 および 2 において、それぞれの培地に上皮成長因子 (EGF) を添加し、その効果を調べた。上皮細胞マーカーである CK14 および p63 の発現を口腔上皮細胞様細胞への分化の指標とし、蛍光免疫染色法および定量 PCR 法によって解析した。

【結果と考察】

Stage 2 において、基板上に接着した胚葉体から、数石上の細胞が同心円状にマイグレーションした。免疫染色の結果、それらの細胞は CK14 および p63 を高頻度に発現していることがわかった。また、EGF 添加の比較実験において、Stage 1 では EGF 添加群、さらに Stage 2 では EGF 非添加群において上皮細胞マーカーの発現量が上昇した。この結果から、胚葉体形成時には増殖を促進する目的で EGF を添加し、接着培養時には EGF を添加せず分化を促進することで効率的に上皮細胞様細胞を得ることができるものと考えられた。

1P-114-Ⅱ

化合物誘導型ゲノム編集技術の開発

東京医科歯科大学生体材料工学研究所

○松本大亮 (Matsumoto Daisuke), 野村 渉, 玉村啓和

【緒言】近年、CRISPR-Cas9 システムの開発によりゲノム編集技術は大幅に進歩している。ゲノム編集技術で用いられる人工ヌクレアーゼは、20 塩基前後の DNA 配列を認識するため、ゲノム配列上の選択的な切断が可能である。人工ヌクレアーゼの活性制御は、オフターゲット効果の抑制などの課題克服に向けて重要である。本研究では、FK506 binding protein (FKBP) と FKBP12-rapamycin associated protein1 (FRB) が rapamycin を介して会合することを利用した誘導型ヌクレアーゼシステムの開発を行った。

【実験】DNA 結合ドメインと FKBP、DNA 切断ドメインと FRB をそれぞれ融合することで、rapamycin が存在する時のみ DNA 切断が可能となる。本研究では、DNA 結合ドメインとして zinc finger ドメインと transcription activator-like effector ドメインの 2 種類を用い、AAVS1 遺伝子を標的とした。また、DNA 切断ドメインとして FokI ヌクレアーゼの酵素ドメインを利用した。分割したルシフェラーゼ遺伝子内に標的の AAVS1 遺伝子配列を組み込んだレポータープラスミドを用い、細胞内での活性評価を行った。リポフェクション法を用いて人工ヌクレアーゼベクター及びレポータープラスミドを導入し、24 時間後に rapamycin による誘導を行い、48 時間培養した。その後、ルシフェリン-ルシフェラーゼ発光を利用し、細胞溶解液の発光強度を計測した。

【結果と考察】通常型の人工ヌクレアーゼと比較し、最大で約 35% のルシフェラーゼ活性が得られ、rapamycin の有無によって最大で 2.3 倍のルシフェラーゼ活性の向上が確認された。さらに、2 箇所の DNA 結合配列間のスパーサー塩基対の長さを調節することによって、切断効率が向上した。また、切断不活性型 Cas9 (dCas9) を DNA 結合ドメインとして利用した場合にも通常型 TALEN との組み合わせで DNA 切断活性を示すことが明らかになった。このことは本システムが dCas9 にも適用可能であることを示唆しており、より広い標的配列選択が可能であると考えられる。今後は dCas9 の配向性や最適スパーサー長を詳細に検討することでシステムの切断効率の向上が期待される。

生理活性物質の表面固定を意図した DNA 結合ポリ乳酸の合成

¹ 関西大学化学生命工学部, ² 関西大学 ORDIST, ³ 関西大学医工薬連携研究センター

○住田啓迪¹ (Sumida Hiromichi), 能崎優太², 葛谷明紀^{1,3}, 大矢裕一^{1,3}

近年、ポリ乳酸 (PLA) 等の生分解性高分子をスキャホールドとした再生医療に期待が寄せられている。臓器のような階層的 3 次元構造をもった組織を再生するためには、特定の細胞をスキャホールド上の望む位置に配置することが有効であると考えられ、各種の細胞を特異的に認識する多種類の認識素子を材料表面の任意の位置に導入する技術の開発が望まれる。DNA は、配列特異的に 2 重鎖や 4 重鎖を形成し、多種類の組合せで分子同士を接合させることができる「分子のり」として用いることができる。従って、特定の配列を有する DNA を PLA 等の生分解性 3 次元材料の特定部位に導入し、それと特異的に結合する DNA を導入した細胞認識素子と組み合わせることにより、DNA 間の結合を介して多種の細胞認識素子を材料表面の任意の位置に配置することができると考えられる。DNA を PLA 材料表面に固相反応により導入した例も報告されているが¹⁾、その方法では PLA 材料を成形後、DNA 導入反応を行う必要があり、使用できる DNA 量に限界があり、その配置や密度の制御も困難である。この問題は、DNA と PLA との結合体を大量合成し、それを 3D プリンタやインクジェットプリンタなどのアディティブマニュファクチャリング手法と組み合わせて、成形体表面に導入することで解決できると考えられる。近年、我々は DNA の液相大量合成²⁾による機能材料の創出を試みている。この手法ではポリエチレングリコール(PEG)が結合した DNA の大量合成が可能である。そこで、本研究では、この手法を用いて調製した PEG-DNA 結合体を使用して PLA との結合体を合成した。この PEG-DNA 結合体は、DNA 単独より有機溶媒に対する溶解性が高く、PLA と DNA との結合体合成に有利である。まず、ヘテロ二官能 PEG(HO-PEG_{10k}-NH₂)を使用して片末端に 3 残基のグアニンを結合させた PEG-DNA 結合体(dG₃-PEG_{10k}-NH₂)を合成した。次にこれと、活性化させた PLA とのカップリング反応により、DNA-PLA 結合体{PLA_{3k}-b-(PEG_{10k}-dG₃)}を合成した。この結合体溶液を、PLA 基盤表面に塗布したものに、結合体の DNA と特異的に 4 重鎖を形成する配列を有する DNA-蛍光色素(FAM)水溶液を接触させ、洗浄後、蛍光顕微鏡観察することにより特異的な配列認識を介して DNA-FAM を固定できることを確認した。

1) T. Matsui, H. Iwata *et al.*, *Acta Biomaterialia*, **2015**, *13*, 32-41. 2) G. M. Bonora *et al.*, *Biol. Proced. Online*, **1998**, *44*, 60-69.

シランカップリング修飾剤を用いた組織再生型脱細胞血管への細胞親和性付与

¹ 国立循環器病研究センター研究所生体医工学部, ² 関西大学大学院理工学研究科

○古島健太郎^{1,2} (Kojima Kentaro), 馬原 淳¹, 平野義明², 山岡哲二¹

【緒言】脱細胞組織はコラーゲンなどの ECM 成分のみで構成され、生体内で穏やかに分解されながら再細胞化し、リモデリングすることで組織再生用足場として機能することが期待されている。我々は、ダチョウ頸動脈組織から小口径脱細胞血管を作製し、内腔に(Pro-Hyp-Gly)₇-G₃-REDV ペプチドを 60℃の加温プロセスを介して固定化することで血管の良好な開存を示すことを明らかにした。しかし、ペプチド固定化における 60℃の加温プロセスは、マトリックスのわずかな熱変性を誘起することから生体内において、急激な分解や再細胞化プロセスにおける力学強度の不安定化を引き起こす可能性がある。そこで本研究では、脱細胞組織に対する新規リガンドペプチド固定化としてシランカップリング反応に着目した。リガンドペプチドを結合させたシランカップリング剤を合成すれば、加温を必要とせず有害な副生成物も生成しない条件でペプチドを固定化できるものと考えている。発表では、ペプチド結合型シランカップリング剤 (PCSi) の合成と脱細胞組織への修飾効率の評価、ならびにリガンド固定化脱細胞組織に対する細胞接着性について評価した結果を報告する。

【実験】REDV ペプチドに対して 3-(triethoxysilyl) propyl isocyanate と反応させて PCSi を得た。脱細胞組織に対する固定化反応は EDS による表面元素分析及び、TAMRA 標識 PCSi を用いて蛍光観察により評価した。次に PCSi 修飾脱細胞組織に HUVECs、NIH-3T3Cs を播種し、24 時間後の接着細胞数を wst-8 アッセイにより評価した。

【結果・考察】EDS 測定の結果、脱細胞組織表面で Si 由来ピークを認めた。さらに顕微鏡観察により TAMRA 標識 PCSi 由来の蛍光が脱細胞組織表面で認められたことから、PCSi が脱細胞組織に固定化されたと判断した。次に PCSi 修飾脱細胞組織に対して HUVECs を播種した結果、接着細胞数は PCSi 固定化量とともに増加し、脱細胞組織上で細胞が進展する様子を認めた。一方で NIH-3T3Cs を播種した場合では細胞の進展は認められなかった。以上より、シランカップリング剤は加熱プロセスを必要とせず脱細胞組織へリガンドを固定化できる新たな手法であると考えている。発表では PCSi を動物へ移植した結果も併せて報告する。

1P-117- II

細胞が産生する活性酸素種を用いた細胞包括ヒドロゲルの作製

大阪大学大学院基礎工学研究科

○本田尚之 (Honda Naoyuki), 境 慎司, 劉 楊, 田谷正仁

【緒言】ヒドロゲルは保水性や透過性に優れるため、体外での組織作製の重要なツールである。ヒドロゲル形成法の一つに、酵素による高分子の架橋反応を用いる方法がある。この反応は穏和な条件で進行するため、細胞へのダメージが小さい。本研究グループでは、西洋わさび由来ペルオキシダーゼ (HRP) を用いて様々な性質をもつヒドロゲルを作製してきた。HRP は、過酸化水素 (H_2O_2) を基質として、フェノール性水酸基 (Ph 基) の酸化反応を触媒する酵素である。一般的に、HRP を用いて Ph 基導入高分子を含む水溶液からヒドロゲルを得る際、 H_2O_2 水溶液を添加することによって行われる。本研究では、細胞が呼吸に伴って産生する微量の H_2O_2 を用いて、細胞包括ヒドロゲルを作製することを試みた。細胞は代謝とともに活性酸素種を産生し、その中には H_2O_2 が含まれることが知られている。我々はこの H_2O_2 に注目し、HRP 酵素反応を用いながら H_2O_2 水溶液の添加を必要としない新規なヒドロゲル作製法の開発を検討した。

【実験】すい臓由来がん細胞 4.0×10^7 cells/mL、HRP 300 U/mL、フェノール基導入ヒアルロン酸 1.0 w/v%、グルコース 1.0 mg/mL を含む溶液を室温で調製した。この溶液をエッペンドルフチューブに 200 μ L 加え、37 $^{\circ}$ C の CO_2 インキュベーターに 1 h 静置した。コントロールとして、細胞を含まない溶液を同様に調製した。

【結果と考察】細胞を含む溶液はヒドロゲルを形成したが、細胞を含まない溶液ではヒドロゲルは形成されなかった。このことより、細胞が産生した H_2O_2 により HRP によるフェノール性水酸基の架橋が進行したことが示された。ヒドロゲル内の細胞は、培養 10 days 後も生存していることが観察できた。ヒドロゲル作製後の細胞生存率は 70 % だった。生存率がそれほど高くなかった原因としては、ヒドロゲル内の高い細胞密度により、酸素を十分に供給できなかったことが考えられる。生存率を高めるためには、ヒドロゲル作製時の酸素供給のための厚みや、細胞密度の最適化を行うことが有効であると考えられる。以上より、細胞が産生する活性酸素種に含まれる H_2O_2 を用いて、細胞包括ヒドロゲルを作製することに成功した。

1P-118- I

導電性高分子をコアにもつ二層ファイバー足場を用いた電圧無印加での効率的筋管形成

早稲田大学大学院先進理工学研究科生命医科学専攻

○田中啓太 (Tanaka Keita), 中谷美沙, 今任景一, 武田直也

【緒言】筋芽細胞どうしを融合・多核化して再生筋組織を in vitro で作製するにあたり、細胞の配向性を容易に制御できるマイクロファイバー足場は有用である。また、ファイバーを介して細胞に電位を印加することを目的に導電性ポリマーを含むファイバー足場の作製が行われてきた。中でも PEDOT/PSS は高い導電性を示すため、このようなファイバー足場材料として有望だが、単体でのマイクロファイバー化が困難である点や、高い水分散性のため培養液中で形状が安定しない点が課題である。本研究では細胞接着を担う生体適合性高分子のゼラチン (GN) とポリカプロラクトン (PCL) の混合材料のシース層で PEDOT/PSS のコア層を同軸二層状に包埋した配向マイクロファイバーをエレクトロスピンング法で作製し、筋管形成誘導足場として用いた場合の機能を定量的に評価した。

【実験】GN と PCL は 5:8 (w/v) で混合した HFIP 溶液を使用し、PEDOT/PSS はナガセケムテックス社製のものを用いた。これら材料を用いて安定的に紡糸できるコア溶液とシース溶液の流量比を最適化し、ファイバー形状は走査型電子顕微鏡 (SEM) で、同軸二層構造は透過型電子顕微鏡 (TEM) によって調べた。流量比が 1:10 で紡糸したファイバー足場についてマウス由来筋芽細胞 C2C12 を播種し、増殖と筋管形成誘導効率を調べた。同様に、シース材料のみで紡糸した足場と、コアとシース材料を単純に混合した場合の足場も使用し、増殖と分化効率を比較した。

【結果と考察】コアとシースのポリマー溶液の濃度や流量比を最適化したところ、ファイバーの平均径は 1.53 μ m となった。同軸二層構造は TEM 観察で確認し、コア層の直径はファイバー径の約半分を占めることを見出した。このマイクロファイバー足場で C2C12 細胞を培養したところ、興味深いことに、電位を印加しない条件下で筋芽細胞の増殖と筋管形成の効率が有意に向上した。具体的には、コアシース二層マイクロファイバーに C2C12 細胞を 2.0×10^4 cells/cm² の密度で播種し培養 5 日目に観察したところ、シース層のみのファイバー足場と比較して 2.4 倍、コアシース材料を単に混合したファイバー足場と比較して 1.7 倍に増殖率が増大した。また、播種密度を 5.0×10^4 cells/cm² に増やし培養したところ、シース層のみの足場および混合材料足場のそれぞれと比較して、培養 5 日目で筋管形成効率が約 4 倍と約 2 倍に向上した。

1P-119- I

ヘパリンによる表面修飾は α 型リン酸三カルシウム多孔質顆粒の初期骨形成能を増強する

¹大阪歯科大学口腔インプラント学講座, ²大阪歯科大学中央歯学研究所, ³国立循環器病研究センター生体医工学部
○武田吉裕¹ (Takeda Yoshihiro), 本田義知², 柿木佐知朗³, 山岡哲二³, 馬場俊輔¹

【緒言】骨欠損治療に対し、成長因子の添加は治療効果の向上をもたらす潜在能力を持つが、最適量の探索が困難である。これらの背景から演者らは、生体内に遍在する成長因子を効率的に集積する界面の構築は、 α 型リン酸三カルシウム (α -TCP) などのリン酸カルシウム系骨補填材の骨置換能を安全に向上させるという仮説を立て、成長因子との親和性が知られているヘパリン分子を表面に固定化する技術を開発した。本研究では、ラット頭蓋冠骨欠損モデルを用いてヘパリン化 α -TCPの骨形成能を評価したので発表する。

【実験】直径 500-600 μm の α -TCP 顆粒を対照群として用いた。実験群としては、海洋性由来ペプチド (接着性ペプチド) を用いてヘパリンを表面に固定化した α -TCP 顆粒 (以下 α -Ph と表記) を用いた。材料学的評価は、X 線光電子分光分析、X 線回折法、走査型電子顕微鏡観察によって行った。また顆粒間隙は、BET 法にて計測した。8 週齢雄性 SD ラットの頭蓋冠に形成した直径 9 mm の臨界骨欠損モデルに両顆粒を埋入し、4 週間後の頭蓋冠を採取後、 μCT による骨形態計測、組織学的評価 (ヘマトキシリン-エオジン (H-E) 染色、アルシアンブルー染色) を行い、骨形成能評価とそのメカニズム解明を試みた。アルシアンブルー好性部位および骨-顆粒接触部位の長さ測定には Image J を用いた。

【結果と考察】材料学的評価から、 α -Ph は、ヘパリン-ペプチドが修飾されているものの、 α -TCP の結晶構造を維持されている事を確認した。修飾による顆粒間隙の大きな変化は認められなかった。 μCT および H-E 染色の所見から、 α -Ph は、 α -TCP に比べ優れた初期骨形成能を示した。アルシアンブルー染色好性の α -Ph 表面では、骨との接触が有意に認められた。一方、 α -TCP 表面および骨との接触がない α -Ph 表面では、青色の染色は乏しかった。アルシアンブルーは、骨形成調節機能や成長因子への相乗効果を持つグリコサミノグリカンなどを強く染色することが知られている。以上の結果を考慮すると、 α -TCP に対するヘパリン修飾は、顆粒周囲の細胞を刺激し、グリコサミノグリカンなどの細胞外基質分泌機構を変化させることで、初期骨形成を促進させた可能性が示唆された。

1P-120-III

スパッタ法を用いた超音波造影下で視認可能な脱細胞化組織用薄膜マーカーの作製

¹成蹊大学理工学部, ²東京医科歯科大学生体材料工学研究所

○木村成輝¹ (Kimura Naruki), 鈴木夕稀¹, 名和裕一朗¹, 橋本良秀², 船本誠一², 張 永巍², 山下暁立², 大家 溪¹, 岸田晶夫², 中野武雄¹

【緒言】

脱細胞化組織は生体由来のバイオマテリアルの一種であり、脱細胞化処理によって免疫原となる細胞やウイルスは除去されているが、組織構造や力学特性は維持しているため、組織代替材料や組織工学材料、足場材料として有用である。しかし、脱細胞化組織を生体内に埋入すると、CT、MRI、超音波造影といった非侵襲的な検査法では自己組織と識別ができない。本研究では、生体適合性に優れるチタンの薄膜を、スパッタ法によって部分的に脱細胞化組織表面に製膜し、超音波造影で視認可能な脱細胞化組織用薄膜マーカーを作製した。また、薄膜の安定性を評価した。

【実験】

脱細胞化組織として脱細胞化ウシ心膜を用いた。脱細胞化組織の一部に薄膜を製膜するために、ハニカム構造マスクやサージカルテープによるマスキング後、DC マグネトロンスパッタ法を用いて金属チタン薄膜を製膜した。チタン薄膜の膜厚とスパッタ時間の検量線から、膜厚約 100 nm および 500 nm の薄膜を製膜した。作製した試料は、X 線光電子分光法で表面および内部の組成を評価した。さらに種々の試料を 9 週齢の Wistar 系雄性ラット 6 匹の背部皮下に埋入後、直ちに超音波造影を行った。埋入 2 週間後、再び超音波造影および目視での試料の観察を行った。

【結果と考察】

ハニカム構造マスクあるいはサージカルテープを用いることによって部分的にチタン薄膜を脱細胞化組織に製膜することが可能であった。薄膜の表面はチタン酸化物であり、内部は金属チタンが占めていた。ラットに埋入した直後の試料は超音波造影で視認可能であり、膜厚が厚い試料ほど高い視認性を有していた。しかし、埋入 2 週間後の超音波造影では薄膜の視認が不可能だった。埋入組織を摘出して目視で確認したところ、薄膜の一部が崩壊していた。薄膜の密着性の不足またはラットの体液により薄膜が溶出したためと考えられる。

1P-121-Ⅱ

微小環境制御可能な人工微小血管モデルを用いた血管バリア機能評価

¹東京大学生産技術研究所, ²東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻

○薄葉 亮^{1,2} (Usuba Ryo), Joris Pauty¹, 高橋治子¹, 松永行子^{1,2}

【緒言】

全身へ血液を輸送する臓器である血管は、菅の内外を隔てると同時に必要な物質は透過させるというバリア機能を有する。このバリア機能の低下は、糖尿病、高血圧症、そして動脈硬化症などの疾患と関係することが報告されている。よって、疾患モデルや創薬研究の観点において、微小環境を制御し、疾患状態の血管を模倣した血管のバリア機能評価系が必要である。しかしながら、細胞レベルでの研究のみでは疾患状態の微小環境を模倣することが困難であり、動物実験等の *in vivo* 試験を行う必要があった。そこで、我々はヒト血管内皮細胞を用いて細胞外マトリクス (ECM) のハイドロゲル内に人工微小血管構造を作製すれば、疾患状態を効果的に模倣し、血管バリア機能 *in vitro* 評価系を構築できると考えた。今回、培養ハイドロゲルの性質を変化させ、微小環境が血管内皮細胞層の機能に与える影響を検討した結果について報告する。

【実験】

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) をコラーゲンゲルまたはゼラチンゲルを足場として培養し、血管内皮細胞層を形成させた。この細胞層に対して、血管内皮細胞の接着結合分子である血管内皮カドヘリンの免疫染色および白血病細胞株 HL60 細胞の接着試験を行うことで機能評価を行った。また、三次元血管構造作製のために、マイクロニードル法によりゲル内に直径 200 μm の管腔を形成させ、そこへ HUVEC を導入して微小血管を作製した。血管透過性の評価のために、蛍光標識したデキストラン分子を流し、血管外への流出を検出した。

【結果と考察】

培養足場となるゲルの濃度および架橋度により硬度を変化させたところ、細胞面積や血管内皮カドヘリンによる接着結合の形状に違いが現れ、細胞層の挙動へ影響を与えることを示唆する結果となった。また、血管透過性試験を行った結果、炎症性因子であるトロンビンに応答して 70 kDa のデキストラン分子の流出増大が起きることを確認した。疾患状態の微小環境を模倣し、精度の高い血管機能評価モデルが実現できることを確認した。

1P-122-Ⅰ

3D 微小血管モデルを用いた血管新生促進におけるペリサイトの役割の可視化

¹東京大学生産技術研究所, ²東京大学大学院工学系研究科, ³LIMMS/CNRS-IIS (2820)国際連携研究センター

○李 裕珍^{1,2} (Lee Eujin), 高橋治子¹, ポティ ジョリス^{1,3}, 松永行子^{1,2,3}

【緒言】

血管新生とは既存の血管から新たな血管が形成される過程をいう。血管新生の促進により虚血性疾患を治療、また、抑制により腫瘍形成の阻害が期待できる理由から、有望な治療ターゲットとして注目されている。血管新生は複数のステップから成る複雑な現象であり、周皮細胞や細胞外基質などの微小環境が大きく影響している。周皮細胞の一つであるペリサイトは血管新生において必須であるとされているがどのように関与しているのかはまだ解明されていない。過去のペリサイトに関する *in vitro* 試験ではすでに存在する血管から新生血管が誕生する全体像を反映しておらず、ペリサイトの血管新生のプロセス全体における役割を示したものはない。そこで、本研究はペリサイトの血管新生のプロセス全体における役割、血管内皮細胞との相互作用を *in vitro* 微小血管モデルを用いて解明することを目的とした。

【実験】

微小血管モデルは PDMS 製マイクロ流体デバイスを用いて作製した。type I コラーゲンをデバイス流路に流し込み、マイクロニードル法により直径 200 μm の筒型に細胞を成型し、血管構造を作製した。ゲル内にはヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) とマウス由来のペリサイトを 5:1 で混合したものを導入した。血管モデルは血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) 50 ng/mL を添加した内皮細胞用培地中で最大 8 日間培養し、共焦点顕微鏡により観察した。

【結果と考察】

HUVEC 単独培養血管および内皮細胞 (EC)-ペリサイト (ECPC) 共培養血管を作製し、VEGF を加えて培養したところ添加 3 日後より血管発芽の顕著な形成が ECPC 共培養血管では観察された。その後 VEGF 添加培養 5 日後以降では ECPC 共培養血管において新生血管数が EC 単独培養血管に比べ著しく多く、また新生血管の構造は長く引き締まっていた。新生血管を共焦点顕微鏡で確認するとペリサイトが外側から内皮細胞に付着し、管状構造のメカニカルな支持に貢献している可能性が示唆された。以上より、ペリサイトの存在は密度の高い血管ネットワークの構築を可能にしていると考えられる。

1P-123-Ⅱ

酵素増感に基づくフローサイトメトリーの高感度化

¹九州大学大学院システム生命科学府, ²九州大学大学院工学研究院, ³未来分子システム科学センター, ⁴九州大学未来科学創造センター

○神野健太¹ (Kamino Kenta), 本部大輝², 登 貴信², 川村真朱美², 岸村顕弘^{1,3,4}, 森 健^{1,3,5}, 片山佳樹^{1,3,4,5}

【緒言】

フローサイトメトリー(FCM)は、注目する細胞特有の膜抗原を蛍光修飾抗体で標識して検出する技術である。細胞の自家蛍光があるため、1000~3000 コピー以上発現している膜抗原が検出対象となる。しかし、膜抗原の多くは発現量が 1000 分子以下であることから、従来の方法では検出の対象外となっているのが現状である。そこで我々は、FCM の増感法として Catalyzed Reporter Penetration (CARP) 法を提案する。これは、任意の膜抗原を酵素修飾抗体で標識しておき、ここに蛍光性基質を添加する。フォスファターゼやβ-ガラクトシダーゼなどの酵素反応によって親水性の蛍光性基質が疎水化することで、細胞膜を透過し細胞内部を染色するという原理である。これまでに、ペプチドをベースとして設計した蛍光性基質を開発し、原理実証に成功した。しかし、適切な親疎水バランスとするために基質の構造が複雑になり、また染色時に可溶化剤の添加が必要という課題があった。そこで本研究では、より単純な構造を有する新たな蛍光性基質を設計し、その細胞染色能を評価した。

【結果と考察】

蛍光性基質として、ローダミン B に対してβ-ガラクトシルが複数個修飾された分子を設計・合成した。この細胞染色能を蛍光顕微鏡およびイメージングサイトメーターにより評価した。その結果、この分子は可溶化剤の添加を必要とせず、従来のペプチド型の蛍光基質に対して同等以上の染色能を有することが分かった。当日は、この新規の蛍光性基質を用いて、低発現の抗原の検出に適用した結果を報告する予定である。

1P-124-Ⅱ

インクジェット印刷による薄膜状微小電極の開発と神経活動電位の *in vivo* 計測

¹早稲田大学先進理工学研究科, ²防衛医科大学校生理学講座, ³早稲田大学高等研究所, ⁴JST さきがけ

○小久保奈々¹ (Kokubo Nana), 山岸健人¹, 武岡真司¹, 太田宏之², 藤枝俊宣^{3,4}

【緒言】脳科学研究の進展に伴い、柔らかく脆い脳組織の構造を破壊せずに生体電気信号を計測可能なバイオデバイスの開発が求められている。脳組織に比べて硬い従来の神経電極は組織損傷を引き起こすことが懸念される。また、脆く壊れやすい。本研究では、インクジェット印刷と膜厚数百ナノメートルからなる自己支持性高分子超薄膜を組み合わせることで、柔軟かつ丈夫な薄膜状神経電極を開発し、脳組織に注入することで *in vivo* 神経活動電位の計測を試みた。

【実験】PET フィルム上に製膜した poly(d,l-lactic acid) (PDLLA) からなるナノシート (膜厚: 369 nm) の表面に、Au ナノインクおよび導電性高分子である poly(3,4-ethylenedioxythiophene):poly(styrene sulfonate) (PEDOT:PSS) をインクジェット印刷した (線幅: 50 μm)。次に、PET フィルムから剥離した配線印刷ナノシートの表裏面を含フッ素高分子(CYTOP[®])にて被膜し、絶縁層を形成した。この薄膜の先端部を 4 回捻り、水溶性高分子である polyvinyl alcohol (PVA) (濃度: 10 wt%) にて先端部を被覆・硬化させ、脳組織に注入可能な針状構造に成型加工した。さらに、配線先端部をカミソリにて切断することで電極窓を露出させた。最後に、ナノシートからなる神経電極をマウス脳組織に穿刺することで、神経活動電位を計測した。

【結果と考察】PDLLA ナノシートの表面に PEDOT:PSS および Au ナノインクを重ね印刷したところ、断線の無い均一な配線を形成できた (線幅 52±2 μm、厚さ 122 ±18nm)。PET フィルムから剥離した配線印刷ナノシート (膜厚 約 500 nm) は、注射針 (内径: 0.8 mm) にて射出可能な柔軟性と強靱性を有していた。CYTOP[®] からなる電気絶縁層を形成後、薄膜状構造 (総膜厚: 6 μm、幅 3 mm) に起因する柔軟性を利用することで、シート状から針状に先端構造を成型した。この時、先端部を PVA 水溶液にて固化することで、脳組織を想定したゲルに対して、穿刺可能な硬さと強度に加工した。ゲル挿入後 7 時間で PVA は完全に溶解し、再び柔軟な構造に戻った。次に、先端部をカミソリにて切断することで、切断面に Au からなる薄膜状電極 (厚さ: 110 nm) を露出した。最後に、針状の神経電極をマウス脳内部に穿刺したところ、神経細胞の自発発火に由来する活動電位を計測することに成功した。以上の結果より、ナノシートとインクジェット印刷を組み合わせることで、柔軟・丈夫・成型可能な薄膜状神経電極を開発することに成功した。

ポストインプリント官能基修飾によるバイオマーカータンパク質認識ナノ空間創製

¹神戸大学大学院工学研究科

林 智彦 (Hayashi Tomohiko), 砂山博文, ○香門悠里, 北山雄己哉, 竹内俊文

【緒言】 標的タンパク質に対する認識ナノ空間を持つ高分子マテリアルは、抗体に代わる機能性材料として近年注目されている。当研究室ではこれまでに、分子インプリンティングで構築されたナノ空間内を特異的に官能基修飾可能なポストインプリント修飾(PIM)法を開発し、標的バイオマーカータンパク質の認識能を自在に制御可能な分子インプリントポリマー(MIPs)の開発に成功している[1]。本研究では、前立腺がんマーカータンパク質である前立腺特異抗原(PSA)を標的とし、PIMにより PSA に対する相互作用官能基を PSA インプリント空間内のみに導入し、フェニルボロン酸による PSA 上の糖鎖認識の相乗効果により PSA の高感度・高選択的 PSA 認識分子インプリント空間の創製を目指す。

【実験】 鑄型分子として 2-イミノチオランでチオールを導入したチオール化 PSA、および機能性モノマーとしてインプリント空間内を選択的に官能基修飾するための可逆結合部位であるオキシム結合を介してチオール反応性のピリジルジスルフィド基と重合可能な官能基を連結した化合物を合成した。重合開始剤とフェニルボロン酸を修飾した金コート基板に、機能性モノマーをジスルフィド結合により導入したチオール化 PSA の糖鎖とボロン酸の環状ジエステル形成で PSA を金コート基板表面に固定した。親水性モノマーと架橋剤を加えて表面開始原子移動ラジカル重合を行ったのち、ボロン酸エステルとオキシム結合の加水分解により PSA を切り出すことで PSA インプリント空間を形成した。PIMとして、インプリント空間内に残存するオキシアミノ基に 4-ホルミル安息香酸をシッフ塩基形成により導入して、安息香酸を PSA に対する相互作用官能基とする MIP を得た。

【結果と考察】 表面プラズモン共鳴(SPR)測定により PIM の後 PSA の結合レスポンスが大きくなったことから、PIM による相互作用官能基の導入が確認された。MIP のタンパク質結合選択性は、架橋性 MIP の方が架橋していない MIP より高く、糖鎖をもち分子量、等電点ともに類似するトロンビンに対して PSA を有意に識別可能となった。検出限界も PSA の疾病判断閾値(4.0 ng/mL)を下回り、高感度 PSA センシングシステム開発の可能性が示唆された。

[1] R. Horikawa et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 13023-13027.

シンポジウム 2

A会場（5F 大ホール）

11月21日（火） 9:30-11:30

「バイオマテリアルの界面制御に挑む次代の フロンティア」

- 2A-S2-1 「人工関節摺動面における界面制御と実用化」
京本政之（京セラ株式会社研究開発本部メディカル開発センター）
- 2A-S2-2 「生体のシステムに倣った溶液反応による有機-無機複合
構造の構築」
橋詰峰雄（東京理科大学工学部工業化学科）
- 2A-S2-3 「タンパク質-セラミックス界面の解析」
川下将一（東北大学大学院医工学研究科）
- 2A-S2-4 「DNA ブラシ界面の設計と機能発現」
金山直樹（信州大学大学院総合工学系研究科）

2A-S2-1

人工関節摺動面における界面制御と実用化

京セラ株式会社研究開発本部メディカル開発センター
京本政之 (Kyomoto Masayuki)

日本を含む先進諸国では超長寿社会の形成が加速化されつつあり、これに追従して関節など運動器の機能障害が原因で日常生活動作に大きな支障をきたし、支援や介護を必要とする運動器症候群の高齢者が急激に増加している。人工関節置換術は機能障害をきたした関節を人工関節に置き換える手術であり、患者の痛みを取り除き運動機能を回復させる治療法である。その手術件数は飛躍的に増加しており、今後もその傾向が続くと予測されている。しかし、人工関節の耐用年数は一般に約 15 年といわれ、活動性が高く充実した生活を実現するためには、その長期耐用化が期待されている。人工股関節手術は 1890 年代より行われていたとされているが、1961 年にチャンレーより発表された寛骨臼側の超高分子量ポリエチレン (PE) と大腿骨側の金属あるいはセラミックス骨頭を組み合わせが、現在の人工股関節摺動界面の原型とされている。以後 50 年以上におよぶ材料工学の進歩などにより優れた成果をおさめてきた一方で、いまだ解決し得ない問題も多い。そこで我々は、表面にナノメートル単位の親水性リン脂質層が存在することで軟骨表面の保護し、さらに水和界面による潤滑機構を備える生体の関節軟骨に注目し、人工関節の関節面を構成する架橋 PE 表面に生体軟骨と同様の構造、すなわち水和表面ゲル層を構築する技術確立することで解決を図った。そして、その水和表面ゲル層の構築のため、生体親和性リン脂質ポリマーであるポリ (2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン) (PMPC) を用いて摺動面を処理した PMPC 処理架橋 PE ライナーを創出し、臨床応用を開始した。PMPC 処理架橋 PE ライナーは、最長の症例で術後 10 年を経過しているが、PMPC 層に起因する合併症は発生しておらず、臨床成績は極めて良好である。生体内での PMPC 処理架橋 PE ライナーの摩耗率は 0.002 mm/年であり、従来ライナーと比較して 80%以上抑制されたと報告されている。PMPC 処理は、健康寿命の延伸、QOL の維持・向上など患者・家族に対してはもちろん、医療費の削減や生産年齢人口に対する治療方法の提供など社会に対しても多くのメリットと可能性を有する。これまでに、40,000 症例を超える患者に使用されており、医療の現場における期待も高い。今回は、PMPC 処理 CLPE ライナーが作り出す摺動界面の摩耗特性について述べるとともに、その実用化の過程を紹介する。

2A-S2-2

生体のシステムに倣った溶液反応による有機-無機複合構造の構築

東京理科大学工学部工業化学科
橋詰峰雄 (Hashizume Mineo)

人工骨材料の開発において重要な点の 1 つに生体骨組織との密着性が挙げられる。骨の主要無機成分であるヒドロキシアパタイト (HAp) との密着性、あるいは高い HAp の不均一核形成誘起能などが求められる。小久保らによって開発された擬似体液 (simulated body fluid (SBF), Biomaterials 2007 など) は材料の生体内での骨形成能を生体外で評価するための溶液として知られているが、近年では表面を HAp で被覆した複合材料の作製にも利用されている (大槻ら, J. Tissue Eng. Regen. Med. 2007 など)。

我々は SBF を用いた種々の高分子基材表面への HAp 複合化について検討している。基材表面の物理化学的特徴を理解し、その基材選択的な、あるいは幅広い基材に適用可能な HAp 析出のための表面修飾法を開発、適用する点が研究のポイントである。高分子としては生体適合性高分子に限らず、安価で入手可能な汎用高分子にも注目している。それらから作製される高分子-HAp 複合材料は、生体外での骨関連細胞の大量培養やスクリーニング系構築のための基材として利用可能である。

たとえば細胞培養容器等に用いられているポリスチレン基材の表面にアルブミンの吸着層を形成させると、それが 1.5SBF (SBF の 1.5 倍濃度の溶液) 中で HAp 析出を誘起することを見出した。またスーパーエンジニアリングプラスチックであるポリイミドについて、フィルムを選択的に加水分解してカルボキシ基を提示するという簡便な手法で HAp 層の複合化に成功した。医療器具等にも利用されているポリエーテルイミド (PEI) については、PEI、HAp のそれぞれに高い結合能をもつ配列を連結したペプチドを合成し、その吸着層を PEI フィルム表面に形成させることでフィルム表面への HAp 析出が可能であることを最近示した (J. Mater. Chem. B 2016)。

HAp の不均一核形成を誘起する官能基を提示させるだけでは基材表面を HAp 層で全面被覆することは困難であった。インキュベーション時間を長くすると基材表面への HAp 析出と既に析出した HAp へのさらなる HAp 析出とが競合した。SBF 中での高分子基材表面への HAp 析出機構をより広い視野で見つめ直すとともに、均質な全面被覆のための手法の改良についても紹介する。

2A-S2-3

タンパク質-セラミックス界面の解析

東北大学大学院医工学研究科

川下将一 (Kawashita Masakazu)

アルミナ(Al_2O_3)等の多くのセラミックスは骨欠損部に埋入されても骨伝導性を示さないが、水酸アパタイト(HAp)は骨伝導性を示す。しかし、HApの骨伝導機構の詳細は未だに明らかでない。一方、人工材料を生体内に埋入すると、埋入早期にその表面にタンパク質が吸着し、その後に種々の細胞が接着して機能を発現する。従って、タンパク質とHApの界面、すなわちHApへのタンパク質の吸着特性や、HApに吸着したタンパク質が細胞に及ぼす影響に関する基礎的知見は、HApの骨伝導機構解明の一助となる可能性がある。これまでに我々は、細胞接着タンパク質として知られているフィブロネクチン(Fn)あるいはラミニン(Ln)のHApあるいは Al_2O_3 への吸着挙動、並びにFnあるいはLnを吸着させたHApあるいは Al_2O_3 に対するマウス骨芽細胞(MC3T3-E1細胞)の応答を調べてきた[1-3]。

その結果、FnはHApよりも Al_2O_3 に明らかに多く吸着するが、Lnは Al_2O_3 よりもHApにわずかに多く吸着することが明らかとなった。また、Fn吸着量はa面を多く露出させたHAp(a-HAp) > 配向性を制御しないHAp(n-HAp) > c面を多く露出させたHAp(c-HAp)の順となったが、Ln吸着量はa-HAp $\approx$ c-HAp > n-HApの順となり、HApの結晶配向性がFnやLnの吸着量に異なる影響を及ぼすことが明らかとなった。さらに、HApに吸着したFnあるいはLnは Al_2O_3 に吸着したFnあるいはLnよりも顕著にMC3T3-E1細胞の接着および伸展を促進したが、細胞の増殖や分化にはほとんど影響を及ぼさなかった。これらの結果は、FnあるいはLnはHApに何らかの特異的な形態で吸着し、それが骨芽細胞の接着および伸展を促進し、ひいては骨伝導性の発現に寄与している可能性を示唆している。

HApに吸着する数多くのタンパク質の中から骨伝導性の発現に寄与するタンパク質を特定することは容易ではないが、本研究のような基礎的知見の積み重ねがその足掛かりになると期待される。

謝辞 本研究の一部は第47回(2015年度)内藤記念科学研究助成金により行われた。ここに謝意を表する。

[1] M. Hasegawa *et al.*, *Biomed. Mater.*, **11**, 045006 (2016).

[2] M. Kawashita *et al.*, *Mater. Sci. Eng. C*, **69**, 1268-1272 (2016).

[3] H. Fujita *et al.*, *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **2**, 1162-1168 (2016).

2A-S2-4

DNA ブラシ界面の設計と機能発現

信州大学大学院総合工学系研究科

金山直樹 (Kanayama Naoki)

生物の遺伝情報媒体であるDNAは、糖(2-デオキシリボース)の1'位に4種類の核酸塩基(アデニン・グアニン・シトシン・チミン)を有するヌクレオシドの3', 5'位の水酸基がリン酸とエステル結合を介して交互に多数連結した構造のポリアニオンである。DNAの特徴の一つである塩基配列選択的な二重鎖形成は、互いに相補的な配列をもつ2本の一本鎖DNA間での塩基対合(A-T, G-C塩基対形成)が駆動力となって進行し、これに伴ないDNA鎖の柔軟性や水和状態などの諸特性が変化する。現在、任意の塩基配列で天然にない化学修飾を施した合成DNAを、発注から数日内で提供可能な生産システムが整備され、「自在に設計可能な高分子材料」としてDNAを扱う動きが多面で活発化している。

本発表では、固体表面に片末端を固定された合成DNAがブラシ状に集積して形成される界面、DNAブラシにフォーカスする。これまでに、20塩基程度の比較的短いDNA二重鎖からなるDNAブラシで覆われたナノ粒子(以下、DNAナノ粒子)が、ブラシ表層の僅かな構造の違いを反映して異なる分散挙動を示すことが知られている。具体的には、相補的塩基対を最表層に提示したDNAナノ粒子は、比較的高濃度のNaClを含む水溶液では自発的に集合して凝集・沈殿するのに対し、最表層が非相補的(ミスマッチ、突出末端)配列のDNAナノ粒子は、同濃度のNaClを含む水溶液中でも安定に分散状態を保持する。つまり、DNAナノ粒子の最表層における塩基対合の有無に連動して、高塩濃度条件での分散挙動が異なるのである。また、同様のDNAナノ粒子の挙動が、コアの材質(金属、ポリマー)、サイズ(数nm~1 μm)、形状(球、棒、板状)に関係なく観測されることから、最表層の塩基対合状態に対応したDNAブラシの界面特性の差が存在するものと予想される。我々は最近、コロイドプローブ原子間力顕微鏡(CP-AFM)法を用い、塩を含む水溶液中で二つのDNAブラシ間に生じる界面間力を計測し、最表層の塩基対合状態に応じて異なる界面間力が発生することを明らかにした。このようなブラシ状DNA鎖のユニークな界面特性を機能と捉え、診断・分析システム開発に活かす我々の取り組みを紹介する。

特別講演

A会場（5F 大ホール）

11月21日（火）

11:30-12:15 特別講演 2

2A-SL1 「アモルファスデザインによるバイオセラミックスの
高度化とその実用化」

春日敏宏（名古屋工業大学生命・応用化学専攻環境セラミックス
分野）

2A-SL1

アモルファスデザインによるバイオセラミックスの高度化とその実用化

名古屋工業大学生命・応用化学専攻環境セラミックス分野

春日敏宏 (Kasuga Toshihiro)



カルシウム、リンなどの硬組織を構成する元素に加え、ケイ素、亜鉛、マグネシウムなどを利用した骨形成促進効果や骨質の向上をめざすマテリアルデザインが進められている。これらの効果を引き出すためには、イオンを効果的に徐放させるしくみが必要である。筆者らは、アモルファス相の組成と分散状態をデザインして骨形成促進イオン徐放性製剤を合成するなどの検討を続けている。ここでは、比較的多くのカルシウムイオンと微量のケイ酸イオンを徐放させるためのアモルファス相を組み込んだ炭酸カルシウムの合成と、これをポリマーに埋め込んだ人工骨材料の開発例を中心に紹介する。

炭酸カルシウムの多形のひとつであるバテライトは、ゲル状の炭酸水素カルシウムを室温で熟成すると徐々に沈殿する（沈殿物中にはアモルファス炭酸カルシウムも残留する）。このゲル状炭酸水素カルシウムにシランモノマーを混合しておくと、生成したバテライト基粒子中に、アモルファスのシロキサンを含有させることができる。アミノ基を含み水溶性であるためケイ酸イオンが容易に溶出する。熟成中にアミノ基と炭酸イオンの反応によりカルバミン酸基（ $(\text{CH}_2)_3\text{-NH-COOH}$ ）が生成し、これが5~20 nmのバテライト1次粒子上の Ca^{2+} イオンに配位し、シロキサンが均質に分散される。これが凝集して約1.5 μm 径の球状粒子（SiV）が形成される [J Mater Chem B 1: 4446-54, 2013]。

細胞培養試験結果では、比較的初期段階に適量のケイ酸イオンがあれば石灰化の促進効果が現れることを見出している [J Mater Sci 52: 8942-56, 2017]。このSiVを用いれば生体内に埋入して早い時期にアモルファス相が溶解して Ca^{2+} とケイ酸イオンが徐放され、その後、比較的長期間に亘ってバテライト結晶由来の Ca^{2+} イオンが徐放される、といった設計が可能となる。SiVとポリ乳酸（PLA）を複合した材料では骨芽細胞の増殖・分化が促進される [Acta Biomater 5: 57-62, 2009]。

筆者らは、 β -TCPの優れた骨伝導性にSiVの骨形成促進効果を付加した充填剤（ β -TCP/SiV/PLA複合材料）の開発を進めてきた。実用化に向け、欠損部に材料を充填しやすく脱落しにくい機能を付与するため電界紡糸法により綿形状とした。繊維間に作られる空隙に細胞が進入し、増殖しやすくするため、10~50 μm の直径に設定している [J Biomater Sci: Polym Ed 23: 1939-50, 2012]。この材料については、外傷用として2014年10月米国FDA認可を得て臨床に使用されている。吸収性を早めた複合材料についても2017年6月にFDA認可を得たところである。

〈略歴〉

1983年3月 名古屋工業大学大学院修士課程修了、同年4月 HOYA(株)入社
1991年7月 名古屋工業大学 助手
1993年5月 博士(工学)(大阪大学・論博)
2004年4月 名古屋工業大学 教授、現在に至る

〈受賞歴〉

平成19年5月 日本セラミックス協会賞学術賞
平成26年4月 文部科学大臣表彰科学技術賞(研究部門)
平成29年8月 大学発ベンチャー表彰2017(日本ベンチャー学会会長賞)

教育講演

A会場（5F 大ホール）

11月21日（火）13:00-15:30

「バイオマテリアルの基礎研究から製品化・
薬事承認までの流れ」

2A-EL-1 「三次元積層造形法を応用したカスタムメイド
人工股関節の開発」
坂井孝司（大阪大学大学院医学系研究科）

2A-EL-2 「整形外科用医療機器における 3D 造形と患者適合型製品の
薬事承認と製品化」
石坂春彦（帝人ナカシマメディカル株式会社）

2A-EL-3 「新しい医療機器を市場に導入するために」
鈴木由香（東北大学病院臨床研究推進センター（CRIETO））

2A-EL-1

三次元積層造形法を応用したカスタムメイド人工股関節の開発

大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学

坂井孝司 (Sakai Takashi)

積層造形法(Additive Manufacturing)は 1980 年に日本で発明され、米国・日本を中心に光造形装置 (SLA) による樹脂を用いた造形技術が発展した。2000 年代以降、ヨーロッパで電子ビーム (Electron Beam Melting: EBM) やレーザー(Laser Sintering: LS, Laser Melting: LM)を用いた金属造形技術が開発され、航空機部品製造技術や医療機器開発技術として用いられるようになり、金属粉末を材料として、電子ビームやレーザーによる三次元積層造形法による人工関節の開発が国内外で進められている。

金属積層造形の利点として、形状カスタマイズが可能で、表面加工と基部であるマクロデザインを同時に作製できること、原材料の金属粉末を 95%程度再利用可能であることなどが挙げられる。その一方で、造形後にサポート除去の工程が必要となること、造形体内部には気孔が存在し疲労強度を低下させるため、力学的強度が必要な製品には造形後に HIP (Hot Isometric Pressing)処理が必要であることなどが課題として挙げられる。

人工股関節は主に寛骨臼インプラントと大腿骨インプラントからなる。三次元積層造形法により作製された寛骨臼インプラントは、本邦でもすでに薬機法で承認され各社から製造販売されている。一方で三次元積層造形法による大腿骨インプラントは、平成 29 年 9 月時点では承認されていない。

我々は Ti-6Al-4V 金属粉末を材料とし電子ビーム積層造形法にて作製した股関節インプラントの開発に取り組んできた。biological にはウサギ大腿骨への埋入実験、荷重下でのビーグル犬大腿骨インプラント埋入実験では、いずれも骨インプラント界面で良好な骨形成を確認している。mechanical には大腿骨インプラントに関して良好な造形精度を確認し、ISO7206-4, ISO7206-6 に準じた疲労強度試験をクリアし、さらに、大腿骨埋入模擬手術前後でインプラントに変形や破損をきたさないことを確認している。ベースとなる大腿骨インプラントのサイズバリエーションを整え、現在では症例個々の大腿骨形状に応じたインプラントデザインのカスタマイズを念頭に開発を進めている。

三次元積層造形法による寛骨臼インプラントの現状とともに、大腿骨インプラント開発の我々の取組みについて紹介する。

2A-EL-2

整形外科用医療機器における 3D 造形と患者適合型製品の薬事承認と製品化

帝人ナカシマメディカル株式会社

石坂春彦 (Ishizaka Haruhiko)

整形外科用領域で用いられる医療機器には、体内に埋め込むインプラント材料と、手術に用いる手術器械、最近では人工関節の設置精度を高めるためのナビゲーション機器類がある。いずれも薬機法における医療機器クラス分類によりクラス I~III に分類される医療機器で、届出・認証・承認等の規制がある。インプラントに使用されるバイオマテリアルには、金属材料として生体親和性に優れた Ti-6Al-4V 合金(ASTM F136)や Co-Cr-Mo 合金(ASTM F75)、純 Ti(ASTM F67)、高分子材料として超高分子量ポリエチレン(Ultra High Molecular Weight Polyethylene: UHMWPE)やポリ乳酸等、セラミック系材料としてはアルミナ、ジルコニア、リン酸カルシウム等、もしくはそれらの複合体があり、製品化においてはそれぞれの特性に合わせ医療機器としての有効性・安全性の様々な評価・研究の取組が行われているところである。

一般的に用いられるマテリアルでの薬事申請においては、「医療機器の製造販売承認申請等に必要な生物学的安全性評価の基本的考え方について (薬食機発 0301 第 20 号)」、「人工股関節審査ガイドライン (薬食機発第 0306001 号)」や「人工膝関節審査ガイドライン (薬食機発第 0306004 号)」等が整備され、それらにより決められた評価を行い薬事申請する事により、従来のような承認デバيسラグは現在では概ね解消された。

一方では、新たな材料や製造方法の研究開発の取組が行われている中で、企業の製品化戦略で考えなければならない項目として薬価戦略が存在する。この点を良く考慮しなければ、結果として新製品・新技術の創出に成功しても市場への製品供給を断念せざるを得ないこともあり得る。

弊社では整形外科領域における最近の取組として、3D 造形 (金属造形&樹脂造形) を用いた医療機器や、これらの技術を応用した患者適合型機器(いわゆるカスタムメイド)の製品化に取り組んできた。3D 造形では、使用する原材料のパウダーが非常に高価であることや、3D 造形特有のリスクに対する評価も必要である。例えば、患者適合型では、画像処理した内容が本当に患者さん骨と同一なのか?等の従来の医療機器とは異なるレギュラトリーサイエンスの考え方が必要である。これらの製品化事例の取組について報告する。

新しい医療機器を市場に導入するために

東北大学病院臨床研究推進センター（CRIETO）

鈴木由香（Suzuki Yuka）

日本の基礎研究は、世界で高く評価されている。一方、基礎研究から実用化を進めるにあたっては、多くの壁があるといわれている。特に、医療機器の開発において、日本の基礎研究、基礎技術が、必ずしも十分に生かされていないと感じる。この原因について、過去 10 年以上にわたり、様々な要因が議論されてきた。その都度、行政は、その課題に対応すべく、多くの施策を講じてきた。

歴史を紐解くと、今から 20 年ほど前には、海外で標準的に使用されている医薬品、医療機器が日本では使用できない、ドラッグラグ、デバイスラグの大きな問題とされていた。この問題の主な原因は、日本の承認審査が厳しい、遅いことだと言われており、その解決のために、特に医療機器の審査においては、以下の取り組みにより、審査期間の短縮が達成されてきている。

①審査における要求事項を明確にし、審査基準を国際整合化するために、ISO、IEC 等の国際基準を積極的に受け入れる。そのために、それらの会議に、日本も積極的に参加する。

②審査体制の強化を図る。とくに、審査員の増員、相談業務の充実、審査基準の明確化等を実施する

これらの対策により、審査期間の短縮は達成されたものの、デバイスラグは依然として解決には至っていない。最近では、デバイスラグの原因は、開発ラグであると考えられてきている。開発ラグとは、申請に至る前のラグであり、日本において、開発が進まないことを意味する。一方、政府は、日本の高度な技術力を生かし、日本で医療機器を開発できるようにと、旗を振っている。

医療機器の開発支援として、PMDA においても、企業を対象とした相談業務の充実に加え、戦略相談業務調整役、イノベーション実用化支援業務調整役の設置等、アカデミア、ベンチャー企業のサポートなどにより、実用化の支援に力を注いでいる。これにより、デバイスラグの解消と日本発の医療機器開発が進むことが期待されている。

本講演においては、これまでの PMDA における医療機器の審査、相談業務及びアカデミアとの戦略相談業務での経験をふまえ、日本での医療機器開発の現状、課題等について、出口目線から考察したい。

日本学術会議 材料工学委員会 バイオマテリアル分科会主催シンポジウム

B会場（5F 小ホール）

11月21日（火）9:30-12:00

「イノベーションプラットフォームとしての バイオマテリアル 2017」

2B-S3-1 「AMED における医療機器研究開発の支援とバイオマテリアル
開発に対する期待」

扇谷 悟（日本医療研究開発機構（AMED））

2B-S3-2 「整形外科医からみたバイオマテリアル研究の方向性」

岩崎倫政（北海道大学大学院医学研究院）

2B-S3-3 「国際的視点からみたバイオマテリアル研究のあり方」

片岡一則（川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター）

2B-S3-4 「日本学術会議提言 ー医療を支えるバイオマテリアル研究
に関する提言ー」

岸田晶夫，由井伸彦（東京医科歯科大学学生体材料工学研究所）

2B-S3-1

AMED における医療機器研究開発の支援とバイオマテリアル開発に対する期待

国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）産学連携部

扇谷 悟（Ogiya Satoru）

AMED は医薬品、医療機器など医療技術に関する支援機関であり、AMED 内の産学連携部では重点分野の一つ「オールジャパンでの医療機器開発」について、基礎研究・応用研究・非臨床研究・臨床研究および治験をカバーする医療技術実用化の体系的支援を行っています。

産学連携部では「国産医療機器創出促進基盤整備等事業」等において生まれた連携を支援するために、新規医療機器を開発するための新しい原理の証明やプロトタイプ製作のような基礎的なフェーズの研究（文部科学省医療分野研究成果展開事業・先端計測分析技術・機器開発プログラム）から、新しい医療機器の薬事申請を目的とした臨床研究・医師主導治験を行う臨床フェーズの研究（厚生労働省：医療機器開発推進研究事業、経済産業省：医工連携事業化推進事業）まで、幅広い研究ステージを支援しています。

さらに医療機器の開発は、医療に関する知識や経験、ニーズを必要とし、また薬事承認制度や保険制度などの独特の規制の下で開発を行う必要があるという点で産業用機械の開発とは大きく異なっています。このような異業種連携が必須となる医療機器開発の場を整備するために、AMED は厚生労働省事業「国産医療機器創出促進基盤整備等事業」を推進しています。この事業においては、医療機器開発に携わる人材を医療現場で育成することを通じて、医師等との交流の場を確保して高度な医療ニーズを見出し、その医療ニーズに的確に対応した医療機器の開発を推進することを目指しています。また、薬事申請・事業化・知財化戦略について専門家からの助言を受けたいという企業には、医療機器開発支援ネットワークを通じた「伴走コンサルティング」も実施しております。

本講演では、これらの支援事業についてご紹介いたします。

また、バイオマテリアルは医療機器における重要な研究分野であり、AMED でもバイオマテリアルに関するいくつかの研究を支援しております。それらについてもご紹介したいと思います。

2B-S3-2

整形外科医からみたバイオマテリアル研究の方向性

北海道大学大学院医学研究院機能再生医学分野整形外科学教室

岩崎倫政（Iwasaki Norimasa）

本邦をはじめとする先進諸国では急速な高齢化により、整形外科領域の患者数が急増している。それに伴い、これまで以上に先進的治療法の開発が急務とされている。整形外科治療においてバイオマテリアルを基盤とした医療機器（以下、これも含めてバイオマテリアルと呼ぶ）は、きわめて重要な役割を担っている。したがって、先進的治療開発のためにはバイオマテリアル研究は不可欠なものである。

整形外科治療におけるバイオマテリアルの役割は、患者生体内で治癒・再生過程をサポートすること、欠損した組織を補填しその機能を担うことの2つに大別される。前者には、骨接合用プレートシステムや再生医療用 scaffold などが含まれる。一方、後者の代表的なものが人工関節や人工骨頭などである。さらに2つの中間的なものとしては人工骨や脊椎インプラントなどがある。これら整形外科領域の治療で使用されるバイオマテリアルに共通して求められるものは、1) 安全性、2) 生体親和性、3) 手術時ハンドリングの容易さ、4) 用途目的に応じた適切な強度などである。これらに加えて、これからの整形外科領域で使用されるバイオマテリアルに求められるものとして、上述した前者では組織再生や修復促進のための機能性向上が挙げられる。このためには、細胞分化や増殖を促進させる因子の導入やナノレベルでのマテリアル構造の改良などが必要である。後者においては永続性の獲得が挙げられる。このためには、バイオマテリアルが有する機能を正常組織が持つそれに限りなく近づけることや、生体内の力学的環境に最適化したデザインの獲得などが挙げられる。さらにすべてのバイオマテリアルに共通するものとして、低侵襲治療を可能とする特性を持たせることなどがある。

演者らは、近年、軟骨再生用高純度ゲルと本邦初の人工手関節を開発し臨床応用に繋げてきた。本講演では、これらの開発研究を紹介しつつ、整形外科医からみたこれからのバイオマテリアル研究の方向性について述べていきたい。

国際的視点からみたバイオマテリアル研究のあり方

(公財) 川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター・東京大学政策ビジョン研究センター
日本学術会議第三部会員
片岡一則 (Kataoka Kazunori)

高齢社会の到来による健康・医療に対する社会的関心の増大に伴い、我が国の医療機器などの医療関連産業の育成が不十分であることに起因する貿易収支の不均衡の解消は喫緊の課題となりつつある。医療産業は世界的に見ても各国が注目する成長産業の一つであり、かつ、技術革新のスピードが早いために、関連する基盤科学技術の革新性が大きく競争力に影響を及ぼす特徴がある。実際、遺伝子治療、埋め込み型医療機器・デバイス開発における生体適合材料、再生医療システム開発における細胞担体材料等、基盤となるバイオマテリアルの革新性が最終製品の競争力を決定する大きな要因となっており、その点で、我が国の未来を左右する基幹科学技術としてのバイオマテリアル研究を育成・発展させることは材料工学分野における喫緊の課題であるといえる。バイオマテリアルは生体とのインターフェイスで用いられることから、本源的に融合型科学技術であり、金属材料・高分子材料・無機材料という材料工学における主要分野は言うに及ばず、医学・薬学さらには社会への影響を踏まえての社会科学との連携がその発展には必至といえる。日本学術会議第三部材料工学委員会に設置されている本バイオマテリアル分科会では、これからの材料工学分野を牽引する分野融合型研究としてのバイオマテリアルのあり方を、医・薬・工・社会連携を基盤として、国際的視点から方向付ける活動を行っている。さらには、将来のバイオマテリアル研究を担う人材の育成や、得られた成果の迅速な社会還元の方策等についての検討も重要な課題と認識している。この日本学術会議材料工学委員会バイオマテリアル分科会主催シンポジウムにおいて、上記の様な課題に関しての幅広い議論を行い、今後の方策についてのコンセンサスを深めることが出来ればと考えている。

日本学術会議提言「医療を支えるバイオマテリアル研究に関する提言」

連携会員：東京医科歯科大学生体材料工学研究所
岸田晶夫 (Kishida Akio)
日本バイオマテリアル学会次期会長：東京医科歯科大学生体材料工学研究所
由井伸彦 (Yui Nobuhiko)

医薬・医療分野では、医療機器の表面と人体あるいは人体を構成する器官や組織、細胞や細胞外基質との相互作用を巧みに活かした新しい診断や治療の方法がきわめて重要となってきた。バイオマテリアルは、人体やその構成要素と直接あるいは間接に接触させて、損傷あるいは喪失した組織や器官の機能診断や治療を行い、さらにある場合には損傷部を補ったり置き換えたりするための根源的な役割や機能を決定する材料と定義される。

第5期科学技術基本計画に盛り込まれた産業革新と価値創造による超スマート社会の実現には、個々に設計されたシステムのみならず、それらシステムの機能発揮を保证する要素基盤となる科学技術のスパイラル的研究開発の重要性が謳われており、その一つとして「素材・ナノテクノロジー」が掲げられている。バイオマテリアルは、基礎研究と社会実装に向けた開発とが互いに刺激し合いながら研究開発することが求められる重要課題の一つとしてその範疇に含まれるものと考えられる。こうした状況下で、バイオマテリアルの学術的研究及びそれに関連した人材育成、最終的な出口である産業界との機動的連携、国際的視点にたった競争力ある新規産業創出までを統括した国家戦略の必要性は喫緊である。

こうした観点に立ち日本学術会議材料工学委員会バイオマテリアル分科会では、日本バイオマテリアル学会将来構想委員会と共同してバイオマテリアルに関する国家戦略について討論を重ねてきた。その結論は、これまでのバイオマテリアルに関する研究、教育、産業のそれぞれの観点にたった現状と問題点を抽出し、それをもとにしてバイオマテリアル研究開発における歴史的功罪を真摯に分析し、今後あるべき方向性を強く訴えるものであり、最終的には国家戦略としてのバイオマテリアル研究拠点を国策によって創設し、バイオマテリアルに必要な研究体制と人材育成、それを通じた産業界との機動的な連携についての提言としてまとめられた。本提案が今後の政策に強く反映され、バイオマテリアル研究が我が国の科学技術戦略の一翼として飛躍することを切に期待している。

本講演では、提言の内容を紹介し、バイオマテリアル研究のあり方について研究者としての見解を新たにすることを提供したい。

一般演題（口頭発表）

11月21日（火）

B会場（5F 小ホール）

DDS, イメージング (4)	2B-01—2B-05
DDS, イメージング (5)	2B-06—2B-12

C会場（2F 桃源）

高分子材料 (1)	2C-01—2C-05
高分子材料 (2)	2C-06—2C-10
高分子材料 (3)	2C-11—2C-15
高分子材料 (4)	2C-16—2C-22

D会場（2F 福寿）

検査・診断法, バイオセンサー	2D-01—2D-05
血液とマテリアル	2D-06—2D-09
再生医療・組織工学 (4)	2D-10—2D-14
金属・無機材料 (5)	2D-15—2D-21

E会場（2F 平安）

マテリアルと細胞 (4)	2E-01—2E-05
マテリアルと細胞 (5)	2E-06—2E-10
マテリアルと細胞 (6)	2E-11—2E-15
マテリアルと細胞 (7)	2E-16—2E-19

2B-01-II

タンパク質精密徐放微粒子の応用性・新用途の探索

¹富山大学大学院理工学教育部, ²富山大学大学院理工学教育部, ³富山大学大学院生命融合科学教育部

○森 駿介¹ (Mori Shunsuke), 藤本くる美¹, 中路 正^{1, 2, 3}

【緒言】

現在、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞、神経幹/前駆細胞 (NSPC) 等の分化誘導法で最も頻繁に使われる方法の一つとして無血清胚様体法 (Serum free embryo body, SFEB) が知られている。しかし、胚様体は細胞の凝集体であるため、中心部の細胞への栄養源・分化因子・酸素の送達が不十分となり、死滅 (低細胞生存率) や、ヘテロジニアスな細胞集団 (低分化効率) となることが課題として挙げられる。

そこで、本研究では、当研究室が開発したタンパク質精密徐放微粒子 (*J. Controlled Release*, 168, 307-16 (2013)) を細胞凝集塊内部に内包させ構築した微粒子複合化胚様体による高効率分化誘導について検討した。この手法は、凝集体内部の細胞への栄養源や分化因子の供給を可能にすることが期待され、SFEB 法における課題を克服できると考えられる。

【実験】

Hyaluronic acid (HAc) と HAc 結合ペプチド融合グリア細胞由来神経栄養因子 (GDNF-HBP) の混合溶液 (水層, 内層) と、乳酸-グリコール酸共重合体 (PLGA) を溶解させたクロロホルム溶液 (油層, 外層) を等量混合し、超音波処理を行うことで微粒子を作製した。この微粒子を NSPC (1.0×10^4 cells) 懸濁液中に分散させ、V bottom 96-well plate へ播種し、増殖培養により微粒子複合化胚様体を形成させた。そして、この微粒子複合化胚様体のドーパミン神経への誘導について評価した。

【結果と考察】

これまでに、内層 HAc の分解酵素が存在しない限り、内層に担持された GDNF-HBP は放出されないことが分かっている。また、NSPC が未成熟・成熟神経に分化するとヒアルロニダーゼを発現することが知られている。これらを踏まえ、NSPC が未成熟神経へ分化すると GDNF が微粒子から放出されドーパミン神経へ選択的に誘導されると予想し本研究を進めた。SFEB 法に比べ、効率良く誘導できることが明らかとなったが、現在のところ、高効率誘導が可能な微粒子数と細胞数の最適条件が見いだせておらず、引き続き検討を進めている。

2B-02-II

腫瘍イメージングと治療を可能にする中空ハイブリッドナノ粒子の one-pot 合成

名古屋大学大学院工学研究科未来材料・システム研究所

○丸橋卓磨 (Maruhashi Takuma), 林幸竜朗, 坂本 渉, 余語利信

【緒言】

現在の主ながん治療は外科手術、化学療法、放射線療法であるが、これらの治療法には機能損失や副作用といった問題がある。また、化学療法は薬剤耐性を獲得したがん細胞に対しては期待したほどの効果が得られない。これらの問題は、多機能ナノ粒子を用いて物理療法と化学療法 (ドラッグデリバリーシステム: DDS) を同時に達成することで解決できる可能性がある。そこで本研究では、光を用いた二種類の物理療法 (光温熱療法と光線力学療法) と、光と細胞内の還元環境を利用した DDS を組み合わせた三種併用療法 (トリモーダルセラピー) を可能にする多機能ナノ粒子の合成に取り組んだ。

【実験】

原料液滴と溶媒との液-液界面において次の二つの反応を同時に起こすことにより、中空構造であり、ジスルフィドとシロキサンから成るハイブリッドナノ粒子を one-pot で作製した: ①シリコンアルコキシドの加水分解・縮合、②チオールとチオシアネートとの求核置換反応。蛍光イメージングにより、抗がん剤と光増感剤を含有したハイブリッド中空ナノ粒子の体内動態を調査した。ナノ粒子投与後、腫瘍部に光を照射し、腫瘍体積の変化を調査することにより、治療効果を評価した。

【結果と考察】

原料濃度および反応温度を最適化することにより、抗がん剤および光増感剤を含有するハイブリッド中空ナノ粒子が one-pot で得られた。このナノ粒子は近赤外光にตอบสนองして発熱するとともに一重項酸素を発生した。さらに、細胞内の還元環境により、ナノ粒子骨格中のジスルフィドが開裂し、抗がん剤を放出した。光照射はこの開裂を促進し、光照射による薬剤放出制御が可能であった。担癌マウスにハイブリッド中空ナノ粒子を静脈内投与すると、ナノ粒子は腫瘍に集積し、蛍光イメージングで腫瘍を検出することができた。さらに、ハイブリッド中空ナノ粒子が腫瘍に集積するタイミングで腫瘍部に光照射を行うと、腫瘍細胞の増殖が著しく抑制された。治療による深刻な副作用は確認されなかった。

2B-03-Ⅱ

細胞核 DDS のためのナノトランスポーターの設計

甲南大学フロンティアサイエンス学部

○長濱宏治 (Nagahama Koji), 佐野由倫, 中西健太

【緒言】細胞核内は遺伝情報の保持・複製や発現など細胞の運命を決定する重要な反応場であるため、それらの反応に関わる物質を核内に輸送し機能させれば、人為的な細胞運命制御が実現する。近年、私たちは、細胞内に存在する核輸送タンパク質であるインポーチンの核膜孔通過メカニズムに倣い、自発的に細胞質から核内に移行する高分子ナノ組織体（細胞核ナノトランスポーター）を作製した。本発表では、ナノ組織体の合成、物性、核膜孔通過特性、タンパク質担持特性、タンパク質の核内輸送特性、輸送したタンパク質の核内での機能発現について報告する。

【実験】ヘパリンと疎水性アミノ酸誘導体のカップリング反応により、両親媒性分子を合成した。両親媒性分子の粉末を水で溶解することで自己会合させ、ナノ組織体を作製した。DLS 測定により、サイズおよび分布を解析した。ピレンを蛍光プローブとして用い、ナノ組織体の CAC を算出した。ナノ組織体の核膜孔通過能を調べるため、組織体をエレクトロポレーション法により HeLa 細胞の細胞質内に導入し、共焦点顕微鏡観察により細胞内動態を解析した。ナノ組織体にモデルタンパク質である β -ガラクトシダーゼ (β -Gal) を担持し、エレクトロポレーション法により細胞質に導入した後、核内輸送特性および核内での酵素活性について調べた。

【結果と考察】HeLa 細胞の細胞質に導入した緑色蛍光ラベル化ナノ組織体は、導入 1 時間後には核膜孔を通過し、核内に自発的に移行した。また、ナノ組織体は一定時間核内に蓄積することも分かった。ナノ組織体を核内に移行・蓄積させた HeLa 細胞の増殖曲線は、無処理の細胞と同様であったことから、ナノ組織体の核内移行・蓄積は細胞に無毒であると示唆される。ナノ組織体と複合化した β -Gal の酵素活性 (K_m および V_{max}) はフリーの β -Gal と同等であったことより、高次構造を維持した状態での複合化が示唆された。細胞質に導入した β -Gal 担持ナノ組織体は、2 時間後から核内移行・蓄積を示した。また、核内輸送した β -Gal は、核内で 12 時間以上酵素活性を維持した。本研究では、核内 DDS を開発するための基盤材料となるナノキャリアの創製に成功した。本ナノ組織体のさらなる機能解析や分子修飾などにより、核内 DDS への応用が期待できる。

2B-04-Ⅱ

コレステロール末端修飾 PEG によるインスリンの非共有結合 PEGylation

¹ 首都大学東京大学院都市環境科学研究科, ² 東京薬科大学薬学部

○朝山章一郎¹ (Asayama Shoichiro), 長嶋果南¹, 根岸洋一², 川上浩良¹

【緒言】我々は、モノカチオン性 PEG と pDNA との複合体であるモノイオンコンプレックス (MIC) を創製すると共に、MIC をタンパク質デリバリーに展開し、カタラーゼの非共有結合 PEGylation に成功してきた[1]。一方、インスリンにおいては、MIC 形成のコントロールとして合成したプロピル基 (Pr) とウレタン結合 (U) をスパーサーに有する非イオン性のコレステロール末端修飾 methoxy PEG (Chol-U-Pr-mPEG) [2] がコンプレックス形成をすることを見出した。本研究では、Chol-U-Pr-mPEG とインスリンとの複合体形成能を詳細に検証した。

【実験】Aminopropyl 基を有する methoxy PEG とクロロ酸コレステロールを反応させ、Chol-U-Pr-mPEG を得た。得られた Chol-U-Pr-mPEG とインスリンを単純混合し、複合体の形成能を、Native-PAGE、GFC、超遠心分析、動的光散乱測定などにより評価した。得られた複合体中のインスリンのコンフォメーションを、CD スペクトル測定により、タンパク質加水分解酵素であるトリプシンによる分解耐性を、固相結合抗インスリン抗体 ELISA 実験により評価した。さらに、得られた複合体をマウスの皮下へ注射し、経時的に血糖値を測定した。

【結果と考察】Native-PAGE におけるインスリンのバンドは、Chol-U-Pr-mPEG 存在下、陽極方向に対する遅れが見られた。また、GFC においては、高分子量側へ溶出時間が早まった。超遠心分析や動的光散乱測定からも、インスリン単独とは異なる結果が得られた。従って、Chol-U-Pr-mPEG とインスリンとの複合体形成が明らかとなった。得られた複合体中のインスリンの CD スペクトルは、ほぼ変化しなかった。Chol-U-Pr-mPEG との複合化は、インスリンのコンフォメーションに影響を及ぼさないと考えられる。ELISA 実験から、複合化により、トリプシンによる加水分解処理後も残存インスリンが認識された。Chol-U-Pr-mPEG /インスリン複合体の形成による酵素加水分解耐性の獲得が示唆された。さらに、その複合体をマウスに皮下注射すると、インスリン単独投与と比べて、4 時間後も血糖値が持続的に低下していた。以上より、Chol-U-Pr-mPEG は、インスリンの PEGylation に有用なマテリアルになると考えられる。

【参考文献】[1] S. Asayama et al., *ACS Omega*, 2, 2382-2386 (2017). [2] 朝山章一郎他, 特願 2017-013942

2B-05-Ⅱ

血液脳関門突破を指向した高分子ミセル表層のリガンド分子の標的認識能評価

¹東京大学大学院工学系研究科, ²ナノ医療イノベーションセンター, ³東京大学政策ビジョン研究センター

○中村乃理子^{1,2} (Nakamura Noriko), 安楽泰孝^{1,2}, 福島重人², 藤加珠子², カブラル・オラシオ^{1,2}, 片岡一則^{2,3}

【緒言】高分子ミセルの構造設計においてポリエチレングリコール(PEG)の鎖長に着目すると、長鎖長ほど血中蛋白質との非特異相互作用を抑制し構造を安定化する効果は高くなるが、PEG 末端に修飾したリガンド分子の標的認識能は短鎖長ほど高い。中枢神経系疾患の治療において障壁となっているのが血液脳関門(Blood-brain barrier: BBB)である。本研究グループはリガンド密度、血糖操作の最適化によりグルコーストランスポーター1(GLUT1)と相互作用し脳実質へと移行するグルコース修飾高分子ミセル(Gluc/m)を開発した。中枢神経系疾患の治療において有用性が注目されている核酸医薬を安定に送達するには長鎖長 PEG の利用が不可欠であるが、一方で長鎖長 PEG を用いるとグルコース分子と GLUT1 の相互作用が著しく低下し Gluc/m が脳へ集積しないという課題を有している。この解決策として、本研究ではリガンド分子を修飾した長鎖長 PEG に短鎖長 PEG を混合する”cocktail PEGylation”の手法をこの Gluc/m の調製に適用し、ミセル表層のグルコース分子と GLUT1 の相互作用を評価した。

【実験】既往の報告に従い Gluc/m の調製に用いるブロック共重合体を合成、”cocktail PEGylation”による Gluc/m を調製した。動的光散乱法(DLS)により粒径を測定、透過型電子顕微鏡(TEM)により形態を観察した。グルコースリガンド率を糖の定量法であるフェノール硫酸法により定量した。Gluc/m 表層のグルコースと細胞表面に発現する GLUT1 の相互作用を MDA-MB-231 細胞への蛍光修飾 Gluc/m の取り込みをプレートリーダーで定量することで評価した。さらに、既往の研究と同様に血糖操作を施したマウスに Gluc/m を投与し脳への集積量を定量、BBB 通過能を評価した。

【結果と考察】グルコースリガンド率、短鎖長 PEG の混合比によらず粒径 40 nm 程度の単分散な球形の粒子が得られた。短鎖長 PEG を 50~60%混合した Gluc/m の MDA-MB-231 への取り込みは長鎖長 PEG のみで調製した Gluc/m よりも有意に向上し、短鎖長 PEG の混合により長鎖長 PEG に修飾したグルコースの標的認識能が向上することが確認された。50, 60, 70 %短鎖長 PEG を混合した 25%Gluc/m のマウスの脳への集積量も有意に増加し、60%短鎖長 PEG を混合した Gluc/m で最大値である 4.0 %dose/g を示し”cocktail PEGylation”の最適化が Gluc/m の BBB 通過能向上に有効であることを確認した。

2B-06-Ⅱ

活性保持型 PEG 化技術およびポリ擬ロタキサン技術の融合によるインスリンの制御放出

¹熊本大学大学院生命科学研究部, ²熊本大学リーディング大学院 HIGO プログラム

○東 大志¹ (Higashi Taishi), 弘津辰徳^{1,2}, 本山敬一¹, 有馬英俊^{1,2}

【緒言】

最近我々は、 β -シクロデキストリン (β -CyD) とアダマンタン (Ad) のホスト-ゲスト相互作用を介して、インスリンにポリエチレングリコール (PEG) を修飾すると、活性が低下することなく血中滞留性や血糖降下作用が持続することを明らかにし、活性保持型自己会合 PEG 化技術 (Self-assembly PEGylation Retaining Activity (SPRA) 技術) と命名した。さらに我々は、共有結合型の PEG 化インスリンに、 α -CyD あるいは γ -CyD を添加すると、難水溶性の分子ネックレスが形成され、PEG 化インスリンを徐放化できることを明らかにした (polypseudorotaxane (PPRX) 技術)。そこで本研究では、SPRA 技術により PEG 化したインスリン (SPRA-インスリン) を、PPRX 技術により分子ネックレス化し、更なる持続放出特性を示すインスリンの構築を行った (SPRA-PPRX 技術)。

【実験】

β -CyD 1 分子に、平均分子量 20 kD の PEG が約 2.8 個修飾された PEG- β -CyD を調製した。さらに、Ad 修飾インスリンを調製し、PEG- β -CyD と水中で混合することにより、SPRA-インスリンを調製した。SPRA-インスリン水溶液に、 α -CyD あるいは γ -CyD 水溶液を添加し、4°C で静置することにより、SPRA-インスリン/CyD PPRX を調製した。PPRX の調製の確認は、FT-IR スペクトル、粉末 X 線回折および ¹H-NMR スペクトルにより行った。また、PPRX からの SPRA-インスリンの *in vitro* 放出挙動や、SPRA-インスリン/CyD PPRX をラットに皮下投与後の血糖降下作用を評価した。

【結果と考察】

SPRA-インスリンに、 α -CyD あるいは γ -CyD を添加すると、PPRX 由来の沈殿が得られた。PPRX からの SPRA-インスリンの放出は *in vitro* において持続し、その放出速度は、溶出溶媒中の CyD 濃度を調節することにより制御可能であった。さらに、PPRX をラットに皮下投与すると、持続して高い血糖降下作用を示した。以上のことから、SPRA-PPRX 技術は、インスリンの新規制御放出システムとして有用である可能性が示唆された。

2B-07-II

ROS を感知してルチンを放出する高分子ミセル型 ROS スカベンジャーの開発

¹ 東京大学大学院工学系研究科, ² ナノ医療イノベーションセンター, ³ 東京大学政策ビジョン研究センター
○中村直人^{1,2} (Nakamura Naoto), 吉永直人^{1,2}, 安楽泰孝^{1,2}, カブラル・オラシオ^{1,2}, 片岡一則^{2,3}

【緒言】

ルチンはその高い抗酸化作用から生理活性物質として大きな注目を集めているが、その水溶性の低さから医療応用に際しては多くの課題が残っている。またルチンはその抗酸化作用により正常組織において電子伝達系などの必要な活性酸素種(ROS)をも除去してしまうことから、疾患選択的な送達技術の開発が望まれている。本研究ではこれらの要求を満たすため、ブロック共重合体の自己組織化に基づく ROS 応答型ルチン内包高分子ミセル(Rutin/m)の開発を検討した。

【実験】

Rutin/m のビルディングブロックとして、ポリエチレングリコール(PEG)とポリアミノ酸からなるブロック共重合体の側鎖に、ルチンの持つジオール構造とエステル結合を形成し ROS により分子内で切断されるフェニルボロン酸(PBA)を導入した。これを水中でルチンと混合することにより、ブロック共重合体側鎖へのルチンの担持およびそれにより亢進した疎水性を駆動力とする高分子ミセルの形成を狙う。Rutin/m の形成は動的光散乱(DLS)および透過型電子顕微鏡(TEM)により確認した。Rutin/m の ROS に対する応答性の評価として、ROS 存在下での粒径・多分散指数(PdI)変化により形態の変化を、吸光スペクトルの変化によりルチンの放出を確認した。

【結果と考察】

まず PBA 導入率を制御したブロック共重合体を合成した。これをルチンと混合した結果、DLS および TEM より約 60% の PBA 導入率を持つブロック共重合体を用いたときのみ粒径 30 nm 程度の単分散な球形高分子ミセルの形成が確認された。次に、ROS のうち水中で最も安定な H₂O₂ を用いて ROS 応答性の評価を行った。結果、1 mM H₂O₂ 存在下で形態変化・吸光スペクトル変化が確認され、Rutin/m の崩壊とルチンの放出が確認された。一方、0.1 mM H₂O₂ 存在下ではこれらの応答が見られなかった。このことから、送達過程においては Rutin/m が内包ルチンを担持したまま安定に存在し、ROS 濃度の高い標的組織において Rutin/m の崩壊に伴うルチンの放出が期待される。

2B-08-II

PEG に対する抗体産生と抑制に関する研究

¹ 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター医用エンジニアリング研究部, ² 北九州市立大
○白石貢一¹ (Shiraishi Koichi), 望月慎一², 櫻井和朗², 横山昌幸¹

【緒言】PEG 化製剤の投与によって PEG に対する抗体 (anti-PEG antibodies) 産生が誘導される。さらに、PEG 化たんぱく製剤投与による anti-PEG antibodies 産生は治療に影響を及ぼすことが報告されている。一方、DDS に用いられるナノ粒子製剤の場合において、特に PEG-リポソームにおいて anti-PEG antibodies 産生は影響を及ぼすことがよく知られている。PEG 化は簡便、かつ有効な手段であり、現在でも 20 以上の PEG 化たんぱく製剤の臨床試験が実施されている状況において、PEG を用いることの有用性から、PEG に対する anti-PEG antibodies 産生をいかに抑制するかは重要な検討事項と考えられる。本研究は、これまで我々が行ってきた PEG を有するブロックコポリマーに対する anti-PEG antibodies 産生の知見に基づき、anti-PEG antibodies 産生の抑制を行うことを目的に検討を行った。

【実験】PEG (末端メトキシ基、分子量 12,000) を有し、ポリアスパラギン酸、ポリフェニルアラニンからなるジブロック、及びトリブロックコポリマーを合成した。また、同じ構造のランダムコポリマーも合成した。合成したポリマーを水溶液中で高分子ミセル化させ、その希釈溶液を動物実験に用いた。動物実験は、マウス (C57BL/6, male, 6w) に尾静脈より各ポリマーサンプルを様々な投与量を用いて投与し、1 週間後の血清成分中に含まれる anti-PEG IgM 抗体を ELISA にて同定した。

【結果と考察】これまで、PEG を有するブロックコポリマーの中で最も効率的に anti-PEG IgM 抗体を産生した PEG-PBLA (PBLA 分子量=6000、重合数 30) の anti-PEG IgM 抗体量を基準として、各ポリマーに対する anti-PEG IgM 抗体産生量を比較すると、PEG を有するトリブロックコポリマーにおいて抗体産生量が低下した。anti-PEG IgM 抗体産生量が低下した理由についてディスカッションする。

2B-09- II

多孔質超薄膜の創製と新規浮遊細胞用ライブイメージングツールへの応用

¹東海大学大学院工学研究科応用理化学専攻, ²東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター

○青木拓斗¹ (Aoki Takuto), 張 宏², 岡村陽介^{1,2}

【緒言】高分子を超薄膜(膜厚<100 nm)に加工すると、ナノ厚特有の高接着性が発現し、物理吸着のみで種々の界面に貼付できる性質をもつ¹⁾。他方、浮遊細胞のイメージングは、ガラス基板に乗せて緩衝液を滴下した状態で観察するのが常套手段である。しかし、液中では浮遊細胞はブラウン運動し焦点が定まらない他、液性刺激因子等を添加すると拡散し未活性状態からの刺激反応の追跡は難しい。本研究では、熱ナノインプリント法による多孔質超薄膜の調製法を確立するとともに、浮遊細胞をラッピングしてぶれずに刺激反応を可視化できるライブイメージングツールへの応用を図る。

【結果と考察】SiO₂基板上にポリビニルアルコール水溶液(10 mg/mL、犠牲層)、ポリ乳酸トルエン溶液(20 mg/mL)の順にスピコート(4000 rpm, 60 s)した。基板にピラーモールド(高さ: 0.89 μm)をインプリント(70°C、30 MPa)した後、純水中に浸漬し犠牲層を溶解させ、多孔質超薄膜が回収した(膜厚: 55.0 ± 0.2 nm)。Anodisk™に掬い取り走査電顕にて観察したところ、ピラーパターンと同周期にAnodisk™の表面が観察されたことから、貫通孔(平均直径: 0.65 μm)が付与されたと判断した。得られた多孔質超薄膜を用いて浮遊細胞(血小板)のラッピングを行った。多血小板血漿(PRP, 35 × 10⁴ platelets/μL, 50 μL)をBSA ブロッキングしたガラス基板に滴下後、ワイヤループを用いてBSA ブロッキングした多孔質超薄膜をガラス基板ごとラッピングした。基板をフローチャンバーにセットし Hepes 緩衝液を流動させた(0.5 mL/min)ところ、ラッピングしない群では流動方向に沿って移動(8.5 ± 2.7 μm/s)するのに対し、ラッピング群では流動せずに留まる傾向が観察された(1.1 ± 2.0 μm/s, 約 87%抑制)。これはラッピングにすることにより流動の影響を受けにくくなるためであると考えられる。また、ラッピング固定された血小板は未活性状態であった。そこで、液性刺激因子(TRAP)を流動させたところ、90 秒以内に活性化、凝集する一連の現象を可視化できた。従って、多孔質超薄膜による浮遊細胞ラッピングに成功し、未活性状態から刺激反応を追跡できる新規ライブイメージングツールとして応用できる可能性を実証した。

1) Okamura, Y. *et al. Adv. Mater.* **21**, 4388-4392 (2009).

2B-10- II

温度応答性蛍光分子を内包した生体不活性ポリマーミセルによる細胞内温度の評価

東京大学大学院工学系研究科

○浅輪健大 (Asawa Kenta), 久代京一郎, 高井まどか

【緒言】

細胞内の温度変化は疾患による細胞の異常を示す有用な指標である。本研究では、温度応答性、不感応性の蛍光分子である Methacryloxyethyl thiocarbonyl rhodamine B (Rho B)と、7-diethylamino-3-(4-maleimidophenyl)-4-methyl coumarin (Cou)を *n*-butylmethacrylate(BMA)セグメントに結合させ、2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)セグメントとブロック化したポリマーを合成し、ナノ粒子化することで生体不活性な温度計測用プローブを作製した。蛍光強度比により細胞内の温度応答を評価した。

【実験】

RAFT 重合により Poly(MPC)と Poly(BMA-*r*-Rho B)のブロックコポリマーを合成し、疎水部末端に Cou を結合した。合成したポリマーを粒子化し、粒径および形態を透過型電子顕微鏡(TEM)と動的光散乱測定装置(DLS)で評価した。また、蛍光輝度の温度変化に対する応答を蛍光光度計で測定した。ヒト乳腺上皮細胞 MCF-10A に作製されたプローブを導入し、共焦点顕微鏡 (CLSM) で観察した。また、蛍光光度計を用いて細胞内の粒子の外部温度への応答を評価した。

【結果と考察】

¹H-NMR の解析より、合成されたポリマーの平均組成比は MPC:BMA=24:21 であった。TEM と DLS により、作製された粒子は直径約 25 nm で均一な球体であることが分かった。蛍光光度計では、Rho B の蛍光は Cou の蛍光に比べて温度の変化に大きく応答し、Rho B の蛍光輝度の温度応答を用いた温度計測の可能性が示唆された。PMPC で被覆されたナノ粒子は細胞へ容易に取り込まれた。CLSM による観察では、細胞内に Rho B 及び Cou に由来する蛍光が確認された。また、蛍光光度計による細胞内蛍光の外部温度応答を計測した。Rho B と Cou の蛍光輝度の強度比は、温度の上昇に対しほぼ一定の割合で減少しており、外部温度 30~40°C の範囲で直線近似ができた。これより細胞内の温度が外部温度に相関して変化することが分かった。粒子に結合した二蛍光の強度比を用いることによる細胞内温度計測の応用可能性が示された。

2B-11-II

生体組織イメージングへの応用を目指した撥水性超薄膜の表面改質

¹東海大学大学院工学研究科応用理化学専攻, ²東海大マイクロ・ナノ研究開発センター, ³北海道大学電子化学研究所
○鎗野目健二¹ (Yarinome Kenji), 張 宏², 青木拓斗¹, 川上良介³, 根本知己³, 岡村陽介^{1,2}

【緒言】厚みをナノ寸法(100 nm 以下)に制御した高分子超薄膜は、ナノ厚特有の高接着性が発現し、接着剤なしで様々な界面に貼付できる¹⁾。最近、フッ素含有高分子(CYTOP)からなる撥水性超薄膜の開発に成功し、摘出組織をラッピングすることで乾燥を防ぐことを実証した²⁾。この超薄膜は生体組織と近い屈折率(1.34)であることから、問題となる組織とカバーガラスの屈折率の相違(ガラス: ca. 1.53)による非点収差を解決し、組織の深部まで観察できる可能性を秘めている。しかし、超薄膜の撥水性ゆえに濡れた組織への接着性は低いことを予備検討で確認している。本研究では、撥水性超薄膜が組織と接着するよう、その表面改質技術を確立し、カバーガラスいらずの生体深部イメージングツールへの応用を目指す。

【実験】SiO₂ 基板上にポリビニルアルコール水溶液(PVA, 10 mg/mL)を滴下後スピコートし、犠牲膜とした。次いで、CYTOP 溶液(30 mg/mL, 旭硝子社製)を滴下、スピコートした。その上にポリジメチルシロキサン(ヘキサシロキサン溶液(1 wt%))を滴下、スピコートし、加熱(80°C, 2 h)した。酸素プラズマ処理を行い、PEO 鎖を有するシランカップリング剤トルエン溶液(SiCl₃-mPEO, 2 mM, Gelest 社製)に浸漬(1 h)させた。表面を洗浄後、基板ごと純水に浸漬して PEO-CYTOP 超薄膜を調製した。超薄膜表面の接触角測定(DMe-211, KYOWA 社製)から表面改質を判定した。また、マウス脳表面に対する PEO-CYTOP 超薄膜の貼付を試みた。

【結果と考察】基板ごと純水に浸漬させたところ、PVA 犠牲層が溶解し、基板の形状を維持した超薄膜が水面に浮いた状態で回収できた(膜厚: ca. 130 nm)。得られた PEO-CYTOP 超薄膜の水接触角は 44±1°と計測され、未処理の超薄膜(115 ± 1°)と比較して明らかに親水性に改質されていた。そこで、マウスの脳表面に PEO 側が密着するように超薄膜を貼付したところ、脳表面に接着することが確認できた。また貼付から 1 日経過しても、出血や乾燥が確認されず、貼付による出血と乾燥の防止を確認した。

1) Okamura Y. et al. Adv. Mater. 21, 4388-4392 (2009). 2) Zhang H. et al. Adv. Mater. in press (2017).

2B-12-II

腫瘍新生血管標的ペプチドを結合した温度応答性リポソームのがん治療 DDS としての機能

¹大阪府立大学大学院工学研究科, ²大阪大学大学院理学研究科

○林 孝彰¹ (Hayashi Takaaki), 弓場英司¹, 原田敦史¹, 青島貞人², 河野健司¹

【緒言】温度応答性リポソームは、体外からの局所加温によって標的部位選択的に薬物放出を誘導できるため、DDS キャリアとして有用である。我々はこれまで、温度応答性部位とアンカー部位からなるブロック共重合体(EOEOVE₈₇-ODVE₉)を PEG 修飾リポソームに複合化することで、加温により抗がん剤(ドキシソルビシン, DOX)を放出する温度応答性高分子修飾リポソームを開発した[Biomaterials, 31, 7096-7105 (2010)]。さらに、リポソームへの抗体修飾により標的特異性を付与し、そのがん治療効果の向上にも成功している[J. Control. Release, 216, 69-77 (2015)]。本研究では、新生血管内皮細胞に高発現するα_vβ₃ インテグリンに特異性を持つ環状ペプチド cRGD を温度応答性高分子修飾リポソームに導入することで、腫瘍組織血管への特異性と温度応答性を併せ持つ多機能型リポソーム(cRGD-Polym-lip)を設計し、そのがん治療 DDS としての機能を、脂質膜相転移に基づく従来の温度感受性リポソーム(cRGD-TTSL)と比較した。

【実験】卵黄ホスファチジルコリン、コレステロール、EOEOVE₈₇-ODVE₉、末端反応性 PEG 脂質を用いてリポソームを作製した後、システイン残基に由来するチオール基と PEG 脂質先端のマレイミド基との反応によってリポソームに cRGD を修飾した。インテグリンを高発現するマウス血管内皮由来 F-2 細胞およびインテグリン低発現の大腸がん由来 Colon26 細胞と、リポソームとの相互作用をフローサイトメトリー、共焦点レーザー顕微鏡、細胞毒性試験を用いて評価した。リポソームを Colon26 担がんマウスに尾静脈投与し、8 時間後に腫瘍部位を 44°C で 10 分間局所加温し、その後の腫瘍成長をモニターした。投与 8 時間後の腫瘍組織を回収し、蛍光ラベル化リポソームの腫瘍内分布を免疫染色により観察した。

【結果と考察】cRGD-Polym-lip, cRGD-TTSL は 37°C では DOX を安定に保持した。加温下では、前者は温度上昇とともに徐々に放出が誘起されたのに対し、後者は 42°C 以上で急激に放出を促進した。cRGD の結合によりいずれのリポソームも F-2 細胞への取り込みが上昇し、加温との併用によって in vitro において高い細胞殺傷効果が確認された。リポソームを担がんマウスに投与後、腫瘍部位を局所加温すると、腫瘍成長が強く抑制された。特に、cRGD を結合したリポソームが高い治療効果を示したことから、腫瘍新生血管へのターゲティングが、がん治療 DDS の設計において有効であることが分かった。

2C-01- I

機能性部位を導入した側鎖型液晶高分子の相転移挙動を利用したバイオマテリアルの創製

¹ 関西大化学生命工, ² 関西大 ORDIST

○間嶋健矢¹ (Majima Kenya), 井上泰彰¹, 河村暁文^{1,2}, 宮田隆志^{1,2}

【緒言】液晶高分子 (LCP) は、固体の規則構造と液体の流動特性とを兼ね備えた物質である。特に、液晶発現分子であるメソゲン基を側鎖に有する側鎖型液晶高分子は、ポリシロキサンなどの柔軟な主鎖に依存してメソゲン基が配向するため、比較的低温に液晶一等方相転移温度 (T_{NI}) をもっている。本研究では、LCP の動的規則構造を利用した新規なバイオマテリアルの創製を目的として、ポリメチルシロキサン (PMS) を主鎖とする LCP の側鎖に様々な機能部位を導入し、薬物放出や標的分子認識などへの応用を試みた。特に、LCP に親水性のポリエチレングリコールメタクリレート (PEGMA) を導入した LCP-*g*-PEG の自己集合体を調製し、得られた自己集合体内部に薬物を内包させ、液晶の相転移による薬物放出挙動を検討した。また、分子認識部位としてビオチンを導入した LCP-*g*-Biotin の薄膜も調製し、ビオチンと特異的に結合するタンパク質であるアビジンの吸着挙動と LCP-*g*-Biotin 薄膜の液晶構造との関係を検討した。

【実験】ヒドロシリル化反応によりメソゲン基と PEGMA とを PMS に導入することにより LCP-*g*-PEG を合成した。モデル薬物としてフルオレセイン (Flu) を選択し、Flu を内包した LCP-*g*-PEG 自己集合体を調製し、その薬物放出挙動の温度依存性を調べた。また、LCP-*g*-PEG の PEGMA の末端水酸基にビオチンを縮合させた LCP-*g*-Biotin を合成し、スピンコート法によって LCP-*g*-Biotin 薄膜を調製した。この LCP-*g*-Biotin 薄膜にアビジンを添加し、相転移前後における吸着挙動の変化について検討した。

【結果と考察】LCP-*g*-PEG 自己集合体の粒径は約 130 nm であった。Flu を内包した LCP-*g*-PEG の薬物放出と温度との関係を検討したところ、 T_{NI} 以上で Flu の放出速度が大きく増加し、集合体内部の液晶構造の変化により Flu の放出を制御できることがわかった。一方、LCP-*g*-Biotin 薄膜の液晶構造とアビジンの吸着との関係を検討したところ、LCP-*g*-Biotin 薄膜は、液晶状態と比較して等方相状態の方がより多くのアビジンと吸着することがわかった。以上の結果から、本研究で調製した LCP-*g*-PEG 自己集合体や LCP-*g*-Biotin 薄膜は、液晶の動的規則構造を利用した新規なバイオマテリアルとして期待される。

2C-02- I

光により集合する光応答性高分子微粒子の調製と医用材料修復への応用

¹ 関西大化学生命工, ² 関西大 ORDIST, ³ 国立循環器病研究センター

○澁 高行¹ (Namera Takayuki), 劉 懿華³, 河村暁文^{1,2}, 山岡哲二³, 宮田隆志^{1,2}

【緒言】体内埋入型のバイオマテリアルは、その表面を生体適合性材料で被覆することによって血液や組織への適合性が付与されてきた。しかし、このようなバイオマテリアルは長期間の使用により欠損や劣化が生じると、外科手術による交換が必要になり、患者の体に大きな負担がかかる。そのため *in situ* で欠損部を修復できる低侵襲な修復技術の開発が望まれる。一方、高分子微粒子はナノからマイクロサイズで粒径を制御でき、光学材料や診断材料などさまざまな分野で用いられてきた。物質の拡散速度はそのサイズに依存するため、粒径の大きな粒子は拡散速度が小さく、特定部位に留まることができる。そこでわれわれは、外部刺激により粒子集合状態を変化させることにより、時空間的に粒子配置を制御できる応答性材料システムが開発できると考えた。本研究では、粒子表面に光二量化基を導入し、光照射により粒子間結合が生じて集合体を形成する光応答性高分子微粒子を調製した。また、この粒子分散液に光照射することで粒子集合状態の制御を試みた。

【実験】モノマーとしてスチレン (St) とメタクリル酸 (MAA)、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン (MPC)、架橋剤としてジビニルベンゼン、開始剤として過硫酸アンモニウムを超純水に加え、窒素雰囲気下、85 °C、6 時間のソープフリー乳化重合により P(St-*co*-MAA-*co*-MPC) 粒子を調製した。次に、粒子表面のカルボキシ基と *N*-(2-アミノエチル)マレイミド塩酸塩とを縮合させ、光二量化基であるマレイミドを導入した粒子を調製した。この粒子分散液に光照射した際の粒子の凝集挙動を検討した。また、粒子膜上への細胞接着および血小板粘着挙動も調べた。

【結果と考察】得られたマレイミド導入粒子は、生理的イオン強度条件下において安定に分散し、その粒径は約 130 nm であった。粒子分散液に光照射したところ、粒子は凝集して沈殿することがわかった。これは、光照射により粒子表面のマレイミド基が二量化し、粒子間結合が形成したためと考えられる。また、粒子膜を調製した後、その上にマウス繊維芽細胞を播種して細胞接着挙動を調べたところ、MPC を導入していない粒子膜と比較して MPC を導入した粒子膜の方が細胞数は少なかった。したがって、本研究で調製した光応答性微粒子は光照射部で集合し、細胞接着も抑制することから、医用材料欠損部の修復への応用が期待できる。光応答性微粒子表面への血小板粘着挙動を検討した結果も報告する予定である。

2C-03- I

DNA 四重鎖ゲルからの薬物徐放挙動の解析

¹ 関西大化学生命工, ² 関西大医工薬連携研究センター

○阪本康太¹ (Sakamoto Kota), 福島和季¹, 田中静磨¹, 若林建汰¹, 遊上晋佑¹, 葛谷明紀^{1,2}, 大矢裕一^{1,2}

【緒言】近年、高分子鎖同士の架橋点部に DNA の相互作用を利用した DNA ヒドロゲルが数多く報告されている。我々は、DNA ヒドロゲルの調製法として、PEG を担体とする DNA の液相合成法に注目した。グラムスケールで DNA を合成可能なこの手法を応用することで、DNA-PEG 複合体を大量に合成し、これをマクロモノマーとして用いている。これまでに我々は、PEG の末端にデオキシグアノシン (dG) が数塩基伸長されたマクロモノマーを用いて、グアニン四重鎖構造 (GQ) を架橋点とする K⁺や Na⁺応答性ヒドロゲルの開発に成功した。本研究では、このヒドロゲルの DDS への応用を検討する。Crystal Violet (CV)などの芳香族化合物は、GQ を熱的に安定化することが報告されている。そこで、3 種のモデル薬物及び 1 種の薬物をゲルに内包し、薬物と GQ 間の相互作用の強さによるゲストの放出挙動の傾向を調査した。

【実験】2-arm PEG (Mw= 4, 600) 及び 4-arm PEG (Mw= 20, 000) を担体とした DNA 液相合成法により、PEG の各末端にデオキシグアノシン (dG) を 4 塩基伸長し、2 種類のマクロモノマー (L4.6k-dG₄, X20k-dG₄) を合成した。次いで、マクロモノマーを 0.2 M Tris/HCl Buffer (pH 7.0) に溶解した。その溶液に種々のモデル薬物/薬物を混合し、4 M KCl を添加することで 200 μ L スケールのヒドロゲルを調製した。得られたゲルの物性評価を行った。そして、ゲルを PBS (37°C) に浸漬し、所定時間毎に上澄みを回収した。UV 測定や蛍光強度測定により、ゲストの放出挙動を調査した。

【結果と考察】モデル薬物を内包したゲルの内、GQ との親和性が高いゲスト分子 CV を内包したゲルが高い物性を示した。薬物放出試験では、ゲルに GQ を安定化するゲスト分子を内包することで、水中でのゲルの安定性が向上し、より長期間に渡って薬物が放出されることが確認された。次に、テロメラーゼ阻害剤の 1 つである 5, 10, 15, 20-Tetrakis (1-methylpyridinium-4-yl) porphyrin (TMPyP4) を内包したゲルの薬物放出試験を行った。CV 同様に初期バーストが無く、緩やかな薬物放出が観測された。また、マクロモノマーの濃度を高めたり、外液に PEG を添加したりすることで、より長期間に渡る薬物放出が確認された。HeLa 細胞を用いた細胞毒性試験では、マクロモノマー水溶液による毒性はほとんどみられず、薬物とマクロモノマーがスタッキング構造を形成しても、薬効は阻害されないことが分かった。

2C-04- I

タンパク質吸着抑制能と薬剤徐放能を有するコンタクトレンズの開発

¹ 富山大学大学院理工学教育部, ² 富山大学大学院理工学研究部, ³ 富山大学大学院生命融合科学教育部, ⁴ 北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス系, ⁵ 高分子-水界面研究所, ⁶ 大阪有機化学工業株式会社

○小川広晃¹ (Ogawa Hiroaki), 中路 正^{1,2,3}, 松村和明⁴, 北野博巳⁵, 猿渡欣幸⁶

【緒言】

コンタクトレンズ使用者の増加に比例して、アレルギー性結膜炎患者も増加の一途をたどっている。この眼病の原因は、タンパク質吸着とそれに伴う炎症反応である。このことから、タンパク質が付着しないコンタクトレンズ素材の開発が進められている。双性イオン型高分子はタンパク質吸着抑制能を持つことがすでに知られているが、その一つである Carboxymethyl betaine (CMB) をコンタクトレンズ素材に導入することでタンパク質の吸着を防ぐことのできる素材の開発を目指す。また、水への溶解性が低いことで知られる結膜炎治療用薬剤を単分散で均一で含有させ、装着時に徐放させることのできる仕組みも合わせて導入し、結膜炎の進行を抑え、且つ治療できる薬用コンタクトレンズの開発を進める。

【実験】

原子移動ラジカル重合により CMB の重合を行い、高分子末端の修飾を行うことで PCMB マクロモノマーを合成した。次に PCMB マクロモノマーと 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA), N-vinyl pyrrolidone (VP) をメタノールに溶解し、Hot-press 法を用いてシートを作製した。様々な CMB 含率のシートに対して、表面の特性解析、およびタンパク質の吸着試験を行った。

【結果と考察】

Hot-press 法により透明度の高いシートが形成された。これらのシートに対する液滴接触角測定の結果、PCMB を導入していないシートに比べ、導入したシートでは濡れ性の向上が認められた。これは PCMB の高い親水性に由来するものと考えられる。次に、シートに対するタンパク質の吸着を評価したところ、PCMB 導入シートは、導入していないシートに比べ、タンパク質吸着量の大幅な減少を示した。これらの結果から PCMB を含むコンタクトレンズ素材はアレルギー性結膜炎の予防に効果的であると期待できる。加えて、薬剤徐放に関しても本発表で報告する予定である。

2C-05- I

リビングラジカル重合法によるポリ酢酸ビニル誘導体の合成と生体親和性評価

¹山形大学大学院理工学研究科, ²九州大学大学院工学府, ³九州大学先端研, ⁴山形大学有機材料推進本部

○関下明日香^{1,2} (Sekishita Asuka), 柏崎亜樹³, 小林慎吾³, 田中 賢^{2,3,4}

【緒言】ポリ (2-メトキシエチルアクリレート) (PMEA) は、優れた抗血栓性を有する高分子である。しかし、抗血栓性を発現する詳細な機構については明らかになっていない。当研究室では、材料表面の水和構造の中でも中間水と呼ばれる水和層を構築することで、材料表面が高い抗血栓性を発現する可能性を示してきた。我々はこれまでに、PMEA と側鎖の組成は変わらないが、化学構造が異なる高分子としてポリ (3-メトキシプロピオン酸ビニルエステル) (PMePVE) を合成し、水和構造解析および抗血栓性評価を行った。その結果、PMePVE の水和構造はPMEAと比較すると、中間水と自由水の量が増加し、不凍水量が減少していた。さらに PMePVE は PMEA と同程度の優れた抗血栓性を示した。材料表面の抗血栓性の発現における側鎖構造の影響について考察するためには、これまでに用いたフリーラジカル重合法ではなくリビングラジカル重合法により、PMEA と同程度の分子量かつ狭い分子量分布を持つPMePVE を合成することで側鎖構造を詳細に比較することが必要である。本研究では、リビングラジカル重合法により分子量分布を制御した高分子を合成し、得られた各高分子について水和構造解析、原子間力顕微鏡 (AFM) 観察、および抗血栓性評価を行った。

【実験】Reversible addition fragmentation chain transfer (RAFT) 重合により、分子量分布を制御した PMEA および PMePVE を合成した。得られた高分子を脱イオン水に浸漬させることで含水試料を調製し、示差走査熱量計 (DSC) 測定により水和構造解析を行った。また、高分子溶液を用いて高分子被膜基板を作製し、AFM 画像観察、血小板粘着試験、およびタンパク質吸着実験を行った。

【結果と考察】PMEA の RAFT 重合について条件検討を行い、モノマー、RAFT 剤、および開始剤のそれぞれの比率を変更することで、数平均分子量 (M_n) が 20.1 kgmol^{-1} であり、分子量分布が 1.20 の狭い分布を持つ PMEA を合成することに成功した。さらに DSC 測定を行った結果、フリーラジカル重合で得られた PMEA と同様に中間水が確認された。フリーラジカル重合およびリビングラジカル重合により得られた PMEA と PMePVE の水和構造解析結果・AFM 観察結果とタンパク質吸着実験・抗血栓性評価との相関について、側鎖構造の違いに着目し議論する。

2C-06- II

生体適合性ポリマーにおける中間水ダイナミクスの評価

¹株式会社東レリサーチセンター, ²九州大学先端物質化学研究所

○中田 克¹ (Nakada Masaru), 石田宏之¹, 古島圭智¹, 河出直哉¹, 中野隆行¹, 児玉尚士¹, 村上大樹², 田中 賢²

人工腎臓や人工血管のような医療材料において、抗血栓性などの生体適合性は重要な性能の一つである。ポリマー材料界面に存在する“中間水”は生体適合性が発現するための重要因子であると考えられている。しかし、中間水の存在に基づく生体適合性発現メカニズムは未だ解明されておらず、また、中間水がどのような特性を有した水であるかについては不明な点が多い。本研究では、さまざまな医療材料用途に使用されているポリビニルピロリドン (PVP) を対象とし、PVP に吸着した中間水の状態や量、水和構造、運動性に着目し、DSC や誘電緩和スペクトロスコピー、NMR、さらに中性子散乱などを用いて、多角的に中間水の特性解析を行った。

DSC と ^1H NMR で PVP に吸着した水の状態と量の解析を行ったところ、両手法間で水の状態・量の比較から ^1H NMR では DSC で不凍水として観測された水がさらに不凍水・遅い中間水として存在していることがわかった。これは DSC ではおよそ数 nm 以上のスケールでの水の凍結・融解に伴う系の熱収支を観測しているのに対して、 ^1H NMR では水分子の自由回転を観測しており、両手法間の観測(時間)スケールの差異によると考える。この考察から、遅い中間水は PVP 近傍で速い中間水や自由水とは孤立して存在している可能性が示唆された。

誘電緩和と磁場勾配 NMR からは水分子の運動性が評価できる。前者は水分子の配向分極の緩和時間、後者は並進拡散係数を行うことができる。両手法から得られた水分子の運動性の含水率依存性はよく一致しており、中間水は不凍水や自由水の中間の運動性を有していることが確認できた。また、拡散係数のアレニウスプロットから求めた活性化エネルギーから、自由水に比べて中間水や不凍水は拡散の活性化エネルギーが高く、より強くポリマーに拘束されていることが明らかになった。さらに中性子準弾性散乱を用いた中間水の動的構造解析の結果、遅い中間水はピロリドン環側鎖に拘束され共同的に運動し、一方で速い中間水は比較的広い領域を連続拡散している可能性が示唆された。

2C-07- I

枝分かれポリグリセロールの枝分かれ度と水和状態の相関性

¹神戸大学大学院工学研究科応用化学専攻, ²九州大学大先導物質化学研究所

○大谷 亨¹ (Ooya Toru), 杉本洋輔¹, 田中 賢²

枝分かれ構造を有する生体適合性ポリマーであるポリグリセロールデンドリマー (PGD)やハイパーブランチポリグリセロール (HPG)は化学修飾可能な多数の末端基を有し、バイオフィウリングやゲスト分子包接能など、直鎖状ポリマーと異なるユニークな性質を有しており、バイオマテリアルの分野で応用が期待されている。PGD が完璧な分岐構造を有している一方で、HPG は分岐構造と直鎖構造の両方を有し、ランダムに分岐している。また、PGD や HPG は繰り返し単位に疎水性のメチレン、メチン骨格を有しているため、水中において分子内に極性の低いマイクロ構造を形成することが報告されている。PGD, HPG は同じ構造式、同じ分子量であっても、分岐度の違いにより末端水酸基の位置が異なるため、ポリマー自体の物理化学的性質や、生体分子との相互作用が変化する可能性がある。このような分岐度効果の検証は新たなバイオマテリアルをデザインする上で多様な選択肢を生み出す足がかりになると考えられる。しかし、個々のポリマーに関する研究は多数行われているものの、それぞれのポリマーを比較した際の特性の違いは明らかではない。そこで本研究では、PGD 及び HPG の分岐性が生体適合性の指標である水の構造（自由水、中間水、不凍水）を定量化した。

PEG(分子量 2,000), HPG(分子量 2,184), PGD(分子量 2,275)の様々な濃度の水溶液を調製し、DSC 測定から得られたチャートにおける水の融解エンタルピーから、中間水量、自由水量、不凍水量を算出した。その結果、ガラス転移温度と融点の間の温度で生じる低温再結晶は枝分かれ度に関わらず全ての試料において観測された。これらの結果は中間水も含まれることを示しており、多くの報告例がある PGD や HPG の非タンパク質吸着特性を支持するものであった。さらに、水の融解エンタルピーから、ポリマーと強く相互作用し、-100℃ 以下でも凍らないとされる「不凍水」量を各ポリマーについて算出したところ、分岐度の増大に伴って不凍水量は増大した。分岐度の高い PGD や HPG は水中で 3 次元の球状構造をとっており、球内に入り込んだ水分子はポリマー中のエーテル酸素や水酸基と多点で相互作用したために、直鎖の PEG よりも不凍水が増えたことが考えられる。一方で PGD や HPG のグリセロール骨格に囲まれた水分子は運動性が制限され、他の水分子との水素結合が弱まるために凍結しにくくなったことが示唆された。

2C-08- I

側鎖の官能基による脂肪族ポリカーボネートの含水性の制御と抗血栓性の評価

¹山形大学大学院有機材料システム研究科, ²九州大学先導物質化学研究所

○羽賀悠太¹ (Haga Yuta), 箱崎俊太¹, 田中 賢², 福島和樹¹

【緒言】 ポリトリメチレンカーボネート (PTMC) は柔軟な生分解性ポリマーとして知られ、近年では側鎖に種々の官能基を導入した PTMC 誘導体が開発されている。本研究では 2-メトキシエチル基を側鎖に導入した PTMC 誘導体を合成し、その血小板粘着性が無置換の PTMC と比較して大きく減少することを確認している。これには側鎖のエーテル基の水和が大きく寄与していると考えられ、水和の効果を制御することで抗血栓性の更なる向上が見込まれる。本研究では、より親水的な官能基を側鎖に導入した PTMC 誘導体やその共重合体を合成し、含水性や血小板粘着性への影響を調べた。

【実験】 側鎖への親水性官能基の導入法として、アリル基を側鎖に有する PTMC 誘導体に対する thiol-ene 反応を利用した。その後、スピンコート膜を作製し、水に対する静的接触角やヒト血小板の粘着性を評価した。また、示差走査熱量測定 (DSC) を用いて含水させたポリマーの熱特性を解析することで、ポリマーに水和した水の特性を調べた。

【結果】 数平均分子量 5.5 万、分子量分散度 1.3 のアリル基を側鎖に有するプレポリマーが得られた。その後の thiol-ene 反応はアリル基に対して 2 当量のチオール化合物を添加し、ラジカル開始剤存在下 60℃ で行われ、若干の溶媒不溶部を生成するも側鎖の変換率は 90%以上を達成した。一方で、ポスト反応中でのポリマー主鎖の分解は確認されず、これまでにない高分子量の側鎖にエーテル基を導入した PTMC 誘導体が高収率で得られた。側鎖にチオグリセロール由来の水酸基を 2 つ有する PTMC 誘導体とメトキシエチル基を導入した PTMC 誘導体の血小板粘着性は、従来の抗血栓性 PTMC 誘導体よりも若干高い結果となったが、粘着した血小板の多くは球形を維持していた。一方、水の接触角は比較的低い値を示し、また、含水ポリマーの DSC 結果からは、これまでは見られなかった代表的な抗血栓性ポリマーであるポリ(2-メトキシエチルアクリレート) (PMEA) や MPC ポリマーで観測される昇温過程における -40℃ 付近での水の低温結晶化が観測され、中間水の形成が示唆された。このことから、親水的官能基によって水和水の状態を制御できることが示されたが、血小板粘着性との相関を説明するためには界面の水和状態についてさらに詳細な解析が必要である。発表では、この他の親水性側鎖を導入した PTMC 誘導体の含水性や血小板粘着性についても議論する。

2C-09- I

Effect of zwitterionic polymers on insulin aggregation

Japan Advanced Institute of Science and Technology

○Robin Rajan, Kazuaki Matsumura

【Introduction】 Insulin regulates sugar in the bloodstream and is widely used in the treatment of diabetes. It is usually injected in the body, which is not always suitable for everyone. Insulin is extremely prone to aggregation, which has hampered widespread development of alternate forms of its delivery. Many compounds have been developed previously to overcome this issue, however satisfactory results have not been achieved yet. In this report, we developed a zwitterionic polymer (poly-sulfobetaine) and introduced varying amounts of hydrophobicity (butyl methacrylate; BuMA) and checked its propensity to suppress insulin aggregation.

【Materials and methods】 Polymers were synthesized using RAFT polymerization and were characterized using NMR and GPC. Insulin aggregation was monitored using UV-Vis spectroscopy, Thioflavin T Assay and CD spectroscopy.

【Results and discussion】 UV-Visible experiments clearly showed that insulin aggregates on incubation at 37 °C and addition of polymer markedly suppresses aggregation. Thioflavin T assay unambiguously demonstrated that these polymers are effective in suppressing fibrillation. Incorporating hydrophobicity lead to a massive increase in its overall efficiency, and polymer containing 30% BuMA shows suppression of around 98% fibrillation. Lag times for aggregation were almost quadrupled in presence of these polymers, indicating that these polymers arrests the process of fibrillations and aggregation. CD spectroscopy revealed that secondary structural elements of insulin are retained by the addition of zwitterionic polymers.

【Conclusion】

Zwitterionic polymers have extremely high efficiency in inhibiting insulin aggregation. Hydrophobicity increases the efficiency by masking the hydrophobic surfaces of proteins. These polymers exhibit protection by preventing any destructive change in the higher order structure of insulin.

2C-10- I

ブロックポリマー会合体存在下における細胞増殖と伸展：会合体形状の効果

¹山形大学大学院有機材料システム研究科, ²山形大学工学部, ³山形大学有機材料フロンティアセンター (FROM),

⁴九州大学先端物質化学研究所

○大治雅史 ¹ (Oji Masashi), 松崎広大 ¹, 藤村 望 ², 土屋 遥 ³, 田中 賢 ^{3,4}, 福島和樹 ^{1,2,3}

【緒言】 両親媒性ブロックコポリマーが形成するミセルの多くは、薬剤キャリアへの応用が検討されている。近年では、標的指向性や刺激応答性などを付与した高機能化キャリアの開発も盛んに行われている。一方、ロッドや繊維状の高分子ミセルが、球状のものと比較して血中滞留性の向上や癌組織への集積性の増加を示すことが報告されている。また、カチオン性の超分子会合体やポリマーミセルのうち、繊維状の形態において球状形態にはない抗菌活性を発現することも報告されており、ナノ材料の形態が及ぼす生体応答への効果を利用した機能材料の開発が注目されつつある。本研究では、生体適合性の poly(ethylene glycol) (PEG)を親水ブロックとし、生分解性の poly(L-lactide) (LLA), poly(ϵ -caprolactone) (PCL), poly(trimethylene carbonate) (PTMC)のいずれかが疎水ブロックを構成する両親媒性のブロックコポリマーに着目し、このうちブロック間に導入された N-(4-(ureidomethyl)benzyl)benzamide (4UMBA)構造の効果によって形成される異方性会合体の形状 (アスペクト比)や物性が細胞増殖や伸展にどのように作用するのか調べた。

【実験】 各 PEG 系両親媒性ブロックコポリマーは各ブロックの分子量が 5,000 となるように合成した。その後、水中に分散させて会合体を形成させ、ポリマー濃度 0.05 wt%とした α -MEM 培地 (10%FBS 含む)を調整し、ヒト皮膚線維芽細胞 (NHDF)を 37°C で 48 時間培養した。

【結果】 4UMBA を含まない通常のブロックコポリマーの会合体はいずれも 100 nm 以下の球状会合体を形成し、その存在下で培養した NHDF は、ポリマー非存在下で培養した NHDF と比較して細胞の増殖や伸展に大きな違いは見られなかった。これに対し、4UMBA を含むブロックコポリマーの会合体の存在下で培養した NHDF では、ブロックコポリマーの疎水セグメントによって細胞増殖と伸展に有意な差が見られた。疎水セグメントが PLLA の場合、伸展した細胞多く見られ、一方、PTMC の場合では伸展した細胞があまり見られず、細胞数も少なかった。これらの結果より、会合体のサイズや形状が細胞増殖や伸展に作用することが示唆され、その作用機序の解明に向けた解析結果についても発表する。

2C-11-II

シアル酸糖鎖修飾型導電性高分子の創製とインフルエンザウイルスの電氣的検出

東京医科歯科大学生体材料工学研究所

○合田達郎 (Goda Tatsuro), 海 文峰, 堀口諭吉, 松元 亮, 宮原裕二

【緒言】インフルエンザウイルスの迅速な同定は社会的ニーズが高い。従来の遺伝子解析法や免疫法によるウイルスの検出は時間とコストがかかるため、個人が簡便に検査するには小型化・微細化に適した電気計測が有効である。そこで、本研究ではウイルス表面のタンパク質であるヘマグルチニンと特異的に結合する糖鎖を poly(3,4-ethylenedioxythiophene)(PEDOT)に導入し、電気化学的にインフルエンザウイルス(H1N1)のリアルタイム、ラベルフリー検出することを目的とした。

【実験】EDOT の側鎖に oxylamine (OA)基を導入した EDOTOA を合成し、EDOT と EDOTOA を任意の割合で電解共重合した。その後、glycoblotting 反応を用いてウイルス表面のヘマグルチニンと特異的に結合する 6-sialyllactose を修飾した。水晶共振振動子(QCM)と電位計測法により、ニワトリ胚培養したヒトインフルエンザウイルス A 型(H1N1)を検出した。

【結果と考察】6-sialyllactose を導入した poly(EDOTOA-co-EDOT)表面では、ウイルス力価依存的に吸着量が増大した。一方、3-sialyllactose 修飾表面ではウイルスの吸着は抑制されたことから、ヒトインフルエンザウイルス A 型(H1N1)は末端 6-sialyllactose に対して選択性を有することが確認された。QCM 測定において、検出限界(LOD)が 0.12 HAU、動作範囲が 0.125 ~ 2 HAU、Kd が 0.96 HAU であった。同様に電位計測をおこなったところ、6-sialyllactose を導入した poly(EDOTOA-co-EDOT)表面は、力価依存的な正の電位応答を示した。これはヘマグルチニンの正電荷を検出したものと考えられる。3-sialyllactose 修飾表面では、顕著な電位応答を示さなかった。電位計測法による LOD は 0.013 HAU、動作範囲が 0.015 ~ 1 HAU、Kd が 0.16 HAU となった。電位測定法によるインフルエンザウイルスの LOD は市販の免疫法と比べて、二桁程度高感度であったことから、早期ウイルス検出への応用が期待される。

【謝辞】本研究の一部は、総合科学技術・イノベーション会議が主導する革新的研究開発推進プログラム (ImPACT) の一環として実施した。

2C-12-II

グラム陽性菌を選択的に認識するボロン酸修飾デンドリマーの開発

上智大学理工学部物質生命理工学科

○土戸優志 (Tsuchido Yuji), 堀内良介, 橋本 剛, 早下隆士

【緒言】近年、過剰に使用された抗生物質を環境中へ排出することで薬剤耐性菌が発生することが社会的な問題となっている。そのため、細菌種の簡易な判別法の開発は、医療現場での診断技術の向上、並びに水質汚染等の環境問題の改善に繋がることを期待される。現在の細菌検出法は培養法が主流であるが、環境中の細菌には培地上でのコロニー形成能が低く、培養法のみでは検出、計量し難いものが数多く存在することが明らかとなってきた。そこで、従来の生物学的手法とは異なる、迅速かつ簡便に検出を行える手法の開発が望まれている。我々はこれまでに、ジピコリルアミノ基を修飾したナノ粒子による細菌検出やボロン酸修飾デンドリマーによる単糖認識について報告してきた^{1,2}。本研究では、糖認識部位であるフェニルボロン酸に注目し、樹状高分子のポリアミドアミン (PAMAM) デンドリマーにフェニルボロン酸を修飾した多点認識型ナノ粒子センサーを設計し、細菌の菌種の迅速な簡易判別を目指した。

【実験と結果】糖認識機能を有するフェニルボロン酸を細菌認識部位として、PAMAM デンドリマーへ修飾した B-PAMAM を設計し、水溶液中、中性条件下での黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)、大腸菌(*E. coli*)との相互作用をそれぞれ濁度測定 (OD₆₀₀) により評価した。B-PAMAM 溶液と細菌溶液を数分混合すると、*E. coli*においては濁度の変化はほとんどみられず、*S. aureus*においてのみ急激に濁度が減少し、容易に肉眼で確認できる程の大きな細菌凝集体が形成され、数分静置すると沈殿してほぼ透明の溶液になった。これは、プローブが細菌表面の糖を多点認識することで細菌間を架橋、連結した結果と考えられる。B-PAMAM による凝集作用の違いは、*S. aureus*が分類されるグラム陽性菌、*E. coli*が分類されるグラム陰性菌の違いである細菌表面の膜構造に起因すると考えられ、B-PAMAM は細菌の膜構造の違いを認識している可能性が考えられ、現在その認識部位の解明を進めている。以上の結果から、細菌を含む溶液に対して B-PAMAM を添加・混合することで、目視または濁度測定によって細菌の菌種を迅速に簡易判別できることを明らかにした。

- 1) Y. Kasai, H. Kobayashi, Y. Tsuchido, T. Hashimoto, N. Kanzawa, T. Hayashita, *Chem. Lett.*, **2016**, 45, 749-751.
- 2) Y. Tsuchido, Y. Sakai, K. Aimu, T. Hashimoto, K. Akiyoshi, T. Hayashita, *New J. Chem.*, **2015**, 39, 2620-2626.

2C-13- I

変形体力学によるバルーンカテーテルの引張変形挙動の予測の試み

¹九州大学大学院総合理工学府, ²九州大学応用力学研究所, ³九州大学大学院医学研究院

○鎌田祥平¹ (Kamada Shohei), 東藤 貢², 吉屋圭史³, 古山 正³

【緒言】 動脈硬化が進んだ血管内において拘束されたバルーンカテーテル (以下 BC) の破損例が報告されている。したがって、カテーテルの変形・破壊特性を定性的および定量的に把握する必要があるが、そのような特性を詳細に評価した研究はほとんど行われていない。そこで本研究では、実際に臨床で用いられている 2 種のカテーテルの引張試験を行い、変形体力学を用いて接合部とシャフト部の荷重 - 変位挙動を予測する理論モデルの構築を試みた。

【実験】 臨床で用いられている 2 種類の BC を試験体として使用した。BC は内筒と外筒からなる 2 層構造を形成している。本研究では、強度的に弱いソルーンの根元を含む接合部と、それ以外のシャフト部に 2 分割し、それぞれ引張試験を行った。また、内筒と外筒の単独での試験も行い応力 - ひずみ関係を評価した。線図を得るために、カテーテルを内筒と外筒に分解し試験を行った。引張試験には小型卓上試験機を使用し、引張部分の長さ 30mm、負荷速度は 600mm/min と 100mm/min とした。変形体力学を用いて、BC 接合部とシャフト部の荷重 - 変位曲線、内筒と外筒の応力 - ひずみ曲線の予測を試みた。

【結果と考察】 2 種類の BC とともに、接合部では外筒が先に破断し、最終的に内筒が破断した。この場合の荷重 - 変位挙動は、内筒と外筒をそれぞれ 2 段階の線形弾塑性モデルで表し、これらを組み合わせた力学モデルで精度よく予測できることが分かった。一方、シャフト部においては、外筒が先に破断するものと内筒が先に破断するものに分かれた。外筒が先に破断するものについては、接合部と同様の力学モデルが一致した。しかし、内筒が先に破断するものについては、内筒の破断後も外筒から受ける圧縮力の影響で内外筒が一体化して変形を行うため、この現象を考慮した理論モデルの構築が必要であった。また低速で試験を行うと一度目の降伏点を過ぎた頃から屈曲する箇所が多く見られ、その現象が荷重 - 変位挙動にも反映された。内筒と外筒それぞれの応力 - ひずみ曲線は弾塑性の全ひずみ理論を用いて予測可能であった。現在、内外筒の応力 - ひずみ関係を表す理論モデルから、BC の荷重 - 変位関係を予測する力学モデルの構築を試みている。

2C-14- I

機能性蛋白質を封入した多孔質層状超薄膜の創製と押圧放出挙動

¹東海大学大学院工学研究科応用理化学専攻, ²東海大学医学部再生医療科学, ³東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター

○瀧本 駿¹ (Takimoto Shun), 住吉秀明², 稲垣 豊², 岡村陽介^{1,3}

【緒言】 生分解性高分子のポリ乳酸(PLLA)を超薄膜(膜厚 100 nm 以下)に加工すると、ナノ厚特有の高柔軟性と高接着性が発現し、物理吸着のみで臓器面に貼付し、縫合術の代替となることを実証している¹⁾。しかし、超薄膜単層ではナノ厚のため破断強度に限界がある。そのような背景の下、我々は、高接着性を維持したまま破断強度を向上させた層状超薄膜の開発に成功し、臓器用次世代絆創膏としての応用例を発信した²⁾。本研究では、層状超薄膜の更なる機能向上を目指し、層間に蛋白質を封入する技術を確立すると共に、貼付する際の押圧刺激によって封入蛋白質を迅速に放出する機構を付与した多孔質層状超薄膜を提案する。

【結果と考察】 モデル蛋白質として Fluorescein 5(6)-isothiocyanate 標識した BSA(FITC-BSA)を用いた。FITC-BSA を溶解させたアルギン酸ナトリウム(Na-Alg)/ポリビニルアルコール(PVA)水溶液と PLLA 溶液をシリコン(SiO₂)基板上に多層積層(5 回)させた。得られた SiO₂ 基板ごと CaCl₂ 水溶液に浸漬させ、Alg ゲル複合体を剥離・回収した。複合体を乾燥、ポリシーラーで全辺を加熱溶断(187°C)、クエン酸ナトリウム水溶液中での振とう操作を経て、Alg-Na/PVA 層を液状化させた。乾燥後、封入蛋白質が放出されるよう剣山を用いて物理的に貫通孔を付与し、最表面のみ均質な超薄膜で被覆したところ、液体が透過せずに水面に浮遊している様子が確認できた。得られた超薄膜を蛍光実体顕微鏡で観察したところ、剣山のパターン通りに貫通孔が付与されており、それ以外の領域は一面に蛍光標識されていた。従って、蛋白質が封入された多孔質層状超薄膜の調製に成功したと判断した。また、臓器界面を模倣したアガロースゲル(4%, 37°C)表面に貼付した後、分銅(500 g, 40 mm Φ)にて押圧したところ、超薄膜の貫通孔に相当する領域が局所的に蛍光を発し、それ以外の領域にも拡散していた。他方、貫通孔のない層状超薄膜では、その辺縁部からわずかに漏出したものの、多孔質体には匹敵しなかった。従って、押圧刺激によって迅速に封入蛋白質を放出する機構を実証した。

1) Okamura, Y. *et al. Adv. Mater.* **21**, 4388-4392 (2009). 2) Komachi, T. *et al. J. Biomed. Mater. Res. B* (2016) *in press*.

20-15-Ⅲ

バイオ界面制御により優れた接着性を示す外科用接着剤の創製

¹筑波大学大学院数理工学物質科学研究科, ²物質・材料研究機構機能性材料研究拠点

○水田 亮^{1,2} (Mizuta Ryo), 伊藤典明^{1,2}, 西口昭広², 田口哲志^{1,2}

【緒言】

外科用接着剤は、生体組織間吻合のため外科手術において頻繁に使用される。フィブリン接着剤は生体親和性に優れ、汎用性が高い一方で、十分なシーリング効果が得られていない。そのため、手術中の湿潤環境において生体組織・臓器に接着し、優れたシーリング効果を発揮する接着剤の開発が望まれている。我々はこれまでに疎水化ブタ由来ゼラチン接着剤による接合強度の改善を報告した。しかし、ブタ由来ゼラチンの低い流動性のため、臨床現場で事前に加温する煩雑な操作が必要であった。そこで本研究では、常温流動性に優れるタラ由来ゼラチン(ApGltN)にて疎水化ApGltN(Hm-ApGltN)を合成し、Hm-ApGltN とポリエチレングリコール系架橋剤から成る外科用接着剤の湿潤組織へのシーリング効果を評価した¹⁾。

【実験】

Hm-ApGltN の合成は、ApGltN のアミノ基の脂肪酸クロライド (C3~18) への求核置換反応により行った。合成した Hm-ApGltN と水溶性架橋剤である pentaerythritol poly(ethylene glycol) ether tetrasuccinimidyl glutarate(4S-PEG) を用いて外科用接着剤とした。耐圧試験は ASTM(F2392-04)に従い、ブタ大動脈に対する耐圧強度の測定を行った。

【結果と考察】

ApGltN の疎水化反応は、ブタゼラチンを用いた場合と同様に可能であった¹⁾。¹³C-NMR および FT-IR で分析した結果、アルキル基導入に伴うメチレンおよびメチルピークの増大が確認された。血管組織に対する耐圧強度は、いずれの Hm-ApGltN においても未修飾オリジナル ApGltN(Org-ApGltN)と比較して 1.05~2.06 倍以上の高い値を示した。さらに、アルキル鎖長の増加に伴って耐圧強度が向上した。耐圧強度試験後のシーラント-大動脈組織界面の観察を行うと、Org-ApGltN では広範囲な組織との破断が観られたのに対し、耐圧強度の高い C18-ApGltN では組織破壊が観測された。これらは疎水基を導入することにより、組織浸透性が向上し、シーラントと組織間の界面強度が増加したことに起因すると考えられた。

[1] Mizuta, R., Ito, T., Taguchi, T., *Colloids Surf., B* 2016, 146, 212-220.

20-16-Ⅰ

高分子ブラシと相互侵入高分子網目を組み合わせた生体親和性薄層ゲルの構築

¹ 富山大学大学院理工学教育部, ² 富山大学大学院理工学研究部, ³ 富山大学大学院生命融合科学教育部, ⁴ 高分子-水界面研究所, ⁵ 大阪有機化学工業

○加藤 響¹ (Kato Hibiki), 山澤由佳¹, 中路 正^{1,2,3}, 北野博巳⁴, 猿渡欣幸⁵

【緒言】

生体親和性付与のための表面修飾法として、ポリマーブラシ構築やポリマーコーティング等数多く報告されている。それらの表面は、生体環境を乱さず共存できる優れた界面特性を有していることが *in vitro* では証明されているが、様々なバイアス (圧縮・ずり応力) が加わる環境下では、その界面特性が損なわれることが懸念される。そこで本研究では、高分子ブラシと相互侵入高分子網目 (semi-IPN) の融合という新しい発想により、薄層ゲルの創製とその最適化を検討した。

【実験】

表面開始ラジカル重合を用いて構築した、Poly(methoxy diethyleneglycol methacrylate-2-hydroxyethyl methacrylate) (P(MDM-HEMA)) ブラシに、Hexamethylene diisocyanate (HDI) を用いてブラシ間を架橋した。さらに、フリーラジカル重合により、架橋ブラシ中に種々の高分子を重合することで semi-IPN 表面を構築した。作製した薄層ゲル表面の特性解析、およびタンパク質・細胞との相互作用の評価を行った。

【結果と考察】

表面電位測定により、電荷を有さない P(MDM-HEMA) ブラシ構築後の電位は 0 に近い値となったことから、P(MDM-HEMA) ブラシの構築が示された。さらに、正または負の電荷を有する高分子を導入した表面では、各導入高分子が有する電荷に依存して表面電位が変化した。この結果より、架橋ブラシ内への高分子鎖の侵入が推察された。次に、タンパク質吸着を評価したところ、P(MDM-HEMA) ブラシ表面における、タンパク質の吸着量が比較的低かったのに対し、高分子を導入することで、タンパク質吸着量が変化した。加えて、細胞接着については、P(MDM-HEMA) ブラシ表面では細胞接着の抑制効果が見られたのに対し、高分子を導入した表面ではタンパク質吸着の時と同様に、細胞の接着数が増加した。以上の結果より、架橋ブラシ内への高分子鎖の導入が認められ、薄層ゲルを創製できたことがわかった。

2C-17- I

エラスチン類似ポリペプチドの配列設計による自己集合性の制御とハイドロゲルの形成

¹名古屋大学大学院工学研究科, ²名古屋大学ベンチャー・ビジネス・ラボラトリー

○鳴瀧彩絵¹ (Narutaki-Sugawara Ayae), 安永佐和子¹, 奈良俊佑¹, 中嶋優友¹, Duc H. T. Le^{1,2}, 中村 仁¹, 大槻主税¹

【緒言】エラスチン類似ポリペプチドは、生体エラスチンの特色である弾性や自己集合性を再現できる機能性高分子であり、細胞培養足場や薬剤キャリアとしての応用が期待されている。なかでも、生体エラスチンのアミノ酸配列に頻出する2種類のモチーフを連結したブロックポリペプチド GPG は、(VGGVG)₅-(VPGXG)₂₅-(VGGVG)₅ のアミノ酸配列を基本骨格に持ち、37℃ の水中で自己集合してナノファイバーを形成する¹⁾。GPG の末端へ機能性配列を付加することにより、ナノファイバーに抗菌性や細胞接着性を付与することもできる²⁾。本演題では、GPG の中央ブロック鎖長が自己集合性に与える影響について議論するとともに、GPG 類を用いたハイドロゲルの形成について報告する。

【実験】GPG の中央ブロックを2回繰り返した (VGGVG)₅-(VPGXG)₂₅-(VPGXG)₂₅-(VGGVG)₅ の骨格を持つ GPPG のプラスミド DNA を作製し、これを用いて大腸菌 BLR 株を形質転換した。GPPG ポリペプチドを発現させ、金属アフィニティークロマトグラフィーにより精製した。GPG と GPPG をそれぞれ 20 μM (GPG: 0.034 wt%, GPPG: 0.055 wt%) の濃度で冷水に溶解させたのち 37℃ に昇温した。ポリペプチド二次構造の変化を円二色 (CD) 分散計を用いて調べた。また、37℃ で1週間静置したサンプルをマイカ基板に滴下し、原子間力顕微鏡 (AFM) で観察した。さらに、ポリペプチド濃度を 0.2 wt% として 37℃ に昇温し、溶液の外観の変化を目視により観察した。

【結果と考察】CD スペクトル測定より、GPG と GPPG の両方において、37℃ で β-sheet 構造の割合が経時的に増加することが示された。一方、AFM では、GPG において太さ 40 nm 程度のナノファイバーが、GPPG において直径 30 nm 程度のナノ粒子と、ナノ粒子の凝集体が観察された。GPPG では、中央ブロック鎖長の増加によりコンフォメーションの自由度が増し、より等方的な自己集合構造であるナノ粒子を形成したと考えられる。ポリペプチド濃度を 0.2 wt% に増加させた場合、GPG を含む水溶液は 37℃ で流動性を失いハイドロゲルを形成した。一方、GPPG を含む水溶液からは沈殿を生じた。GPG はより高濃度において、ナノファイバーの絡み合いによりゲルを形成したと考えられる。

1) D. H. T. Le *et al.*, *J. Biomed. Mater. Res. A*, in press (10.1002/jbm.a.36105).

2C-18- I

医療材料への応用を目的とした形状記憶ナノファイバーメッシュの設計と温度応答特性

¹東京理科大学大学院基礎工学研究科, ²物質・材料研究機構国際ナノアーキテクニクス研究拠点, ³筑波大学大学院数理物質科学研究科

○田辺貫太^{1,2} (Tanabe Kanta), 新山瑛理^{2,3}, 宇都甲一郎², 菊池明彦¹, 荏原充宏^{1,2,3}

【緒言】形状記憶ポリマー (Shape Memory Polymers: SMPs) は外部から力を加えて変形させた後、冷却することでその形が維持され、再度加熱すると自発的に元の形に戻る性質を備えたスマート高分子材料である。本研究室ではこれまでに生分解性のポリ(ε-カプロラクトン) (PCL) を用いてさまざまな医療材料 SMPs の開発を行ってきた。その際、PCL の分子構造を制御することで形状記憶温度を生体温度付近に制御することに成功してきた。本研究では、形状記憶特性をもたせる材料として、比表面積の大きいファイバーを選択した。さらに、この PCL を用いて物理架橋を有する新たな形状記憶ナノファイバーを開発し、抗がん剤を内包させることで生体材料への応用を目指した。

【実験】まず、開始剤に 1,4-ブタンジオール (BDO) を用いて両末端に水酸基を有する PCL を重合し、ジイソシアネートと反応させることでポリウレタンを合成した。さらに、鎖延長剤として BDO と反応させることで直鎖状のポリウレタンを合成した。ウレタン結合はウレタン基同士が水素結合により凝集することで、物理架橋点の役目を果たすハードセグメント (HS) を形成した。最後に、電界紡糸法により形状記憶ナノファイバーメッシュを作製した。

【結果と考察】¹H-NMR により PCL の重合を確認し、ATR-FTIR により合成したポリウレタンのウレタン結合を確認した。さらに、SEM を用いて直径が約 650nm のナノファイバーが作製できていることを確認した。さらに、HS の仕込み比を変化させたナノファイバーメッシュを作製したところ、HS の量が増加すると PCL の融点以上でもナノファイバーメッシュの形状が保たれたことより、物理架橋密度も上昇することがわかり、結果としてナノファイバーメッシュの熱安定性の向上を確認した。さらに、形状記憶特性を評価したところ、60℃において一方向にナノファイバーメッシュを伸長させた後、室温まで下げると、その構造に固定することに成功した。再度熱を加えることで、初期のナノファイバーメッシュの構造に変化した。ナノファイバーの構造変化は SEM を用いて観察した。本発表では、より詳細な形状記憶特性に加え、ナノファイバーに抗がん剤を内包させ、薬物徐放やがん細胞に与える影響を報告する予定である。

2C-19- I

バイオマスナノファイバー融合素材の骨補填材料への応用

¹ 富山大学大学院理工学教育部, ² 富山大学大学院理工学研究部, ³ 富山大学大学院生命融合科学教育部, ⁴ 富山大学水素同位体科学研究センター, ⁵ 北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス系

○増山一平¹ (Masuyama Kazuhira), 中路 正^{1,2,3}, 田口 明⁴, 松村和明⁵

【緒言】

骨の欠損治療では、インプラントや人工骨などの移植が挙げられるが、移植後の細菌感染や、材料の摩耗など種々の課題が残されている。従来から自家骨移植が行われているが、採骨部の変形などの合併症も問題視されている。このような問題を解決するため、骨の無機質主成分であるヒドロキシアパタイト (HAp) をベースとする骨補填材料開発が進められている。これまで当研究室では、チタン合金表面に正負両電荷を有する高分子を被覆することで、タンパク質成分をほとんど含まない強固で安定な HAp 層を形成させることに成功した (*Colloids Surf. B*, 152, 302-10 (2017))。そこで本研究では、電荷中和された生体物質吸着抑制能を有するナノファイバー (NF) 材料 (*Colloids Surf. B*, 139, 95-99 (2016)) においても強固で安定な HAp 層の形成が可能ではないかと考え、骨補填材料への応用を見据えた種々の特性評価を実施した。

【実験】

負電荷型のカルボキシメチルセルロースナノファイバー (CMC NF) および正電荷型のキトサンナノファイバー (Ch NF) の分散液を混合し製膜することでシート状材料を得た。そのシート表面に HAp 沈着を施し、HAp 被覆天然高分子ナノファイバーコンポジットを作製した。この素材の特性を明らかにするために化学的・物性的な各種評価を行った。

【結果と考察】

シート表面を SEM により観察した結果、HAp のミネラル核が形成されていることが分かった。また、シートへのカルシウム沈着量は、これまでに報告されている HAp 表面被覆の結果に比べ多く、負荷を与えても剥離しないことがわかった。さらに、XRD、XPS および ^{13}C ・ ^{31}P NMR より、NF 上の正負両電荷に対して、静電的相互作用により HAp が沈着し、層形成が促進されていると推察される結果を得た。以上のことから、電荷中和された NF 材料へ強固で安定な HAp 層を形成させることができると判断され、本材料が骨補填材料に応用できる可能性が示された。

2C-20- II

コラーゲンのゲル紡糸：線維配向と直径制御を可能にする連続紡糸技術

¹ 東京都立産業技術研究センター, ² 北海道大学大学院医学研究科, ³ 八木整形外科病院, ⁴ 北海道大学国際連携研究教育局

○柚木俊二¹ (Yunoki Shunji), 海老澤瑞枝¹, 畑山博哉¹, 近藤英司², 安田和則^{3,4}

【緒言】

線維配向したコラーゲンファイバー (CF) には人工腱 (束化)、人工靱帯・膜強化 (織物) など多彩な応用が期待される。発表者らは先行する研究[Yunoki et al. JBMR-A. 2015;103:3054]で、配向コラーゲン線維束を立体的なゲルとして作製するための要件および配向化原理を明らかにした。数 10 s 以内で完了する急速な線維化が必須で、線維形成過程での剪断力 (剪断速度 $1\sim 10\text{ s}^{-1}$) がテンションを与え線維配向させる原理であった。本研究では、この知見を連続紡糸技術として発展させた。

【実験】

医療用コラーゲン水溶液 (濃度 1%, 日本ハム製) を濃縮し、リン酸緩衝液を溶媒としたコラーゲン濃度 2.5% かつ NaCl 濃度 280 mM の中性ゾルを調製した。シリンジにゾルを充填し、先端にステンレス管を取り付けたシリコーンゴムチューブを接続した。水浴で 38°C に加温したリン酸ナトリウム緩衝液にステンレス管部のみ浸漬した状態で、シリンジポンプを用いてゾルを一定速度 ($2.83\sim 56.5\text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$) で吐出した。得られたゲルの線維配向を二次元複屈折測定および SEM により評価した。

【結果と考察】

高濃度 NaCl により急速な線維化を示すコラーゲンゾルは、先行研究から予想された通りステンレス管でゲル化を終え、ゲル状の CF が連続的に吐出された。線維配向性は剪断速度とともに増加し、剪断速度が $5\sim 10\text{ s}^{-1}$ (計算上の吐出線速度 $0.56\sim 1.1\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$) でほぼ飽和した。ゲル状の CF の内部を SEM 観察し、ファイバー軸方向に配向したコラーゲン線維から成ることを認めた。ステンレス管長 (すなわち剪断付与時間) に関しては、ゲル化の完了と同時に吐出させる長さが最適であり、剪断速度 5 s^{-1} における最適管長はわずか 26.3 mm であった。内径の異なるステンレス管 (内径 0.90 mm および 2.84 mm) を用いても同一の剪断条件でゲル状 CF を作製することができ、乾燥により作製される CF の断面積 ($1.23\times 10^{-2}\sim 0.135\text{ mm}^2$) はステンレス管の断面積に比例した。以上の結果から、内部が線維配向した CF を連続成型でき、断面積が制御可能であり、線維化能の低い医療用コラーゲンにも応用できる簡易な紡糸技術“ゲル紡糸”を開発したと結論した。

20-21-Ⅱ

メディカルデバイスにおけるモールドイング製法の与える高分子構造への影響

¹(株)メニコン, ²名古屋工業大学大学院工学研究科, ³名古屋工業大学材料フロンティア研究所

○伊藤恵利^{1,2} (Ito Eri), 佐竹好輝², 山本勝宏^{2,3}

【緒言】

メディカルデバイスの中でも、汎用性が高く、広く使用される製品の一つにコンタクトレンズがある。現在コンタクトレンズは、シリコーンハイドロゲルという両親媒性物質が素材の主流となっている。また、その大量供給の希求に基づき、ほとんどがモールド製法によって製造される。樹脂材料の汎用製法の一つであるモールド製法であるが、コンタクトレンズの製造においては、両親媒性物質を、レンズに使用可能な要件である透明性を維持した状態で、重合・成型を完結しなければならないという制約事項がある。

また、このモールド製法においては、レンズ重合・成形時に溶媒を使用するウエットモールドと、溶媒を使用しないドライモールドとに大別できる。これらの製法は、高分子科学でいうところの、溶液重合と塊状重合にあたる。これら重合法の差異が、共重合反応及び得られるポリマー構造に与える影響を解明した。

【実験】

実験には、赤外光度分光・核磁気共鳴・小角X線散乱等を使用した。モデルシリコーンハイドロゲル素材の共重合挙動を時間分割分析するため、原料と開始剤を混合した試験液を準備し、しかるべき重合エネルギーを与えた環境下、高分子形成過程を観察した。また、別途、得られた重合体構造を観察した。

【結果と考察】

ウエットモールドとドライモールドの比較から、重合溶媒がレンズ素材の共重合反応に与える影響を解明し、重合溶媒を用いない場合、共重合体が白濁した状態で得られる原因、並びに、同一系において重合溶媒を使用することで、得られる共重合体が透明性を維持できる機序を解明するなど、得られる高分子構造に関する検証を行った。

20-22-Ⅱ

メディカルデバイスにおけるモールドイング製法の与える高分子機能への影響

¹(株)メニコン, ²名古屋工業大学大学院工学研究科, ³名古屋工業大学材料フロンティア研究所

○伊藤恵利^{1,2} (Ito Eri), 丸山広美¹, 佐竹好輝², 山本勝宏^{2,3}

【緒言】

メディカルデバイスの中でも、汎用性が高く、広く使用される製品の一つにコンタクトレンズがある。現在コンタクトレンズは、シリコーンハイドロゲルという両親媒性物質が素材の主流となっている。また、その大量供給の希求に基づき、ほとんどがモールド製法によって製造される。樹脂材料の汎用製法の一つであるモールド製法であるが、コンタクトレンズの製造においては、両親媒性物質を、レンズに使用可能な要件である透明性を維持した状態で、重合・成型を完結しなければならないという制約事項がある。

また、このモールド製法においては、レンズ重合・成形時に溶媒を使用するウエットモールドと、溶媒を使用しないドライモールドとに大別できる。これらの製法は、高分子科学でいうところの、溶液重合と塊状重合にあたる。これら重合法の差異、特に重合時に加える溶媒の有無やその添加量が、得られる重合体、すなわちレンズ素材の性質、特に機能や物性値に与える影響を解明した。

【実験】

実験には、示差走査熱量計・X線光電子分光器等、その他レンズ素材の物性評価用機器を使用した。モデルシリコーンハイドロゲル素材に対し、重合反応時に重合溶媒を使用する・しない、更には使用する場合の添加量を変化させてレンズ素材をモールド製法により作製した。得られたレンズ素材に関し、素材のガラス転移点・残留成分・共重合組成等の機能評価、含水率・酸素透過性・柔軟性・脂質親和性等の物性評価を実施し、また、別途、得られた重合体特性を検証した。

【結果と考察】

ウエットモールドとドライモールドの比較から、重合溶媒がレンズ素材の機能並びに物性値に与える影響を検証し、モールド製法がレンズ素材にもたらす差異を総合的に検証した。

2D-01- II

NH₄Cl 刺激による上皮細胞シート基底部の過渡的 pH 変化を指標とした密着結合の評価

東京医科歯科大学生体材料工学研究所

○合田達郎 (Goda Tatsuro), 波多野豊晃, 松元 亮, 宮原裕二

【緒言】

上皮細胞間密着結合 (Tight Junction: TJ) は、クローディンを中心としたタンパク質からなり、大腸菌・ウイルス等の侵入を防ぐバリア機能と、養分・イオンの選択的物質透過機能を有する。TJ 異常は、免疫障害、炎症、潰瘍等の原因となる。従来の *in vitro* 評価法として、上皮細胞シートのインピーダンス (Trans-Epithelial Electric Resistance: TEER) 測定と、低分子マーカーの透過率測定がある。しかし、TEER 測定では上皮細胞シート全体の变化を測定するため、TJ のインピーダンス成分を帰属することが困難である。一方、低分子マーカーの透過率測定は静的な測定であり、TJ の経時変化測定が困難である。本研究では、NH₄⁺と H⁺の TJ 透過を指標とした NH₄Cl 刺激によるアクティブ型 pH 計測法を新たに開発し、従来法では困難であった TJ の崩壊過程を非侵襲かつ高感度に測定する方法を開発した。

【実験】

イヌ腎臓由来上皮細胞 (MDCK) を pH センサであるイオン応答性電界効果トランジスタのゲート絶縁膜上に播種し、72 時間培養後、TEER より TJ 形成を確認した。上皮細胞シートの基底部側の pH 変化を電位計測法 (59.1 mV/pH) にて求めた。次に、Ca²⁺キレート剤 EGTA を用いて TJ を崩壊させ、その間、NH₄Cl 刺激時の pH 応答を測定した。TJ 非形成条件 (MDCK24 時間培養) や TJ 非形成細胞 (HepG2, HeLa, NIH/3T3) においても同様の測定を行った。

【結果と考察】

上皮細胞シートに EGTA 添加した後、18 分間にわたって pH 変動量 (Δ pH) が +70% 変化した。これは、TJ 崩壊に伴って NH₄⁺と H⁺の paracellular 経路での透過性が向上したこと由来し、シミュレーション結果とも合致した。一方、TJ 非形成条件では、EGTA 添加後に Δ pH は最大で -20% 変化した。以前の結果より、細胞膜崩壊時は Δ pH が減少することが判明しており、TJ の崩壊と細胞膜の崩壊は Δ pH が逆方向に変動するため容易に区別できる。TEER 測定では、EGTA の添加により、TJ 形成/非形成条件に関わらず 10 kHz におけるインピーダンス値は最大で -57% 変化した。

2D-02- I

医療診断への応用を目指した色素結合微粒子の創製と標的分子に対する応答挙動

¹関西大化学生命工, ²関西大 ORDIST

○菅原淳弘¹ (Sugahara Atsuhiko), 河村暁文^{1,2}, 宮田隆志^{1,2}

【緒言】生体内では、細菌やウイルスなどの抗原が侵入するとそれに応じた抗体が生成され、抗原と抗体の特異的な反応により感染症から身を守っている。免疫検査は、この抗原抗体反応を利用して感染症の診断や治療効果を判定できる。その中でも、高分子微粒子を用いたラテックス凝集法では、表面に抗体を固定化した高分子微粒子が標的抗原に応答して凝集することを利用して、特定の疾患が診断される。しかし、疾患の診断は数種の生体分子の組み合わせにより行うため、より簡便かつ少量の検体で複数の生体分子を検出する必要がある。そこで本研究では、検体中の複数の標的分子を視覚的に検出可能な診断材料の創製を目的として、標的分子に対するリガンドを導入した色素結合微粒子の調製を試みた。また、この色素結合微粒子の標的分子に応答した凝集沈殿挙動について検討した。

【実験】重合性基を有する染料の RDW (赤、緑、青:和光ケミカル社製) と 2-(2-ethoxyethoxy)ethyl acrylate, ethylene glycol dimethacrylate とを、超音波照射により超純水に分散させた。この分散液に側鎖グルコース含有モノマーの 2-glucosyloxyethyl methacrylate (GEMA) と ammonium persulfate とを加え、アルゴン雰囲気下、70 °C で 4 時間ソープフリー乳化重合し、3 色の GEMA 導入色素結合微粒子を調製した。また、GEMA 導入色素結合微粒子分散液に、グルコースと特異的に複合体を形成する concanavalin A (ConA) を添加し、粒子の凝集沈殿挙動を評価した。

【結果と考察】GEMA を導入した粒子と導入していない粒子の分散液に ConA を添加すると、GEMA を導入していない粒子は均一に分散した状態であったのに対して、GEMA を導入した粒子は沈殿が生じた。これは、GEMA と ConA とが複合体を形成することにより粒子間に結合が生じ、凝集が引き起こされたためと考えられる。さらに、GEMA を導入した粒子と、導入していない異色の粒子を混合した分散液に ConA を添加したところ、GEMA を導入した粒子のみが沈降し、粒子分散液と沈殿との間に色彩の変化が生じた。以上の結果から、本研究で用いたリガンド導入色素結合微粒子は、標的分子の存在を可視化できる医療診断材料としての応用が期待できる。

2D-03-Ⅱ

細胞外ベシクルの高感度検出のための表面機能化自律駆動マイクロチップの作製

¹東京理科大学基礎工学部材料工学科, ²東京理科大学基礎工学部生物工学科, ³理化学研究所前田バイオ工学研究室
○石原 量¹ (Ishihara Ryo), 中島忠章², 片桐明日香¹, 細川和生³, 前田瑞夫³, 友岡康弘², 菊池明彦¹

【緒言】

細胞外ベシクル(EV)とは、細胞が分泌する脂質二重膜からなるベシクルであり、これまでに、がん(S.A. Melo *et al.*, 2015)やC型肝炎(M. Kornek *et al.*, 2012)などのバイオマーカーとしての可能性が報告されている。EVの分離、精製、分析手法は未確立であり、報告されている手法は概して多くの必要試料体積、長い検出時間を必要とする。そこで本研究では、少ない必要試料体積、短い検出時間を特長とする自律駆動マイクロ流体チップ(以後、マイクロチップ)を機能化したマイクロチップ(SF-PF microchip)を作製し、検出プロトコルを最適化することによってEVの簡易高感度検出をめざした。

【実験】

ポリジメチルシロキサン製のマイクロチップのマイクロ流路内表面に開始剤である benzophenone を担持し、洗浄後、流路を種々の濃度の 2-aminoethyl methacrylate (AEMA)モノマーで満たし、UV 光 (365 nm, 100W)を 10 分照射することによりマイクロ流路内に PAEMA 鎖を付与した。次に、PAEMA に縮合反応によって抗ヒト CD63 抗体を固定し、洗浄、脱気を経て、EV 検出用の SF-PF microchip を作製した。流路内表面への抗 CD63 抗体の固定は蛍光標識二次抗体の吸着により確認した。作製したマイクロチップに層流樹状増幅法(LFDA)適用して、乳がん細胞株 (MCF7)由来の EV を検出した。

【結果と考察】

抗 CD63 抗体の固定量は、はじめ AEMA 濃度の増加と共に上昇し、その後減少した。これは AEMA 濃度が増加するにつれて、流路表面に抗体と結合するアミノ基が増える一方で、あまり濃度が高くなると PAEMA 鎖が密になり抗体の固定スペースが減少するからである。EV 検出に関して、EV 捕捉部分を一部狭窄させた流路の利用および、LFDA における EV 捕捉ステップを長くすることで検出感度が向上した。これは、EV 捕捉界面への EV 接触回数が向上したからである。本検出に用いたサンプル量は 1.0 μL 、測定時間は 20 分以内であったことから、SF-PF microchip を用いて、EV を簡便かつ高感度に検出できることを実証できた。

2D-04-Ⅱ

炎症マーカーの非標識検出と選択除去を可能にする双性イオン型磁性粒子の調製

¹関西大学大学院理工学研究科, ²関西大学化学生命工学部, ³関西大学 ORDIST

○岩崎紗奈¹ (Iwasaki Sana), 川崎英也^{2,3}, 岩崎泰彦^{2,3}

【緒言】C 反応性タンパク質(CRP)は体内の炎症などに応答して産生され、炎症の程度に伴い血中濃度が急激に上昇する。このため、炎症マーカーとして医療現場で測定されている。近年、CRP の低濃度の増加と心筋梗塞など慢性炎症の関連が明らかにされ、低濃度の CRP を高感度に検出する方法が求められている¹⁾。また、CRP が動脈硬化や血管内皮機能の低下を引き起こすことも指摘されており、血中の CRP を除去する方法も必要となる²⁾。本研究では、CRP がホスホリルコリン(PC)基と Ca^{2+} 存在下で結合することから、PC 基を持ちタンパク質との非特異的吸着を抑制するポリ(2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン)(PMPC)を修飾した磁性粒子を用い非標識での CRP の高感度な検出と選択的除去を試みた。

【実験】水熱合成法で作成した Fe_3O_4 ナノ粒子の表面に原始移動ラジカル重合(ATRP)法により、PMPC を修飾し、PMPC- Fe_3O_4 を得た。得られたPMPC- Fe_3O_4 と所定濃度のCRPを緩衝液中で1時間接触させた。その後、動的光散乱(DLS)によりPMPC- Fe_3O_4 の粒径を測定した。CRPの除去では緩衝液中でPMPC- Fe_3O_4 とCRPを2時間接触後、遠心分離によってPMPC- Fe_3O_4 を除き、PMPC- Fe_3O_4 と接触前後の溶液中のタンパク質濃度をELISA法によって測定した。

【結果と考察】検出では緩衝液中でCRPとPMPC- Fe_3O_4 を接触させたところ、CRPの濃度が20 nM以上でPMPC- Fe_3O_4 の粒径とCRPの濃度に正の相関が認められた。さらに、CRPと接触させたPMPC- Fe_3O_4 を磁石で集め、再分散させたところCRPの濃度が10 nM以上からPMPC- Fe_3O_4 の粒径変化が現れた。これは磁石によってCRPとPMPC- Fe_3O_4 の凝集が促進されたためであり、磁性粒子を用いることにより低濃度のCRPを非標識検出できることがわかった。一方、PMPC- Fe_3O_4 をアルブミンとCRPを含む緩衝液中で2時間接触させ、各タンパク質の濃度を測定したところ、CRPの濃度のみが接触前に比べ有意に低下(13 $\rightarrow$ 0.2 nM)し、アルブミンの濃度は変化しなかった。すなわち、系内からCRPを高選択的に除去するためにPMPC- Fe_3O_4 を利用できることも明らかにした。CRPとPMPC- Fe_3O_4 の結合には Ca^{2+} が必須であり、EDTAを作用させることで、PMPC- Fe_3O_4 を再生できた。

【参考文献】1) P. M. Ridker *et al.*, *Circulation*, **2001**, 103, 1813. 2) H. Sun *et al.*, *Am. J. Pathol.*, **2005**, 167, 1139.

2D-05- I

リガンド結合ドメインと形状識別能による構造類似性タンパク質認識ナノ空間の創製

神戸大学大学院工学研究科

○香門悠里 (Kamon Yuri), 竹内俊文

【緒言】構造が類似し、共通のリガンド結合ドメイン(LBD)を有するタンパク質の識別には誤認識の生じにくい分子認識ナノ空間の構築が求められる。特定のアミノ酸残基からなる LBD に特異的に結合するリガンド分子は、LBD をもつタンパク質の認識素子として期待される。一方、分子インプリンティング(MI)は、標的タンパク質の形状およびサイズに適した分子認識ナノ空間を高分子材料内に構築可能であることから、タンパク質認識能をもつ機能性高分子材料の創製法としての期待が高まっている[1]。本研究では、ヘパリン結合ドメイン(HBD)をもつ血管内皮細胞増殖因子(VEGF)に着目し、中でも構造類似性の高い VEGF165 と VEGF189(配列相同性 87%)を識別可能な VEGF アイソフォーム識別ナノ空間を HBD に対する特異リガンドを用いた MI 法により構築することを目指した。

【実験】本研究では VEGF165 を標的 VEGF とし、ヘパリンと重合開始剤を修飾した金蒸着ガラス基板にリガンドタンパク質相互作用によって VEGF165 を固定化した。基板に固定化した VEGF165 に対してメタクリル酸を相互作用させて親水性モノマーと架橋剤を加えて表面開始原子移動ラジカル重合を行った。得られた高分子ナノ薄膜から VEGF165 を除去することで、ヘパリンとメタクリル酸由来のカルボキシル基をもつ VEGF165 の分子インプリントポリマー(MIP)ナノ薄膜を得た。対照としてヘパリン固定化基板、重合時にメタクリル酸を添加せずに重合した MIP without MAA 薄膜も作製した。得られた基板の VEGF165 結合能を表面プラズモン共鳴(SPR)測定により評価した。

【結果と考察】SPR 測定から、標的である VEGF165 の MIP 薄膜に対する結合親和性(解離定数 3.4 nM)は、MIP without MAA 薄膜やヘパリン固定化基板に比べて 10 倍高いことが分かった。さらに、MIP は VEGF189 に比べて標的 VEGF165 をより選択的に結合可能であり VEGF アイソフォーム結合選択性が見られたが、MIP without MAA 薄およびヘパリン固定化基板では VEGF189 と 165 を有意に識別できなかった。以上の結果は、ヘパリンによる HBD の認識に加えて MI 法による形状識別能を付与した VEGF ナノ空間がアイソフォーム識別に有効であることを示している。

[1] R. Horikawa et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 13023-13027.

2D-06- I

側鎖導入間隔を拡大した新規 PMEА 類似体の合成と抗血栓性の変化

¹九州大学大学院工学府物質創造工学専攻, ²九州大学先端物質化学研究所, ³山形大学有機材料システム研究推進本部
○園田敏貴¹ (Sonoda Toshiki), 小林慎吾², 田中 賢^{2,3}

【緒言】Poly(2-methoxyethyl acrylate) (PMEA) は優れた抗血栓性を有し、人工心肺などのコーティング材として用いられている。我々はこれまで、PMEA が抗血栓性を発現する具体的なメカニズムの解明を目指した研究を進めてきており、抗血栓性を発現する材料に共通して観測される”中間水”が抗血栓性発現において重要な役割を果たしていることを報告してきた。中間水は、示差走査熱量計 (DSC) 測定や赤外分光分析、固体 NMR 測定において観測されており、高分子と相互作用する水の中で中程度の分子運動性を有する水であることがわかっている。本研究では、PMEA の側鎖導入間隔を変更した新規 PMEА 類似体を合成・解析することにより、側鎖導入間隔の変更が水和構造と抗血栓性に与える影響を評価した。

【実験】側鎖導入間隔を 4, 5, 7, 8 炭素とした新規 PMEА 類似体の合成・解析を行った。側鎖導入間隔の制御は、regio 選択的開環メタセシス重合 (ROMP) により行った。まず、それぞれの側鎖導入間隔に対応した環状オレフィンモノマーを合成し、ROMP によりポリマーを合成し、残存した主鎖二重結合を水素添加反応により還元することで合成した。得られた類似体について DSC 測定による水和構造解析、接触角測定による表面親水性の変化、タンパク質吸着試験と血小板粘着試験による抗血栓性評価を行った。

【結果と考察】得られた新規 PMEА 類似体について NMR や GPC による解析を行い、側鎖導入間隔が制御された目的的高分子が合成できたことを確認した。側鎖導入間隔を 5 炭素とした類似体は PMEА と比較して中間水が著しく増加しており、優れた抗血栓性を示した。このことから、中間水の発現に適した側鎖導入間隔が存在する可能性が示された。側鎖導入間隔を拡大した類似体は、血液と接触した際に表面に吸着するタンパク質の量が非常に多いことが明らかとなった。このことから、側鎖導入間隔を制御することで、PMEA の抗血栓性を保持しながら、かつ細胞の足場となる吸着タンパク質の量を変化させることができ、抗血栓性と細胞接着性の両立を達成することができる可能性が示された。側鎖導入間隔の変更による抗血栓性の変化を考察するために、表面の解析を行った結果、表面親水性が空気界面と水界面とで大きく変化し、変化に要する時間も変化することが明らかとなり、側鎖導入間隔の変更が表面物性に大きな影響を与えることが示唆された。

2D-07- I

ポリマー濃縮層が提供する動的界面による血小板接着抑制の効果

京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科

○青木隆史 (Aoki Takashi), 野神寛太

【緒言】 2-Methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) polymer や poly(2-methoxyethyl acrylate) (PMEA)は、優れた生体適合性を示し、また、polyethylene glycol や poly(2-hydroxyethyl methacrylate) などの親水性ポリマーのブラシ型表面においても、血液成分に対する著しい repelling 効果が報告されている。これらの全てのポリマーは水和力を持ち、その一方でポリマー鎖が高濃度に界面に存在するという共通点がある。われわれは、水溶性ポリマーの中で、水和力を保持しながらも、ポリマー鎖間に疎水性凝集を生起し、液-液相分離状態となるポリマー濃縮層（コアセルベート）に着目している。この固体沈殿ではない液-液相分離状態が、血液成分との相互作用を弱める役割を果たしていると考え、血小板の接着挙動について検討してきた。ポリマー濃縮層を形成するポリマーとして、汎用性の2種類のモノマー、*N,N*-dimethylacrylamide (DMAAm)と *n*-butyl methacrylate (BMA) とからなる共重合体(PDB)を合成し、血小板接着の抑制効果について議論する。

【実験】 共重合体中の BMA 組成が 8 から 88 mol% の PDB 共重合体をフリーラジカル重合で合成した。PET 基板に PDB 共重合体を化学修飾した。37 °C に保温した水中で気泡と基板とのなす角度から、修飾基板表面の接触角を求めた。成人男性の血液より調製した多血小板血漿 (PRP) をポリマー修飾基板に添加し、37 °C で 30 分間静置後、血小板の接着数と形態変化を走査型電子顕微鏡 (SEM) より観察した。

【結果と考察】 BMA 組成が 34 mol%以上の PDB は水に不溶であり、PDB-8 と 17 は、それぞれ 53 と 20 °C で液-液相分離状態となった。PET 基板に化学修飾した PDB 共重合体の親疎水性度を、37 °C の水中での気泡と基板とのなす角度から評価した。PDB-17 修飾基板表面は、水に不溶の PDB-34 や 68 の基板表面とほぼ同じ接触角を示した。PDB-17 が 37 °C でポリマー濃縮層を形成し、その表面が疎水性を示したと考えられる。しかし、血小板の接着数を SEM から計測すると、PDB-17 修飾基板上で血小板の接着数がかつとも低い値を示した。ポリマー濃縮層を形成して、水和状態を維持したポリマーが高濃度に集合した動的界面を作り、これが PRP と相分離し、血小板の接着を抑制したと考えられる。

2D-08- I

Effects of phosphorylcholine-based polymer coating thickness on silicones

¹ 東京大学工学系研究科, ² 東京大学大学院医学系研究科

○葉 シュイン¹ (Yeh Shuyun), 肥後圭哉², 原伸太郎², 磯山 隆², 阿部裕輔², 久代京一郎¹, 高井まどか¹

【緒言】 Silicones-based biomaterials induce blood clotting, and typical surface treatments only last for a limited time on silicone surfaces due to hydrophobic recovery. However, the newly developed crosslinking-type polymer composed of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC), 3-(methacryloyloxy) propyltris (trimethylsiloxy) silane (MPTSSi), and 3-methacryloxypropyl-trimethoxysilane (MPTMSi) could stably coat silicone (Sylgard 184) for up to 12 weeks. In this study, silicone tubes used for artificial blood vessels (KE1310ST) were modified by this crosslinking-type MPC copolymer (cross-MPC), and evaluated through *in vivo* and *in vitro* experiments.

【実験】 Cross-MPC coating was applied to KE1310ST artificial blood vessel treated by oxygen plasma for 2 mins and coated by 0.1 wt% polymer solution, and implanted into a goat. To compare the effect of cross-MPC coatings with different thicknesses, Sylgard 184 and KE1310ST silicone substrates were treated by oxygen plasma for 2 or 20 mins and coated by 0.01, 0.1 or 1 wt% polymer solutions. Protein adsorption was evaluated using micro BCA protein assay with 4.5 mg/mL bovine serum albumin (BSA). Also, platelet adhesion was tested using platelet-rich plasma (PRP).

【結果と考察】 Blood clotting was found in polymer-coated KE1310ST tubes used as artificial blood vessels in goats, so surface evaluations (thickness, uniformity, protein adsorption, platelet adhesion) for KE1310ST were performed by varying the thickness of coating. The results showed that albumin adsorbed more on thinner cross-MPC-coated silicone substrates than the thicker ones, and the platelets were also found to be less activated on the thicker polymer-coated silicone substrates. This study suggested that the cause of blood clotting might be the thickness of coating, and the relationship of polymer film thickness to anti-blood-clotting function was identified. The findings will be useful in providing anti-coagulation functions to various silicone-based materials used in cardiovascular devices.

2D-09-Ⅲ

PMPC グラフト PEEK 心臓弁の短期 *in vivo* 評価

¹ 国立循環器病研究センター研究所生体医工学部, ² 東京大学大学院工学研究科

○神戸裕介¹ (Kambe Yusuke), 馬原 淳¹, 深澤今日子², 劉 懿華¹, 石原一彦², 山岡哲二¹

【緒言】弁膜症に対する外科的治療法の一つに人工弁置換術が挙げられる。二種類の人工弁（生体弁、機械弁）の内、機械弁は耐久性の面で優れているものの、移植を受けた患者は抗血液凝固剤を生涯に渡り服用する必要があり、QOLの低下が問題となる。そこで、我々は抗血栓性高分子による抗凝固剤フリー・服用量削減型の機械弁の開発に取り組んでいる。

ポリエーテルエーテルケトン (PEEK) は、インプラント用金属に置き換わる高強度素材として着目されている。また近年では、紫外線照射によって PEEK 表面に発生したケチルラジカルが、雰囲気中存在するモノマーの PEEK 表面へのグラフト重合反応を開始し得ることが報告されている (ACS Appl Mater Interfaces 2009;1:537)。本研究では、二葉弁形状とした PEEK にポリ 2-メトクロイルオキシエチルホスホコリン (PMPC) をグラフトし、その機能や抗血栓性の *in vivo* 評価を行った。

【実験】二葉弁形状に切削加工した PEEK を 0.5 M の MPC モノマー水溶液 (4 M NaCl 含有) に浸漬し、60°C で 30 分間、27 mW/cm² の紫外線を照射することで PEEK 表面に PMPC をグラフトした (Acta Biomater 2016;40:38)。

ヘパリンの血中投与の下、ゲッチングミニブタ (雄、19-28 kg) の大動脈弁を PEEK-*g*-PMPC 弁で置換した。そして、ヘパリンを中和した状態で、短期 (<26 時間) 評価を行った (n=4)。なお、比較対照群として、未処理の PEEK 弁を移植した (n=2)。

【結果と考察】PEEK 群の 2 頭、PEEK-*g*-PMPC 群の 1 頭は、それぞれヘパリン中和後 2、10、1.5 時間で心機能の低下が認められたため、その時点で弁を回収した。一方、PEEK-*g*-PMPC 群の残り 3 頭では、ヘパリン中和後 13、24、26 時間で弁を回収した。なお、これらの 3 頭では、回収時点でも心臓は正常に拍動しており、移植した弁を介した圧較差は、9-24 mmHg と正常値を示した。回収した弁表面の SEM 観察の結果、PEEK 弁表面には線維性物質と血球が複合体を形成した付着物が見られたものの、PEEK-*g*-PMPC 弁表面には線維性の付着物のみが見られた。これより、PMPC グラフトによる PEEK 弁の抗血栓性の向上が確認できた。

2D-10-Ⅱ

回転浮遊培養を用いた 3 次元組織塊の構築と自動スクリーニングシステムへの応用

¹ 大阪大学大学院工学研究科, ² 株式会社ジェイテックコーポレーション

○植村寿公^{1,2} (Uemura Toshimasa), 上村 葉², 楠本憲司², 桜井靖久², 小野貴弘², 森田健一², 津村尚史²

【緒言】肝臓の代謝毒性は、薬剤開発における臨床試験中止、発売後に生じた有害事象による販売中止などの大きな要因になっている。肝臓だけでなく、3 次元組織を用いたスクリーニングシステムの構築が切望されるが、様々な困難な問題が存在する。我々は、種々困難を解決すべく、プロトタイプとしての 3 次元自動スクリーニング装置の開発を行ったので紹介する。3 次元肝臓細胞や癌組織は回転浮遊培養法 (Cell Float System) を用いて多数構築することに成功している。回転浮遊培養では、円筒形又の培養ベッセルを、その軸方向を水平にセットし、軸回りにベッセルを回転する。ベッセル内にある細胞、組織は、重力により沈もうとする力と、ベッセルの回転に伴う培養液の流れによって浮き上がろうとする力を受け、力のバランスにより、ふかふかと浮遊した状態で、細胞、組織は生育する。

【実験】3 次元組織は HepG2 細胞、HUVEC 細胞、ヒト骨髄由来間葉系幹細胞 (hMSCs) の混合培養系を用いて、癌組織は MG63 細胞を用いて、コラーゲンスポンジ担体 (数ミリ) に播種、3 次元培養することにより構築した。肝臓組織では、Troglitazone, Acetaminophen などに対する毒性試験を行った。スクリーニングシステムとしては、3 次元培養、細胞組織を物理的に捉えウエルプレートに分配するためのピックアップ装置、薬剤投与のためのシステム、ウエルの各々にビーズを入れ組織を振とうにより粉碎するシステム、遠心により必要な上澄みを採用するシステムを用いた連続動作のできるシステムを構築した。通常の自動化装置に加え、ピックアップシステムと粉碎システムを新たに開発し、全システムに組み込んだ。最後に、手培養と自動スクリーニング装置との比較を行った。

【結果と考察】HepG2/HUVEC/hMSCs 混合培養系では、2 次元培養より 3 次元培養により構築した組織の方が Troglitazone, Acetaminophen とともに毒性物質に対して感受性が有意に高いことが分かった。MG63 組織を用いた抗がん剤 Doxorubicin に対する増殖率の検討を自動システムと手培養で比較した結果、両者に差は見られず、自動培養システムの有効性が示された。3 次元スクリーニング用に新たに開発した、ピックアップシステム、粉碎システムは今後、種々の用途に有効であると期待される。

2D-11-II

多糖類ナノファイバー分散培地を用いた間葉系幹細胞の品質保持培養

¹九州大学工学部, ²九州大学先端物質化学研究所, ³日産化学工業

○席谷 翠¹ (Toratani Midori), 辻ゆきえ², 林 寿人³, 岩間武久³, 堀川雅人³, 木戸秋悟²

【緒言】近年、間葉系幹細胞(MSC)の細胞性医薬品としての応用が加速する一方、培養環境条件に起因する細胞老化・劣化や望まぬ系統偏向などの問題があり、その品質保持を保証する培養基材・技術の開発が求められている。この課題に対し我々は最近、多糖類微結晶のナノファイバー固相を分散させた培養液が MSC の休眠状態を維持した浮遊三次元培養に適することを見出している。本研究では多糖類分散培養による MSC の品質保持評価、及び分散培養後の休眠状態の持続特性と幹細胞性の評価を目的とする。

【実験】多糖類試料には、市販の微結晶セルロースを純水に分散し、高圧粉碎処理を行ってナノファイバー化したもの(CNF)を用いた。1・2・4週間培養中MSCの状態を確かめるためにEdU/PIによる二重染色を施し、フローサイトメーターにより細胞周期評価を行った。また、3週間培養後MSCから抽出したRNAサンプルについてマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析、及びReal-time PCR解析を行った。更に本系で培養後のMSCについてその品質を評価するため、ナノファイバーから回収した後の細胞について骨・軟骨・脂肪の3方向への分化能評価、及びMTT法による細胞増殖活性評価を行なった。

【結果と考察】まず、1・2・4週間培養中のMSCについて細胞周期評価を行った。各期間いずれにおいても、PI染色では3日間に渡って2倍体、4倍体の細胞数に変化はなく、EdUの取り込みも見られなかった。以上より、本培養系においてMSCは大多数がG0期となり、一部がG2期からM期中後期の間、おそらくはG2/Mチェックポイントを越えずに細胞分裂前の状態で止まった休眠状態であると考えられる。次に、DNAマイクロアレイ解析を行い培養前後での遺伝子発現の変化を評価した。CNF分散培養MSCは細胞接着性皿培養MSCと比較して2239遺伝子で2倍以上の発現差が見られた。また、CNF培養後のMSCに対し骨・軟骨・脂肪への分化誘導を行ったところ、三方向いずれについても分化が確認された。更に、CNF培養より回収し平面培養に移したMSCについてMTT法による増殖活性評価を行なったところ、平面培養期間においても増殖活性の低下が一定期間持続した。今回は、この休眠培養の持続および休眠状態の解除の挙動について報告する。

2D-12-II

膜透過性ペプチド結合PEG脂質による細胞接着誘導：3次元組織構築を目指した細胞接着剤

¹東京大学大学院工学研究科バイオエンジニアリング専攻, ²ウプサラ大学ルドベック研究所

○寺村裕治^{1,2} (Teramura Yuji), Bo Nilsson²

【緒言】

再生医療の目的は、幹細胞から分化誘導して得られた細胞を利用して、3次元状の組織や臓器を作成し、患者の体内へ移植することである。しかし、我々の組織や臓器は複雑な構造をしているため、分化誘導により作成した機能性細胞を組織や臓器のように3次元状に配列することが容易ではない。本研究では、細胞接着を誘導できる表面修飾剤の作成を目指し、ポリエチレングリコール結合脂質(PEG脂質)の末端に様々なペプチドを導入した。膜透過性ペプチド(CPP)を含むカチオン性の短鎖ペプチドをPEG脂質末端に導入し、PEG鎖長を変化させ、細胞の接着挙動を詳細に調べた。

【実験】

PEG鎖長の異なるMal-PEG脂質(1, 5, 20, 40kDa)を既報に従い合成した。また、CPPをMal-PEG脂質と反応させて、peptide-PEG脂質を合成した。ここでは、浮遊系細胞や接着細胞を使用した。これらの細胞に、peptide-PEG脂質(1mg/mL in PBS)を反応させ(30 min, RT)、PBSで洗浄後、培養ディッシュへ播種し、顕微鏡にて観察した。3次元状ポリスチレンファイバーは、エレクトロスピン法により作製した。CCRF-CEM、L929細胞あるいはヒト肝細胞をTat-PEG脂質(1mg/mL in PBS)により処理した後、ポリスチレン(PS)マイクロファイバー上へ播種し、15分間反応させた。培養液にて洗浄後、共焦点顕微鏡により細胞を観察した。細胞は、あらかじめ蛍光標識した

【結果と考察】

CPP-PEG脂質のPEG鎖分子量1kと5kでは、細胞の接着が見られなかったものの、分子量20kと40kでは、細胞の接着誘導がみられ、細胞の伸展に伴う強い細胞接着が観察された。3次元組織構築を目指し、PSマイクロファイバーからなる三次元足場材料に対する細胞接着を試みた。CCRF-CEM、L929細胞、ヒト肝細胞をCPP-PEG脂質で処理し、播種後、観察した。処理した細胞では、3次元構造のPSファイバーへ接着していることがわかり、細胞表面修飾の効果がみられた。また、固定化した肝細胞は機能を保持していることから、細胞毒性なく3次元組織状に細胞を配列できた。

2D-13-Ⅱ

高分子プリンティング法による温度応答性パターン化表面作製と細胞接着/脱着挙動評価

¹ 東京理科大学大学院基礎工学研究科, ² 東京女子医科大学先端生命医科学研究科

○利根川純一^{1,2} (Tonegawa Junichi), 中山正道², 豊島侑樹^{1,2}, 菊池明彦¹, 大和雅之², 岡野光夫²

【緒言】異種の高分子による表面へのパターン形成技術は細胞アレイや二次元細胞パターンニングにおいて重要である。従来のフォトリソグラフィ法を用いた多段階の反応による作製法では煩雑な操作が必要であった。そこで、本研究では簡便な作製法の確立を目的として、機能性ブロック共重合体を用いたスピニング法とマイクロコンタクトプリンティング (μCP) 法との併用による簡便な温度応答性表面パターン化技術について検討した。

【実験】疎水性アンカーとして作用する poly(*n*-butyl methacrylate) (PBMA) と poly(*N*-isopropylacrylamide) (PIPAAm) とのブロック共重合体の溶液をポリスチレン培養皿上にスピニングし温度応答性表面を作製した。次に、PBMA と poly(*N*-acryloylmorpholine) (PACMo) とのブロック共重合体の溶液に、特定のパターン形状をもつ polydimethylsiloxane スタンプを浸漬後、温度応答性表面に転写して温度応答性/親水性領域を有するパターン化表面を作製した。高分子転写前後の表面での静的接触角、タンパク吸着及びウシ血管内皮細胞 (BEC) の接着/脱着挙動について解析した。また、ストライプパターン表面 (幅/間隔: 50 μm/50 μm) 上で BEC と正常ヒト皮膚線維芽細胞 (NHDF) の接着挙動を評価した。

【結果と考察】調製した表面の接触角および血清タンパクの吸着量は、37°Cにおいて高分子転写前後で 45.4°から 27.0°、35.5 μg/cm² から 18.5 μg/cm² に減少した。これは、温度応答性表面では PIPAAm の脱水和に伴う比較的疎水性表面であったのに対し、PBMA-*b*-PACMo 転写後は PACMo で表面被覆され、高い親水性を示したためと考えられた。また、37°Cにおいて高分子転写後の表面に対して BEC は接着しなかった。PACMo 表面では細胞接着タンパクの吸着が抑制されたためと推測された。良好な細胞接着性を示した PIPAAm 表面では、20°Cにおいて2時間で細胞脱着が完了した。これは PIPAAm 鎖の水和に伴う高分子の構造変化によるものだと考えられた。ストライプパターン表面では、BEC が7日後も細胞接着パターンを維持したのに対し、NHDF では3日目から高分子転写領域でも接着・増殖が確認され、7日後には表面全体で細胞配向を有した接着が確認された。以上より、μCP 法によって簡便に温度応答性パターン表面を作製することが可能であった。本手法は2次元細胞パターンニングと細胞群の回収技術へ応用が期待される。

2D-14-Ⅱ

温度応答型生分解性インジェクタブルポリマーを用いた幹細胞デリバリー

¹ 関西大学化学生命工学部, ² 大阪医科大学, ³ 関西大学 ORDIST, ⁴ 関西大学医工薬連携研究センター

○高井宏樹¹ (Takai Hiroki), 伊井正明², 能崎優太³, 葛谷明紀^{1,3,4}, 大矢裕一^{1,3,4}

【緒言】室温ではゾル状態で生体内に注入すると体温に感応してゲル化し、生体内で分解・代謝される温度応答型生分解性インジェクタブルポリマー(IP)は、体内蓄積性を示さずに薬物や細胞などを溶解・懸濁することができるため、組織再生用足場材料への応用が期待されている。我々はこれまでに、生分解性 IP としてカプロラクトン-グリコール酸共重合体 (PCGA) とポリエチレングリコール (PEG) から成るトリブロック共重合体 (PCGA-*b*-PEG-*b*-PCGA) を基盤として、それらの利便性向上などについて報告してきた¹⁾。特に最近では、体温に感応して物理架橋ゲルを形成したのちに共有結合ゲルへと移行し、体内で長期間ゲル状態を維持できるシステムを報告している²⁾。一方、脂肪由来幹細胞(AdSC)は入手が容易な幹細胞ソースとして注目されており、分泌される生理活性物質が抗炎症作用などを示すことが報告されている。本研究では、IP ゲル内に保持した AdSC からの生理活性物質の分泌などによる組織の修復・再生を目指して、IP 水溶液と AdSC を混合後ゲル化させた後の細胞増殖について調査した。さらに AdSC のゲル内での細胞生着のための足場としてゼラチンを IP ゲルに混合させた効果についても調査した。

【実験および結果と考察】培地を用いて調製したIP溶液にマウス由来AdSCを懸濁後、37°Cに加熱すると速やかにゲルを形成した。ゲル化後の細胞計数結果から、ゾル-ゲル転移が細胞の生死に影響を与えないことを確認した。さらに所定時間経過後の細胞を回収し、Live / Dead Assayにより細胞数を計数した。化学架橋を生じない物理架橋ゲルでは、ゲル状態を維持している2日目まで細胞数の増減は観察されず、ゾル化した後に増殖に転じる傾向が見られた。これに対し、化学架橋を形成するゲルでは1日経過後までに細胞数は約半数程度にまで減少するが、2日目以後には生細胞数が増加し、初期細胞数程度にまで回復するという結果が得られた。ゼラチンを添加した化学架橋ゲルでは、非添加の場合と比較して生細胞の割合が全体的に増加し、ゲル内での細胞の増殖傾向がより顕著に見られた。以上の結果から、IPゲル内においてAdSCを一定期間生存させた状態で保持させることが可能であるとわかった。

1) Y. Yoshida, Y. Ohya *et al.*, *Polym. J.*, **2014**, 46, 632-635. 2) Y. Yoshida, Y. Ohya *et al.*, *Biomater. Sci.*, **2017**, 5, 1304-1314.

2D-15-Ⅲ

水酸アパタイト/コラーゲン-GPTMS 系骨ペーストの急性期における骨組織反応評価

¹ 明治大学大学院理工学研究科, ² 九州工業大学大学院工学研究院, ³ 物質・材料研究機構 バイオセラミックスグループ,
⁴ 茨城大学大学院理工学研究科

○佐藤 平¹ (Sato Taira), 城崎由紀², 大島 翔^{3,4}, 小山富久³, 相澤 守¹, 菊池正紀³

【緒言】

これまで、液成分にシランカップリング剤の (3-グリシドキシプロピル) トリメトキシシラン (GPTMS) 水溶液を用いた自己硬化型水酸アパタイト/コラーゲン骨類似ナノ複合体 (HAp/Col) ペーストが非崩壊性とブタ脛骨内での 3 ヶ月以内の骨置換性を示すことを明らかにしてきた。今回は、ラット脛骨内でのペーストの初期動態調査結果を報告する。

【実験】

HAp/Col 粉末は、同時滴下法により合成した HAp/Col を一軸加圧により脱水、凍結乾燥した後、粉碎して調製した。GPTMS 水溶液は 1.0 および 10 vol% に調製後 1 時間攪拌し、GPTMS の加水分解を進行させた。本実験における HAp/Col 粉末と GPTMS 水溶液の混練比はこれまでの結果で最適値であった 1.00 g/cm³ とした。埋入試験は、SD ラット (オス、8 週齢) の脛骨に作製した直径 2 mm の骨孔に、オンサイトで作製したペースト 5 mm³ を注入して行った。その後、移植から 1, 2, 3, 7 日目に周囲の骨組織ごとペーストを採取し、μ-CT 像を撮影して試料の残存量を測定し、GPTMS の溶出挙動を確認するために周辺部を含めた Si の濃度をエネルギー分散型 X 線スペクトロスコピーで測定した。

【結果と考察】

μ-CT 測定の結果、ペースト残存量は GPTMS の濃度に依存せず、1 日目でおおよそ 3 mm³ まで減少した後、3 日目までは体積の減少は見られなかった。7 日目ではペーストが複数に分裂していたため、μ-CT による体積測定は困難であったが、吸収の進行は進んでいると考えられた。埋入 1 日以内の吸収は、ペーストの GPTMS による硬化が十分に進行していない埋入最初期に、ペースト表面での HAp/Col 粒子が徐々に食細胞によって吸収されたものであると考えられる。その後、ペーストの硬化が進んだことで食細胞による吸収反応は抑制されたが、7 日目には従来の HAp/Col 緻密体に関する報告の通り、破骨細胞による分解が開始されたと考えられる。初期の GPTMS の溶出挙動については、当日報告する。

2D-16-Ⅰ

ウサギ大腿骨へ埋植した炭酸アパタイト顆粒における骨置換率の評価

九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座生体材料学分野

林幸孝朗, 土谷 享, 杉浦悠紀, ○石川邦夫 (Ishikawa Kunio)

【緒言】

我々は、生体骨の無機成分である炭酸アパタイト (CO₃Ap) に着目し、溶解析出型の相変換反応を応用することで、生体骨と同等以上の炭酸基を含む CO₃Ap 顆粒の開発に成功した。本発表では、ウサギ大腿骨および脛骨に作製した骨欠損へ CO₃Ap 顆粒を埋植した時の、新生骨の形成量および材料の吸収の推移を計測、評価した結果について報告する。

【実験】

日本白色種雄ウサギ (体重 2.5 kg 以上) の大腿骨及び脛骨に直径 5 mm、深さ 8 mm の穴を開け、被験物質、対照物質を埋植し、4 週、12 週及び 26 週で評価した。被験物質は CO₃Ap 顆粒 (GC)、対照物質はウシ骨顆粒 (Bio-Oss、Geistlich)、β-リン酸三カルシウム (β-TCP) 顆粒 (Cerasorb M、Curasan AG) とした。埋植期間終了時に大腿骨及び脛骨を取り出し、レジン包埋した後に Villanueva Goldner 染色を行った。顕微鏡観察像をデジタル化し、Image J を用いて、1 視野あたりの新生骨面積率 (%) 及び残存埋植試料面積率 (%) をそれぞれ算出した。

【結果と考察】

新生骨面積率は、ウシ骨群 4 週 11.2±4.7%、12 週 15.6±4.2%、26 週 16.6±5.7%、β-TCP 群 4 週 19.8±9.3%、12 週 21.7±6.0%、26 週 21.5±8.3% に対し、CO₃Ap 群においては、4 週で 14.7±3.3%、12 週で 13.8±3.0%、26 週で 18.1±5.4% であり、群間差および埋植期間による著差は認められなかった。残存埋植試料面積率は、ウシ骨群で 4 週 16.9±5.7%、12 週 23.5±7.1%、26 週 25.3±5.9% と経時的な減少傾向が認められなかったのに対し、β-TCP 群では 4 週 23.4±6.4%、12 週 10.7±4.8%、26 週 1.7±0.8% と明らかに減少した。CO₃Ap 群は 4 週 29.1±6.7%、12 週 16.0±3.5%、26 週 7.2±3.1% と、なだらかな吸収が確認され、吸収期間は β-TCP 群よりも長かった。以上の結果から、CO₃Ap 顆粒は既存の製品と同等の骨形成能を示し、β-TCP よりも緩やかな吸収を示すことが確認された。

2D-17-Ⅲ

新しい人工骨、多孔質ハイドロキシアパタイト/コラーゲン複合体の臨床使用

東京医科歯科大学整形外科分野

○吉井俊貴 (Yoshii Toshitaka), 湯浅将人, 新井容嘉, 湯浅将人, 大川 淳, 早乙女進一

目的 ハイドロキシアパタイト/コラーゲン複合型多孔質人工骨(HA/Col) は自家骨類似の構造・組成を有し、骨伝導性に優れる。我々は、この新しい人工骨 HA/Col を開発し、材料の基礎的データや、動物実験における有用性を発表してきた。HAp/Col は近年、本邦で認可され、臨床使用が可能となり、以前に我々は頸椎固定術における HAp/Col 使用の有用性を報告している。本研究では、腰椎椎体間固定術における HAp/Col の臨床使用を紹介し、その短期成績を報告する。

方法 腰椎固定術 40 例 43 椎間において、骨髄穿刺液を含浸させた HAp/Col をポリエーテルエーテルケトン(PEEK) 製ケージの中に充填し椎体間に移植、椎弓根スクリューを併用し固定を行った。術後 1 年以上経過観察し、臨床症状、画像評価を行った。画像評価はレントゲン機能撮影およびリコンストラクションCTにて骨形成、骨性架橋の評価を行った。

結果 術後 1 年で臨床症状は良好に改善した。レントゲン機能撮影にて 3°以上の椎間の動きを認めなかった。リコンストラクションCTでは、全椎間でケージ内に骨形成を認め、30 椎間 (69.8%) にて骨性架橋を認めた。手術後に HAp/Col 人工骨移植に伴う有害事象は認めなかった。

考察 HA/Col はスポンジ状の弾力性を有しているため、複雑な形状をした部位においても、容易に補填することができる。脊椎椎体間の移植においても上下終板に密着した状態で移植することが可能であり、良好な骨組織の侵入が期待できる。術後 1 年の時点での骨性架橋は頸椎 (80%以上) にはやや劣るものの、椎体間距離の長い腰椎では癒合により時間を要する可能性が考えられた。今後は、より長期での骨癒合の評価を行っていく必要がある。

2D-18-Ⅲ

生体分解性 WE43 マグネシウム合金の *in vivo*における長期検討

¹ 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科顎顔面外科学分野, ² 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科顎口腔外科学分野

○押部成美¹ (Oshibe Narumi), 丸川恵理子², 原田浩之²

【緒言】 生体分解性マグネシウム合金は、1990 年頃から骨接合材や血管用ステントとしての応用に向け広く研究されてきた。特に WE43 合金は血管用ステントとして既に臨床応用されていることから、我々は骨接合材としても注目し、イヌ骨折モデルを用いて骨組織内で優れた生体安全性と機械的強度を有していることを報告した。しかし WE43 合金に関する骨組織内における長期経過後の Mg の生体内挙動は明らかではない。そこで本研究では、WE43 合金の *in vivo* における分解性および生体安全性を長期的 (12 か月) に検討し、さらに WE43 合金の表面処理による影響を評価した。

【実験】 合金表面を陽極酸化した WE43 合金を陽極酸化群、単純構造の WE43 合金を表面未処理群とし、φ0.3mm×10mm の材料を 14 頭の SD ラットの左右脛骨にそれぞれ移植した。術後 7 日、6 か月、12 か月の材料分解率を μ CT から放射線学的に算出し、生物学的反応を組織学的に評価した。また、水素ガスの発生ならびに移植材料の破損状況を評価した。

【結果と考察】 最終的な分解率 (中央値) は、陽極酸化群 25.8%、表面未処理群 36.3%となり、両群で比較的低い分解率を示した。表面未処理群に比較し陽極酸化群では、水素ガスの抑制ならびに早期消失が認められたが、表面未処理群でも 1 か月までには水素ガスの消失が認められた。また、どの評価時期においても材料分解率は陽極酸化群が有意に小さかった。すべてにおいて臨床的な合併症や組織学的な炎症反応はほとんど見られず、両群共に術後 6 か月、12 か月において移植材料周囲に良好な骨形成が認められた。これらの結果から骨組織内における WE43 合金は、長期的に優れた生体安全性と骨形成能を有していることがわかった。しかし、合金が完全分解するにはさらに長期間を要する可能性が示唆された。陽極酸化処理は初期の水素ガス抑制と急激な分解抑制に有効であるが、それゆえに長期的な分解速度はさらに遅延した。分解速度の遅延は移植材料の異物反応と関連しているため、理想的な生体分解性材料は組織修復後に完全に分解されることが望ましく、今後の課題と考えられた。

2D-19-Ⅲ

Mg スメクタイト粉末の創傷治癒効果の検討

¹山形大学大学院理工学研究科, ²オリンパステルモバイオマテリアル (株)

○山本 修¹ (Yamamoto Osamu), カジィ・グルサンアラシヤティ¹, 佐々木優^{1,2}

【緒言】深部創傷治療には臨床用創傷被覆剤が用いられ、創傷部位において湿潤環境を維持することによって細胞遊走を促すことで治癒することが知られている。しかし、十分な治癒効果が得られないことや被覆剤との癒着の問題があった。そのため、湿潤環境を維持し、良好な治癒効果と癒着低減の新規材料の開発が求められている。我々は、創傷治癒過程で重要となる新生血管の充進に寄与するケイ素イオンとⅠ型コラーゲンの発現に寄与するマグネシウムイオンを放出する材料として、粘土鉱物である Mg スメクタイトを創傷治療に利用することを考えた。本研究では、Mg スメクタイト粉末の創傷治癒効果を検討したので、報告する。

【実験】Mg スメクタイト粉末は、ケイ酸ナトリウムと塩化マグネシウムを出発原料とした液相合成法により得た。得られた Mg スメクタイト粉末の結晶構造を X 線回折測定 (XRD) により同定し、粉末からのイオン放出量を結合誘導プラズマ質量分析 (ICP-MS) により求めた。実験動物を用いた皮膚創傷治癒効果は、山形大学動物実験委員会承認の下で行った。ラット腹側部に皮膚全層欠損を作成して Mg スメクタイト粉末を塗布し、1~2 週後に採取した再生皮膚の組織観察により治癒効果の検討を行った。

【結果と考察】XRD より、合成した粉末は Mg スメクタイトであることがわかった。ICP-MS の結果から、粉末からのイオン溶出量はマグネシウムイオンが 1 日目に最大値を示し、その後徐々に溶出量の減少が見られた。一方、ケイ素イオンは持続的に放出していることがわかった。2 週後の組織において、Control 群は創縁および創傷部で血管新生が見られたが、スメクタイト群では創縁および創傷部で新生血管数の減少と上皮化が認められた。そこで、再生皮膚組織に形成された血管数比較した。1 週間において、スメクタイト群は有意な血管新生の増大が認められ、2 週間ではスメクタイト群における有意な血管数の減少が認められた。創傷治癒過程では、新生血管の数は治癒の進行に伴い、減少することが知られていることが知られている。スメクタイト群における血管新生の有意な増大と減少は組織再生の促進を表しており、Mg スメクタイト粉末は、創傷に対して高い治癒効果を持つことが示唆された。

2D-20-Ⅲ

シモンコライトの創傷適用による皮膚再生

¹山形大学大学院理工学研究科, ²JFE ミネラル株式会社

○永島美希¹ (Nagashima Miki), 中田圭美², 宇田川悦郎², 山本 修¹

【緒言】創傷治癒過程は様々な酵素により制御され、酵素の発現によって進行する。創傷部で発現する酵素の 1 つに亜鉛依存性マトリックスメタロプロテアーゼ(MMPs)がある。この酵素は活性部位に Zn²⁺イオンを持ち、細胞外マトリックスや血管基底膜のコラーゲンを分解し、細胞遊走を促進させる。そのため、創傷部に Zn²⁺イオンを導入することで、創傷治癒は充進すると推定される。そこで、本研究では Zn²⁺イオンの溶出が期待できる材料としてシモンコライトに注目した。本研究の目的は、シモンコライト粉末を創傷部に適用した際の創傷治癒過程を検討することである。

【実験】塩化アンモニウム水溶液と塩化亜鉛水溶液を原料とし、粉末 Zn₅(OH)₈Cl₂・5H₂O (シモンコライト; ZC) を作製した。作製した粉末をセラミックボールミルで 75 時間粉碎し、シモンコライト微粉末(MZC)を得た。粉末特性評価として X 線回折装置、pH 測定及び誘導結合プラズマ発光分光分析(ICP-AES)装置を用いた。山形大学動物実験委員会の承認の下、ラットの腹側部に皮下組織に至る創傷を作成した。右腹側部を control 群とし、医療用創傷被覆材のみ適用した。左腹側部を sample 群とし、シモンコライト粉末 0.005 g を塗布後、創傷被覆材を適用した。1、2 及び 4 週間後、創傷部における新生血管数の計測、ヘマトキシリン・エオシン(HE)染色及びマッソントリクローム(MT)染色による組織評価を行った。

【結果と考察】X 線回折パターンによりいずれの粉末も Zn₅(OH)₈Cl₂・5H₂O と同定された。しかし、MZC では相対強度の減少が認められたので、結晶性が低下したと予想される。各試料の pH 値は、角化細胞及び線維芽細胞増殖における至適 pH の範囲内であった。また、ボールミル粉碎による Zn²⁺イオン溶出量の増加が認められたが、細胞増殖を阻害しない Zn²⁺イオン溶出量である 500 µmol/L 以下であった。新生血管数の計測結果から、1 週間後の組織はいずれの試料においても炎症期~増殖期、2 週間後では control 及び ZC は炎症期~増殖期、MZC は増殖期~成熟期に相当した。HE 及び MT 染色による組織評価は、1、2 及び 4 週間後に観察された細胞種に違いはなかったが、MZC ではコラーゲン形成が充進していた。さらに 4 週間後の MZC では、創傷部において毛包の再生が観察された。これは MZC が自家組織と類似組織であることを示している。したがって、MZC は新規創傷治療材料として有効であると示唆される。

2D-21-Ⅲ

ハイドロジンカイト粉末による深部皮膚創傷の治癒

¹山形大学大学院理工学研究科, ²JFE ミネラル株式会社

○中山賢典¹ (Nakayama Masanori), 佐々木優¹, 中田圭美², 宇田川悦郎², 山本 修¹

【緒言】皮膚の癒傷組織は正常皮膚組織と内部構造が異なり、体温調節機能や審美性の低下につながる。先行研究において Zn^{2+} イオン、 Si^{4+} イオンによる創傷治癒効果が報告されているが、 Zn^{2+} イオンのみの創傷治癒効果、最適な Zn^{2+} イオン濃度は検討されていない。本研究では Zn^{2+} イオンのみを創傷部位に供給し、合成条件によって Zn^{2+} イオン溶出量および pH 値が制御できるハイドロジンカイトを用いた皮膚創傷治癒効果の検討と創傷治癒に適した合成条件の確立を行った。

【実験】炭酸水素ナトリウム(Na)水溶液中に、硝酸亜鉛(ZN)もしくは硫酸亜鉛(ZS)水溶液を滴下し、中和反応によって粉末試料を合成した。合成した粉末は粉末 X 線回折測定(XRD)により結晶構造の同定をした。 Zn^{2+} イオン溶出量と pH 測定は粉末スラリー液を用いて測定した。山形大学動物実験委員会承認の下、粉末試料の創傷治癒効果を検討した。麻酔下のラットの両腹側部に皮下組織に至る創傷を作成し、右腹側部を Control 群として創傷被覆材を適用し、左腹側部には 0.005 g の粉末試料を塗布した後に創傷被覆材を適用した。2 週間経過後、創傷部位の組織学的観察と血管数計測を行った。

【結果と考察】合成した粉末試料のサンプル名は(亜鉛源-炭酸源-合成時の pH)とし、ZN-Na-7、ZN-Na-9、ZS-Na-6.5、ZS-Na-7、ZS-Na-9 を実験に使用する試料とした。これら粉末試料の XRD 回折パターンは ZS-Na-6.5 のみブライアンヤングイトと同定され、他の粉末試料はハイドロジンカイトと同定された。 Zn^{2+} イオン溶出量測定の結果、ハイドロジンカイト粉末から Zn^{2+} イオンの溶出が認められた。粉末スラリーの pH は、pH 6.99 から pH 8.19 の範囲であった。2 週間経過後のヘマトキシリン・エオシン染色の結果、ZN-Na-9 を塗布した創傷部には、Control や他の粉末で観察されなかったリンパ球による炎症性細胞の浸潤が見出された。この理由は、ZN-Na-9 を塗布したことで創傷部位の pH 値が生体内の至適な pH 値からはずれてしまったためであると考えられる。マッソントリクローム染色を行った切片を観察したところ、ZS-Na-7 を塗布した創傷部位では正常皮膚に類似したコラーゲン線維を観察した。Lansdown らは線維芽細胞増殖を阻害しない範囲の Zn^{2+} イオン量を 500 $\mu\text{mol/L}$ 以下であると報告している。従って Zn^{2+} イオン量が 500 $\mu\text{mol/L}$ の範囲で最大イオン量を示した ZS-Na-7 が好適材料であると考えられる。

2E-01-I

培養基材の UV/ozone 表面改質を用いたヒト iPS 細胞培養における接着基質コート量の低減

¹慶應義塾大学理工学部機械工学科, ²慶應義塾大学医学部循環器内科学教室, ³慶應義塾大学大学院理工学研究科

○宮田昌悟¹ (Miyata Shogo), 遠山周吾², 笠井浩平³, 藤田 淳², 福田恵一²

【緒言】

ヒト iPS 細胞の培養においては、多能性を維持しながら細胞を増殖させるために培養基材に matrigel や laminin などの接着基質をコートすることが一般的である。接着基質は高価であるため、ヒト iPS 細胞の大量培養における高コスト化の主要因の一つとなっている。

そこで本研究では、酸素で満たされた雰囲気下において紫外線(UV)光をポリスチレン製培養基材に照射することで表面性状を改質し、細胞接着・増殖性を向上させることを目的とした。具体的には、表面改質を施したポリスチレン基材上でヒト iPS 細胞を培養し、接着基質のコート量の低減に与える効果を調査した。

【実験】

UV/ozone 表面改質を施したポリスチレン製培養基材に matrigel, laminin511 を通常量の 0.2~0.5 倍濃度でコート後に、ヒト iPS 細胞を培養して細胞の増殖性および多能性を評価した。増殖性については基材への細胞播種 5 日後の未分化形態の細胞数を定量することで評価し、未分化形態の維持については未分化マーカーを用いた免疫染色により評価した。

【結果と考察】

表面改質を施すことで、接着基質のコート量を低減しても細胞接着性および増殖性は維持された。また、未分化マーカーである Oct3/4、Nanog に代表される未分化マーカーを用いた免疫染色に対しても、通常の濃度で接着基質を施した培養基材上で培養した iPS 細胞と同様の染色性を呈した。以上より、培養基材に対して UV/ozone 表面改質を施すことで、接着基量を低減した環境でも多能性を維持しながらヒト iPS 細胞の増殖培養が可能であることが示された。

2E-02-Ⅱ

ゾルゲル転移および自己組織化を生起する細胞内包可能なブロック共重合体の開発

¹ 東京大学大学院工学系研究科, ² 物質材料機構

○秋元 文¹ (Akimoto Mizutani Aya), 高橋こと美¹, 玉手亮多¹, 上木岳士², 吉田 亮¹

【緒言】

複雑な生体組織構造を *in vitro* で再構築するためには、複数種類の細胞を秩序高く配置する手法、細胞のみから成る (Scaffold を含まない) 再生組織の調製法が必須であり、これらの手法は細胞毒性、炎症惹起、感染症等の観点から安全で、ロット間誤差の小さい均一な結果を生み出す必要がある。本研究では、これらを満たす方法論の確立を目指し、精密分子設計技術を戦略として細胞の内包が可能な機能性合成ハイドロゲルの開発を行った。具体的には、可逆的付加開裂連鎖移動(RAFT)重合により温度応答性部位、親水性部位、一対の分子認識部位を含む 2 種類のブロック共重合体を合成し、温度変化に応答した可逆的ゾルゲル転移およびゲル界面を介した特異的分子認識によるバルクゲル間接着の機能性を付与した。本システムは、細胞あるいはスフェロイドを容易にゲル内に内包させること、および内包後のゲル同士を特異的に接着させることが可能であり、さらに任意の時間にゲル成分をゾル化させることもできる。

【実験】

二段階の RAFT 重合により、両末端に温度応答性部位、中央部に親水性部位を有する ABA 型トリブロック共重合体を合成した。続いて親水性部位中にフェニルボロン酸(PBA)またはカテコール基の修飾を行った。作製した 2 種類の高分子を細胞培養液(DMEM)に溶解して 20 wt% 溶液を調製し、レオロジー測定による粘弾性特性の評価、生理条件下でのゲル間接着試験を実施した。また、HeLa 細胞を 2 種類の物理ゲル内に三次元的に内包し、ゲル間接着を起こした後にゲルをゾル化させて細胞を取り出し、回収した細胞を細胞培養ディッシュ(TCPS)に播種して接着挙動を確認した。

【結果と考察】

2 種類のトリブロック共重合体の 20 wt% DMEM 溶液はいずれも約 25 °C にゲル化温度を持ち、37 °C で 3kPa 程度の強固なゲルを形成した。異種官能基を有する 2 種類の物理ゲルを DMEM 中で接触させたところ、分子認識に起因するゲル間接着に成功した。ゲルに内包後、回収した HeLa 細胞は、播種 1 日後に通常通り TCPS に接着することが確認された。

2E-03-Ⅱ

磁性ープラズモンハイブリッドナノ粒子を用いたオートファゴソームの磁気分離

¹ 北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス系, ² 東京大学大学院薬学系研究科, ³ 大阪大学大学院医学系研究科, ⁴ 金沢大学医薬保健研究域医学系, ⁵ 金沢医科大学産科婦人科

○高橋麻里¹ (Takahashi Mari), プリヤンク モハン¹, 向井康治朗², 武田裕一³, 松本多圭夫⁴, 松村和明¹, 高倉正博⁵, 新井洋由², 田口友彦², 前之園信也¹

【緒言】

オートファジーとは細胞の恒常性維持の為に、タンパク質やオルガネラを分解し再利用する機構である。ガンや神経変性疾患などとも密接に関わることが知られているが、オートファジーに関与するタンパク質の包括的な理解は未だ十分ではない。オートファゴソーム (AP) に存在するタンパク質を解析するためには、細胞から AP を分離することが直接的な方法で望ましいが、既存の AP 分離法では遠心分離が利用されており、煩雑かつ長時間・超高速の工程が必要であった。そこで本研究では、短時間で簡便に行える磁気分離法に注目し、磁気分離能とイメージング能を併せ持つ磁性ープラズモンハイブリッドナノ粒子を用いた AP の磁気分離を試みた。

【実験】

Ag@FeCo@Ag コア@シェル@シェル型ナノ粒子を化学合成し、ポリ-L リジンで粒子表面の配位子交換を行い、水分散ナノ粒子 (NPs) を作製した。NPs を COS-1 細胞へリポフェクションし、異なる培養時間における細胞内での NPs と初期エンドソーム又は AP との共局在を共焦点顕微鏡で追跡した。また NPs をリポフェクションしてから一定時間培養後に、細胞膜を破碎し、自動細胞磁気分離装置 (Miltenyi Biotec) に供して磁気分離分画を得た。その後、磁気分離分画と細胞破碎液に含まれるオルガネラ特有のマーカータンパク質の有無をウェスタンブロット (WB) で確認した。

【結果と考察】

共焦点顕微鏡、電子顕微鏡、WB の結果から、NPs の局在は時間経過とともに、初期エンドソームから AP、最後はオートリソソームへと変化することが明らかとなった。また、AP の膜結合型 LC3-II タンパク質が磁気分離分画において顕著に濃縮されていたことから、AP の磁気分離が成功したことが示された。

2E-04-Ⅱ

未分化間葉系細胞とリン酸オクタカルシウムによる三次元複合組織体の構築

¹ 東北大学大学院歯学研究科顎口腔機能創建学分野, ² 東北大学大学院歯学研究科口腔システム補綴学分野, ³ 東北大学大学院歯学イノベーションリエゾンセンター

○佐藤智哉^{1,2} (Sato Tomoya), 穴田貴久¹, 塩飽由香利^{1,3}, 土屋香織¹, 佐々木啓一², 鈴木 治¹

【緒言】再生医療において移植を目的とした三次元培養が注目を集めている。スフェロイド（球状細胞凝集塊）は、細胞密度・細胞間相互作用が高く、生体内環境に近い状態で細胞を培養することができる。近年では、共培養や材料との複合化によりスフェロイド自体の活性を向上させる試みが行われている。我々は酸素透過性スフェロイド培養器（Oxy chip）を開発し、これを用いることで間葉系幹細胞（MSC）とリン酸オクタカルシウム（OCP）の三次元複合組織体形成が可能であること、また OCP との複合化によって MSC の骨芽細胞分化を促進できる可能性を示した (Anada T et al. Biomaterials 2012; Regen Therapy 2016)。OCP はハイドロキシアパタイトの前駆体と考えられており、優れた骨再生能を有している (Suzuki O et al. Tohoku J Exp Med 1991; Biomaterials 2006)。本研究では、MSC の骨芽細胞分化を促進する最適な条件と、生体への移植を想定した大きな組織体形成の可能性について検討を行った。【実験】マウス胚由来未分化間葉系細胞である C3H/10T1/2 細胞と OCP の混合比を変えて Oxy chip に播種した。スフェロイド直径の経時的変化、アルカリフォスファターゼ（ALP）酵素活性、リアルタイム PCR 法による骨分化マーカーの測定を行った。またこれらのスフェロイドを一定期間培養後に回収し、新たに製作した酸素供給型移植用デバイスに播種し直すことでミリサイズの複合組織体を作製した。形態の経時的変化および ALP 酵素活性を測定し、生体への移植を想定した操作性の検討を行った。【結果と考察】スフェロイド培養における ALP 酵素活性および骨分化マーカーの検討から、OCP の混合比率を変化させると混合する OCP の量に応じて骨芽細胞への分化が促進した。また、Oxy chip で作製したスフェロイドを移植用デバイスに播種することで、ミリサイズの複合組織体を容易に形成できることが示された。さらに、これらの組織体はピンセット等を用いて一塊として取り扱うことができ、良好な操作性を有することが示された。

2E-05-Ⅱ

破骨細胞を起点とした骨基質配向性制御機構

大阪大学大学院工学研究科

○小笹良輔 (Ozasa Ryosuke), 松垣あいら, 中野貴由

【緒言】骨が有する特徴的な異方性微細構造は、複雑な骨系細胞間ネットワークにより構築・制御されるものの、その分子レベルでの制御メカニズムは未解明である。我々はこれまでに、造血幹細胞を起源とする破骨細胞分化系譜は種々のサイトカイン・転写因子等によりその分化・成熟化・活性化過程が制御され、遺伝子変異により活性化破骨細胞を欠損したマウスにおいては野生型と比較して顕著な骨配向性低下を示すことを明らかにしてきた。本研究では、分化段階の異なる破骨細胞との相互作用に着目し、破骨細胞の成熟化、活性化が骨芽細胞配列化に与える影響について、破骨細胞由来の液性因子を同定することにより遺伝子レベルから骨系細胞間相互作用による骨配向性制御機構解明を目指した。

【実験】野生型および遺伝子欠損マウス頭蓋冠より初代骨芽細胞を抽出した。破骨細胞分化は脾臓由来の破骨細胞前駆細胞を M-CSF・RANKL 刺激により分化制御を行った。得られた破骨細胞はメンブレンを介して、コラーゲン分子配列を人工的に制御した配向化コラーゲン基板上の骨芽細胞と共培養し、骨芽細胞配列度を定量解析した。さらに total RNA 抽出後、マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析、real time RT-PCR、ELISA による定量解析から、骨芽細胞配列制御因子の同定を行った。2 群間、多群間における有意差検定は、Student's t-test、One-way ANOVA を用いてそれぞれ行った。

【結果と考察】骨芽細胞—破骨細胞共培養系において、活性化破骨細胞の存在下で、骨芽細胞は有意に高い配向度を示した。分化段階の異なる破骨細胞由来の液性因子に着目することで骨芽細胞配列化の制御因子を特定し、骨芽細胞配列、ならびに骨基質配向性の制御に成功した。以上より、骨配向化には破骨細胞との相互作用を介した骨芽細胞配列化が必須であり、破骨細胞により産生され、骨配向性を制御する可溶性因子の存在が初めて明らかとなった。

2E-06-Ⅱ

ファイバーを用いた選択的な細胞捕捉のためのカチオン性ペプチド設計の検討

¹ 東京大学大学院工学系研究科, ² 群馬県繊維工業試験場, ³ (株) 梁瀬産業社

○吉原彬文¹ (Yoshihara Akifumi), 寺村裕治¹, 近藤康人², 須永芳幸³, 高井まどか¹

【緒言】

血中循環腫瘍細胞 (Circulating Tumor Cell, CTC) は、癌診断におけるバイオマーカーとして近年注目を集めている。しかしながら、血中の CTC は希少細胞であるため、検出感度とハイスループット性の両立が重要である。そこで本研究では、細胞捕捉率向上のため、基板として 3 次元構造を有するポリスチレンファイバーを用い、固定化抗体の増加を目指してポリスチレン結合ペプチドの配列を検討した。

【実験】

24 量体の PEG を含み、活性エステル及びマレイミド基を有する二官能性架橋剤と、抗 EpCAM 抗体を反応させた。その後、ポリスチレンに対して高い吸着能を持つカチオン性配列を含むペプチドを反応させ、スピニングにより精製した。酸素プラズマ処理を施したポリスチレン表面に対するペプチド及びペプチド結合抗体の固定化量を評価した。ポリスチレンに結合するペプチドとしては、ポリスチレンに対するアフィニティの高いポリスチレンタグ、及びカチオン性アミノ酸リッチな配列を用いた。また、エレクトロスピンニング法により作製したポリスチレンファイバー不織布にペプチド結合抗 EpCAM 抗体を固定化し、蛍光標識済みの EpCAM 発現細胞 (MCF-7 細胞、 2×10^2 cells) を混合したヤギ全血を吸引により透過させ、共焦点顕微鏡によりファイバーを観察した。

【結果と考察】

カチオン性配列を有するペプチドはポリスチレン表面に吸着することが示された。しかしながら、ペプチド結合抗体の吸着量は、ペプチドが有するカチオン性配列によって異なることが分かった。また、ペプチド結合抗体を固定化したファイバーを用いて行った血液透過実験において、ヤギ全血 10 mL 中の MCF-7 細胞がファイバーに捕捉されたことが分かった。この結果から、ファイバーに吸着するペプチドを用いることで、効率的な血中細胞の検出が可能になることが示唆された。

2E-07-Ⅱ

タンパク質非吸着表面での初期細胞接着挙動に与える細胞接着分子の可動性の効果

東京大学大学院工学系研究科

○井上祐貴 (Inoue Yuuki), 石原一彦

【緒言】細胞接着の機序を正確に理解することは、マテリアル表面における細胞接着の高度な制御を実現し、使用環境や目的に応じた医療デバイスを適切に創製することに直結する。特に、タンパク質の高次構造は水中で動的に変化することから、タンパク質吸着層に含まれる細胞接着分子の微小な可動性が、細胞接着に大きな影響を与えると考えられる。本研究では、細胞接着分子の配置が明確な表面により、その可動性が細胞接着挙動に与える影響を定量的に解析することを目的とする。この実現のため、ナノメートルオーダーで明確な構造を有するポリマーブラシ層のポリマー末端に細胞接着分子を導入した表面を作製した。タンパク質吸着を完全に排除するリン脂質ポリマーブラシ層の三次元構造により制御した細胞接着分子の可動性が、細胞接着挙動に与える効果を定量的に解析した。

【実験】異なる開始基密度を有する表面を金基板上に作製し、表面開始型原子移動ラジカル重合法を用いて、重合度 400 の poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) (PMPC) ブラシ表面を作製した。Huisgen 環化付加反応を利用して、PMPC 鎖の末端に細胞接着活性の異なる環状 RGD (cRGD) および RDG ペプチドを様々な組成で固定した。エネルギー散逸型水晶振動子マイクロバランス (QCM-D) を用いて、水中での PMPC 鎖末端の可動性を定量的に解析した。10% ウシ胎児血清 (FBS) 溶液からのタンパク質吸着量を QCM-D 測定を用いて定量し、ヒト子宮頸ガン (HeLa) 細胞の初期接着密度を定量した。

【結果と考察】開始基密度により、PMPC 鎖の密度を 0.01 から 0.18 chains/nm² の範囲で制御できた。また、グラフト密度の増加に伴い、PMPC 鎖一本当たりのエネルギー散逸量が減少した。すなわち、PMPC 鎖がパッキングされるにつれて、水中での PMPC 鎖の可動性が低下した。PMPC ブラシ表面への FBS からのタンパク質吸着量は、グラフト密度によらず 30 ng/cm² 以下であり、細胞接着も観察されなかった。これらの結果は、PMPC ブラシ層は非特異的な吸着タンパク質層を介した細胞接着を排除することを示す。ペプチドを固定化した場合でも、タンパク質非吸着特性は維持された。加えて、cRGD 密度が同等の表面で、可動性の増加に伴い細胞接着密度の増加が認められた。これらより、細胞接着分子の高い可動性が、細胞接着分子と膜タンパク質との間の結合数を増加させ、初期細胞接着挙動に有利に働くことが明らかとなった。

2E-08-Ⅱ

生体骨模擬共培養システムによる骨配向化メカニズムの解明

大阪大学大学院工学研究科

○山崎大介 (Yamazaki Daisuke), 松垣あいら, 中野貴由

【緒言】骨の特徴的な異方性微細構造は、骨系細胞間の分子レベルでの相互作用により制御・構築される。我々は骨基質配向性を決定する骨芽細胞配列は、他の骨系細胞とのクロストークや他臓器連関を通じて緻密に制御されることを見出しており、遺伝子変異により活性化破骨細胞を欠損したマウスでは、破骨細胞による骨芽細胞配列制御機構の破綻により顕著な骨配向性低下を示すことを明らかにしてきた。一方で、骨中で応力感受細胞として機能するオステオサイトは、他の骨系細胞との情報伝達を介して骨異方性微細構造を制御すると考えられる。すなわち、骨配向化機構解明のためには、これら3種の骨系細胞の相互作用を考慮した生体模擬共培養システムの構築が必須である。本研究では、生体骨の異方性環境を模擬しつつ、オステオサイト、破骨細胞および骨芽細胞の相互作用を再現可能な骨系細胞共培養システムを構築し、骨配向化機構解明を目指した。

【実験】新生マウス頭蓋冠より初代骨芽細胞を、成熟マウス長管骨より初代オステオサイトを抽出した。初代破骨細胞は脾臓由来の破骨前駆細胞を M-CSF (Macrophage-colony stimulating factor)・RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) により分化制御した。得られた破骨細胞は、コラーゲン分子配列を人工的に制御した配向化コラーゲン基板上の骨芽細胞と共培養した。一方、カルチャーインサート上で流体せん断刺激を負荷しつつ、オステオサイトの培養を行うことで、3種の骨系細胞共培養系を構築した。培養後、real time RT-PCR による遺伝子発現解析ならびに ELISA によるタンパク質量定量解析を行った。

【結果と考察】せん断刺激負荷下でのオステオサイトとの共培養により、骨芽細胞配列は有意に充進した一方で、破骨細胞分化が制御された。すなわちメカノセンサーとしてのオステオサイトとの細胞間情報伝達に基づく破骨細胞分化制御機構の存在が示唆された。本研究により、生体内環境に類似した骨芽細胞・破骨細胞・オステオサイト共培養系の構築に成功し、骨配向性を決定する骨芽細胞配列化は、力学刺激を起点とするオステオサイト・破骨細胞との相互作用を介して制御されることを明らかにした。

2E-09-Ⅱ

温度応答性高分子ブラシを修飾した微細構造基板による細胞分離

¹ 東京女子医科大学先端生命医科学研究科, ² 慶應義塾大学薬学部, ³ 早稲田大学大学院先進理工学研究科生命医科学専攻

○長瀬健一^{1,2} (Nagase Kenichi), 宿輪理紗^{1,3}, 小沼隆大^{1,3}, 大和雅之¹, 武田直也³, 岡野光夫¹

【緒言】近年、細胞を生体内に移植して治療する再生医療が注目を集めており、細胞の活性を維持したまま分離する細胞分離技術の開発が望まれている。我々は温度応答性高分子の各種共重合体を修飾したガラス基板を用いて、細胞種ごとの細胞接着性の差を利用して、温度変化により細胞を分離する細胞分離システムを提案している。一方で、細胞は微細構造表面上での細胞接着挙動が異なることが多数報告されている。そこで本研究では、ナノインプリントリソグラフィを用いて表面に微細構造を作製し、その表面に温度応答性高分子を修飾した基板を作製した。これらの作製した基板の細胞分離用基材としての応用を検討した。

【実験】表面を疎水性化したガラス基板に、スチレンとビニルベンジルクロライドの共重合体の薄膜をスピンコーティングにより修飾した。その後、ピラー、ホール、ライン形状を有するナノインプリントモールドをガラス転移温度以上の温度で押し付け、表面に微細構造を形成した。さらに表面開始原子移動ラジカル重合(ATRP)により、ブラシ状の温度応答性高分子を修飾した。作製した表面にヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)、ヒト皮膚繊維芽細胞(NHDF)、ヒト骨格筋芽細胞を播種し、37℃での接着挙動、20℃での脱着挙動を観察した。

【結果と考察】走査型電子顕微鏡による観察により、表面にナノインプリントモールドと同様の形状のパターンが形成されていることが確認できた。また、大気中での水滴を用いた接触角測定により、温度に応答した濡れ性変化を示すことがわかった。作製した基板に細胞を播種し、細胞の接着・脱着挙動を確認したところ、ホール形状の基板表面では、NHDF、HUVEC は 37℃で接着したのに対し、HUVEC は接着しなかった。さらに、温度を 20℃に変化させたところ、接着していた NHDF は脱着し、HSMC は脱着しなかった。この特性を利用して、三種類の混合細胞を 37℃で播種し、20℃で回収したところ、NHDF を多く含む細胞懸濁液が回収されることがわかった。これらの結果より、本研究で作製した微細構造を有する温度応答性基板は、温度制御による細胞分離基材として有用であることが示された。

2E-10-Ⅱ

中間水を有する生体適合性材料上における細胞の接着挙動に関する研究

¹九州大学大学院工学部, ²九州大学先端物質化学研究所, ³山形大学有機材料推進本部

○入江俊也¹ (Irie Shunya), 荒津史裕², 柏崎亜樹², 村上大樹^{1,2}, 田中 賢^{1,2,3}

【緒言】細胞は、膜タンパク質であるインテグリンと足場タンパク質中の細胞接着部位との結合を介して基板上に接着し、インテグリンを介するシグナルが誘導されると伸展や運動などの機能を発現する。初期段階の接着を制御することで続く細胞機能の発現を制御できると考えられる。生体適合性高分子材料である poly (2-methoxyethyl acrylate)

(PMEA) は水環境下で、自由水、中間水、不凍水から成る水和構造を形成する。中間水を有する PMEA および PMEA 類似体を細胞培養の基板として用いると、インテグリンを介した接着をエチレンジアミン四酢酸 (EDTA) により阻害しても細胞が接着することが報告されている。また、中間水の含有量が多い PMEA 類似体上ではインテグリンを介さない接着の存在によりインテグリンシグナルが抑制され、マウス脂肪前駆細胞の脂肪細胞への分化が促進されることが報告されている。本研究では、中間水を有する PMEA 類似体上における細胞接着挙動、細胞の伸展や運動性を明らかにすることを目的とした。

【実験および結果】中間水量の異なる PMEA およびその類似体である poly (tetrahydrofurfuryl acrylate) (PTHFA)、poly (2-ethoxyethyl acrylate) (PEEA)、poly (2-butoxyethyl acrylate) (PBEA)、および poly (butyl acrylate) (PBA) をそれぞれ PET 基板上にスピコート法により製膜した。各高分子基板上にマウス線維芽 (NIH3T3) 細胞を播種し、培養 1 時間後の接着数を評価したところ、いずれの高分子基板上においても細胞接着が確認された。また、インテグリンを介した細胞接着を阻害した際の細胞の接着性を評価したところ、中間水の含有量が少ない PMEA 類似体上でもインテグリンを介さない接着があることが示唆された。また、各高分子膜上に細胞を播種して 3 時間培養後および 6 時間培養後の細胞の接着形態を観察したところ、中間水を有する PMEA 類似体上では細胞の伸展が抑制された。これは、インテグリンを介するシグナル伝達が誘導されず、細胞骨格形成に関わるアクチンファイバーの形成が抑制されたためだと考えられる。今後は、インテグリンを介さない細胞接着と細胞の伸展および運動性との相関性を考察する。

2E-11-Ⅱ

リン酸オクタカルシウムが骨芽細胞・骨細胞分化に与える影響の検討

¹東北大学大学院歯学研究科顎口腔機能創建学分野, ²東北大学大学院歯学研究科顎顔面・口腔外科学分野, ³東北大学大学院歯学研究科歯学イノベーションリエゾンセンター

○穴田貴久¹ (Anada Takahisa), 蔡 優広^{1,2}, 塩飽由香利^{1,3}, 高橋 哲², 鈴木 治¹

【緒言】近年、ハイドロキシアパタイト(HA)、 β -リン酸三カルシウム(β -TCP)は、自家骨に代わる骨補填材として、臨床応用されているが、依然自家骨移植が第一選択となっている。しかし、自家骨移植は採取部位の侵襲や合併症が避けられず、患者への負担は大きい。これらの問題点を解決するため、我々はより高い骨形成能と生体内吸収性を示す骨補填材の開発を目指し、合成のリン酸オクタカルシウム(OCP)材料の研究を行ってきた。OCP は骨や歯などの生体アパタイト結晶の前駆物質と考えられているリン酸カルシウムである。OCP は生理的環境で HA へと結晶転換を起こし、イオンの出入りが起こることが知られている。これまでに、我々は OCP が骨形成を促進すること、初期骨芽細胞の分化を促進することを報告しているが、後期骨芽細胞分化や骨細胞分化に与える影響については不明な点が多い。そこで本実験では OCP が骨芽細胞から骨細胞への分化に与える影響について検討した。HA、 β -TCP を比較として実験を行った。

【実験】骨芽細胞から骨細胞へ分化する特徴を持つマウス骨細胞様細胞株 IDG-SW3 を用いて分化培地で培養を行った。トランスウェルを用いて HA, β -TCP, OCP 存在下で培養を行い、継時的に DNA 量、ALP 活性を測定した。また骨細胞分化マーカーの測定を、リアルタイム PCR を用いて行った。

【結果と考察】35 日まで培養した結果、DNA 量の経時変化は材料間であまり差がなかったが、骨分化マーカーは OCP 存在下で有意に高くなった。

これらの結果より、OCP が他のリン酸カルシウム系生体材料と比較し、骨芽細胞の骨細胞への分化を促進する可能性が示唆された。

2E-12-Ⅱ

上皮成長因子担持金ナノ粒子の特異的アポトーシス誘導活性における脂質ラフトの役割

¹物質・材料研究機構(NIMS), ²農業・食品産業技術総合研究機構, ³神奈川大学理学部

○山本翔太¹ (Yamamoto Shota), 岩丸祥史², 清水善久¹, 山口和夫³, 中西 淳¹

【緒言】細胞増殖・分化を促進する上皮成長因子(EGF)は、ナノ粒子に固定化されることでがん細胞のアポトーシスを誘導する。このことより EGF コンジュゲートはがん治療薬としての可能性が指摘されているが、その詳細な作用機構は明らかになっていない。そこで本研究では、EGF 受容体(EGFR)が高密度に存在する細胞膜の脂質ラフトに注目し、EGF コンジュゲートが特異的に誘起するアポトーシス活性に対するこれらのドメインの関与を調べた。

【実験】 ω -aminopropyl- ω -methoxy PEG (MW = 5000)と disuccinimidyl 11,11'-dithiobisundecanoate (DSU)を反応させて得たジスルフィド体と DSU 自身を 8:2 の割合で混合した DMSO 溶液で 15 nm 金ナノ粒子の表面修飾を行い、得られた粒子と EGF を 4℃にて終夜反応させ、EGF-GNPs を得た。調製した EGF-GNPs を HeLa 細胞に投与し、下流のシグナル伝達の活性化と膜質の分布をリン酸化アッセイ、Annexin V 染色、脂質ラフトの生化学的分離および暗視野観察により調べた。

【結果と考察】調製された EGF-GNPs は約 50 nm の平均粒径を持ち、1 粒子あたり 51 個の EGF が固定化されている。この EGF-GNPs を HeLa 細胞へ投与すると、72 時間後に約 80%の細胞でアポトーシスが誘導された。この際の Akt のリン酸化状態は、溶液状態の EGF (soluble EGF) で刺激した場合の半分に留まっており、Akt の活性化状態の変化が鍵を握ることが示唆された。ショ糖密度勾配超遠心法により EGFR の脂質膜内分布を調べたところ、通常の soluble EGF で刺激した細胞では、脂質ラフトから脱出が観察されたのに対し、EGF-GNPs を作用させた場合は、ほとんどの EGFR が脂質ラフト内に留まっていた。また、暗視野観察による金ナノ粒子の細胞内分布がラフトマーカー GM1 と共局在する結果を踏まえると、確かに EGF-GNPs は脂質ラフト内の EGFR と相互作用するが、そこからの脱出を阻害していることが明らかとなった。最後に、脂質ラフトの形成を阻害する β -CD であらかじめ処理した細胞で同様の実験を行うと、EGF-GNPs が誘起する Akt の活性は soluble EGF と同程度まで回復し、EGF-GNPs のアポトーシス誘導能はほとんど失われた。以上の結果より、EGF コンジュゲート材料による特異的アポトーシス活性において、脂質ラフトにおける特異的な膜輸送が関与していることが分かった。

2E-13-Ⅱ

がん骨転移による異方性骨微細構造破綻機構

大阪大学大学院工学研究科

○松垣あいら (Matsugaki Aira), 木村友美, 関田愛子, 中野貴由

【緒言】骨は基質中に多様な増殖因子を含み、リモデリングにより極めて肥沃な環境を形成することから、肺や肝臓と並んで高頻度でがん転移が起こる組織である。がん転移骨は顕著な力学機能の低下を示し、病的骨折を引き起こす。我々は *in vivo* のがん転移モデルにおいて転移骨での骨配向性の顕著な低下が力学機能の低下を招くことを明らかにしているが、がん骨転移による骨微細構造変化についてのメカニズムは未解明である。がんの骨転移には破骨細胞による骨溶解が優位となる溶骨性転移および骨芽細胞による骨形成が優位となる造骨性転移の 2 つの様式が存在する。本研究ではこれら 2 つの転移様式に着目し、*in vitro* での細胞共培養モデルのみならず、生体内での応力負荷状態を再現しつつ、複雑ながん転移現象を人為的に制御可能な *ex vivo* 骨転移モデルの構築に成功した。本研究では、転移骨における骨微細構造変化に分子レベルからアプローチすることで、骨-がん細胞相互作用による骨配向化制御因子を明らかにすることを目的とした。

【実験方法】溶骨性転移を誘発する B16F10 (メラノーマ)、MDA-MB-231 (乳がん) および造骨性転移を誘発する MDA-PCa-2b (前立腺がん) 細胞をがん細胞として用いた。生体内での骨への負荷ひずみ量に基づき純チタン製のおもりを用い、骨長手方向に静的一軸圧縮応力を負荷可能な *ex vivo* 骨培養系を作製した。胎生 16 日齢マウス大腿骨を摘出し、静的応力負荷を与えつつがん細胞を含む培養液中で 7 日間培養した。骨形態・骨密度およびアパタイト結晶配向性の解析にはそれぞれ μ CT 法および透過型微小領域 X 線回折法を用いた。免疫染色により骨系細胞の挙動観察を行うとともに、Total RNA を抽出し、遺伝子発現解析を行った。

【結果】*In vitro* 共培養において、骨芽細胞とがん細胞との細胞間接着を介した直接的相互作用により、骨芽細胞配列は有意に低下した¹⁾。 *Ex vivo* 骨組織培養において、アパタイト配向性はいずれのがん転移モデルにおいても正常骨と比較して有意な低下を示した。転移骨表面においては骨芽細胞の不連続な配置が認められ、がん細胞との相互作用による骨異方性発現低下に寄与する可能性が示唆されるとともに、転移骨配向性を制御する分子メカニズムの一端が明らかとなった。

【参考文献】 1) Y. Kimura, A. Matsugaki, A. Sekita, T. Nakano, *Scientific Reports*, 2017, 7, 44824.

2E-14-Ⅱ

細胞膜上に混在する分子が細胞間相互作用へ及ぼす影響

京都大学ウイルス・再生医科学研究所

○磯部 潤 (Isobe Jun), 有馬祐介

【緒言】 細胞間相互作用は、細胞間の情報伝達や多細胞組織の形成において重要な過程である。我々は工学的アプローチによる細胞機能の制御を目的に、単鎖 DNA-ポリエチレングリコール脂質複合体(ssDNA-PEG-脂質)を用いた細胞表面修飾による細胞間接着の制御を行ってきた。この手法では、種々の分子が混在する細胞膜で ssDNA-PEG-脂質が相補対を形成することが重要である。しかし、生細胞同士の接着では細胞膜に存在する分子の種類や量が不明確であり、ssDNA-PEG-脂質を介した細胞間接着過程を理解するのは困難である。本研究では、ガラス上に形成した支持脂質二分子膜(supported lipid bilayer, SLB)へ ssDNA-PEG-脂質を導入し、モデル細胞膜として用いた。ssDNA を有さず分子量の異なる PEG-脂質を細胞膜上の混在分子として共存させ、PEG-脂質の混在が細胞-SLB 間での ssDNA-PEG-脂質の挙動に及ぼす影響を調べた。

【実験】 カバーガラス上に egg phosphatidylcholine (eggPC) の SLB を形成させた。次に、fluorescein 標識 ssDNA-PEG-脂質 (PEG 分子量 5k) と rhodamine 標識 PEG-脂質 (PEG 分子量 5k, 20k) の混合液で SLB を修飾した。細胞にはヒト急性リンパ芽球性白血病細胞株(CCRF-CEM)を用い、ssDNA-PEG-脂質で細胞表面を修飾した。その細胞を SLB 上に播種したときの蛍光像を全反射蛍光顕微鏡を用いて観察し、ssDNA-PEG-脂質と PEG-脂質それぞれの分布を調べた。

【結果と考察】 細胞播種後の SLB では細胞が接着した箇所で ssDNA-PEG-脂質に基づく蛍光は強くなり、細胞接着に伴い ssDNA-PEG-脂質が接着部に集積することが分かった。一方、混在分子である PEG-脂質は分子量 5k の場合は細胞接着後も一様に分布しているのに対し、分子量 20k の場合は接着部から排除されることが分かった。さらに、細胞接着部での ssDNA-PEG-脂質由来の蛍光強度を測定したところ、PEG(20k)-脂質が混在している方が蛍光強度が高く、ssDNA-PEG-脂質がより集積していることが分かった。これらの結果から、かさ高い PEG-脂質が混在すると、接着に伴い接着面から排除され、ssDNA-PEG-脂質の集積が間接的に増強されることが分かった。

2E-15-Ⅱ

細胞サイズリポソームおよび生細胞への親水性ナノゲルのサイズ依存的取り込み挙動

¹神戸大学大学院工学研究科, ²北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス系

市川晶子¹ (Ichikawa Shoko), 下川直史², 高木昌宏², ○北山雄己哉¹, 竹内俊文¹

【緒言】

ナノテクノロジーによって創出されるナノ材料は、ドラッグデリバリーシステムや In vivo イメージングなどの目的で生体への応用が期待される機能性材料として注目されているが、未だナノ材料の生体内における挙動は未解明の部分が多い。中でも、細胞内外を区切る細胞膜に対するナノ材料の相互作用は上記アプリケーションにおいて重要な知見となるため、その理解が求められているが、細胞膜は組成や構造が複雑であり相互作用を解析することは困難であった。本研究では細胞膜モデルとして使用可能な細胞サイズリポソームに対する電荷的に中性な蛍光ラベル化親水性ナノ粒子(FL-NPs)の相互作用を解析し、取り込み機構やそのサイズ効果を詳細に検討した。さらに、細胞サイズリポソームを用いた実験で得られた知見が生細胞においても適用できるか検討した。

【実験】

均一な膜表面を有する homogeneous リポソームと表面に相分離構造を有する heterogeneous リポソームを作製し、これらに対する FL-NPs の取り込みについて共焦点レーザー顕微鏡によって評価し、細胞サイズリポソームの組成が FL-NPs 取り込みに与える影響を詳細に検討した。さらに、生細胞である NIH3T3 細胞に対して、FL-NPs を加え、リソソーム染色試薬とのピアソン共局在係数を算出することで FL-NPs の細胞内局在を評価した。

【結果と考察】

Homogeneous リポソームへ FL-NPs を添加したところ、リポソーム内部の粒子濃度の上昇はほとんど観察されなかったのに対し、相分離構造を有する heterogeneous リポソームでは内部粒子濃度の上昇が有意に観察された。リポソーム膜由来蛍光がリポソーム内で上昇しなかったことから、FL-NPs は、膜の揺らぎによる取り込みではなく、相分離界面における粒子サイズ依存的な膜透過による取り込みであることを明らかにした。さらに、この膜透過によるサイズ依存的細胞内取り込みは、生細胞系においても生じることを明らかとし、細胞膜と親水性ナノ粒子間相互作用に関する重要な知見獲得に成功した。

2E-16-Ⅱ

ヒト間葉系幹細胞とコラーゲン足場材料の培養系に及ぼす糖化反応の影響

¹九州大学大学院総合理工学府, ²九州大学応用力学研究所

○近藤聖奈¹ (Kondo Seina), 中牟田侑昌¹, 東藤 貢²

【緒言】

生体内に取り込んだ糖や炭水化物は細胞のエネルギー源である一方で、過剰な血糖値の上昇は糖尿病、心臓病（動脈硬化）、アルツハイマー等の生活習慣病や老化の原因になることが知られている。この原因は、たんぱく質や脂質が糖と結びつく糖化反応として知られている。本研究では、糖化反応がヒト間葉系幹細胞（hMSC）の3次元培養系に及ぼす影響を調べることを目的とした。コラーゲン多孔質足場材料を用いて、過剰な糖を含む培地中でMSCを培養し、細胞の増殖や足場材料とMSCの培養系の力学特性に及ぼす糖化反応の影響について定量的評価を試みた。

【実験】

足場材料であるコラーゲンスポンジは、I型コラーゲン溶液を用いて凍結乾燥法により作製した。コラーゲンスポンジの直径と厚さはそれぞれ約5.0mmである。コラーゲンスポンジ1個当たりhMSCを 2.0×10^5 播種し培養実験を行った。使用した培地は、細胞増殖用培地(MEM- α 、10 %FBS、1 % penicillin-streptomycin)とこれに糖(D(-)-フルクトース)を30mMまたは300mM含む2種類の糖培地である。最長14日間培養し、細胞数の計測や圧縮力学特性として圧縮弾性率の評価を行った。また、コラーゲンスポンジ自体に及ぼす培養環境や糖の影響を検討するために、細胞存在下と同じ条件で足場材料のみの浸漬実験を行った。

【結果と考察】

コラーゲンスポンジ外に存在する細胞形態を観察したところ、7日目と14日目共に増殖培地と糖培地の両条件における細胞の形態的な違いは見られなかった。また、細胞数については、無糖と30mMの培地では、その差はほとんどなく順調な細胞数の増加が観察されたが、300mMの培地では細胞の増殖が抑制される結果となった。圧縮弾性率については、14日目と比較すると、細胞の播種により無糖培地と300mM培地では低下する傾向にあり、30mM培地では若干増加する傾向にあった。また、細胞培養の場合、糖を含む培地により弾性率は増加する傾向にあったが、そのメカニズムについては現在検討中である。

2E-17-I

酸化処理 UHMWPE 擬似摩耗粉の *in vitro* 生体反応に及ぼす Vitamin E 含有の効果

¹帝人ナカシマメディカル株式会社, ²京都大学大学院工学研究科

○湯谷知世¹ (Yutani Tomoyo), 植月啓太¹, 富田直秀²

【緒言】

人工関節の問題点の一つにオステオライシスがある。これは摺動面材料から発生する摩耗粉が原因の1つであることが報告されている。現在人工関節に用いられている高分子材料として、UHMWPE が使用されており、更に抗酸化機能を付与したVitamin E含有UHMWPE、架橋処理をしたXL-UHMWPEなどの材料が臨床に用いられている。我々の過去の研究より、XL-UHMWPE材料を用いて作製した擬似摩耗粉は架橋処理をしていないUHMWPE材料と比べ、マウスマクロファージ様細胞と培養した際のTNF- α 産出量が優位に増加した。一方でVitamin Eを含有した材料のXL材ではこのような現象が起こらなかったことより、生体反応性の上昇原因として材料の酸化に着目した。本研究では、酸化処理前後のUHMWPE擬似摩耗粉を用いてTNF- α 産出量を測定し、酸化処理が生体反応性に与える影響について評価することを目的とした。

【実験】

UHMWPE材料を粉砕して粉末状の擬似摩耗粉を作製した。対象サンプルとしては、Virgin(XL処理無)、VE(Vitamin E含有)、XLVirgin(XL処理)、XLVE(Vitamin E含有、XL処理)の4種類を対象とした。擬似摩耗粉をASTM F 2003に従い酸素雰囲気下・温度70℃・圧力503 kPaの条件において2週間強制酸化を実施した。擬似摩耗粉のキャラクタリゼーションは酸化度および結晶化度を評価した。マウスマクロファージ様細胞RAW264を 1.0×10^5 個/wellで播種した後、強制酸化前後の擬似摩耗粉と上下倒置培養法を用いて24時間培養し、培養後のTNF- α 産出量を測定した。

【結果と考察】

強制酸化処理によってVirgin、XLVirgin材料では酸化ピークであるカルボニルピークが上昇し高い酸化度が確認され、Vitamin E含有サンプル(VE、XLVE)ではカルボニルピークは検出されなかった。TNF- α 産出量は酸化処理後のVirgin、XLVirgin材料のみ上昇した。しかし、UHMWPEの酸化もしくはVitamin E含有がTNF- α 産出量に影響するメカニズムはいまだ不明である。

2E-18-III

Comparison of gene expression profiles of human macrophages stimulated by conventional and vitamin E-blended ultra-high molecular weight polyethylene particles of orthopedic implants

Department of Orthopedic Surgery, Faculty of Medicine and Graduate School of Medicine, Hokkaido University
○Mohamad Alaa Terkawi, Masanari Hamasaki, Daisuke Takahashi, Norimasa Iwasaki

Osteolysis is a serious postoperative complication of hip arthroplasty that leads to aseptic loosening and surgical revision. Osteolysis is initiated when the immune cells including macrophages recognize the implant debris and release inflammatory mediators leading to recruitment of other type of inflammatory cells and formation of inflamed granuloma. Better understanding of the molecular mechanisms of osteolysis should lead to a novel approach for preventing implant loosening. To this end, RNA-Seq technology was used to analyze the transcriptional profiling of human macrophages co-cultured with either conventional (UHMWPE) or vitamin E-blended (VE-UHMWPE) ultra-high molecular weight polyethylene particles. Results demonstrated that 1218 and 1032 genes were differentially up-regulated, and 1126 and 746 genes were differentially down-regulated in response to UHMWPE and VE-UHMWPE particles, respectively. Macrophages in response to these particles generate a broad and vigorous set of gene expression functionally classified in cytokines, chemokines, growth factors and receptors. Intriguingly, UHMWPE particles seemed to trigger greater inflammatory responses and osteolytic cytokines than VE-UHMWPE particles. Upregulated genes were categorized into multiple functional processes including inflammatory response, regulation of cell proliferation, response to stress, cell surface receptor signaling, cell communication and migration. Moreover, bioinformatics analyses revealed that macrophages exposed to UHMWPE and VE-UHMWPE particles trigger a common gene expression signatures for inflammation and rheumatoid arthritis. Importantly, bioinformatics analysis identified a new molecule involved in osteoclastogenesis and bone-resorbing osteoclastic activity. Our data provide new insight into the molecular pathogenesis of osteolysis and highlight a novel therapeutic target.

2E-19-II

抗体固定化フィルターによる免疫細胞の捕集

¹東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ²芝浦工業大学システム理工学部, ³大阪大学免疫学フロンティア研究センター, ⁴京都大学大学院工学研究科

○木村 剛¹ (Kimura Tsuyoshi), 中村奈緒子², 橋本良秀¹, 坂口志文³, 木村俊作⁴, 岸田晶夫¹

【緒言】

がんは、免疫系から逃避したがん細胞が抗腫瘍免疫応答を抑制する環境を作り上げることで生存する。近年では、PTLA-4 や PD-1 の抗体による免疫抑制のブロックや制御性 T 細胞による免疫抑制機構の解除など、抗腫瘍免疫応答の抑制解除に向けた取り組みがなされている。我々のグループは、体内からの制御性 T 細胞の除去により免疫抑制を解除することを目指し、細胞捕集デバイスの開発を行っている。本研究では、抗体固定化フィルターによる免疫細胞の捕集について検討した。

【実験】

基材として、ポリエチレン (PE) メッシュ・フィルムを用いた。コロナ放電処理、熱重合によってアクリル酸 (AAc) をグラフトした。グラフト重量の測定、FT-IR 測定、メチレンブルー染色等にてグラフト化 PE の作製を確認した。PAAc グラフト化 PE に Biotin を導入し、Avidin を介して Desthiobiotin 修飾 mCD25 抗体を PE に固定化した。GFP マウス脾臓より脾臓細胞を採集し、mCD25 抗体固定化 PE に播種し、細胞捕集を検討した。また、マウス全血を用いて、血小板粘着を走査型電子顕微鏡観察により評価した。

【結果と考察】

PAAc のグラフト化では、重量の増加、メチレンブルーでの陽性染色が示され、PAAc グラフト鎖の導入が確認できた。PAAc グラフト量は、1.5~45μg/cm²であった。mCD25 抗体を固定化した基材の免疫染色において陽性染色が示され、抗体固定化 PE が得られたと判断した。GFP マウス脾臓細胞 (CD25 陽性細胞 : 30-50%) を用いて mCD25 抗体固定化 PE 上での細胞捕獲を検討した。PAAc グラフト化 PE では約 1.4%であったが、mCD25 抗体固定化 PE では約 22.8% の高い細胞接着率であり、選択的な細胞捕獲を示された。Biotin 修飾水溶性高分子を解離剤として添加した結果、約 0.6%の接着率に低下し、捕獲細胞のほぼ全ての細胞を回収できた。以上より、抗体固定化基材による免疫細胞の捕集が示された。

一般演題（ポスター発表）

11 月 21 日（火）

F 会場 （1F 展示ホール）

金属・無機材料（2）	2P-001—2P-014
高分子材料（2）	2P-015—2P-030
マテリアルと細胞（2）	2P-031—2P-040
血液とマテリアル（2）	2P-041—2P-046
DDS, イメージング（2）	2P-047—2P-051
医療用デバイス（2）	2P-052—2P-054
再生医療・組織工学（2）	2P-055—2P-067
検査・診断法, バイオセンサー（2）	2P-068—2P-072

2P-001-Ⅱ

根尖歯周組織の再生誘導に用いるバイオガラス-ゼラチンスポンジの作製と評価

¹九州歯科大学口腔保存治療学分野, ²日本歯科薬品株式会社, ³京都大学ウイルス・再生医科学研究所生体材料学分野
○鷲尾絢子¹ (Washio Ayako), 手嶋浩貴², 横田兼欣², 北村知昭¹, 田畑泰彦³

【緒言】

現在の歯内治療では、根尖歯周組織に根尖病変が生じた際に感染根管治療および外科的歯内療法を行うが、複雑な歯・根尖歯周組織の解剖学的形態の前では治療にも限界があることから、抜歯にいたることも少なくない。このような現状を克服するためには根尖歯周組織に対する局所的再生誘導療法の開発が必要となる。確実な組織再生を誘導するには良好な物性・生体親和性・再生誘導能などの性質を有する材料が必要不可欠であるが、現時点では明確なメカニズムに基づいた組織再生を誘導する歯科用材料は存在しない。今回我々は、歯槽骨欠損部が再生誘導される生体材料の開発を目的として、骨組織再生研究で汎用されている Bioactive glass (BG) と生体適合性に優れた水溶性高分子であるゼラチン (Gel) とを用いたバイオガラス-ゼラチンスポンジ (BG-Gel) を作製し、物性を検討した。

【実験】

3 wt.%Gel (等電点 5、重量平均分子量 100,000) 水溶液に BG 粉末 (平均粒径 4.6 μ m、10~50 wt.%) を加え、5,000 rpm で攪拌した。得られた溶液を凍結乾燥後、熱脱水架橋処理 (140℃、24、48、72、および 96 時間) することで Gel を架橋しスポンジを作製した。電解放出型走査型電子顕微鏡 (FE-SEM) により BG-Gel の形態と細孔径を評価、圧縮強度および分解性試験を行った。さらに、疑似体液中に各 BG-Gel を浸漬後、スポンジ表層におけるハイドロキシアパタイト (HAp) 生成量をエネルギー分散型 X 線分析 (EDX) により解析した。

【結果と考察】

FE-SEMにより Gel スポンジ内部に BG が分散しているのが観察され、BG-Gel の細孔径は 100~250 μ m であった。圧縮強度は約 2 kPa であり、BG 含有量や熱脱水架橋処理時間により BG-Gel の分解性および HAp の生成量は変化した。以上より、BG 含有量や熱脱水架橋処理時間を調整することで分解性および HAp 生成量の異なる BG-Gel の作製が可能であることが示された。

2P-002-Ⅰ

創傷治癒剤として効果を示す塩基性亜鉛塩の開発

¹JFE ミネラル株式会社, ²山形大学大学院理工学研究科

○中田圭美¹ (Nakata Yoshimi), 中山賢典², 永島美希², 佐々木優², 宇田川悦郎¹, 山本 修²

【緒言】重度の皮膚創傷治癒後の皮膚は、審美性のみならず、機能性に多くの課題がある。創傷部位で発現する酵素の 1 つに亜鉛依存性マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) があり、細胞外マトリックスや血管基底膜のコラーゲンを分解して細胞遊走を允進させる。このことから亜鉛イオンを創傷部位に供給することで創傷治癒が促進し、自家皮膚類似組織となると予想された。そこで、持続的に亜鉛イオンが溶出する塩基性亜鉛塩 ($Zn_xA^{y-}_y(OH)_2$) に着目した。本研究では、皮膚創傷治癒用の塩基性亜鉛塩の合成条件を確立するとともに、動物試験による創傷治癒評価を行った結果を報告する。

【実験】塩基性亜鉛塩は湿式合成法により合成した。まず陰イオン源となる化合物を溶解した反応場を用意し、この溶液の pH をアルカリにて一定値に保持しながら酸性である亜鉛化合物水溶液を滴下した。得られた沈殿物を一晩攪拌・養生し、その後固液分離、洗浄、真空乾燥することで塩基性亜鉛塩粉末を得た。本実験では陰イオン化合物、亜鉛原料、設定 pH 値条件を振ることで種々の塩基性亜鉛塩を作製した。生体条件模倣下での亜鉛イオン溶出量測定試験は次の通り行った。生理食塩水 40ml に試料 0.8g を加え 37℃下でスターラーにて攪拌を行い、3 時間後の pH、亜鉛イオン溶出量を測定した。

【結果と考察】塩基性亜鉛塩は合成時の反応場溶液を炭酸系、塩素系とすることでハイドロジンカイト ($Zn_5(CO_3)_2(OH)_6$) およびシモンコライト $Zn_5Cl_2(OH)_8$ を分離合成できることが XRD 測定から明らかとなった。ハイドロジンカイトにおいては合成の設定 pH が低いほど、また亜鉛原料が硝酸亜鉛<塩化亜鉛<硫酸亜鉛の順に亜鉛イオン溶出量が多くなることが示された。硫酸亜鉛原料、設定 pH7 の系のイオン溶出量は 17.8ppm であり、硝酸亜鉛原料、設定 pH9 の系の溶出量 (0.8ppm) と比較して約 20 倍高かった。生理食塩水中で 7 日間攪拌し、1 日毎に亜鉛イオン溶出を測定したところ、イオンが持続的に溶出することがわかった。シモンコライトは pH6.5 条件でのみ単一相で得られ、塩化亜鉛、硝酸亜鉛原料ともに溶出量が約 17ppm となり、比較的に多量の溶出が確認された。合成条件を変えることで、亜鉛イオンを持続的且つ多量に溶出する材料の作製方法を確立した。合成したこれら材料は創傷治癒に効果があることを動物試験において実証した。

(特許 2 件国際公開: WO/2016/199905、WO/2016/199907)

2P-003- I

ウサギ大腿骨へ埋植した炭酸アパタイト顆粒の吸収性に関する評価

九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座生体材料学分野

○土谷 享 (Tsuchiya Akira), 林幸壱朗, 杉浦悠紀, 石川邦夫

【緒言】

我々は溶解析出型の相変換反応を応用して、炭酸アパタイト (CO_3Ap) の顆粒の合成に成功しており、現在各種評価を進めている。本発表では、 CO_3Ap 顆粒の吸収期間を評価することを目的とし、ウサギ大腿骨内に材料を埋植した結果について報告する。

【実験】

日本白色種雄ウサギ (体重 2.5 kg 以上) の大腿骨に直径 5 mm、深さ 8 mm の穴を開け、試験側に CO_3Ap 顆粒 (GC)、対照側にハイドロキシアパタイト (HAp) 製人工骨 (ボーンタイト、HOYA) を埋植し、2、4、12、26 週および 2 年での状態を評価した。組織摘出後、X 線学的および組織学的評価 (トルイジンブルー染色) を行った。

【結果と考察】

X 線学的評価では、HAp 群では 2 年経過時においても埋植部の不透過性に変化が無かったのに対し、 CO_3Ap 群は経時的に埋植部の不透過性が減少した。組織学的評価では HAp 群では 2 年経過時も顆粒が残存しているのに対し、 CO_3Ap 群は経時的に顆粒が吸収されていることを確認した。顆粒の残存面積率と残存している数及びサイズ変化率を算出したところ、HAp 群は全て変化がなかった。一方で、 CO_3Ap 群では 2 週での状態を 100% とした場合、残存面積率については 4 週 100.2%、12 週 47.7%、26 週 13.3%、2 年 7.5% であった。また、残存している顆粒の数及びサイズ変化率は 4 週 172 個、95.5%、12 週 138 個、58.4%、26 週 57 個、38.9%、2 年 44 個、28.4% と経時的に数が減少しており、残存している顆粒のサイズも減少していた。以上の結果から、 CO_3Ap 顆粒はウサギ大腿骨内で経時的に吸収されることが確認された。その吸収変化は初期に大きく、以後緩やかに吸収される傾向にあり、吸収期間はおおよそ 2 年程度であることが示唆された。

2P-004- II

歯科治療に用いられる多孔質インプラントの製作に関する研究

¹ 大分工業高等専門学校機械工学科, ² 大分工業高等専門学校専攻科機械・環境システム工学専攻

○坂本裕紀¹ (Sakamoto Yuki), 都甲 光²

【緒言】

チタンは人骨と弾性係数が異なることからストレスシールドが発生し、直接結合しにくいことが問題となっているが、チタンを多孔質化することで人骨の弾性係数に近づけることができる。多孔質チタンインプラントの実用化のために in vivo 実験が必須であるが、多孔質チタンの加工は困難とされてきた。本研究では、インプラント加工に最適な強度と多孔性を有する多孔質チタンを放電プラズマ焼結によって製作した。

【実験】

3 種類の焼結条件にて試料を製作した。圧縮力を 30MPa に変更し 570℃ で 10 分保持したものを条件①、保持時間を 15 分に変更し圧縮力は 25MPa のものを条件②、圧縮力を 30MPa に変更し 570℃ で 15 分保持したものを条件③として製作した。また、それぞれの気孔率は条件①が約 30%、条件②が約 32%、条件③が約 30% である。インプラント型試料の製作には NC 旋盤を用いて加工を行った。本研究ではウサギの骨に試料を埋め込む in vivo 実験を目標としているため実際に歯科医療で用いられているインプラントよりも小型化したインプラント型の試料を製作した。

【結果と考察】

圧縮試験の結果、条件①の試料は約 100MPa、条件②の試料は約 100MPa、条件③の試料は約 120MPa の圧縮強度を示した。この結果から SPS を行う際の保持時間の延長と圧縮力の増加は両方とも多孔質チタンの強度増加に有効であることが分かった。更に条件を変更することで強度の高い多孔質チタンを製作できることが期待できる。製作した試料は比較的延性の性質を示して破壊している。従って、加工中の試料の破壊を防げると予想できる。また気孔率との関係を見てみると、圧縮力を上げた際は保持時間を長くした際より気孔率が下がっている。多孔質チタンは強度が高く気孔率が大きいものが生体材料として最適である。従って多孔質チタンを製作する際は保持時間をさらに延長したものを作ると考えられる。

2P-005- I

置換イオン含有量の異なるアパタイトの水和構造の評価

¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科, ²山形大学有機材料システム研究推進本部, ³九州大学先端物質化学研究所
○岡田正弘¹ (Okada Masahiro), 小椋景子², 田中 賢^{2,3}, 松本卓也¹

【緒言】バイオマテリアルは主に湿潤環境で使用される。これまでに、高分子系バイオマテリアルの表面近傍に存在する水和構造の異なる水（不凍水・中間水・自由水）が生体適合性などの機能発現に大きな影響を与えることが明らかとされている。我々は、セラミックス系バイオマテリアルであるアパタイトに注目し、その水和構造の評価を始めており、これまでに、合成アパタイトの表面近傍にも水和構造の異なる水が存在することを報告した。ここで、アパタイトはリン酸イオンとカルシウムイオン等からなるイオン結晶であり、様々なイオンが置換することが知られている。

本研究では、生体骨に含まれ、かつ、アパタイトの生体活性に影響を与えることが報告されているマグネシウム (Mg) イオンに着目し、その含有量を変化させて合成したアパタイトの水和構造を評価した。

【実験】Mg 含有量の異なるアパタイトは、湿式法により調製した。調製したアパタイト分散液を遠心洗浄した後、減圧下で水を蒸発させることで水分量を調整した。各水分量のサンプルを用いて示差走査熱量計 (DSC) 測定およびフーリエ変換型赤外分光分析 (FT-IR) を行い、アパタイト近傍の水和状態を評価した。また、アパタイトの形態および結晶構造を走査型電子顕微鏡 (SEM) および X 線回折装置 (XRD) を用いてそれぞれ評価した。

【結果と考察】SEM 観察および XRD 測定結果から、湿式法の合成条件を制御することで、置換イオン含有量を変化させた場合においてもアパタイト結晶が得られたことを確認した。水分量の異なるサンプルを -100°C まで降温し、その後の昇温過程を DSC にて測定した結果、 0°C 以下で融解する中間水が存在することが確認でき、さらに、無置換アパタイトと比較して Mg 置換アパタイトの中間水の割合は増加することが明らかとなった。次に、FT-IR 測定を行ったところ、中間水に由来する OH 伸縮振動の低波数領域のブロードニングが観察され、さらに、Mg 含有量によってブロードニングの程度が変化することが確認された。発表では、Mg 含有量の違いによる水和構造の違い（不凍水・中間水・自由水の割合）についても報告し、アパタイトの水和状態に与える Mg 置換の影響を明確化し、さらに、セラミックス系バイオマテリアル表面近傍における水和状態と生体適合性などの機能との関係について考察する。

2P-006- I

炭酸アパタイト顆粒の *in vitro* における溶解性試験

九州大学大学院歯学研究院生体材料学分野

○林幸孝朗 (Hayashi Koichiro), 土谷 享, 杉浦悠紀, 石川邦夫

【緒言】

我々は、生体骨の無機成分である炭酸アパタイトに着目し、溶解析出型の相変換反応を応用することで生体骨と同等以上の炭酸基を含む炭酸アパタイト顆粒の開発に成功している。本研究では、炭酸アパタイト顆粒の吸収特性を評価することを目標として、*in vitro* 溶解性試験において β -リン酸三カルシウム (β -TCP)、ハイドロキシアパタイト (HAp)、ウシ骨由来 HAp 製の顆粒状人工骨と比較評価したので報告する。

【実験】

被験物質は CO_3Ap 顆粒 (GC、粒径:300-600 μm)、対照物質はウシ骨顆粒 (Bio-Oss、Geistlich、粒径:250-1000 μm)、 β -TCP 顆粒 (Cerasorb M、Curasan AG、粒径:150-500 μm)、HAp 顆粒 (NEOBONE、Coorstek、粒径:500-1000 μm) とした。*In vitro* 溶解性試験は JIS T 0330-3 に準拠して実施した。体液を模した pH 7.30 の溶液及び破骨細胞産生液を模した pH 5.50 の溶液中に各被験物質を浸漬し、測定時間内 30 分の平均溶解速度 R_{a30} (mmol/s) を求めた。試験は $n=3$ で実施した。

【結果と考察】

各被験物質の pH 5.50 における R_{a30} はそれぞれ CO_3Ap 顆粒: 2.185 ± 0.291 mmol/s、ウシ骨顆粒: 2.241 ± 0.155 mmol/s、 β -TCP 顆粒: 4.899 ± 0.485 mmol/s、HAp 顆粒: 0.267 ± 0.015 mmol/s であった。また、pH 7.30 における R_{a30} は CO_3Ap 顆粒: 0.101 ± 0.019 mmol/s、ウシ骨顆粒: 0.159 ± 0.004 mmol/s、 β -TCP 顆粒: 0.389 ± 0.066 mmol/s、HAp 顆粒: 0.015 ± 0.010 mmol/s であった。pH 5.50 において、吸収性人工骨である β -TCP 顆粒の R_{a30} は他の被験物質よりも有意に高く、非吸収性人工骨である HAp 顆粒は有意に低くなっていた。 CO_3Ap 顆粒及びウシ骨顆粒の R_{a30} は β -TCP 顆粒及び HAp 顆粒の中間であった。また、pH 7.30 でも同様の傾向が見られたが、 β -TCP 顆粒を除き各被験物質の溶解量は微量であった。以上の結果から CO_3Ap 顆粒は体液中では安定であり、破骨細胞の働きにより吸収される、生体骨と類似した特性を有する人工骨であることが示唆された。

2P-007- I

液相合成法にて形成した ZnO/HAp 被膜の抗菌性能

北見工業大学工学部地球環境工学科

○大津直史 (Ohtsu Naofumi), 角地優子, 大槻飛翔

【緒言】チタン (Ti) 材料はその高い生体安全性および優れた機械的特性から医療用素材として幅広く利用されているが、Ti 材料には骨組織と積極的に馴染んだり病原性細菌を死滅させたりする機能はない。表面に抗菌性金属を含むハイドロキシアパタイト (HAp) 被膜を形成することで骨適合性と抗菌性を同時に Ti 材料に付与することができ、その抗菌性金属として Ag がこれまで検討されてきた。我々は Ag に代わる抗菌性金属として体内必須ミネラルである Zn に着目した。Zn はそのイオンが抗菌性能を示す他に、ZnO にも接触殺菌機能があることが報告されている。そこで本研究では、表面に ZnO が析出している HAp 被膜 (ZnO/HAp) を液相合成法にて Ti 基材上に形成しその被膜構造を調べた後、疑似体液中への Zn イオン溶出速度および被膜の抗菌性能を調べた。

【実験】コーティング溶液は、1.0M の $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ エタノール溶液と 0.6M リン酸水溶液を等量混合したものに、ZnO 水溶液を $[\text{Zn}]/[\text{Ca}]$ 比が 0.012, 0.12 及び 1.2 になるように加えて調整した。Ti 基板上にスピコート法で被膜を形成し、その後、大気中・923K で熱処理した。被膜の結晶性を XRD で、膜厚を XRF で、表面構造を SEM で、深さ方向プロファイルを XPS でそれぞれ調べ、さらに Zn 溶出速度を原子吸光光度法で測定した。抗菌試験は JIS Z2801 に準拠した方法で大腸菌 (ATCC 25922) 及び表皮ブドウ球菌 (ATCC 14990) に対しておこなった。

【結果と考察】XRF より、被膜膜厚は約 200 nm であり、その $[\text{Ca}]/[\text{P}]$ はアパタイトの比である 1.67 とほぼ一致することがわかった。また XRD パターンより、結晶化した HAp 被膜の形成が確認され、さらに $[\text{Zn}]/[\text{Ca}]=1.2$ の場合にのみ ZnO に対応するピークも観察された。深さ方向プロファイルより Zn の表面濃化が観察され、SEM 像からこの濃化は ZnO の析出によるものであることがわかった。ZnO/HAp 被膜をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 溶液に浸漬すると、その表面から Zn イオン溶出していくことがわかり、その速度は Zn 含有量の増加とともに増加した。また、これら試料の抗菌性能を調べると、 $[\text{Zn}]/[\text{Ca}]$ 比が 0.12 以上の被膜においては、大腸菌の生存率の著しい減少が観察され、さらに、表皮ブドウ球菌でも同様の減少が確認された。また、 $[\text{Zn}]/[\text{Ca}]$ 比が 0.12 と 1.2 に試料間では、抗菌性能の差異はほとんど観察されなかった。

2P-008- I

炭酸アパタイト顆粒のイヌ抜歯窩における吸収性評価

九州大学大学院歯学研究院生体材料学分野

○杉浦悠紀 (Sugiura Yuki), 林幸彦朗, 土谷 享, 石川邦夫

【緒言】

骨再建術において医師の第 1 選択は自家骨移植であるが、骨採取に伴う健常部位への侵襲や採取可能な骨量の制限など課題も多い。この課題を解決するために、我々は生体骨の無機成分である炭酸アパタイト (CO_3Ap) に着目して、生体骨と同等以上の炭酸基を含む CO_3Ap 顆粒の開発に成功している。本発表では、 CO_3Ap 顆粒をビーグル犬下顎骨抜歯窩へ埋植した際の経時的な吸収と骨置換を評価したので報告する。

【実験】

被験物質は S サイズ (300-600 μm) 及び M サイズ (600-1000 μm) の CO_3Ap 顆粒 (GC) とした。動物試験は AAALAC 認定施設にて、動物倫理委員会の承認を得て実施した。ビーグル犬 (11 ヶ月齢以上、雄) の左右下顎前臼歯 (P3、P4) を抜歯し、抜歯窩に被験物質を埋植した。所定の期間埋植後 (12、26、39、52 週) に被験部位を取り出し、非脱灰標本 (Villanueva bone 染色) を作製した。デジタル化した顕微鏡観察像の顆粒面積を Image J (NIH) を用いて算出し、経時的なサイズの変化を評価した。また、病理組織標本から治癒の形体を評価した。

【結果と考察】

病理組織学的評価から、膿瘍形成による異常な炎症細胞の浸潤等の異常な所見が見られないことを確認した。 CO_3Ap 顆粒の経時的なサイズ変化を評価したところ、S サイズは初期: $0.098 \pm 0.062 \text{ mm}^2$ 、12 週: $0.050 \pm 0.040 \text{ mm}^2$ 、26 週: $0.039 \pm 0.042 \text{ mm}^2$ 、39 週: $0.047 \pm 0.035 \text{ mm}^2$ 、52 週: $0.030 \pm 0.021 \text{ mm}^2$ であり、M サイズは初期: $0.337 \pm 0.249 \text{ mm}^2$ 、12 週: $0.169 \pm 0.135 \text{ mm}^2$ 、26 週: $0.144 \pm 0.111 \text{ mm}^2$ 、39 週: $0.157 \pm 0.132 \text{ mm}^2$ 、52 週: $0.084 \pm 0.070 \text{ mm}^2$ であった。各埋植期間において、初期のサイズから有意に小さくなっていた (有意水準 0.5%)。以上の結果から、 CO_3Ap 顆粒は抜歯窩において骨のリモデリングとともに吸収されて、骨に置換される材料であることが確認された。

2P-009- I

Au-Nb 合金の熱処理条件が磁化率に与える影響

¹徳島大学大学院生体材料工学分野, ²徳島大学歯学部, ³徳島大学大学院歯科放射線学分野

○宇山恵美¹ (Uyama Emi), 児玉彩子², 誉田栄一³, 浜田賢一¹

【緒言】

体内に金属製デバイスが留置されていると、磁気共鳴画像 (MRI) 撮影時に生体と金属の磁化率差に起因するアーチファクトを生じ、周囲組織の画像情報が劣化し診断の妨げとなることが深刻な問題となっている。この問題を解消するために磁化率が、生体とほぼ等しく (-9ppm)、アーチファクトを生じない生体医療用合金の候補として Au-Nb 合金を開発した。Au-Nb 合金は熱処理によって過飽和固溶体から Au₂Nb を析出させると、Au₂Nb の磁化率が小さいため合金全体の磁化率は減少するはずだが、時効処理温度によって増減両方を示すことが分かった。そこで、本研究では時効処理温度が、磁化率に与える影響を詳細に調べた。

【実験】

Au-12Nb 合金、Au-15Nb 合金をアルゴンアーク溶解で作製し、1000℃にて1週間均質化処理を施した。その後、インゴットを300℃で熱間圧延し、1000℃で20時間焼鈍を行った。時効処理温度は600℃、800℃とし、熱処理条件は①100時間まで600℃、100時間以降800℃、②100時間まで800℃、100時間以降600℃、とした。磁気天秤で磁化率を測定し、XRDで相構成を調べた。

【結果と考察】

Au-12Nb 合金 (焼鈍後: α相)、Au-15Nb 合金 (焼鈍後: α相+Au₂Nb) とともに、①では600℃処理で磁化率が増加、800℃処理で磁化率が減少し、②では800℃処理で磁化率が減少、600℃処理では磁化率はほとんど変化しなかった。時効処理後の磁化率は①、②でほぼ等しく、相構成はいずれもα相+Au₂Nbであった。このことから、磁化率の増減の違いは析出したAu₂Nbの違いではないと考えられた。Au₂Nb析出により合金に内部歪が生じても、800℃では焼鈍により歪が解消され歪が磁化率に影響することはないが、600℃では温度が低く焼鈍されず歪が磁化率を増加させる、と考えるところの結果は説明できる。

2P-010- I

リン酸ハカルシウムを前駆体としたフルオロアパタイトの溶解性に関する研究

¹東北大学大学院歯学研究科顎口腔機能創建学分野, ²東北大学大学院歯学研究科歯学イノベーションリエゾンセンター
筒井 生¹ (Tsutsui Sei), ○穴田貴久¹, 塩飽由香利^{1,2}, 土屋香織¹, 鈴木 治¹

【緒言】

歯牙を構成する主成分は、ハイドロキシアパタイト (以下、HAと記載) を基本型とする無機リン酸カルシウムであり、アパタイトの水酸基にフッ化物イオンが置換したフッ化アパタイト (FA) を形成することにより、生理的 pH における溶解性が HA よりも低くなることが知られている。また、オーラルケアにおいては、キシリトールやソルビトールなどのポリオールは、う蝕予防に有効と考えられ、歯磨剤の汎用原料として用いられている。我々は、歯磨剤の汎用原料であるポリオールとフッ化物の共存下におけるハイドロキシアパタイト(HA)ペレットへの F 付着について報告した (第69回日本歯科理工学会学術講演会)。本研究では、リン酸ハカルシウム (OCP) を前駆体として形成された FA などのリン酸カルシウム粉体を用いてそのメカニズムについて検討するとともに、モデル材料として用いた各種粉体の化学的物性についても評価を行った。

【実験】

モデル粉体としては、市販の HA 粉体および FA 粉体と、合成により得た FA 粉体 (Laboratory synthesized FA: LS-FA) を用いた。各粉体に、種々の濃度 (0~200 ppm) のフッ化物イオンを含む乳酸水溶液 (pH 4.5 に調整) を添加し、室温で振とうした後、遠心分離を行い、上清カルシウム濃度およびリン酸濃度を比色法により測定した。また、乳酸水溶液の代わりにポリオール水溶液を用いて同様の検討を行った。

【結果と考察】

LS-FA は溶解性を有し、FA や HA とその挙動が異なっていた。また、ポリオールは HA を溶解させてカルシウムイオン濃度を増加させ、共存するフッ化物イオンと反応することで、フッ化カルシウムの沈着を促進する可能性が示唆された。

2P-011- I

炭酸アパタイトとコラーゲン複合化による柔軟性のある骨再建用バイオマテリアルの開発

¹徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔外科学分野, ²福岡歯科大学学生体工学分野, ³九州大学歯学研究院生体材料学分野
○秋田和也¹ (Akita Kazuya), 福田直志¹, 藤澤健司¹, 宮本洋二¹, 都留寛治², 石川邦夫³

【緒言】

炭酸アパタイトは、生体内で吸収され骨に置換する性質を有するため、新規骨再建材料として期待されている。われわれは、低結晶性炭酸アパタイトの合成に成功し、治験を経て、現在、顆粒状の緻密体炭酸アパタイトについて承認申請中である。顆粒状の骨補填材は充填などの操作性に劣り、術後に顆粒が移動するなどの問題がある。そこで、われわれは、炭酸アパタイト顆粒の操作性向上のため、炭酸アパタイトをアテロコラーゲンと混合することにより、柔軟性を示すスポンジ状の炭酸アパタイト・コラーゲン複合体を作製し、その物理学的特性を検討したので報告する。

【実験】

1%アテロコラーゲン溶液と炭酸アパタイト顆粒（平均粒径 33 μ m、112 μ m）を炭酸アパタイト含有量 10wt%で混合し、円柱型のモールドに填入後、液体窒素にて急速凍結後に、-80℃で 2 時間以上凍結した。次に、24 時間凍結乾燥を行い、155℃で 4 時間熱架橋を行うことで、スポンジ状の炭酸アパタイト・コラーゲン複合体を作製し、形態の観察、物性および生理食塩水中での安定性を評価した。

【結果と考察】

作製した炭酸アパタイト・コラーゲン複合体は、走査型電子顕微鏡による形態観察で、炭酸アパタイト顆粒はコラーゲン繊維と密に結合し、多孔性の構造が保たれていた。また、圧縮試験により、どちらの粒径の複合体もコラーゲンスポンジと同等な弾性を認めた。さらに生理食塩水中に浸漬した場合も、形態は保持されていた。以上のことより、炭酸アパタイト・コラーゲン複合体は臨床応用可能な弾性を有し、体液中で形態を維持できる可能性が明らかになった。今回、動物実験の結果も合わせて報告する。

2P-012- I

人工関節コーティング用途向けハイドロキシアパタイトの紹介

富田製薬株式会社

○宮城大輔 (Miyagi Daisuke)

【緒言】

これまで弊社では生体材料向けの無機素材の開発を行っており、現在は人工骨、歯科インプラント、人工関節コーティングといった用途向けの無機素材を製造している。今回、人工関節コーティングの用途向けに開発、現在製造販売しているハイドロキシアパタイトを紹介する。また形態制御の開発も行っており、繊維状に加工したハイドロキシアパタイトを紹介する。

【実験】

酸化カルシウムを製造水に懸濁して加温し、水酸化カルシウム懸濁液を調製した。次に、この懸濁液にリン酸水溶液を加えハイドロキシアパタイトを調製した。この合成液を噴霧乾燥機で乾燥し、さらに整粒した後、電気炉で焼成してハイドロキシアパタイトを得た。これら一連の工程をプラントスケールで実施し、得られたハイドロキシアパタイトについて、人工関節用途としての評価試験を行った。

一方で、繊維状のハイドロキシアパタイトについて、はじめにハイドロキシアパタイト懸濁液を調製し、次に任意の比率となるように分散剤及び増粘剤を添加して混練液を調製し、この混練液から繊維状のハイドロキシアパタイト乾燥品を得た。さらに、この乾燥品を焼成し、得られた繊維状のハイドロキシアパタイト焼成品の評価を行った。

【結果と考察】

cGMP 認定工場での人工関節コーティングの用途向けに適した物性を有したハイドロキシアパタイトの製造が可能である。

また、純粋な組成のままの繊維状ハイドロキシアパタイトを得ることができ、さらに β TCP との組成比率を任意に制御できることを確認した。

2P-013- I

ハイドロキシアパタイトエレクトレットの帯電特性に与える熱処理条件の影響

東京医科歯科大学学生体材料工学研究所

○堀内尚紘 (Horiuchi Naohiro), 大塚啓介, 野崎浩佑, 中村美穂, 永井亜希子, 山下仁大

【緒言】 バイオセラミックスであるハイドロキシアパタイト (HAp) は、近年ではエレクトレット材料としての可能性が見出されている。エレクトレットとは、表面に安定な電荷を保持し、外部に電界を半永久的に形成する材料であり、フィルターや振動発電などに利用される。エレクトレット化のメカニズムについては、既存の研究において、分極処理による水酸化物イオンの配向分極やプロトンの移動による分極が関与することが明らかになっているが、分極形成とエレクトレットの性能の関係についての詳細は未解明である。本研究では、異なる条件で作製した HAp エレクトレットに対して熱刺激脱分極電流 (TSDC) 測定を行うことによりその分極状態を評価し、さらにその分極状態のエレクトレット性能を評価することで、分極形成とエレクトレットの帯電特性との関係を調査した。

【実験】 合成した HAp 粉を加圧成型し、水蒸気雰囲気での熱処理により焼結体を得た。エレクトレット化処理 (ポーリング) は、4000 V/mm の直流電圧により行った。200 °C に昇温して電圧印加を開始し、15 分間の保持後、冷却した。電圧は冷却中も保持した。作製したエレクトレットについて、異なる温度 (100–280 °C) で 30 分間熱処理を行った後、分極状態の評価として TSDC 測定を行い、また、エレクトレットの帯電特性評価として表面電位計 (春日電機 KSD-3000) により表面電荷が作る電位差を測定した。

【結果と考察】 各熱処理条件によって得られた TSDC 曲線では、熱処理温度の上昇に伴い、ピークが右にシフトした。これは、熱処理により一部の分極成分が脱分極したためである。200 °C 熱処理を施した試料では、水酸化物イオンの配向分極が脱分極され、プロトン伝導によって形成された分極を持つエレクトレットとなった。また、280 °C で熱処理をした試料では、水酸化物イオンの配向分極に加えて、結晶粒界に関連する界面分極が消失した。すなわち、試料に対して異なる温度の熱処理をおこない部分的な脱分極を起こすことにより、分極状態を変化させた試料を得ることが可能であることが示された。分極状態と表面電位を比較した結果、エレクトレットの帯電は、結晶粒界に関連する界面分極が最も重要な要因であることが分かった。

2P-014- I

カルシウム欠損が β 型リン酸三カルシウムエレクトレットの電気特性に与える影響

¹ 東京医科歯科大学学生体材料工学研究所, ² 千葉工業大学

○野崎浩佑¹ (Nozaki Kosuke), 遠藤敬幸², 堀内尚紘¹, 山下仁大¹, 橋本和明², 位高啓史¹, 永井亜希子¹

【緒言】

β 型リン酸三カルシウム (β -TCP) は骨補填材として幅広く臨床応用されており、優れた骨形成能を示す。我々は電気分極処理により表面電荷を制御したリン酸カルシウム系セラミックスは、接着した骨芽細胞の機能を制御し、骨形成能を亢進することを報告してきた。カルシウム欠損は電気分極処理による表面電制御のキャリアとなりうるが、 β -TCP におけるその詳細なメカニズムは明らかとなっていない。そこで本研究では、カルシウム欠損が β -TCP の電気分極処理による表面電荷制御に及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。

【実験】

カルシウム欠損量を制御する為に、Na イオン固溶量の異なる Na イオン固溶 β -TCP (Na- β -TCP) を固相反応法により合成した。この時、出発原料である炭酸カルシウムとリン酸二水素二アンモニウム、炭酸ナトリウムのモル比 ($[\text{Ca}]+[\text{Na}]+[\text{r}]/[\text{PO}_4]$) を 1.571 になるように混合した。また、Na イオン仕込み量を 0~9.09mol% で調整した。得られた粉体を一軸加圧成形し、昇温速度 3°C/min で 1100°C、12 時間で焼結した。得られた試料の表面電荷制御のため、試料を 400°C まで加熱し、直流電源装置を用いて 1 V を印加した。なお、構造ひずみの解放を防ぐために、室温に降下するまで、電圧は印加し続けた。表面電荷の測定には熱刺激脱分極電流 (TSDC) 測定を行った。

【結果と考察】

いずれの試料も β -TCP 結晶構造に帰属する ICDD の回折パターンと一致するピークが見られた。TSDC 測定の結果、蓄積電荷量は Na イオンを 2.37mol% 固溶した試料においてはリニアに減少し、その後プラトーに達したことから、活性化エネルギーの結果と同様に物質移動の温度依存性の低下が示唆された。以上の結果より、 β -TCP の電気分極処理による表面電荷の発生は A カラムのカルシウム欠損を起点とすることが示唆された。

2P-015- I

タンパク質固定化生分解性フィルムへの骨芽細胞様細胞の付着および増殖

¹ 日本大学松戸歯学部歯科臨床検査医学, ² 鶴見大学歯学部歯科理工学

○布施 恵¹ (Fuse Megumi), 福本雅彦¹, 早川 徹²

【緒言】 ポリ乳酸(PLA)などの生分解性材料は、組織再建材料として再生医療やドラッグデリバリーシステムなどに応用されている。歯科領域においても歯周組織や歯槽骨の再生、或いは顎骨の再生用メンブレンとして使用されている。しかしながら、これらの材料は、細胞の接着、増殖、分化促進や抑制を制御するような生理活性機能は付与されていない。本研究では、操作性を考慮して、より弾性を有するポリε-カプロラクトン(PCL)/PLA 共重合体(PLCL)に着目し、PLCL フィルムに細胞接着タンパクであるフィブロネクチン(FN)、細胞非接着性タンパク質であるアルブミン(Alb)の固定化を試みた。固定化フィルムへのマウス骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1)の付着、増殖、および形態変化について比較検討した。

【実験】 PCL/PLA 共重合体(PLCL: 75/25)をクロロホルムに溶解した。この溶液をキャストして得られた PLCL フィルムを 0.5M NaOH 水溶液に 3 時間浸漬して、カルボキシル基導入フィルムを得た。その後、FN または Alb 水溶液に 48 時間浸漬して、FN または Alb 固定化フィルム (FN-PLCL, Alb-PLCL) を得た。固定化フィルムに MC3T3-E1 を播種し、90 分後、3 日後および 7 日後の細胞数の測定、細胞形態の観察を行った。

【結果と考察】 90 分間細胞培養後では、FN-PLCL は、Alb-PLCL に比較して有意に細胞付着数の増加を示したが ($p<0.05$)、3 日後および 7 日後の細胞数には有意差は認められなかった。細胞形態は、90 分間培養後では FN-PLCL は、Alb-PLCL に比較して細胞が扁平化し、葉状仮足と糸状仮足がみられ、3 日後および 7 日後ではさらに細胞は扁平化し、広がりが増えられた。Alb-PLCL では、細胞は球状で伸展はみられなかった。Fn 固定化は、細胞の初期付着や増殖に効果的であり、付着細胞の形態に影響を与え、一方、Alb 固定化は細胞の初期付着や増殖に抑制的に作用することが分かった。以上、この方法により、生体材料の目的に応じて細胞の増殖を向上、あるいは抑制できる可能性が示され、新規の傾斜機能フィルムの開発が期待できるものと思われる。

2P-016- I

N-アセチルグルコサミン糖鎖修飾絹フィブロインの血管再生用基材としての特性評価

¹ 農業・食品産業技術総合研究機構生物機能利用研究部門, ² 農業・食品産業技術総合研究機構高度解析センター,

³ 株式会社バイオ未来工房, ⁴ 国立医薬品食品衛生研究所, ⁵ 九州大学先端物質化学研究所

○後藤洋子¹ (Gotoh Yohko), 山崎俊正², 石塚保行³, 新見伸吾⁴, 伊勢裕彦⁵

【緒言】 絹フィブロイン (SF) は蚕が生産する繊維タンパク質であり、その成形性及び物理化学特性を生かして人工血管材料への応用が検討されている[1]。人工血管材料は抗血栓性を有することが必要なため、天然の抗血栓性機能を持つ血管内皮細胞が接着・増殖しやすい材料が人工血管材料として有望と考えられている。一方、血管内皮細胞などの間葉系細胞の表面では細胞骨格タンパク質のビメンチンが発現し、ビメンチンを介して細胞が N-アセチルグルコサミン (GlcNAc) 糖鎖を認識・結合することが明らかにされている[2]。本研究では人工血管材料に適するように SF を改変することを目的に、GlcNAc の二糖 N,N'-ジアセチルキトビオース (GlcNAc2) を化学修飾した SF の作製を行った。そして GlcNAc2 修飾 SF (SF-GlcNAc2) を基材に用いた血管内皮細胞の培養により糖鎖導入効果を検証した。

【実験】 アルカリ条件下塩化シアヌルとの反応でトリアジニル誘導体とした GlcNAc2 による SF のアミノ酸残基の化学修飾で、SF-GlcNAc2 を作製した。生成物における糖鎖導入を確認するため、¹H-NMR スペクトル測定と小麦胚芽レクチンを用いた凝集反応を行った。SF-GlcNAc2 あるいは SF を吸着コートした組織培養用マイクロプレートを用いてヒト臍静脈内皮細胞を血清添加条件下で 2 時間及び 3 日間培養し、試料コートプレート上の細胞数を WST-8 アッセイにより評価した。

【結果と考察】 SF-GlcNAc2 の ¹H-NMR スペクトルにおける N-アセチル基のメチル水素由来ピークの出現と、小麦胚芽レクチンの GlcNAc 糖鎖への結合・凝集に基づくレクチン添加時の SF-GlcNAc2 水溶液の濁度上昇から、目的物の作出を確認した。細胞培養を行ったところ、SF-GlcNAc2 上の細胞数は培養 2 時間後及び 3 日後ともに SF 上の細胞数より有意に高い値を示したが、2 時間後に比べ 3 日後の基材間の細胞数の差は減少した。これらの結果から、SF への GlcNAc 糖鎖の導入は血管内皮細胞の増殖性よりも接着性を向上させるのに有効であることが示唆された。

[1] Derya A et al., Adv Healthcare Mater 2, 361-368 (2013). [2] Ise H et al., Glycobiology 20, 843-864 (2010).

2P-017- I

多剤徐放制御を可能とするヒアルロン酸-高分子ミセル複合化ゲルの開発

東京農工大学大学院工学府応用化学専攻

○高橋京香 (Takahashi Hiroka), 高見 拓, 村上義彦

【緒言】 現在、がん治療において、複数の抗がん剤同士の相乗効果を利用して治療効果を高める多剤併用療法が広く行われている。しかし、適切な投与量や投与タイミングは抗がん剤ごとに異なるため、複数の薬物の投与を独立に制御することができる材料の開発が求められているが、そのような材料は実用化に至っていない。そこで本研究では、異なる薬物を内包した複数の高分子ミセルによってヒアルロン酸を架橋することで、体内留置可能な多剤徐放性・組織接着性ゲルの開発を目指した。架橋剤として用いる高分子ミセルは疎水性薬物を内核に担持可能であり、ミセルを構成するブロック共重合体の組成を変化させることによって薬物放出速度を制御することができる。

【実験】 カリウムナフタレンで末端をメタル化した 3, 3'-ジエトキシプロパノールを開始剤として、エチレンオキサイド、DL-ラクチドを順に添加した後、酢酸を加えて重合反応を停止することによって片末端アセタール化 PEG-*b*-PLA を合成した。得られたブロック共重合体と蛍光性物質を有機溶媒に溶解し、純水中で透析することによって、蛍光物質内包ミセルを調製した。その後、塩酸を加えてミセル表面のアセタール基を脱保護することによって、表面アルデヒド化高分子ミセルを得た。得られた高分子ミセルと側鎖にアミノ基を導入したヒアルロン酸と混合することによって、ゲルを形成した。粘弾性測定装置を用いてゲルの形成特性を、蛍光顕微鏡を用いてゲルの物質放出特性を詳細に評価した。また、表面メトキシ化高分子ミセルを調製し、高分子ミセル表面のアルデヒド化率がゲルの形成に及ぼす影響を評価した。

【結果と考察】 高分子ミセルを形成するブロック共重合体の疎水部 (PLA) の分子量が大きいほど、得られるゲルの貯蔵弾性率は高くなった。これは、PLA の分子量が大きいほどミセル形成の駆動力である疎水性相互作用が強くなり、内核が密に絡み合ったミセルを形成したためであると考えられる。表面メトキシ化高分子ミセルを用いてもゲルは形成せず、片末端メトキシ化 PEG-*b*-PLA と片末端アセタール化 PEG-*b*-PLA の混合によってゲルの強度を制御できる可能性が示唆された。さらに、蛍光物質の放出速度が PLA の分子量に依存することを明らかにし、蛍光顕微鏡で観察することによって、ゲルからの複数の物質の放出挙動を三次元的に評価することができた。

2P-018- I

ゾル-ゲル転移を利用して形成した多糖-高分子ミセル複合化シートの開発

東京農工大学大学院工学府応用化学専攻

○伊藤正規 (Ito Masanori), 高見 拓, 村上義彦

【緒言】 がん組織の摘出手術は根治の可能性が高いため積極的に行われているが、手術後の再発や転移を抑制する目的で抗がん剤を併用することが一般的である。通常、抗がん剤は経口投与や静脈注射を利用するが、患部に直接投与する局所投与が実現すれば、副作用の抑制や治療効果の増大により、患者の QOL の向上が期待できる。しかし、局所への過剰な薬物の投与は副作用の原因となるため、局所投与材料には「患部に長期間留まり」「生体組織を侵さず」「薬物を徐々に放出する」性質が必要とされているが、これらの性質を有する材料の開発は困難である。本研究では、生体適合性の高い多糖類であるグラランガムのゾル-ゲル転移を利用したシート状材料の開発を検討した。シート状材料は分子間力による適度な密着性を有しているため、生体組織への炎症のリスクを抑制できる。ゾル状態のグラランガム水溶液中に、抗がん剤などの疎水性薬物の放出を制御可能な高分子ミセルを共存させることで、ゲル化の際に高分子ミセルを内部に固定化し、薬物を放出制御可能な多糖-高分子ミセル複合化シートの実現を目指した。

【実験】 親水部にポリエチレングリコール、疎水部にポリ乳酸を有する両親媒性ブロック共重合体 (methoxy-PEG-*b*-PLA) を利用して高分子ミセルを調製した。高温の純水中でグラランガムと高分子ミセルを混合し、高分子ミセル分散グラランガム水溶液を調製し、キャスト、冷却、乾燥を経てシートを作製した。作製したシートの各種物性 (粘弾性や厚みなど)、およびシートからの疎水性蛍光物質 (ロードミン B) の放出挙動を評価した。

【結果と考察】 動的光散乱 (DLS) 測定の結果から、シート作製時の温度 (90°C) においても高分子ミセルは安定に分散した。さらに、二種類のグラランガム (脱アシル型グラランガム・ネイティブ型グラランガム) の混合比を変化させることで、用途に応じた任意の強度および柔軟性を有するシートを作製できることを明らかにした。シート断面の SEM 観察像から、数 μm 程度の厚さのシートが得られた。さらに、シートからの蛍光物質の放出挙動から、高分子ミセルに内包することで内包物の放出制御が可能であることが示唆された。

2P-019- I

組織接着性材料への応用を目指した多糖-高分子ミセル複合化ゲルの開発

¹ 東京農工大学大学院工学府応用化学専攻

○清水大輔 (Shimizu Daisuke), 高見 拓, 村上義彦

【緒言】所望の部位に留置し、薬物の徐放を制御することができる材料の実現は、現在の DDS 研究の大きな課題の一つである。そこで本研究では、内包した疎水性物質の放出制御が可能な高分子ミセルを架橋構造として利用し、側鎖にアミノ基を有する高分子を架橋することで形成される組織接着性ハイドロゲルの開発を目指した。このゲルは組織接着性と薬物徐放性を併せもち、薬物放出材料、止血材、癒着防止材などへ応用可能であると考えられる。特に今回は、アミノ化ヒアルロン酸 (HA-ADH) と PEG 修飾キトサン (PC) をゲルの主鎖として用い、より弾性率が高くゲル化時間が短いゲルの形成条件の探索を検討した。

【実験】末端アセタール化ポリエチレングリコール-*l*-ポリ乳酸 (acetal-PEG-PLA) を用いて高分子ミセルを調製した。次に、ヒアルロン酸 (1.63 MDa) を純水に溶解し、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドおよびアジピン酸ジヒドラジドの混合溶液を添加することによって、HA-ADH を得た。また、キトサンを酢酸緩衝液に溶解し、末端アセタール化 PEG、NaCNBH₃ を添加することによって PC を合成した。さらに、PEG をアセトニトリルに溶解し、トリエチルアミンと *N,N'*-ジスクシンイミジルカーボナートを順に添加することによって、両末端スクシンイミジル化 PEG (DS-PEG) を合成した。HA-ADH と DS-PEG を反応させることによって、あらかじめ部分架橋された HA-ADH (cl-HA-ADH) を合成した。高分子ミセル、HA-ADH (あるいは cl-HA-ADH)、PC を用いてゲルを調製し、レオメーターで粘弾性測定を行った。

【結果と考察】混合する二液の pH を変化させてゲルを形成させることによって、測定から 60 分後の貯蔵弾性率 (G'_{60}) が大きく、ゲル化時間が短いゲルが得られる条件を見出した。また、HA-ADH 水溶液と PCD 水溶液の混合溶液からゲルを調製したところ、 G'_{60} の増加やゲル化時間の短縮は見られなかったが、柔軟性の向上が示唆された。さらに、アミノ基の 5~20% を部分架橋した cl-HA-ADH 水溶液を調製し、ミセル水溶液と混合して粘弾性測定を行ったところ、あらかじめ部分架橋しなかったゲルと比較して、 G'_{60} が 3 倍以上大きく、ゲル化時間が短いゲルが得られた。

2P-020- I

RAFT 重合によるタンパク質固定化用高分子の合成と機能評価

東京農工大学大学院工学府応用化学専攻

○森 悠太 (Mori Yuta), 高見 拓, 村上義彦

【緒言】ハイドロゲル中に抗体や酵素などの生体分子を組み込むことで、特定の分子を認識して体積変化を起こす分子応答性ゲルが注目されている。このようなゲルを実現するためには、ゲルネットワーク中に抗体や酵素などのタンパク質を固定化する技術が重要である。そこで本研究では、複数のタンパク質を固定化可能な高分子架橋剤を合成し、そのゲル形成能を評価した。

【実験】本研究室で開発した新奇な RAFT 剤 2-[*N*-(2-hydroxyethyl)carbamoyl]prop-2-yl 4-hydroxydithiobenzoate (HECPHD)、*N*-acryloylmorpholine (NAM)、*N*-succinimidyl acrylate (NSA)、2,2'-azobis[2-methyl-*N*-(2-hydroxyethyl)propionamide] (VA-086) を 1,4-dioxane 中において 90°C で 24 時間攪拌し、RAFT 重合によって両末端に OH 基を有する高分子 DTB-PAS-diol を合成した。反応溶液には ¹H-NMR 解析時に基準物質となる 1,3,5-trioxane をあらかじめ添加した。任意の時間において採取した反応溶液に対して ¹H-NMR 測定を行うことによって、モノマー転化率を算出した。さらに、DTB-PAS-diol に対し acryloyl chloride と triethylamine を加え、dichloromethane 中において室温で 18 時間攪拌することによって、両末端がアクリロイル化された高分子架橋剤 DTB-PAS-DA を合成した。さらに、合成した DTB-PAS-DA を架橋剤とし、acrylamide、ammonium peroxodisulfate (APS)、および tetramethylethylenediamine (TEMED) をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS、20 mM、pH7.4) 中で反応させることでゲルを調製した。

【結果と考察】¹H-NMR 測定によって算出したモノマー転化率の経時変化から、両モノマーの消費速度が非常に近いことが確認された。この結果から、ランダム性が高い共重合体が合成され、タンパク質を固定化するための活性エステル部位が高分子鎖中へ均一に導入されたことが示唆された。また、得られた高分子架橋剤を用いてゲルを形成することによって、反応開始から 30 分後にゲル化が完了したことをバイアル傾斜法によって確認した。この結果より、DTB-PAS-DA がゲルの架橋剤として機能することが確認された。

2P-021- I

PEG 化リシン連鎖ペプチドと DNA との複合体形成における PEG 鎖の寄与の解析

東京大学大学院工学系研究科マテリアル工学専攻

○佐々木一貴 (Sasaki Kazuki), 山崎裕一

【緒言】

当研究室では遺伝子デリバリー用のベクター候補としてリシン鎖長を精密に制御した PEG 化オリゴリシンを研究している。PEG 化オリゴリシンと DNA との複合体は PEG 部分を外殻とした高分子ミセルを形成し、二次凝集が抑制され、水溶液中での安定性に優れることがわかっている。先行研究では、このオリゴリシンと、PEG 化オリゴリシンとの間で DNA 凝縮における複合体形成能の比較がなされ、PEG 鎖の付与によって複合体形成能が向上する可能性が示唆されたが、DNA との相互作用の違いは明らかとなっていない。そこで本研究では、PEG 鎖の有無によるペプチドの DNA との相互作用の違いを定量化し、PEG 鎖が DNA とオリゴリシンとの複合体形成機構へ与える影響を考察することを目的とする。

【実験】

トリプトファンで蛍光標識したオリゴリシンと、それを PEG 化した PEG 化オリゴリシンをペプチド溶液として用い、DNA 溶液を各ペプチド溶液へ滴下する滴定を行い、蛍光分析によって DNA との結合定数を求めた。

次に、オリゴリシンと PEG 化オリゴリシンで DNA 凝縮の完了する N/P 比(ポリカチオンの正電荷と DNA のリン酸基による負電荷の比)を、EtBr を用いた色素排除試験、アガロースゲル電気泳動、TEM 観察によって比較した。

【結果と考察】

結合定数解析の結果、Lys-Trp-Lys の DNA に対する結合定数が 37 mol^{-1} であったのに対し、PEG-Lys-Trp-Lys の結合定数は 1060 mol^{-1} となり、約 30 倍の差があることを確認した。EtBr を用いた色素排除試験の結果、PEG 化オリゴリシンの方がオリゴリシンよりも低い N/P 比で蛍光強度の落ち込みが見られ、低い N/P 比で DNA 凝縮が誘起されていると考えられる。ゲル電気泳動と TEM 観察においても PEG 鎖を有するペプチドと DNA との複合体の方が低い N/P 比で凝縮形態をとるという結果が得られ、ペプチドへの PEG 鎖の付与により DNA 凝縮能も大きくなることが明らかになった。これらの結果から、PEG 鎖の有無によるオリゴリシンの DNA との相互作用の違いを定量化することができた。

2P-022- I

ポリプロピレングリコール系ブロック共重合体の分子運動性と血液適合性について

東海大学大学院工学研究科医用生体工学専攻

○奥田知熙 (Okuda Chihiro), 望月 明

【緒言】

これまで医用材料の血液適合性についての多くの報告があるが、血液適合性の理由はいまだに十分解明されてない。これまで我々はこの適合性発現において、材料中の水の構造が関与すると仮定し種々研究を進めている。そこで、メチルメタクリレート(MMA)(A)と PPG 鎖を構造の中心に持つ開始剤(B)を用いて AB 型ジブロック共重合体および ABA 型トリブロック共重合体を合成し、それぞれの血液適合性への影響について PPG 鎖、PMMA 鎖の運動性および PPG 中の水の運動性の観点から検討したので報告する。

【実験】

- 1.試料：PPG をもととした開始剤(α -ブロモイソブチル酸エステル)を合成し、MMA を PPG 鎖末端から重合してブロック共重合体を合成した。合成したポリマーは 500MHzNMR、および GPC により同定した。
- 2.血小板適合性：血小板浮遊血漿を試料と接触後、SEM 像から求める血小板数を適合性の指標とした。
- 3.分子運動性：400MHzNMR を用いてポリマー及び開始剤(PPG)について緩和時間を測定し、運動性の指標とした。

【結果と考察】

PPG または PMMA の分子量が異なるジブロックおよびトリブロック共重合体を合計 6 種類合成し、各ポリマーについて実験を行った。血小板適合性はジブロック共重合体の方がトリブロック共重合体より優れる傾向が見られた。ポリマーの運動性については PPG 鎖のエーテル酸素隣接炭素および PMMA 鎖のメチルエステル基のカルボニル炭素について $^{13}\text{C-T}_1$ 緩和時間を測定した。各ポリマーの PPG 鎖の運動性に差はみられなかったが、PMMA 鎖についてはすべてのポリマーで PMMA のホモポリマーよりも運動性が抑制されている事が分かった。これより、PPG によって PMMA の運動性が制限されていることが示唆される。さらに $^2\text{H-T}_1$ 緩和時間から、PPG 開始剤中に配位している水分子の運動性は PPG 分子量依存性があることが示された。当日は、ポリマー中の水の運動性と血液適合性についても加えて報告する。

2P-023- I

エバルを幹ポリマーPMEA を側鎖ポリマーとする血液適合性材料の開発

¹山形大学大学院理工学研究科, ²山形大学工学部バイオ化学工学科, ³九州大学先端物質化学研究所
○佐藤力哉^{1,2} (Sato Rikiya), 吉田 航¹, 長根元貴², 星野文香², 田中 賢³

【緒言】

Poly (2-methoxyethylacrylate) (PMEA) は、高い血液適合性を示すことから生体適合性材料として人工心肺等の表面コーティングに利用されている。当研究室では、汎用高分子であるエバル(EVOH)の側鎖に PMEA 構造を導入することによる新しい血液適合性材料の開発を行っている。本研究では、EVOH に導入した PMEA 鎖数と血液適合性について検討した。

【実験】

EVOH の側鎖水酸基への直接利用、または glycidol や 2-propenylchloride—O₃O₄ との反応により新たに導入した水酸基利用による ATRP を用いた PMEA 構造の導入を行い、生成ポリマーの、水との接触角、DSC による中間水の測定、また血小板粘着試験等により血液適合性を評価した。

【結果と考察】

得られたポリマーの ¹H-NMR による解析から、合成した溶媒可溶性ポリマーに導入された PMEA は、側鎖数が主鎖モノマーユニットの 40~100%程で、重合度が約 20~40 程度であることが確認できた。ここで得られたポリマーと原料の EVOH との水との接触角を比較したところ、EVOH に比べ、生成したポリマーの水との接触角が減少したことから、ポリマー表面に PMEA が分布していることが示唆された。また DSC による中間水の測定から、生成ポリマー中に、中間水の存在が確認できた。さらに生成ポリマーを用いた血小板粘着試験では、PMEA 単体程ではないが、EVOH に比べて生成ポリマー表面における血小板の粘着数の減少が見られた。これらのことから、EVOH の側鎖水酸基へ PMEA 構造の導入によって合成されたポリマーは、血液適合性を持つ可能性が示唆された。本発表ではこれらの詳細について報告する。

2P-024- I

ホスト-ゲスト相互作用を利用した刺激応答性ヒドロゲル上での細胞の力学的制御

¹大阪大学大学院基礎工学研究科, ²Institute of Biomaterials and Biomolecular Systems (IBBS), University of Stuttgart, ³Institute for Physical Chemistry, University of Heidelberg, ⁴京都大学物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS), ⁵大阪大学大学院理学研究科

○中畑雅樹¹ (Nakahata Masaki), Marcel Hörning², Philipp Linke³, 山本暁久⁴, Mariam Veschgini³, Stefan Kaufmann³, 高島義徳⁵, 原田 明⁵, 田中 求^{3,4}

【緒言】生体内でバイオマテリアルは常に様々な力学的刺激に晒されている。生体内における「力」が生体構成要素に与える影響の解明と応用を目指す「メカノバイオロジー」の枠組みの中で、特に細胞のメカノバイオロジーを時空間的に明らかにすることは基礎・応用の両面で非常に意義深い。これまでに、生理条件下で使用可能な酸化還元反応や pH などの刺激に応答する高分子材料上での細胞動態が研究されてきたが、材料の力学特性と細胞動態の関係をより詳細に議論するために、より生体適合性の高い刺激を用いて可逆的・時空間的に制御可能なシステムの構築が望まれている。本研究ではシクロデキストリン (CD)-ゲスト分子間のホスト-ゲスト相互作用にて架橋された水溶性高分子からなるヒドロゲルを用いた。相互作用の可逆性を活かして、力学的に活性化架橋点の数を競争反応により制御することで材料の硬さを制御した。ヒドロゲル上での細胞の動態を時空間的に観察し、メカノバイオロジーのモデル表面としての適用可能性を調査した。

【実験】ポリアクリルアミドを BCD-Adamantane (Ad) 間の相互作用で架橋した超分子ヒドロゲルを調製した。得られたヒドロゲルに細胞接着タンパクであるフィブロネクチンを修飾し、細胞接着性を付与した。ゲルへの BCD の添加・除去により制御される競争反応によるゲルの硬さ変化と、ゲル上に接着した C2C12 細胞の動態を時空間的に評価した。

【結果と考察】ゲルへの BCD の添加・除去により、ゲルの硬さを 11 kPa ⇄ 4 kPa の範囲で可逆的に制御することができた。シート状に成型したゲル上で、C2C12 細胞は基材の硬さに応じて接着面積を変化させた。硬さの動的な変化により、細胞骨格内でのアクチンファイバーの再構成が起こり細胞の形状が変化することが分かった。可逆的な制御にも成功し、マイルドな刺激で細胞の動態を制御することに成功した。[1]

[1] M. Hörning, M. Nakahata, A. Harada, M. Tanaka et al. *Sci. Rep.* **2017**, in press.

2P-025- I

シルクフィブロインの二次構造解析と機能性ペプチド固定化

¹奈良女子大学生生活環境学部, ²国立循環器病研究センター研究所生体医工学部, ³農研機構, ²信州大学繊維学部
○橋本朋子¹ (Hashimoto Tomoko), 中村優佳¹, 佐野奈緒子¹, 山岡哲二², 亀田恒徳³, 玉田 靖⁴, 黒子弘道¹

【緒言】

われわれは、創傷被覆材への応用を目指し、フィブロイン結晶領域内の配列（GAGAGS 等）との相互作用を駆動力とし、創傷治癒活性を有するペプチドのフィブロイン材料への固定化に取り組んでいる。フィブロイン材料のバルク、表面のタンパク質二次構造を種々の分光法により詳細に調べた。機能性ペプチドの固定化と構造含有率の関係、固定化の局在について評価するとともに、フィブロインと固定化ペプチド間の相互作用解析を行った。

【実験】

既報に従い作製したフィブロインフィルムの二次構造、その分布を固体 ¹³C CP/MAS NMR 測定、FTIR-ATR 測定および顕微ラマン測定により調べた。Fmoc 固相法によりフィブロインへの接着配列を有する (GAGAGS)_nGRGDS (n=0~5) ペプチドを合成した。精製済ペプチドは水または 80% のアルコールに溶解し、フィブロインフィルムへ固定化を行った。固定化後フィルムの蛍光顕微鏡による観察、および回収液の蛍光強度測定によりフィブロインフィルムへの固定化ペプチド量を算出した。ペプチドとフィブロインフィルム間の相互作用は DSC 測定により評価した。さらに、固定化ペプチドの機能性評価として、マウス繊維芽細胞の初期細胞接着数および接着細胞の伸展率を調べた。

【結果と考察】

各分光法による解析の結果、フィルム作製時の温度、またアルコール処理の有無によりβシート含有率に変化が認められ、表面構造解析により、構造が局在化する可能性が示唆された。蛍光ラベルペプチドを用いた固定化評価、およびフィブロインとペプチド間の相互作用解析より、GAGAGS 配列を有するペプチドは、βシート構造含有率が高いフィブロインフィルムにより多く固定化される結果が得られ、またその固定化にはフィブロインとペプチドの間の相互作用が寄与していることが示唆された。

2P-026- I

金属—高分子間相互作用を用いたハイドロゲル材料の作製

京都大学ウイルス・再生医科学研究所
○穴水美菜 (Anamizu Mina), 田畑泰彦

【緒言】

細胞移植治療では、移植細胞を体内にとどめる工夫が必要である。これまで、細胞とともに体内に注入することで、注射部位でゲル化する材料の研究開発が行われている。しかしながら、ゲル化に不可逆的な結合を用いた材料デザインが多く、体内での材料の分解性に改良の余地がある。そこで、この問題を解決する一つの方法として、可逆的な相互作用である金属—高分子間相互作用を架橋点として用いることを試みた。本研究では、細胞親和性の水溶性高分子であるゼラチンと塩化鉄（Ⅲ）とを混合することで、ハイドロゲルを作製し、評価した。

【実験】

ゼラチン（重量平均分子量 10,000、等電点 5.0 および 9.0、新田ゼラチン株式会社より供与）のリン酸緩衝生理食塩水（PBS）100 μl と種々の濃度の塩化鉄（Ⅲ）PBS 溶液 100 μl とを混合し、10 秒間攪拌した。その後、溶液を傾倒、その流動性を観察することにより、ハイドロゲルの形成を評価した。低濃度の塩化鉄（Ⅲ）ではハイドロゲルの形成は認められなかったが、塩化鉄（Ⅲ）の濃度の増加とともに、ハイドロゲルの形成が認められた。これは、塩化鉄（Ⅲ）の濃度を大きくすることで、ゼラチンと相互作用する鉄（Ⅲ）イオンが増加し、それに伴い、架橋点が増加したためだと考えられる。

作製したハイドロゲルを 1 mL の PBS 中に入れ、37℃で 3 日間振とうした。タイムポイントごとに上清を採取し、BCA 法により、溶出したゼラチンを定量することで、ハイドロゲルの保持を評価した。コントロールであるゼラチンハイドロゲルに比べて、塩化鉄（Ⅲ）を混合して作製したハイドロゲルは PBS 中で長時間保持された。

作製したハイドロゲル上に細胞を播種し、細胞毒性を評価した。また、細胞を懸濁したゼラチン PBS 溶液と塩化鉄（Ⅲ）溶液とを混合することで、細胞をハイドロゲルに内包させ、細胞毒性評価を行った。

2P-027- I

生体環境近傍でマルチ応答性を有する新規スルホベタインポリマーの創製

東北大学大学院工学研究科

○大石佳史 (Oishi Yoshifumi), 森本展行, 山本雅哉

【緒言】モノマーユニット中に正と負の荷電基からなるベタイン構造を有したポリマーは、特異なレオロジー挙動、高い生体適合性、pH 応答性など興味深い特性を示す。その中でもスルホベタイン型ポリマーの一つであるポリ 3-ジメチル (メタクリロイルオキシエチル) アンモニウムプロパンスルホネート (PDMAAPS) は、双極子-双極子相互作用により純水中で上限臨界共溶温度 (UCST) 型の温度応答性を示すが、生理塩強度では、UCST は消失する。本研究では、生体環境近傍で塩、熱、pH などのマルチ応答性を示すバイオマテリアルとして、生理塩強度で UCST を有する新規スルホベタインポリマーについて検討した。すなわち、ピリジニウムカチオンを正の荷電基とするスルホベタインモノマーとそのホモポリマーとを合成し、得られたホモポリマーの UCST を評価した。

【実験】4-(2-アミノエチル)ピリジンとメタクリル酸との縮合反応から得たピリジン置換メタクリルアミドに対して、1,3-プロパンスルフトンを開環反応させることによって、ピリジニウムカチオンを有したスルホベタインモノマー (PySMAAm) を合成した。次に、水溶性の連鎖移動剤を用いて可逆的付加開裂連鎖移動 (RAFT) 重合により、合成した PySMAAm のホモポリマーを調製した。ポリマーの UCST は、1 mg/mL のポリマー溶液を 1 °C/min で昇温および降温したときの 550 nm における透過率変化から評価した。

【結果と考察】モノマーと連鎖移動剤は、1 M NaCl 中で中性にすることによって可溶化できた。可溶化したモノマーと連鎖移動剤から分子量が 14,000~42,000、分子量分布が 1.3 以下に分子量制御されたホモポリマーが得られた。次に、分子量が 26,000 のホモポリマーをリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) に分散させ、UCST を評価した。その結果、純水中では昇温しても溶解しないが、PBS 中において非常に狭い温度域で転移が起こり、その転移温度は昇温時に 18.3 °C であった。また、降温時でも、昇温時と同様の鋭い転移を示すことがわかった。発表では pH および塩強度応答性についても報告する。

2P-028- I

オリゴ核酸架橋多糖ナノゲルの設計と機能

¹ 京都大学大学院工学研究科, ² JST-ERATO

○澤田晋一^{1,2} (Sawada Shin-ichi), 岩本大和¹, 佐々木善浩¹, 秋吉一成^{1,2}

【緒言】近年、温度や光などの外部刺激によって体積相転移を引き起こす刺激応答性ナノゲルが開発され、DDS や組織再生用材料などバイオ・医療分野において応用が進められている。我々はこれまでに疎水化多糖が水中で疎水性相互作用により会合し、20-30 nm の自己組織化ナノゲルを形成し得ることを報告しており、そのナノゲルの DDS への応用やナノゲル集積ゲルを構築するナノゲル工学を展開している。本研究では、会合性因子としてオリゴ核酸を用いた、新規温度刺激応答性ナノゲルについて報告する。水溶性多糖にオリゴ核酸を修飾したオリゴ核酸置換多糖はオリゴ核酸同士で配列特異的に塩基対を形成し、その会合力で自己集積化し得ると考えた。このような核酸の相互作用を架橋点としたナノゲルは、温度刺激によって塩基対が解離し、ゲル構造が崩壊するため、その相転移挙動を利用したマテリアルとしての応用が期待される。本研究では、天然型の核酸および人工架橋化核酸である BNA (Bridged Nucleic Acid) を部分的に挿入した短鎖オリゴ核酸を有する新規会合性高分子を設計した。末端にアルキンを導入したオリゴ核酸を、アジド基を置換したプルランにクリックケミストリーにより修飾し、オリゴ核酸置換プルランを合成するとともに、このオリゴ核酸置換プルランの会合体形成挙動などの特性について検討を行った。

【実験】アジド化プルランにクリック反応により末端アルキン化オリゴ核酸を置換した。得られたオリゴ核酸置換プルラン PBS に溶解させ、90 °C まで昇温した後、降温させることでオリゴ核酸の二重鎖形成を行った。このサンプルの動的光散乱測定を行うとともに、核酸の二重鎖形成蛍光プローブを用いてオリゴ核酸置換プルランの PBS 溶液内での T_m を測定した。

【結果と考察】¹H-NMR 測定から、100 単糖あたり 5 個のオリゴ核酸がアジド化プルランに導入されたことが確認された。BNA 導入オリゴ核酸置換プルランおよび天然型オリゴ核酸置換プルランの動的光散乱測定より、オリゴ核酸置換プルランが 300-400 nm 程度の会合体を形成していることが確認された。また、T_m 測定から天然型オリゴ核酸と比較して、BNA を導入したものは同じ配列に関わらず T_m が 10 °C 以上上昇することが明らかとなった。

2P-029-Ⅲ

親水性 uHA/PLLA メンブレンを用いた骨再生誘導の評価

東京医科歯科大学歯学総合研究科インプラント・口腔再生医学分野

○井汲玲雄 (Ikumi Reo), 立川敬子, 宮原宇将, 秋野徳雄, 春日井昇平

【緒言】インプラント治療における骨欠損部への骨再生法として、保護膜（吸収性あるいは非吸収性）を用いた骨再生誘導法(Guided Bone Regeneration、以下 GBR と略す)が応用されている。チタンメッシュなどの非吸収性の膜は移植後に再度取り出すための手術が必要であり、患者および術者にとって負担がかかる。吸収性の膜として主にコラーゲン膜が使用されているが、コラーゲン膜は生体への吸収速度が速くチタンメッシュのような賦形性を有していないため、幅広い骨欠損において不利である。また、動物由来コラーゲンを主成分とするため、その抗原性は否定できない。非焼結(unsintered)のhydroxyapatite(HA)とポリ-L-乳酸(PLLA)の複合材料であるuHA/PLLA膜は、優れた機械的強度、生体適合性、骨伝導性を有し、またUV照射による親水化処理で骨再生能が向上することが報告されている。本研究の目的は、GBRにおけるコラーゲン膜と親水化処理を行ったuHA/PLLA膜の骨再生を比較し、組織学的及び放射線学的に評価することである。

【実験】東京医科歯科大学動物実験倫理委員会の承認を得た後、Wisterラット(雄:12週齢)を24匹用いて実験を行った。吸入麻酔として4%イソフルラン、全身麻酔としてケタミン及びキシラジンを筋注にて投与した。8万分の1アドレナリン添加型2%リドカインにて浸潤麻酔後、トレフィンバーにて頭蓋骨に8mmの骨欠損を作製した。実験群としてコラーゲン膜群、uHA/PLLA膜群、対照群として欠損部の作製のみを施した群、各群8匹ずつに割り当てた。術後2週、4週で屠殺し、マイクロCT撮影及び組織標本(脱灰及び非脱灰)の作製を行った。BMC及びBMDはTRI/3DBoneを用いて算出し、各データをone-way ANOVA Tukey HSD testsにて統計学的に検討した。

【結果と考察】術後治癒は良好で、軟組織の腫脹や保護膜の露出などは観察されなかった。BMDは2週、4週共にuHA/PLLA群で最も高い値を示し、2週において各群に対して有意差を示した(<0.05)。BMCは2週においてuHA/PLLA群が最も高い値を示し、対照群と比較して有意に高い値を示したが、4週ではコラーゲン群とほぼ同等の値を示した。組織学的にはuHA/PLLA群における成熟した新生骨が認められた。一方、コラーゲン群では一部未成熟な骨形成を示した。上記の結果より、uHA/PLLA膜はGBRに有用であることが示唆された。

2P-030-Ⅰ

高強度ポリマー材料の歯科矯正ワイヤーへの応用

¹東京医科歯科大学大学院医科学総合研究科先端材料評価学分野, ²東京医科歯科大学大学院医科学総合研究科咬合機能矯正学分野

○宇尾基弘¹ (Uo Motohiro), 和田敬広¹, 前川 南², 簡野瑞誠², 小野卓史²

【緒言】

現在の歯科矯正用ワイヤーは金属材料を主に用いられているが、審美性及び金属アレルギーの観点から代替材料への要求が高まっている。工業的に広く用いられているスーパーエンジニアリングプラスチック（以下、SEP）は強度や耐熱性に優れたプラスチックである。我々はSEPワイヤーの中でも特に機械的特性や耐化学性に優れるPEEK、PES、PVDFに注目し、メタルフリーの審美性矯正ワイヤーとしての応用可能について、機械的特性、色調、水中での長期耐久性の観点から検討を行った。

【実験】

Poly ether ether ketone (PEEK)、poly ether sulfone (PES)、poly vinylidene difluoride (PVDF) を1mm角断面の線状に加工し、3点曲げ試験（支点間14mm）、定ひずみクリープ（たわみ2mm）を計測した。加えて厚さ1mmの板状試料を用いて重量変化から吸水率（37℃および121℃）を評価した。

【結果と考察】

3種の材料ではPEEKが最も高い曲げ強さを示し、特に延伸加工を施したPEEKワイヤーでは現行のNi-Ti矯正ワイヤーの1/3~1/4程度の曲げ応力を発揮することが分かった。一般に歯列の移動には数十gfの弱い荷重で十分とされ、SEP矯正ワイヤーは矯正ワイヤー材料として十分な矯正力を発揮できると推測された。また2mmたわみを37℃、水中で1か月付与した後もPEEKの永久変形は十分に小さく、実際の矯正治療において十分な優れたクリープ耐性を持つことが示された。またPEEK、PVDFは37℃および121℃の蒸留水中において0.4wt%を超えない極めて低い吸水率を示し、口腔内の長期使用に耐える十分な耐水性を有していた。審美性の点でもPEEKは薄い黄褐色、不透明を呈し、PESは透明琥珀色、PVDFは半透明白色で、いずれも審美的に非常に優れていた。以上よりSEPの中でも特にPEEKは歯科矯正ワイヤー用の素材として応用可能であると考えられた。

2P-031-Ⅱ

硬さの異なるゼラチンハイドロゲルとマクロファージとの相互作用

京都大学 ウイルス・再生医科学研究所

○森岡智子 (Morioka Tomoko), 城潤一郎, 田畑泰彦

【緒言】

細胞は、生理活性物質などの化学刺激だけでなく、基材の硬さなどの力学的な性質にも影響をうけ、その挙動を変化させることが知られている。本研究の目的は、細胞培養の際に、培養基材の硬さが細胞挙動に与える影響を調べることである。本研究では、細胞親和性をもつゼラチンを化学架橋することで硬さの異なるゼラチンハイドロゲルを作製した。ゼラチンハイドロゲル基材上で培養された RAW264.7 マクロファージ様細胞の挙動を調べた。

【実験】

異なる濃度のゼラチン（重量平均分子量 100,000, 等電点 5.0, 新田ゼラチン株式会社より供与）の水溶液を調製し、濃度の異なるグルタルアルデヒド（GA）水溶液を添加して、ゼラチンハイドロゲルを作製した。グルタルアルデヒドの重量は、ゼラチンの重量に対して 1 wt% となるようにした。得られたゼラチンハイドロゲルを 37°C の 2 回蒸留水中で 3 日間膨潤させた後、クリープメーター（株式会社 山電製 REONER II RE2-33005C）を用いて圧縮し、得られた応力-ひずみ曲線の直線部分の傾きから弾性率を計算した。また、RAW 細胞（ 4×10^4 細胞 / ml）を、異なる弾性率をもつゼラチンハイドロゲル上に播種した。37°C, 5%CO₂ 条件で 3 時間培養した後、細胞接着数を細胞の DNA 量を計測することで算出した。細胞の形態と、サイトカインの産生について調べた。

【結果と考察】

ゼラチン水溶液の濃度の増加とともに、ゼラチンハイドロゲルの弾性率は増加した。弾性率増加の理由として、単位体積あたりに存在するゼラチンの分子数が増加し、架橋点が多くなったことが考えられる。また、異なる弾性率をもつゼラチンハイドロゲル上で RAW 細胞を培養したところ、ゼラチンハイドロゲルの弾性率に関係なく、いずれのゼラチンハイドロゲルにも、細胞が接着、増殖することがわかった。細胞の接着形態は、ゼラチンハイドロゲルの硬さによって変化しなかった。発表では、ゼラチンハイドロゲルの硬さがサイトカインの産生に与える影響についても報告する。

2P-032-Ⅱ

低密度バイオマテリアルの新規安全性評価法の検討

¹信州大学先鋭領域融合群バイオメディカル研究所, ²信州大学医学部運動機能学教室, ³信州大学大学院総合理工学研究科生命医工学専攻, ⁴信州大学医学部保健学科

○羽二生久夫^{1,2,3} (Haniu Hisao), 傍島 淳², 青木 薫⁴, 石田 悠^{1,3}, 上田勝也^{1,3}, 岡本正則², 加藤博之², 齋藤直人^{1,3,4}

【緒言】我々は多層カーボンナノチューブ（MWCNT）を超高分子量ポリエチレン（UHMWPE）と複合させた MWCNT/UHMWPE の新規人工関節ライナーとしての開発を行っている。この MWCNT/UHMWPE は耐衝撃性と耐摩耗性の向上という相反する性能を有しているが摩耗「ゼロ」ではない。このため、この MWCNT/UHMWPE の摩耗粉の安全性を評価する必要がある。しかし、MWCNT/UHMWPE 複合材の中で多くを占める UHMWPE は低密度であり、粒子状では培養液中で浮いてしまい、これまで正確な安全性評価が行われてこなかった。そこで我々はまず低密度である UHMWPE 粒子に対する *in vitro* での新規の安全性評価法を検討した。

【実験】UHMWPE は SIGMA-ALDRICH 社から購入した粒径 40-48 μm で密度は 0.94 g/ml のものを使った。評価細胞はマウスマクロファージ様細胞である Raw264 細胞とした。ミリポア社のセルカルチャーインサート（Millicell®PCF 3 μm, P1TP01250）を 24 ウェル培養プレートにセットし、 2×10^5 /ml に調製した細胞を Millicell 内に 0.5 ml 加え、24 時間培養した。培養液を完全に除き、培養液で懸濁直後の高濃度と低濃度 UHMWPE 0.2 ml を Millicell 内に加えて 400 g、15 min 遠心し、培地を除去した。Millicell 内に培地 20 μl とウェル内に 200 μl を加えて細胞に UHMWPE が接した状態で 24 時間培養した。24 時間後に培養液を保存した上で全て除去し、アラマブルー試薬を用いた細胞毒性試験を行った。さらに、細胞からトータル RNA を抽出し、IL-1β、IL-6、TNF の発現を測定した。評価方法の比較対象として Millicell を使わない暴露実験を行った。

【結果と考察】用いた UHMWPE は 10% FBS を含む培養液中で浮遊した。この培地で混和した UHMWPE をアラマブルー法による細胞毒性試験で評価したところ、Millicell の有無に関わらず高暴露群でさえも細胞毒性はなかった。しかし、サイトカインの発現では Millicell を使って暴露した群では IL-1β 発現だけ濃度依存的な発現抑制が見られた。これらの結果は Millicell を使った暴露方法が低密度バイオマテリアルの新規安全性評価法として使える可能性を示している。

2P-033- II

再構築ヒト表皮モデル LabCyte を用いた皮膚刺激性試験動物実験代替法の性能検証

¹ 国立医薬品食品衛生研究所医療機器部, ² 株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング

○加藤玲子¹ (Kato Reiko), 小森谷薫¹, 宮島敦子¹, アミシワタル², 加藤雅一², 畠中内子², 畠山由二¹

【緒言】現在、医療機器の刺激性は皮膚刺激性試験、皮内反応試験、眼刺激試験等により評価されているが、世界的に *in vitro* 動物代替法の開発・利用が推奨されている。昨年度、ISO/TC194/WG8 において、2 種類の再構築ヒト表皮(RhE)モデル(EpiDerm™ EPI-200 RhE モデル、SkinEthic™ RHE モデル)を用いた *in vitro* 皮膚刺激性試験法の性能を検証する国際ラウンドロビンスタディ(RRS)が行われ、その有用性が示された(日本バイオマテリアル学会シンポジウム:演題番号 2P-086)。一方、LabCyte EPI-MODEL24 は、化学物質を対象とした *in vitro* 皮膚刺激性試験である OECD TG439 に記載されている RhE モデルであるが、今回、医療機器の皮膚刺激性試験用にプロトコルを改変し、その性能を検証した。

【実験】被験物質としては、WG8 RRS において配布された 7 種類の標準品を使用した。試験液は、ISO 10993-12 に準拠し、生理食塩水(生食)及びゴマ油を用いて、37℃下 72 時間抽出して作製した。抽出液を 18 時間暴露後、DPBS で十分洗浄し、後培養することなく、直ちに MTT 法を用いて細胞生存活性を測定した。陽性及び陰性対照として、それぞれ 1% SDS 及び DPBS を用いた。陰性対照の細胞生存率を 100 % とし、陽性対照及び被験物質の生存率を算出し、生存率 50%以下を刺激性ありと判定した。

【結果と考察】7 種の被験物質のうち、2 検体は生食及びゴマ油抽出液ともに刺激性陽性と判定された。1 検体は生食抽出液のみに明瞭な刺激性が確認されたが、3 検体は両抽出液ともに刺激性陰性と判定された。残りの 1 検体は抽出溶媒の種類に関わらず、判定に再現性が認められなかった。WG8 が実施した RRS において、ゴマ油抽出のみで刺激性陽性となる Heptanoic Acid 含有標準品は施設間で異なった判定結果が得られたことから、今回再現性が認められなかった検体は当該被験物質であることが推測され、試験系ではなく被験物の品質自体に問題があると考えられた。他 6 検体については、理論通りの結果が再現性良く得られていることから、LabCyte EPI-MODEL24 を用いた試験系は医療機器の刺激性評価に利用できることが示唆された。

2P-034- II

中間水含有高分子の界面微細構造上における細胞接着挙動の直接観察

¹ 九州大学先端物質化学研究所, ² 山形大学有機材料システム研究推進本部

○村上大樹¹ (Murakami Daiki), 平井晴香¹, 田中 賢^{1,2}

Poly(2-methoxyethyl acrylate) (PMEA)は優れた生体親和性を有することが知られている高分子材料である。我々はこれまでの研究から PMEA やその類似化合物は含水状態において通常観測される自由水、不凍水に加え、「中間水」と呼ばれる高分子鎖と緩やかに相互作用した水を有しており、この中間水がタンパク質吸着や細胞接着挙動に大きく関与していることを明らかにしてきた。^[1] 最近では原子間力顕微鏡観察を用いた高分子/水界面の構造解析を行い、中間水を有する生体親和性高分子に共通してナノメートルスケールの微細構造が界面に自発的に形成していることを発見した。^[2] この微細構造は界面における高分子と水のナノメートルスケールでの相分離によって生じていると考えている。さらに最新の研究ではこの微細構造の存在により界面においてナノメートルスケールでのタンパク質の吸着分布が生じることを明らかにし、さらにその温度応答性を利用して細胞接着挙動を制御することにも成功した。その細胞接着挙動との相関から機能性の培養基板としての応用も期待されている。

本研究ではこの界面微細構造と細胞接着挙動の関係をより詳細に検討することを目的とした。最新の原子間力顕微鏡を使用することで、培地中の生きた細胞を直接的に観察し、形態だけでなく粘弾性や相互作用の観点からも定量的に議論することが可能である。講演では中間水を有する高分子の微細構造上において細胞がどのように接着しているのか、さらに細胞種による違いやその原因について、ナノメートルスケールでの観察に基づいて報告する。さらにそれらの結果を通して界面における中間水の働きに関しても議論を行う。

[1] M. Tanaka et al. *J. Biomat. Sci. Polym. Ed.*, **2010**, *21*, 1849.

[2] D. Murakami et al. *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **2016**, *2*, 2122.

2P-035- I

分子量の異なるタイコ酸模倣リン酸エステルポリマーのマクロファージ取込み能評価

¹関西大学化学生命工学部, ²関西大学大学院理工学研究科

○大高晋之¹ (Otaka Akihisa), 井上直之², 岩崎泰彦¹

【緒言】タイコ酸はグラム陽性菌に広く保存されている細胞膜構成物質の一つである。体内に侵入したグラム陽性菌は、マクロファージの細胞表面にあるパターン認識受容体 (toll-like receptor 2) がタイコ酸と結合することで、捕食対象として認識される。我々は、人工的に合成可能なポリリン酸エステル (PPEs) がタイコ酸と類似した構造を持つことから、合成高分子によって抗原提示を活性化するワクチン抗原-PPEs 複合体を開発している。マクロファージが分子を取込む際、接触分子の分子量が小胞形成能に影響を与えることから、PPEs の取込みを促進する上で至適分子量の探索が重要となる。そこで本研究は、分子量の異なる PPEs をマクロファージに接触させその取込み能を評価した。

【実験】既報に従い、エタノール開始剤濃度が異なる条件で環状リン酸モノマーを開環重合し、アルキン側鎖を持つ三種類 (長・中・短鎖) の PPEs を合成した。側鎖に導入したアルキンに、アジド化フルオレセインを環化付加反応させ蛍光標識 PPEs を作成した。マウス由来マクロファージ様細胞 (RAW264.7) に PPEs を 24 時間接触させた後、細胞数を測定して細胞毒性・増殖活性を評価した。蛍光標識 PPEs を 24 時間接触させた RAW264.7 の蛍光顕微鏡観察を行い、また同細胞を溶解した溶解液の蛍光強度から細胞あたりの PPEs 取込み量を定量した。

【結果と考察】合成した PPEs の分子サイズは長鎖 127、中鎖 85、短鎖 38 ユニットであり、またいずれの PPEs も添加濃度が 10 mg/mL 以下では RAW264.7 への細胞毒性が見られなかった。短鎖添加群においてのみ、PPEs 濃度 100 µg/mL の条件で有意な細胞増殖活性が見られた。つぎに蛍光標識 PPEs を 100 µg/mL 添加したところ、長鎖添加群で、最も多く PPEs を内包した小胞形成が観察された。24 時間接触後に取込まれた PPEs の分子の数は、長鎖添加群で細胞 1 個あたりに 12×10^7 、中鎖添加群で 9×10^7 、短鎖添加群で 4×10^7 であった。今回合成した分子量範囲では、PPEs 分子量の増加に伴ってマクロファージへの取込みが促進することがわかった。

2P-036- II

Epidermal growth factor enhances cellular uptake of polystyrene nanoparticles by clathrin-mediated endocytosis

¹Cellular functional nanomaterials group, research center for functional materials, National institute for materials science, ²Graduate school of advanced science and engineering, Waseda university

○Le Thi Minh Phuc^{1,2}, Akiyoshi Taniguchi^{1,2}

【Introduction】The interaction between nanoparticles (NPs) and cells has been studied extensively, but most research has focused on the effect of various nanoparticle characteristics, such as size, morphology, and surface charge, on the cellular uptake of NPs. In contrast, there have been very few studies to assess the influence of cellular factors, such as growth factor responses, on the cellular uptake efficiency of NPs. The aim of this study was to clarify the effects of epidermal growth factor (EGF) on the uptake efficiency of polystyrene nanoparticles (PS NPs) by A431 cells, a human carcinoma epithelial cell line which expressed high levels of EGF receptors (EGFRs)

【Experiment】A431 cells were exposed to 100 ng/ml of EGF with or without 50 nm PS NPs in 24 h. Cellular uptake efficiency of PS NPs by A431 cells and effect of inhibitors on uptake were determined by flow cytometry. Localization of NPs and EGFRs in cells was checked by using confocal laser scanning microscope (LSM510 META).

【Results and discussion】The results showed that EGF enhanced the uptake efficiency of A431 cells for PS NPs. In addition, inhibition and localization studies of PS NPs and EGFRs indicated that cellular uptake of PS NPs is related to the binding of EGF-EGFR complex and PS NPs. Different pathways are used to enter the cells depending on the presence or absence of EGF. In the presence of EGF, cellular uptake of PS NPs is via clathrin-mediated endocytosis, whereas, in the absence of EGF, uptake of PS NPs does not involve clathrin-mediated endocytosis. Our findings indicate that EGF enhances cellular uptake of PS NPs by clathrin-mediated endocytosis. This result could be important for developing safe nanoparticles and their safe use in medical applications.

2P-037-Ⅱ

電荷を有する高分子基板上への細胞の初期接着挙動の細胞生物学的手法による再解析

¹ 山形大学有機材料システム研究推進本部, ² 山形大学フロンティア有機材料システム創成フレックス大学院, ³ 物質・材料研究機構, ⁴ 京都大学化学研究所

○干場隆志^{1,2,3} (Hoshiba, Takashi), 吉川千晶³, 榊原圭太⁴

培養基板への細胞の接着は、細胞の増殖や生存、形態、分化など様々な機能を制御しているため、その制御は重要である。細胞の接着を促進するために、これまで様々な方法が開発されてきたが、培養基板を、電荷を有する高分子で被覆する方法もよく用いられている。従来は、細胞膜が帯びている電荷との静電的相互作用や、培養基板への接着性タンパク質の吸着が促進されることにより、細胞の接着が促進されると理解されてきた。一方で、細胞膜は負に帯電すると考えられているが、培養用ポリスチレンのような負電荷を有する高分子上でも細胞は無血清培地中で接着することができる。そのため、我々は電荷を有する高分子基板上への細胞の接着挙動の再解析が必要なのではないかと考えた。そこで、このような基板上への細胞の初期接着挙動の細胞生物学的手法を用いた再解析を試みた。本研究では、負電荷を有する高分子としてメタクリル酸(MA)共重合体、正電荷を有する高分子としてメタクリル酸 2-(ジメチルアミノ)エチル(DMAEMA)共重合体を用い、未処理ポリスチレン(PSt)基板にキャスト法にて塗布し、培養基板を作製した。また、線維肉腫細胞株である HT-1080 および子宮頸がん細胞株である HeLa を用いて解析を行った。各細胞は血清培地中では DMAEMA>MA>PSt の順に多く細胞は接着した。一方、無血清培地中での各基板上への細胞接着は 5 分以内に生じていた。さらに細胞接着機構を確認するために、インテグリン依存的な細胞接着を阻害する EDTA を添加したところ、無血清培地中では細胞接着は抑制されなかった。血清培地中では、MA 上へ細胞接着は完全に阻害された一方、DMAEMA 上への接着は完全には阻害されなかった。この結果は血清培地中において、DMAEMA 上ではインテグリンを介在しない機構で細胞が接着していることを示唆している。さらに、Single Cell Force Spectroscopy により基板への細胞接着力を測定したところ、無血清培地中では、MA>DMAEMA>PSt の順に接着力は弱くなったが、血清培地中では DMAEMA>>MA、PSt と大きな違いが見られた。また、無血清培地中の方が血清培地中よりも細胞接着力は総じて大きかった。以上の結果は、電荷を有する高分子基板上への細胞の接着は従来考えられているよりも複雑であることを示唆している。発表にて詳細をさらに議論したい。

2P-038-Ⅱ

ナノパターン基材上での間葉系幹細胞の増殖と抗炎症サイトカイン分泌

京都大学 ウイルス・再生医科学研究所

○成田 萌 (Narita Moe), 田畑泰彦

【緒言】

間葉系幹細胞(MSC)は、体内移植時の炎症反応の制御に重要なトランスフォーミング増殖因子-β1(TGF-β1)やプロスタグランジン-2(PGE2)などの抗炎症性サイトカインを分泌することが知られている。この抗炎症性サイトカインが細胞治療効果に関わる重要な因子である。そこで、これらのサイトカインを分泌する能力を保持した MSC の培養方法が必要とされている。本研究では、ナノサイズで構造の異なるナノパターン基材を調製し、MSC からの抗炎症性サイトカイン分泌に与えるナノ構造の影響を調べた。

【実験】

表面に異なるサイズおよび形状のナノパターン構造をもつポリエチレンテレフタレートフィルム(東京応化工業株式会社から供与)を 1 cm×0.8 cm サイズに成形し、滅菌処理を行った。その後、ナノパターン基材上に脂肪組織由来ヒト間葉系幹細胞(Lonza) 2×10⁴ 個を播種した。培養開始 48 時間後に培養上清を回収し、ELISA キットにより PGE2 の産生量を評価した。界面活性剤を含む緩衝液によりナノパターン基材上の細胞を溶解した。DNA および BCA タンパク質アッセイ法により、得られた細胞溶解液中の細胞数およびタンパク質を定量した。また、ナノパターン基材上の培養細胞の形態を走査型電子顕微鏡(SEM)観察した。

【結果と考察】

ナノパターン構造の形およびサイズによって、MSC からの PGE2 産生量が異なっていた。また、各基材間における培養細胞数に違いは見られなかったが、タンパク質量については違いが認められた。このことは、基材の違いによって、細胞タンパク質産生量が増加している可能性を示唆している。ストライプ構造の幅が大きくなるとともに、細胞はストライプ構造に沿って伸展し、配向している様子が観察された。

2P-039- II

細胞低接着性コラーゲンを培養足場とした線維芽細胞スフェロイドの遺伝子発現量の変化

¹近畿大学生物理工学部, ²新田ゼラチン株式会社

○森本康一¹ (Morimoto Koichi), 國井沙織¹, 伊田寛之², 平岡陽介², 加藤暢宏¹

【緒言】線維芽細胞は結合組織中に存在し、コラーゲンなどを合成・分泌・分解することで周囲の微小環境を整え、さらに血管新生や幹細胞の分化に影響することが報告されている。線維芽細胞の機能を調べる培養では、細胞増殖の向上を目的として接着細胞用のプラスチック製培養皿が汎用されている。しかし、本法で培養した線維芽細胞の観察結果が生体内の形態と必ずしも一致するわけではない。例えば、培養した細胞の核は押しつぶされた形で、生体内で観察される卵形と異なる。一方、我々は細胞の接着能を低下させるコラーゲン (Low Adhesive Scaffold Collagen, LASCOL) の開発に成功し、培養足場としての新しい性質を見いだしている。昨年度の本会では、LASCOL を培養足場として線維芽細胞を培養し、形成した細胞凝集塊 (スフェロイド) の増殖能や細胞周期などを示した。本発表では、形成したスフェロイドの遺伝子発現量などを比較解析したので報告する。

【実験】ブタ真皮由来 I 型コラーゲンから LASCOL を調製した (特許出願中)。LASCOL を培養皿に固定化してマウス胎仔由来線維芽細胞株 (NIH/3T3) を播種し、形成したスフェロイドの形態を位相差顕微鏡と走査型電子顕微鏡で観察した。次にスフェロイドの細胞から mRNA を抽出し、線維芽細胞が分泌するタンパク質や細胞周期関連タンパク質などの遺伝子発現量を定量 RT-PCR 装置にて解析した。対照群は単層培養の NIH/3T3 細胞とした。

【結果と考察】播種した線維芽細胞は LASCOL に弱く接着しながら能動的に移動し、細胞同士が接触・接着して互いに集まり始め、さらに数時間後にはスフェロイドが形成された。単層とスフェロイドの各細胞において、遺伝子発現量の差異が 2 倍以上あるものが複数見つかった。それら遺伝子には細胞機能に関するタンパク質も含まれていた。以上の結果より、線維芽細胞が LASCOL 上で凝集するメカニズムは未だ不明だが、LASCOL は細胞の機能を変化させるダイナミックなバイオマテリアルとして有望である。

【謝辞】本発表内容は、JSTA-STEP シーズ育成タイプの研究支援で得られた成果である。

2P-040- I

フィブロネクチン由来ペプチドの固定化による ePTFE 表面の細胞機能化

¹関西大学化学生命工学部, ²関西大学科学技術先端機構

○西岡 悟¹ (Nishioka Satoru), 平野義明^{1,2}, 柿木佐知朗^{1,2}

【緒言】延伸ポリテトラフルオロエチレン (ePTFE) は、超撥水性に基づく優れた抗血栓性を示すことから、小口径人工血管に臨床利用されている。しかし、ePTFE には血小板のみならず血管内皮細胞や結合組織も接着しないことが、内膜再生不全による閉塞やカプセル化に伴う感染症などの合併症の原因と考えられている。これまで、細胞接着性ペプチドの修飾による ePTFE 表面の細胞機能化は多く検討されてきたが、脱フッ素化剤や長鎖アルキル化合物を用いるなど、いずれも人工血管の機能化に利用できるものではない。本研究では、アミノ酸であるチロシンを酸化することで生じるキノンを利用した ePTFE へのフィブロネクチン由来 Leu-Asp-Val (LDV) ペプチドの直接固定による細胞機能化を検討する。

【実験】Fmoc 固相法で合成した 3 種類のペプチド、Ac-YG₃LDV (Y-LDV), Ac-(YK)₃-G₃LDV (YK-LDV) および Ac-(YE)₃-G₃LDV (YE-LDV) の水溶液 (1.0 mM) に ePTFE フィルム (φ15 mm) を浸漬し、CuCl₂ (0.05 当量) と H₂O₂ (4.4 当量) を添加後、遮光して 50℃ で 24 時間反応させた。反応後の ePTFE フィルムを純水で洗浄し、水接触角および X 線光電子分光 (XPS) で表面を分析した。さらに、LDV ペプチドを固定化した ePTFE フィルム上にヒト臍帯血静脈血管内皮細胞 (HUVEC) を播種し、細胞の接着形態や接着数を評価した。

【結果と考察】反応後の ePTFE フィルムの水接触角は、Y-LDV が約 110°、YK-LDV が約 90° となり、反応前 (130°) と比べて有意に減少した。XPS 測定では、全てのペプチドにおいて反応後の ePTFE フィルム表面にペプチド由来の N1s ピークが検出され、かつその傾向は YK-LDV でもっとも顕著であった。表面解析の結果、全てのペプチドが ePTFE に固定化されたこと、さらにその固定量が YK-LDV で最も大きいことが示唆された。さらに HUVEC は、YK-LDV を固定化した ePTFE 表面に最も多く伸展しつつ接着した。アンカー部分のチロシンにリジン残基を隣接させた YK-LDV は、最も固定量が多く、かつ抗血栓性と血管内皮細胞接着性を兼備した人工血管として理想的な表面を構築できることが示唆された。

【謝辞】本研究の遂行に際して御助言賜りました、国立循環器病研究センター研究所生体医工学部 山岡哲二 先生に御礼申し上げます。

2P-041-IV

代替可塑剤を利用した non-DEHP 血液バッグの SAGM 加赤血球濃厚液保存能評価

¹ 国立医薬品食品衛生研究所, ² 東京大学医学部附属病院, ³ 川澄化学工業, ⁴ 新日本理化

○野村祐介¹ (Nomura Yusuke), 福井千恵¹, 森下裕貴¹, 河上強志¹, 池田敏之², 向井智和³, 柚場俊康³, 稲村健一³, 山岡久時³, 宮崎謙一⁴, 岡崎 仁², 畠島由二¹

【緒言】DEHP はポリ塩化ビニル (PVC) 製医療機器の代表的可塑剤であるが、リスク回避の観点から各国において規制が強化され、代替可塑剤又は非 PVC 製品の使用が推奨されている。一方、血液バッグについては、DEHP が溶血抑制能を発揮することから、その使用が例外的に認められている。近年、我々は DEHP と比較して生物学的安全性の高いサンソサイザー-DOTH/DL9TH 及び DOTH/DINCH を配合した PVC シートが、DEHP 配合 PVC シートと同等の溶血抑制能を有すると共に、前者のシートは優れた耐寒性を示すことを見出した (日本バイオマテリアル学会 2015, 2016)。本研究では、既存製品より高い安全性と同等以上の性能を有する新規 non-DEHP 血液バッグの開発を目指し、DOTH/DL9TH-及び DOTH/DINCH-PVC 製血液 4 連バッグを作製し、海外で使用されている SAGM 加赤血球濃厚液 (SAGM/RCC) の保存能に関わるフィージビリティ試験を実施した。

【実験】ボランティア 18 名から、DEHP (50 parts/100 parts PVC, w/w) -PVC 製、DOTH/DINCH (22.7:30 parts/100 parts PVC, w/w) -PVC 製及び DOTH/DL9TH (22.7:30 parts/100 parts PVC, w/w) -PVC 製血液 4 連バッグに各 400 mL 採血した (n=6/群)。常法に従って SAGM/RCC を調製し、4℃で 6 週間保存した。経週的に SAGM/RCC を採取し、可塑剤濃度の測定、赤血球浸透圧脆弱性試験及び血液生化学的検査に供した。

【結果と考察】海外における SAGM/RCC の使用期限内 (42 日) において、DOTH/DL9TH-PVC 及び DOTH/DINCH-PVC 製バッグは DEHP-PVC 製バッグと同等の総可塑剤溶出量及び赤血球浸透圧脆弱性を示した。また、各 SAGM/RCC のヘマトクリット、赤血球数、総蛋白質、アルブミン、グロブリン、ヘモグロビン、グルコース、ATP、2,3-DPG、アンモニア、リン、ナトリウム、カリウム、クロール、マグネシウム、カルシウム等の経時的推移に、バッグ間で有意差は認められなかった。これらの成績から、DOTH/DL9TH-PVC 及び DOTH/DINCH-PVC 製バッグは新規 non-DEHP 血液バッグ候補として有望であった。特に、優れた耐寒性を有する DOTH/DL9TH-PVC 製バッグは従来の製品を越える性能を発揮すると考えられる。

2P-042-IV

代替可塑剤を利用した non-DEHP 血液バッグの MAP 加赤血球濃厚液保存能評価

¹ 国立医薬品食品衛生研究所, ² 東京大学医学部附属病院, ³ 川澄化学工業, ⁴ 新日本理化

○森下裕貴¹ (Morishita Yuki), 福井千恵¹, 野村祐介¹, 河上強志¹, 池田敏之², 向井智和³, 柚場俊康³, 稲村健一³, 山岡久時³, 宮崎謙一⁴, 岡崎 仁², 畠島由二¹

【緒言】ポリ塩化ビニル (PVC) 製医療機器の代表的可塑剤である DEHP は、生殖発生毒性への懸念から、世界的に規制が強化され、代替可塑剤又は非 PVC 製品の使用が推奨されている。一方、DEHP は溶血抑制能を発揮することから、血液バッグへの使用は認められているが、近年、我々は DEHP と比較して遙かに生物学的安全性の高いサンソサイザー-DOTH/DL9TH 及び DOTH/DINCH を配合した PVC シートが、DEHP 配合 PVC シートと同等の溶血抑制能を有すると共に、前者のシートは優れた耐寒性を示すことを見出した。本研究では、既存製品より高い安全性と同等以上の性能を有する新規 non-DEHP 血液バッグの開発を目指し、DOTH/DL9TH-及び DOTH/DINCH-PVC 製血液 4 連バッグを作製し、MAP 加赤血球濃厚液 (MAP/RCC) の保存能に関わるフィージビリティ試験を実施した。

【実験】ボランティア 18 名から、DEHP (55 parts/100 parts PVC, w/w) -PVC 製、DOTH/DINCH (25:33 parts/100 parts PVC, w/w) -PVC 製及び DOTH/DL9TH (25:33 parts/100 parts PVC, w/w) -PVC 製血液 4 連バッグに各 400mL 採血した (n=6/群)。常法に従って MAP/RCC を調製し、4℃で 6 週間保存した。経週的に MAP/RCC を採取し、可塑剤溶出量の測定、溶血性試験、赤血球浸透圧脆弱性試験及び血液生化学的検査に供した。

【結果と考察】本国における MAP/RCC の使用期限内 (21 日) において、DOTH/DL9TH-PVC 及び DOTH/DINCH-PVC 製バッグは DEHP-PVC 製バッグと同等の総可塑剤溶出量、溶血率及び赤血球浸透圧脆弱性を示した。また、各 MAP/RCC のヘマトクリット、赤血球数、総蛋白質、アルブミン、グロブリン、ヘモグロビン、グルコース、ATP、2,3-DPG、アンモニア、リン、ナトリウム、カリウム、クロール、マグネシウム、カルシウム等の経時的推移に、バッグ間で有意差は認められなかった。これらの成績から、DOTH/DL9TH-PVC 及び DOTH/DINCH-PVC 製バッグは新規 non-DEHP 血液バッグ候補として有望であった。特に、優れた耐寒性を有する DOTH/DL9TH-PVC 製バッグは従来の製品を越える性能を発揮すると考えられる。

2P-043-IV

開放実験系及び閉鎖型拍動循環回路による血液適合性評価マーカの性能検証

¹国立医薬品食品衛生研究所, ²東京大学, ³早稲田大学, ⁴九州大学

○葩島由二¹ (Haishima Yuji), 橋井則貴¹, 井上祐貴², 鮫島 啓³, 松橋祐輝³, 保延慶紀³, 福井千恵¹, 戸井田瞳¹, 野村祐介¹, 森下裕貴¹, 平井晴香⁴, 小林慎吾⁴, 田中 賢⁴, 岩崎清隆³, 石原一彦²

【緒言】生体内に埋植した医用材料は吸着蛋白質層を介して細胞・組織と相互作用するため、同蛋白質は材料の機能発現や生体適合性に大きく関与する。近年、我々は材料表面への蛋白質吸着挙動から医用材料の血液適合性を評価できる可能性を多変量プロテオミクス解析により見出した。本研究では、現在までに選定したマーカ候補の有用性を検証する一環として、新たに合成した高分子材料への血漿蛋白質吸着挙動を従来法である開放実験系並びに閉鎖型拍動循環血液回路を用いて解析し、両実験系で得られる成績を比較検討した。

【実験】開放実験系では、中間水量が異なる新規高分子 (PBuEA, PMC3A, PEt2A, PEt2MA, PMC6A, PEtEA, PEA, PBuA, PEtEMA)、PHEMA 及び PMEA (陰性対照) を各々コーティングした PC シートを 37℃下 1 時間ヒト血漿に浸漬した。閉鎖実験系では、拍動ポンプを組み込んだ内容量 55 mL の閉鎖型回路の内面を PMPC (陰性対照)、PMEA (陰性対照)、PEA (中間水不含) で各々コーティングし、ヒト血液を充填後、平均血液流量 100 mL/min、平均圧力 70 mmHg で 37℃下 1 時間循環させた。シート又は回路内面の吸着蛋白質は、それぞれ PBS 洗浄後、M-PER 試薬を用いて回収した。得られた蛋白質試料は、常法に従って、LC-MS/MS ショットガン解析並びに多変量解析に供した。

【結果と考察】各 PC シート表面に吸着する血漿蛋白質の多変量プロテオミクス解析を行った結果、VTNC は従来の評価同様、擬陽性及び擬陰性と判定される材料が存在しなかった。PHEMA への VTNC 吸着量は比較的低値であったが、PHEMA と PMEA の血液適合性の差異は C3 吸着量を指標として明確に判定できることが確認された。C3 は PBuA、C1s は PHEMA がそれぞれ偽陰性と判定される結果が得られたが、その他の材料については中間水量と相関して吸着量が増減したことから、VTNC を 1 次マーカ、C3 及び C1s を 2 次マーカとして総合的に評価することにより、高分子材料の血液適合性を判定できることが確認された。閉鎖型回路内面への VTNC 及び C3 吸着量は PMPC=PMEA<PEA の順であったことから、これらのマーカ候補の有用性は閉鎖実験系でも検証された。

2P-044-IV

医療用プラスチック製品の各種可塑剤に対する炎症誘導能評価法の再現性・頑健性評価

¹東京大学大学院工学系研究科, ²国立医薬品食品衛生研究所, ³化合物安全性研究所, ⁴ニプロ, ⁵Ig-M, ⁶食品薬品安全センター, ⁷東京大学大学院医学系研究科

○藤澤彩乃¹ (Fujisawa Ayano), 福井千恵², 野村祐介², 森下裕貴², 奥村佳奈子³, 加藤洋一⁴, 秦 信子⁵, 古谷真美⁶, 渡辺美香⁶, 鄭 雄一^{1,7}, 葩島由二²

【背景】軟質ポリ塩化ビニル (PVC) は柔軟性、化学的安定性、耐久性等に優れ、医療の場で広く用いられている。PVC 製品の代表的な可塑剤である Bis(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) は、齧歯類に対する雄性生殖毒性に加えて、炎症誘導能も示すことが近年報告された。我々は、ヒト新鮮血を用いた炎症誘導能評価法 (Human Cell-based Pyrogen Test) を用いて、可塑剤が種類に応じて異なる炎症惹起性を示すことを明らかにした。本研究では、当該評価法の再現性・頑健性を評価するために、ラウンドロビン (RR) テストを実施した。

【実験】RR テストは日本医療機器テクノロジー協会及び安全性試験受託研究機関協議会を通じて参画機関を公募し、4 試験施設において実施した。検体は、DEHP、Acetyl tributyl citrate (ATBC)、創傷被覆材 2 種及び精製 LPS (陽性対照)、ウシ胎児血清 (FBS、陰性対照及び溶媒) を配布し、統一プロトコルに従って試験を行った。可塑剤は FBS 分散液として、創傷被覆剤は直接法により試験に供した。試験施設毎に倫理審査の承認を取得して採取したヒト新鮮血を RPMI-1640 培地で 9 倍希釈後、試験液 (終濃度 10%) と混和し、24 時間共培養した。培養上清中の IL-6 濃度は ELISA 法で測定した。

【結果と考察】LPS に対する反応性は全ての試験施設、供血者において同程度であった。創傷被覆材に対する反応性は、1 試験施設で高値を示した他は類似の結果が得られ、全ての試験施設において 2 種の材料間の炎症誘導能の傾向は同一であった。FBS への反応性は供血者毎に異なり、DEHP、ATBC への反応性は FBS への反応性に準じて全例が同一の傾向を示した。以上より当該評価法の再現性が高いことが示されたが、頑健性に関しては、試験施設毎に可塑剤試料に対する反応の鋭敏度が異なる結果が得られた。陽性対照ではこの差異はほぼ見られなかったため、可塑剤の分散効率に関与している可能性が高い。今後、可塑剤分散に関するプロトコルを検討すると共に、適切な指標を用いて分散効率を担保することで、より精度の良い試験法として改良できると考えられる。

2P-045-IV

開放系及び空気非接触/拍動循環型閉鎖系回路による血液適合性試験の比較

¹ 国立医薬品食品衛生研究所医療機器部, ² 東京大学大学院工学系研究科, ³ 早稲田大学理工学術院先進理工学研究科,
⁴ 九州大学先端物質化学研究所

○宮島敦子¹ (Miyajima Atsuko), 小森谷薫¹, 比留間瞳¹, 加藤玲子¹, 井上祐貴², 鮫島 啓³, 松橋祐輝³,
保延慶紀³, 平井晴香⁴, 小林慎吾⁴, 田中 賢⁴, 岩崎清隆³, 石原一彦², 靱島由二¹

【緒言】医療機器及び医用材料の生物学的安全性評価において、血液に接触する製品については血液適合性試験が要求される。本邦では厚生労働省通知において、血栓形成、血液凝固、血小板、血液学的項目、補体系に関する標準的な評価項目が示されているが、具体的方法が記載されている試験法は溶血性試験のみである。本研究では、中間水量の異なる9種類の新規高分子材料を対象として、*in vitro* 開放系による血液適合性試験を実施した。また、空気非接触/拍動循環閉鎖系回路により血液適合性試験を実施し、評価マーカの挙動について比較検討した。

【実験】開放系による血液適合性試験は、被験高分子材料を両面コートしたPCシート2枚(直径34 mm)をヒト血液6 mLに37℃下1時間浸漬・振とうして行った。閉鎖実験系では、拍動ポンプを組み込んだ内容量55 mLの閉鎖系回路の内面を被験高分子材料で各々コーティングし、ヒト血液を充填後、平均血液流量100 mL/min、平均圧力70 mmHgで37℃下1時間循環させた。インキュベーション又は循環終了後、血液をサンプリングし、評価項目毎に処理を行った。血液凝固系因子(TAT)及び血小板系因子(β-TG、PF4)は、それぞれELISA法により測定した。

【結果と考察】被験シートを用いて開放系による血液適合性試験を行った結果、9種類の高分子材料はTAT、β-TG及びPF4の変動値を指標として3群(血液適合性良好、中程度、不良)に分類された。PMEA(良好群)、PEA(不良群)又はPMPC(陰性対照)を各々内面コーティングした閉鎖系回路を用いて、血液適合性試験を行った結果、開放実験系同様、各評価マーカはPEA>PMPC>PMEAの順で高値を示した。開放系と閉鎖系の評価マーカ値を比較した結果、いずれも開放系の値が高く、TATで平均2.2倍、β-TGで2.7倍、PF4で4.2倍であった。開放実験系では0時間に比べて、シート非浸漬の対照群でもβ-TG、PF4の値が大きく上昇していたことから、両実験系における評価マーカ値の差異は空気接触に伴う血小板活性化度の相違に由来すると考えられた。

2P-046-I

血管内治療デバイスへの応用に向けたフッ素添加ダイヤモンドライクカーボン膜の評価

¹ お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科, ² 東京大学医学部附属病院輸血部, ³ 慶應義塾大学大学院理工学研究科, ⁴ 東海大学医学部附属八王子病院放射線科, ⁵ 東京大学医科学研究所附属病院脳腫瘍外科, ⁶ 日本赤十字社血液事業本部

○堀川あゆみ^{1,2} (Horikawa Ayumi), 長谷部光泉^{3,4}, 前川駿人³, 田中 実⁵, 鈴木哲也³, 高橋孝喜⁶

【緒言】

フッ素添加ダイヤモンドライクカーボン(F-DLC)膜は血小板接着を抑制することが知られているが、その炎症性については明らかになっていない。血小板を用いた抗血栓性の評価に加え、白血球、ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を用いた生体適合性評価を実施する。

【実験】

F-DLC膜をstainless steel(SUS)上にコーティングした。SUSとF-DLCコーティングしたSUSに、血小板、白血球およびHUVECを接触させ、各細胞の接着数を測定した。また、血小板上のCD62Pの発現および白血球とHUVECから産生されるサイトカインを測定した。

【結果と考察】

F-DLC膜コーティングにより、SUS上の血小板接着数が減少し、血小板活性化マーカーであるCD62Pの発現が抑制された。また、F-DLC膜では白血球接着数も減少し、白血球からのIL-8の産生増加およびHUVECからの抗炎症性サイトカインIL-10の産生増加が認められた。HUVECはSUSと比べて少ないながらもF-DLC膜に接着し、増殖することを確認した。

F-DLC膜コーティングは血小板接着を抑制するだけでなく、活性化も抑制することで抗血栓性を示すことを明らかにした。また白血球接着を抑制すると同時に、IL-10産生を増加させており、炎症反応を誘引しづらい材料であることが明らかになった。HUVECの接着・増殖も起きるため、血管内留置用のバイオマテリアルとしての有用性が示された。

2P-047-Ⅱ

多糖のゾル-ゲル転移を利用した温度応答性マイクロ粒子の開発

東京農工大学大学院工学府応用化学専攻

○佐藤拓末 (Sato Takumi), 高見 拓, 村上義彦

【緒言】薬物治療においては、必要最小量の薬物が標的部位に送達され、その効果を発現することが理想である。そこで、薬物を保持したキャリアの体内動態を精密にコントロールするドラッグデリバリーシステムが広く研究されている。薬物キャリアの素材として利用可能な多糖の一部は、固有の温度において、ゲルからゾル、ゾルからゲルに状態変化する現象（ゾル-ゲル転移）を示す。この現象を利用し、親水性物質が溶解した多糖水溶液と、界面活性剤が溶解した有機溶媒から調製した w/o エマルションを冷却することによって、分散相である多糖液滴のゲル化によって粒子が得られると考えられる。本研究では、多糖のゾル-ゲル転移挙動を制御することによって、温度に応答し薬物を放出するマイクロ粒子の開発を目的とした。

【実験】カチオン共存・非共存下において多糖（κ-カラギーナン）を 95℃の純水に溶解し、冷却することによってゲルを形成した。得られたゲルを用いて、多糖のゾル-ゲル転移温度を示差走査熱量計（DSC）によって測定した。80℃で静置することによってゾル状態にした多糖ゲル（0.3 g）をトルエン（10 mL、各種界面活性剤を含む）と混合し、80℃において攪拌することによって w/o エマルションを調製した。得られた w/o エマルションを氷浴中で冷却し、粒子分散液を調製した。得られた粒子分散液および自然乾燥によって得られた粒子を、光学顕微鏡および SEM によってそれぞれ観察した。

【結果と考察】DSC 測定によって、多糖濃度とカチオン濃度によって多糖のゾル-ゲル転移挙動を制御できる可能性が示された。また、界面活性剤として poly(ethylene glycol)-*b*-poly(ε-caprolactone) (PEG-*b*-PCL, PEG M_n : 3,500, PCL M_n : 6,000)を用いた場合に w/o エマルションが形成し、その安定性がカチオンの添加によって向上する傾向が見られた。w/o エマルションの形成は、適切な構造および HLB 値を有する界面活性剤の使用が重要であることが示唆された。さらに、粒子分散液の自然乾燥で得られた粒子を SEM で観察することによって、w/o エマルションの形状が粒子の形状に寄与する可能性が示された。今後は得られた粒子の精製を検討する予定である。

2P-048-Ⅰ

チミン含有両親媒性ブロック共重合体を用いた ATP 応答性ナノ集合体の調製

¹関西大化学生命工, ²関西大 ORDIST

○河村暁文^{1,2} (Kawamura Akifumi), 土谷 平¹, 宮田隆志^{1,2}

【緒言】細胞内のアデノシン三リン酸（ATP）とアデノシン二リン酸（ADP）の比は一定に保たれているが、細胞へのストレスによりその比が変化する。そのため、細胞内 ATP/ADP 比の変化を認識して応答する材料は、細胞ストレスを感知する新規なバイオマテリアルとして期待されている。しかし、既存の細胞内 ATP 濃度の測定法は細胞を破碎する必要があるため、生細胞内の ATP 濃度を可視化できる技術が必要とされている。そこで本研究では、生細胞内の ATP 濃度を可視化するイメージング材料の創製を目的として、原子移動ラジカル重合（ATRP）により、側鎖にチミンを有する両親媒性ブロック共重合体を合成した。また、得られたブロック共重合体を用いてナノ集合体を調製し、その ATP 応答挙動について検討した。

【実験】側鎖にチミンを有する疎水性モノマーである vinylbenzyl thymine (VBT) を合成した。次に、ATRP により oligo(ethylene glycol)methacrylate (OEGMA) を重合することで POEGMA マクロイニシエーターを合成した。続いて、ATRP により POEGMA マクロイニシエーターから VBT を重合することで POEGMA-*b*-PVBT を合成した。得られた POEGMA-*b*-PVBT を透析法によりナノ集合体形成させた。動的光散乱法により、さまざまな ATP および ADP 濃度におけるナノ集合体の粒径を測定し、ナノ集合体の応答挙動を評価した。

【結果と考察】ATRP により合成した POEGMA-*b*-PVBT を透析法により自己集合させたところ、約 140 nm のナノ集合体を得られた。得られたナノ集合体分散液に ATP を添加したところ、ATP 濃度の増加にともなってナノ集合体の粒径が増加した。一方、ADP もしくは ATP と ADP の混合物（ATP/ADP = 1/1 (mol/mol)）を添加したところ、ナノ集合体の粒径はあまり増加しなかった。水素結合によりナノ集合体中の PVBT ブロックのチミンに ATP や ADP が結合すると、PVBT ブロックの親水性が増加すると推察される。また、ADP と比較して ATP は親水性が高いため PVBT ブロックの親水性がより増加し、ナノ集合体の粒径が大きく増加したと推察される。以上の結果から、調製したナノ集合体は ATP に応答して大きく粒径が増加するため、ATP 濃度に応答した新規なバイオマテリアルへの応用が期待できる。

2P-049- II

ナノ構造体シリカからの薬剤徐放挙動と生体適合性の評価

¹北海道大学大学院歯学研究院, ²北海道大学大学院歯学院, ³北海道大学病院, ⁴北海道大学大学院歯学研究科
○阿部薫明^{1,2} (Abe Shigeaki), 中西 康^{1,3}, 坂東洋祐⁴, 成徳英理⁴, 江良裕子⁴, 飯田順一郎^{1,2}, 佐野英彦^{1,2}, 吉田靖弘^{1,2}

【緒言】

ミュータンスレンサ球菌 (*S. mutans*) を始めとする齲蝕原生菌は飲食物に含まれる糖類を原料として乳酸を産生し、歯質を脱灰する。この酸産生能は細菌数に比例する。つまり口腔内の *S. mutans* などの齲蝕原生菌を減らすことが、齲蝕の発生抑制に繋がる。現在、抗菌作用を発揮するマウスウォッシュが市販されているが、一時的には細菌数が減少するが、全ての菌をなくすことは困難である。最近増殖の制御には、抗菌効果の持続的な発現が必要とされる。そこで我々は、カチオン性分子の吸着・放出能を有するメソポーラスシリカ (MPS) に着目し、その生体適合性と MPS 含有歯科材料の抗菌剤徐放能の評価を行った。

【実験】

サイズの異なる、各種 MPS (Sigma-Aldrich 社)/PBS 懸濁液を HeLa 細胞へと様々な濃度で曝露し、細胞活性を評価した。また MPS と歯科用グラスアイオノマーセメント (GIC, GC 社) とを練和し、試料片 ($\phi = 10 \text{ mm}$, $h = 1 \text{ mm}$) を作成した。得られた試験片をカチオン性蛍光色素、若しくは抗菌剤水溶液へと浸漬した後、蒸留水へと浸漬、24 時間毎に上澄み液への溶出量を吸光度測定により検出した。また、上記試料存在下で *S. mutans* を培養し、濁度測定・SEM 観察により、抗菌剤徐放能の評価を行った。

【結果と考察】

今回の検討条件では、MPS のサイズ・濃度に依存した細胞活性の低下、形態的变化は見られなかった。GIC に含有した MPS からのカチオン性分子の放出挙動を経時的に追跡したところ、1 週間以上に渡るカチオン分子の徐放が確認され、コントロール試料 (MPS 0%) との有意な差が認められた。また、抗菌剤を充填した MPS 含有 GIC 存在下で *S. mutans* を培養した場合、試料表面から *S. mutans* は殆ど観察されず、コントロール試料とは顕著な差異が見られた。これらの結果は、今回用いた MPS が高い生体親和性と薬剤徐放能を持つ事を示唆している。

2P-050- II

細胞内環境応答性ペプチドナノファイバーを用いた抗原デリバリーシステムの開発

京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科

○和久友則 (Waku Tomonori), 小枝清花, 渋谷忠杜, 田中直毅

【緒言】従来のがん治療法と比較して、副作用が少ないことからペプチドワクチン療法に注目が集まっている。高効率な免疫誘導には細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の活性化が重要であり、そのためには抗原が主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) class I 分子を介して抗原提示される必要がある。しかしながら通常、外来性抗原はエンドサイトーシス経路で取り込まれた後、MHC class II 分子を介してヘルパー T 細胞に提示される。従って、MHC class I 経路での提示を効率化するための抗原デリバリーシステムの開発が求められている。我々は β -シートペプチドナノファイバーに着目し、これを用いた抗原デリバリーシステムの開発に取り組んでいる。これまでに線維形成配列 (FVIFLD) に抗原配列 (SIINFEKL) および親水性配列 (オリゴエチレングリコール) を導入したペプチドを合成し、その自己組織化による抗原担持ペプチドナノファイバー (NFs) の作製及びその細胞内取り込みに成功した。しかしながら、NFs を作用させた樹状細胞による MHC class I 分子を介した抗原提示の効率は低いという問題点があった。これは、細胞内に取り込まれた後も、NFs が安定な構造を取っているため、プロセッシングによる抗原ペプチドの遊離が困難であったことが原因の一つとして考えられる。そこで、ヒスチジン (His) を線維形成配列に導入した細胞内環境応答性ペプチドナノファイバーを新たに設計することで、この問題点を解決することを本研究の目的とする。エンドソーム内 pH 環境下における His のプロトン化によるナノファイバーの解離に加えて、プロトンスポンジ効果によるエンドソーム脱出の促進が期待される。

【実験】His を付加した線維形成配列 (HHFVIFLDH) をもつビルディングブロックペプチドを Fmoc 固相合成法により合成し、このペプチドを pH 7.4 の McIlvaine 緩衝液中で 80°C、1 h 加熱することで NFs を作製した。JAWS II 細胞と NFs を 24 h 共存させた後、MHC class I 分子を介した抗原提示量を免疫染色により定量的に評価した。

【結果と考察】作製した NFs を作用させた JAWS II 細胞による抗原提示量を評価した。His 未導入の NFs を作用させた樹状細胞は、未処理の場合とほぼ変わらない蛍光強度を示したのに対して、His 導入 NFs では、蛍光強度の顕著な増加がみられた。以上より、His 導入により、MHC class I 分子を介した抗原提示の効率が改善されることが明らかになった。

2P-051- II

化合物ライブラリーおよび天然物を基にした新奇性が高い光機能性分子の開発

東京医科歯科大学生体材料工学研究所

○影近弘之 (Kagechika Hiroyuki), 平野智也

【緒言】

光照射によって蛍光、化学反応が起こる光機能性分子は、特定の生体内分子、疾患組織の局在を解析するイメージング、疾患組織に局限した治療薬の光放出を可能とする DDS の基盤となる。光機能性分子の開発においては、既存の分子の誘導体化や蛍光制御機構を基にした論理的分子設計法がこれまで汎用されてきたが、開発される分子の機能は類似することが多く、新奇性が高い機能、構造要素を得ることは困難である。我々はこうした分子の開発には、効率的な合成または植物等に由来する天然物により構築されるライブラリーからの探索による開発が有用だと考えた。

【実験】

我々は蛍光物質クマリンを母核として構築した化合物ライブラリーから、pH の変化に伴い、蛍光が OFF-ON-OFF と二相的に変化することで特定の pH 領域を検出するセンサー、溶媒の粘性変化を蛍光波長の変化により検出するセンサーを得た。さらにニガキ科の植物からは数種の蛍光性天然物を単離、同定した。今回、これらの誘導体合成と蛍光特性の解析から、各機能に必要な構造要素を解明し、さらに有用な光機能性分子の開発を目指した。

【結果と考察】

特定の pH 領域を検出する蛍光センサーにおいては、機能に必要な二つの水酸基を様々な蛍光団に導入することにより長波長化、強蛍光などの改良、適切な官能基の導入により測定する pH 領域の調整を行ったセンサー群を得ることに成功した。中でも pH6 付近の環境を選択的に検出するセンサーは、癌イメージング、エンドサイトーシス過程の解析に応用できる有用なセンサーとなる。粘性変化を検出するセンサーにおいても、長波長化、検出する粘性領域の調整した分子を得た。蛍光性天然物においては、共通する構造の誘導体群の合成と機能解析から、溶媒の極性に伴い、二波長の蛍光強度比が大きく変化する分子などを得ることに成功した。これらの分子の持つ特定の環境下での蛍光発光は、選択的な光分解反応性へと変換可能であるため、光を利用した DDS への展開も行っている。

2P-052- I

傾斜機能型ナノハイブリッドチタン上における間葉系幹細胞の影響

¹愛知学院大学歯学部有床義歯学講座, ²岩手医科大学歯学部補綴・インプラント学講座, ³岩手医科大学生化学講座細胞情報科学分野

○武部 純¹ (Takebe Jun), 横田 潤², 秦 正樹¹, 青柳敦士¹, 松川良平¹, 帖佐直幸³, 石崎 明³

【緒言】口腔インプラントの表面性状は、埋入後の初期安定性と二次安定性に重要な因子である。演者らは、チタンインプラントの生体適合性向上による二次安定性の早期獲得を目的として、純チタン (Ti) 表面に陽極酸化・水熱処理 (SA 処理) を施すことで形成された“傾斜機能型ナノハイブリッドチタン”の検討を行い、臨床への有用性を報告してきた。一方、骨組織が減少した骨-インプラント界面部における早期のインテグレーション獲得を目指した治療戦略としては、骨再生に有効な間葉系幹細胞 (MSC) を移植する方法が有効であると考えられる。そこで、本研究では、Ti インプラント表面への SA 処理の効果が MSC へ与える影響を検索することを目的として、SATi 上における MSC の分化能を評価した。

【実験】Ti ディスクを電解質溶液中 (β-GP、CA) にて放電陽極酸化処理を施したもの (AOTi) と、その後に水熱処理を施したもの (SATi) を用いた。1) 各試料表面は、接触角測定および表面自由エネルギー測定によるぬれ性に関する表面性状を分析した。2) GFP マウスの骨髄から樹立した MSC 株を各試料上に播種し、培養 28 日後に RT-PCR 法による骨分化マーカー遺伝子の mRNA 発現量を解析した。

【結果と考察】1) ぬれ接触角測定では、400ms にて AOTi では 23.3 ± 12.6 度を示したが、SATi チタンでは 0 度を示した。表面自由エネルギーは、17ms にて AOTi では 62.8 ± 1.6 mJ/m² を示したが、SATi では 69.2 ± 2.3 mJ/m² と有意差を認めた。2) 遺伝子発現量解析では、Ti と比較して AOTi、SATi では培養 28 日後において ALP、RUNX2 の mRNA 発現量が有意に増加した。一方、OSTERIX、OCN は培養 28 日後の SATi において有意に増加した。演者らは、SATi 表面上に形成される HA は高結晶構造体、陽極酸化被膜はナノ構造体であることを報告してきた。さらに、本結果より SATi 表面上ではぬれ性と表面自由エネルギーが高いことが確認された。従って、これらの SATi 表面特性により MSC の細胞内シグナル伝達経路を介して骨分化マーカーが促進されたと考えられる。本研究より、傾斜機能型ナノハイブリッドチタンの微細形状と物理化学的性状は MSC の骨原性細胞への分化誘導能を促進させる可能性が示唆された。

2P-053-Ⅲ

ナノ秒パルスレーザー照射ジルコニアの骨適合性

¹ 鶴見大学歯学部歯科理工学講座, ² 東北大学大学院工学研究科, ³ 東北大学大学院医工学研究科

○ 廣田正嗣¹ (Masatsugu Hirota), 原井智広², 水谷正義², 厨川常元³, 早川 徹¹

【緒言】 正方晶部分安定化ジルコニア多結晶体(TZP)は、室温で白色、高強度であり、歯科材料として注目を集めている。近年では、インプラント(人工歯根)としての臨床応用が始まっているが、骨適合性については未だ不明な点が多い。さらに TZP は機械加工が困難であるという欠点が指摘されている。本研究では、マイクロオーダーで微細加工可能なナノ秒パルスレーザーを使用し、TZP 表面に微細凹凸構造を作製し、その骨適合性について検討した。

【実験】 イットリア 3 mol%添加正方晶部分安定化ジルコニア多結晶体(Y-TZP)および 30 vol%アルミナ含有セリア 10 mol%添加正方晶部分安定化ジルコニア多結晶体(Ce-TZP)の平板試料(3×2 mm、厚さ 1 mm)を用いた。それぞれに、Nd:YAG レーザ照射により表面加工を行った(laser/Y-TZP、laser/Ce-TZP)。コントロールは、歯科用インプラントの表面加工として多く採用されている SLA(サンドブラスト処理+酸処理)表面とした(SLA/Y-TZP、SLA/Ce-TZP)。各インプラントは、Wistar 系ラットの大腿骨欠損部に埋入した(鶴見大学歯学部動物実験委員会: 承認番号 28A042)。術後 2 週および 3 週目にキシリノールオレンジとカルセインによるラベリングを行い、術後 4 週で試料を摘出して非脱灰薄切研磨標本を製作した。共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)および光学顕微鏡により周囲骨を観察した後、骨-インプラント間接触率(BIC)および新生骨量(BM)を算出し、定量的に評価を行った。

【結果と考察】 レーザ加工された laser/Y-TZP および laser/Ce-TZP は、SEM によりその表面状態を確認した。レーザーのスポット幅 30 μm と同程度の深さ 30 μm、幅 30 μm の規則的な凹凸形状が作製できた。インプラント埋入実験の結果、laser/Y-TZP が SLA/Y-TZP および SLA/Ce-TZP に比較して、より多くの新生骨形成が確認され、統計学的に有意に高い BIC が得られた ($p<0.05$)。また、CLSM 像においてインプラント体凹凸部に垂直的な骨形成が観察された。一方、laser/Ce-TZP では他の試料よりも BIC が有意に低く ($p<0.05$)、レーザー照射により表面の特性が変化し、骨形成に影響を与えた可能性が推察された。BM はすべての試料において有意な差は認められなかった。以上により、ジルコニアへのナノ秒パルスレーザーによる凹凸微細加工は、骨形成に影響を及ぼし、インプラントの表面改質として応用可能と示唆された。

2P-054-Ⅲ

骨粗鬆症モデルラットによるリン酸オクタカルシウムの骨組織応答性に関する研究

¹ 東北大学医学部整形外科, ² 東北大学大学院歯学研究科, ³ 東北大学大学院歯学イノベーションリエゾンセンター

○ 馬場一慈¹ (Baba Kazuyoshi), 穴田貴久², 森 優¹, 塩飽由香利^{2,3}, 井樋栄二¹, 鈴木 治²

【緒言】 リン酸オクタカルシウム (OCP) は生理的環境下でハイドロキシアパタイト (HA) に徐々に加水分解し骨芽細胞の分化を促進することから骨形成能を持つ人工材料として期待される (Suzuki O et al. Biomaterials 2006; Anada T et al. Tissue Eng A 2008)。また OCP は破骨細胞様細胞による吸収を受け、in vitro で破骨細胞形成を促進する性質を有する生体内吸収材料である (Takami M et al. Tissue Eng A 2009)。骨粗鬆症は破骨細胞による骨吸収が骨芽細胞による骨形成を上回ることによって骨量が減少する病態である。そこで細胞活性化能を有する OCP が骨粗鬆症下においても骨形成を示すかどうか検討した。本研究では骨粗鬆症モデルラットを用い、天然高分子である gelatin (Gel)、および OCP と Gel の複合体 (OCP/Gel 複合体) を作製し、Gel との比較で OCP/Gel 複合体の骨組織反応について X 線学的、組織学的に検討することを目的とした。

【実験】 12 週齢 Sprague-Dawley(SD)雌ラットに卵巣摘出手術を行い、その後 12 週間飼育した。その後に左脛骨内側に直径 3 mm、深さ 3 mm の骨孔を作製し、Gel もしくは OCP/Gel 複合体を埋入した。埋入後 8 週で安楽死させ脛骨を回収した。μCT 画像で X 線学的評価を行い、脱灰標本を作製してヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を行い、埋入部位について組織学的評価を行った。

【結果と考察】 μCT 画像では、Gel は埋入後に放射線透過性が亢進していたのに対し、OCP/Gel 複合体では埋入部の放射線透過性は低下しており、特に材料埋入部周辺でその傾向が強かった。HE 染色では OCP/Gel 複合体において、材料埋入部では材料周囲を取り囲むように骨新生が見られた。以上の検討から OCP/Gelatin 中の OCP は骨粗鬆症環境下においても骨形成を促進する可能性が示唆された。今後定量的に評価を加え正常骨内での OCP の骨組織反応性との違いを明らかにしていく。

2P-055- I

骨形成因子を捕捉する新規医用材料の性能評価

¹国立医薬品食品衛生研究所, ²株式会社リボミック, ³東京大学医科学研究所

○野村祐介¹ (Nomura Yusuke), 福井千恵¹, 森下裕貴¹, 中村義一^{2,3}, 靄島由二¹

【緒言】医用材料は細胞や組織のような生きた生体システムと接触すると、その界面に存在する吸着蛋白質層を介して機能を発揮するが、その吸着特性は材料の物性に依存する。一方、医用材料に特定の機能を付与することを目的として、機能性蛋白質等を固定化した表面の創成に関する研究が進められている。近年、我々は生理活性を保持した状態で標的蛋白質を捕捉する RNA アプタマー固定化材料を開発した（日本バイオマテリアル学会 2014-2016）。本研究では骨再生を促進する医用材料の開発を目指し、骨形成因子（BMP2）を捕捉する RNA アプタマーを選定し、その性能を評価した。

【実験】SELEX 法により取得した RNA アプタマー候補の BMP2 結合能は SPR 法によって解析した。RNA アプタマー候補及び BMP2 添加培地を用いてマウス筋芽細胞を培養し、ウェスタンブロッティング法により、Smad1/5/8 のリン酸化状況を観察した。RNA アプタマー候補の二次構造予測結果を基に短鎖化 RNA アプタマーをデザインし、その特性を同様に評価した。同 RNA アプタマー固定化材料を創製し、BMP2 捕捉能及び細胞への影響について評価した。

【結果と考察】得られた RNA アプタマー候補の一部は、BMP2 による細胞内シグナル伝達を阻害することなく BMP2 に特異的に結合することが確認された。短鎖化 RNA アプタマーも同様な機能を有することが明らかとなり、同短鎖化アプタマー固定化材料がヒト血清中の BMP2 を特異的に捕捉濃縮できることが判明した。また、同材料上でマウス筋芽細胞を培養し、ALP 及び MHC 産生を指標として評価した結果、当該材料は BMP2 を捕捉して意図した機能を発揮することが明らかとなった。今後、FGF2 捕捉型 RNA アプタマーとの併用も考慮して、新たな骨再生用基材の開発を進める。

2P-056- I

抗炎症性マクロファージ動員のための疎水性薬剤徐放化フィブリンハイドロゲルの作製

京都大学ウイルス・再生医科学研究所

○田中隆介 (Tanaka Ryusuke), 田畑泰彦

【緒言】

抗炎症性マクロファージは炎症を抑制して再生を誘導する働きをもつことが知られており、これを損傷部位に積極的に動員することで組織再生を促すことが可能である。マクロファージを損傷部位に動員するには、その前駆細胞である単球を動員することが必要である。そして、動員された単球および未成熟なマクロファージを抗炎症性マクロファージに分極させるためには、損傷部位の分極環境を調節することが必要となる。本研究では、接着したマクロファージを抗炎症性に分極させる作用をもつフィブリンのハイドロゲルに、単球動員薬剤として知られる SEW2871 を組み込むことで、局所に抗炎症性マクロファージを動員可能な材料を作製することを目指した。

【実験】

ゼラチンに疎水性基としてコレステロールを導入した高分子ミセル材料を作製し、これを用いて難水溶性の単球動員薬剤である SEW2871 を水可溶化させた。得られた SEW2871 内包ミセルの *in vitro* での単球動員活性を調べた。様々な組成のフィブリンハイドロゲル上で骨髄由来マクロファージを培養し、抗炎症性マクロファージへの分極作用を評価した。フィブリンハイドロゲルに SEW2871 内包ミセルを組み込み、*in vitro* および *in vivo* での徐放作用を検討した。

【結果と考察】

ゼラチンとコレステロールの仕込み比を変化させることで導入率が変化し、それによらず SEW2871 の水可溶化量も変化した。SEW2871 内包ミセルを培地に添加した群は、何も添加しなかった群と比較して、有意に単球の動員数が増加し、遊離 SEW2871 を添加した群と同程度の活性を示した。フィブリンハイドロゲル上でマクロファージを培養することで、抗炎症性サイトカインであるインターロイキン 10(IL-10)の産生が増加した。*in vitro* での実験の結果、SEW2871 内包ミセルを組み込んだフィブリンハイドロゲルはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)中では SEW2871 をほとんど放出せず、プラスミンを添加してハイドロゲルを溶解させると SEW2871 の放出が見られた。本発表では、*in vivo* での徐放試験の結果についても報告する。

新規亜鉛ガラス塗布材による歯根面のコラーゲン分解抑制

株式会社ジーシー

○吉満亮介 (Yoshimitsu Ryosuke), 熊谷知弘

【緒言】

根面はう蝕リスクが非常に高いため、抗菌、脱灰抑制等の効果を有する材料が求められる。また、根面う蝕の進行原因として細菌由来のコラゲナーゼ、象牙質・歯髄由来の MMP によるコラーゲン分解が報告されている。そこで、MMP 活性阻害、抗菌、脱灰抑制効果が報告されている亜鉛に着目し、亜鉛、フッ素、カルシウム、ケイ素を含有する新規亜鉛ガラスおよびガラス塗布材を開発した。この塗布材は歯面に亜鉛ガラス、リン酸亜鉛、フッ化カルシウム等のナノ粒子層を形成し、亜鉛イオン等を溶出する。本研究では新規亜鉛ガラス塗布材 (ZFC-03)による根面象牙質のコラーゲン分解抑制効果を検証した。

【実験】

材料：ZFC-03、亜鉛非含有ガラス塗布材 (FAC)、塗布材なしとし、評価した。

コラーゲン分解抑制試験：#2000 耐水研磨紙にて研磨した牛歯根象牙質に直径 3mm の穴をあけたテフロンシールを貼り付け試験面とした。脱灰液 (pH4.5、50 mM 酢酸、1.5 mM CaCl_2 、0.9 mM KH_2PO_4)にて 60 時間脱灰した試験面に材料を塗布し、コラゲナーゼ溶液 (pH6.5、0.4 U/ml コラゲナーゼ、50 mM PIPES、150 mM NaCl 、5 mM CaCl_2)に 37℃下にて 5 時間浸漬した。試験面を厚さ 1 mm にスライスし、位相差顕微鏡にて象牙質のコラーゲン分解深さ (μm)を算出した。

【結果と考察】

ZFC-03 (9.8 μm)のコラーゲン分解深さは、FAC (29.4 μm)、コントロール (34.6 μm)よりも有意に低い値を示した ($p<0.05$)。コラゲナーゼは亜鉛イオンが過剰に存在するとその働きが阻害されることが報告されている。FAC は亜鉛イオンを溶出しないのに対し、ZFC-03 は亜鉛イオンを溶出するため、コラゲナーゼの亜鉛最適濃度を上まわることでコラゲナーゼの活性が阻害され、コラーゲンの分解が抑制されたと考える。以上のことより、新規亜鉛ガラス塗布材 ZFC-03 はコラーゲン分解抑制効果が高く、根面う蝕の予防・治療に有用な材料であることが示唆された。

QCM 法による医用高分子材料の血液適合性評価におけるデータ解析手法の検討

¹帝京平成大学薬学部, ²国立医薬品食品衛生研究所

○伊佐間和郎¹ (Isama Kazuo), 河上強志², 薮島由二²

【緒言】 医用材料の界面特性の一つである蛋白質吸着は、その材料が持つ血液適合性に関与することが知られている。そのため、材料表面への蛋白質吸着挙動を指標として、その材料の血液適合性を評価・予測することが可能であると考えられている。そこで、生体適合性の異なる医用材料表面に対する血液適合性評価マーカー候補蛋白質の吸着挙動を動力学的に解析するため、ポリマーをコーティングした水晶発振子マイクロバランス (QCM) センサーに吸着するフィブリノーゲン及びアルブミンの解離定数を指標として、蛋白質を逐次添加する飽和法における最適な解析条件等を検討した。

【実験】 ポリエステル系のポリエチレンテレフタレート及びポリブチレンテレフタレート並びにポリアミド系のナイロン 6 及びナイロン 66 をコーティングしたポリマーコート QCM センサーを作製した。血液凝固因子のひとつであるフィブリノーゲン及び血清蛋白質であるアルブミンを逐次添加し、QCM センサーの共振周波数を測定した。解離定数の算出において、非線形回帰モデルの Langmuir plot 並びに線形回帰モデルの double reciprocal plot、reciprocal plot 及び Schatchard plot を比較した。

【結果と考察】 フィブリノーゲン及びアルブミンとも材料間の相違による解離定数の傾向に顕著な差は認められなかった。非線形回帰モデル及び線形回帰モデルの各プロットから算出した解離定数は、フィブリノーゲン及びアルブミンとも同様な傾向を示し、Langmuir plot が最も小さく、reciprocal plot、Schatchard plot、double reciprocal plot の順に大きくなった。しかし、いずれも Langmuir plot から得られた値の 2 倍程度の範囲内で収まっていた。

Double reciprocal plot 及び reciprocal plot は、Y 軸が測定値の逆数を取るため、測定における誤差が増幅されるおそれがある。また、reciprocal plot 及び Schatchard plot は、X 軸及び Y 軸の両方に同じ変数が使われているため、線形回帰モデルにおける独立性が成り立たず、線形性の指標である相関係数を適用することができない。したがって、非線形回帰ソフトウェアが使用可能であれば、非線形回帰分析を行った方がより信頼性の高い結果が得られると考えられる。

2P-059- I

ゼラチン用量の変化がエピガロカテキンガレート結合ゼラチンの骨再生能に及ぼす影響

¹大阪歯科大学歯科矯正学講座, ²大阪歯科大学中央歯学研究所, ³京都工芸繊維大学バイオバースマテリアル学専攻,

⁴大阪歯科大学小児歯科学講座

○原 瑛紀¹ (Hara Eiki), 本田義知², 田中知成³, 橋本正則², 有田憲司^{2,4}, 松本尚之¹

【緒言】緑茶から抽出される Epigallocatechin gallate (EGCG)は抗炎症等の薬理効果を持つものの、骨形成能に関しては更なる解明の余地を残す。近年演者らは、EGCG をゼラチンに結合させることで、生体内で EGCG の骨形成能を増強しうる事を明らかにした。更に、この実験で用いた EGCG 結合ゼラチンスポンジ (EGCG-GS) に対し真空加熱処理を施した真空加熱 EGCG-GS (vhEGCG-GS) は、その骨形成能が飛躍的に高められる事を明らかにした。しかしながら、その詳細な骨形成機序は明らかになっておらず、本骨形成が、ゼラチンによる足場依存性なのか、EGCG の徐放効果のみによるものか明らかでない。本研究では、EGCG とゼラチンの配合比を変化させた vhEGCG-GS と、ラット頭蓋冠臨界骨欠損モデルを用いて、同材料の骨形成機序の解明を試みた。【実験】水中にて EGCG とゼラチンの配合比を変化させた EGCG-GS を合成し、凍結乾燥後、真空加熱を行いvhEGCG-GS を作製した。合成時、EGCG が 0.0007wt%に対して、ゼラチンを 0.01、0.1、0.5、1.0、2.0wt%と変化させ 5 種類の vhEGCG-GS を合成した（以下各試料はvhEGCG-GS[EGCGwt%:ゼラチンwt%]と表記）。vhEGCG-GS の形状及び表面性状は、走査型電子顕微鏡にて確認した。骨形成能評価には、8 週齢の雄性ラットの頭蓋冠に直径 9mm の骨欠損を形成し、各試料を埋入して評価した。4 週後に、頭蓋冠を摘出しμCT による骨形態計測、ヘマトキシリン-エオジン (H-E) 染色による組織学的評価を行った。【結果と考察】vhEGCG-GS[0.0007:0.01]を除き、多孔質のスポンジが形成された。μCT 画像解析において、vhEGCG-GS[0.0007:0.1]に対して他の vhEGCG-GS 群では優位に不透過像の増加がみられ、H-E 染色像からこれらの不透過像が新生骨であることを確認した。本実験では、骨欠損内に埋入した EGCG 量は固定されているものの、試料による充填度はゼラチン量に応じてそれぞれ異なる。充填度が低かった vhEGCG-GS[0.0007:0.1]において著しく骨形成が乏しかった事を考慮すると、vhEGCG-GS[0.0007:0.5]以上のゼラチンを持つ試料ではまず足場効果が発揮された上で、EGCG の薬理効果が発揮されたと推察された。以上の結果から、vhEGCG-GS の骨形成には、足場効果を発揮しうる一定量以上のゼラチンが必須である事が明らかとなった。

2P-060- II

三次元構造を有する脱細胞化組織を用いた硬組織再構築

¹芝浦工業大学システム理工学部, ²東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ³東北大学大学院歯学研究科, ⁴大阪工業大学工学部, ⁵理化学研究所多細胞システム形成研究センター, ⁶京都大学

○中村奈緒子¹ (Nakamura Naoko), 木村 剛², 山田将博³, 藤原俊哉⁴, 辻 孝⁵, 岩田博夫⁶, 岸田晶夫²

【緒言】

脱細胞化生体組織は三次元構造を有する細胞外マトリックスで構成されており、新しいバイオマテリアルとして高いポテンシャルを有すると考えられている。われわれは、硬組織である脱細胞化皮質骨および脱細胞化海綿骨のバイオマテリアルとしての特性について、骨形成能および造血環境構築能に着目して検討を行った。

【実験】

脱細胞化皮質骨に関しては、任意のサイズのピース状に加工し、それぞれを種々の間隙を持たせて固定して、ラット皮下に埋植した。脱細胞化海綿骨に関しては、海綿骨の髄腔を満たす骨髓組織とともにマウス皮下に埋植し、造血に関与する細胞の生着について評価した。

【結果と考察】

脱細胞化皮質骨のある間隙では新生骨が形成されることを見出した。これは、骨片間の間隙に細胞が浸潤し、脱細胞化皮質骨の骨基質面によって異所性での骨形成が促されたと考えられる。皮下には骨形成を行う骨芽細胞は存在しないため、皮下に存在する幹細胞が骨芽細胞に分化し、異所性に骨形成を促すことが明らかになった。一方、脱細胞化海綿骨に関しても、異所性において脱細胞化海綿骨への造血に関わる細胞の生着が示された。造血を制御する要因は、主に造血幹細胞とそのニッチである。ニッチは支持細胞と細胞外マトリックスで構成されている。造血に必要な複雑な微小構造を有する脱細胞化海綿骨の応用を試みた結果、骨髓組織を構成する細網組織や脂肪組織の細胞外マトリックスが、造血幹細胞が生着できる環境を構築し、異所性の造血を導くことが明らかになった。異所性における脱細胞化皮質骨および脱細胞化海綿骨による骨形成および造血細胞の生着は、生体外での組織再構築には細胞同士の相互作用やサイトカインだけではなく、三次元構造を有する材料も必須であることを示しており、これらの応用可能性が示された。

2P-061-Ⅲ

多分岐 PEG 修飾脱細胞化心膜の開発と癒着防止材への応用

¹東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ²信州大学繊維学部

○橋本良秀¹ (Hashimoto Yoshihide), 山下暁立¹, 根岸 淳², 張 永巍¹, 木村 剛¹, 船本誠一¹, 岸田 晶夫¹

【緒言】

外科的処置を受けると高頻度に組織や臓器同士の癒着が生じ、機能障害や疼痛を引き起こす。また、再手術の長時間化やそれに関連する合併症リスクの増加などが問題となっている。腹部領域においては、癒着が発生する可能性のある部位に高分子膜あるいはハイドロゲルなどの癒着防止材を利用することで術後癒着防止が試みられている。一方、胸部領域においては利用可能な癒着防止材は開発されていない。本研究では、胸部領域で使用可能な癒着防止材の開発を目的とし、脱細胞化ウシ心膜-多分岐ポリエチレングリコール複合材料の開発と機能評価を行った。

【実験】

脱細胞化ウシ心膜を 2×2.5 cm に成形し、分子鎖末端に N-ヒドロキシスクシンイミド基を有する多分岐ポリエチレングリコール(multi-PEG-NHS)を修飾した。コントロールとして末端がヒドロキシ基である多分岐 PEG(multi-PEG-OH)修飾および未修飾脱細胞化ウシ心膜を用いた。癒着防止効果の評価として、ウサギ心臓擦過モデルを用いた。麻酔下にてウサギ心臓を切除した後、心室前壁表面を擦過した。擦過部分を被覆するように種々の脱細胞化ウシ心膜を縫合固定した。所定期間後、スコア評価、病理組織学的ならびに免疫組織化学的評価を行った。

【結果と考察】

留置した種々の脱細胞化ウシ心膜とウサギ心外膜との間の癒着は、multi-PEG-NHS > multi-PEG-OH > 未修飾の順で抑制される傾向が観察された。multi-PEG-NHS が脱細胞化ウシ心膜を構成するコラーゲンのアミノ基を介して化学的に結合し、材料表面に安定的に存在したため癒着防止効果が発現したと考えられる。以上より multi-PEG-NHS 修飾脱細胞化ウシ心膜は癒着防止材としての応用可能性が示唆された。

2P-062-Ⅱ

ヘパリン修飾温度応答性表面と増殖因子および細胞とのアフィニティー結合制御

東京女子医科大学先端生命医科学研究所

○小林 純 (Kobayashi Jun), 秋山義勝, 大和雅之, 岡野光夫

【緒言】我々は、肝特異的機能を生体外で維持する目的で、細胞外マトリックス構造を模倣したヘパリン修飾温度応答性細胞培養表面を設計した。具体的には、温度応答性高分子 poly(*N*-isopropylacrylamide) (PIPAAm) グラフト表面にヘパリン分子を共有結合により導入し、ヘパリン結合性上皮細胞増殖因子様増殖因子 (HB-EGF) をアフィニティー固定した温度応答性培養表面を作製した。細胞外マトリックス (ECM) や細胞膜表面のプロテオグリカンが増殖因子の安定性や活性を向上させるのと同様に、HB-EGF は表面固定化ヘパリン分子に安定に保持され、培養細胞を刺激すると期待される。本報告では、ヘパリン修飾温度応答性表面と HB-EGF をはじめとするヘパリン結合性増殖因子および細胞とのアフィニティー結合能に関する分子メカニズムについて報告する。

【実験】Poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-2-carboxyisopropylacrylamide)修飾培養表面上にヘパリンを共有結合的に固定化し、ヘパリンとのアフィニティー結合により HB-EGF を表面に導入した。ヘパリン修飾温度応答性培養表面と HB-EGF 間のアフィニティー結合能を EILSA 法により測定した。

【結果と考察】温度に対する HB-EGF/固定化ヘパリン間のアフィニティー結合能の変化を評価するために、ELISA 法による解離定数の測定を行った。20℃および 37℃における HB-EGF/固定化ヘパリン間の解離定数はそれぞれ 3.6 nM、2.1 nM であり、温度変化が解離定数に与える影響は小さいことがわかった。これは、温度応答性高分子鎖の膨潤/収縮に関わらず、HB-EGF は立体障害をほとんど受けずに温度応答性高分子鎖内部に拡散するためと考えられる。一方、37℃において HB-EGF 固定化ヘパリン修飾温度応答性培養表面で培養したラット肝細胞シートの培養温度を PIPAAm の相転移温度以下の 20℃に低下すると、肝細胞シートとともに HB-EGF も脱着した。以上のことから、温度低下による HB-EGF 固定化ヘパリン修飾温度応答性培養表面からの肝細胞シートの脱着は、表面固定 PIPAAm 分子の水和・膨潤による表面親水化と細胞自身の形態変化をとともなう複合的な現象であり、その過程でアフィニティー結合能が動的に変化していると考えられる。

2P-063- I

脱細胞化血管上での *in vitro* 細胞挙動における脱細胞化法の影響

¹ 東京医科歯科大学生体材料工学研究所, ² 芝浦工業大学システム理工学部, ³ 大阪工業大学

○木村 剛¹ (Kimura Tsuyoshi), 近藤真由香¹, 中村奈緒子², 橋本良秀¹, 藤里俊哉³, 岸田晶夫¹

【緒言】

生体組織から細胞を除去した細胞外マトリックスである脱細胞化生体組織の医療応用が進んでいる。様々な脱細胞化生体組織の調製方法が報告されており、手法の違いにより脱細胞化効率、組織構造の維持、物性変化などの特性が異なる。我々のグループでは、高静水圧処理による細胞破壊と洗浄による細胞残渣の除去による高静水圧処理法 (HHP 法) を用いた脱細胞化生体組織の開発を行っている。本研究では、脱細胞化方法の違いの細胞挙動への影響について、一般的な界面活性剤脱細胞化法である SDS 法と HHP 法にて得られた脱細胞化血管上での細胞挙動を検討した。

【実験】

ブタ大動脈を芝浦臓器 (株) が購入した。SDS 法 (Korossis et al. J Heart Valve Dis. 14:408-421, 2005) および HHP 法にて脱細胞化血管を調製し、血管全層および外膜層を除去した内中膜層とした。血管内皮細胞 (HUVEC)、繊維芽細胞 (NIH3T3、NHDF) を用いて、それぞれ 1×10^4 あるいは 2×10^5 cells/cm² の密度で播種した。細胞播種では、血管全層の内腔面、外膜面、内中膜層の内腔面、中膜面へ細胞を播種した。所定時間培養後、Calcein-AM にて細胞を染色し蛍光顕微鏡下で細胞の接着、接着、増殖を観察した。また、細胞を固定後、走査型電子顕微鏡を用いて接着細胞の形態観察を行った。

【結果と考察】

SDS 法、HHP 法にて得られた脱細胞化血管の脱細胞化を HE 染色、DNA 定量により確認した。また、脱細胞化血管の構造は、SDS 法での繊維間の広がりが見られたが、HHP 法では未処理血管と類似であった。脱細胞化血管内腔面への HUVEC の播種では、SDS 法での接着率は非常に低く、HHP 法にて高い接着率が示され、初期接着に大きな違いがあることがわかった。これは脱細胞化血管の構造の違いが影響していると推察される。また、HHP 法では、培養に伴う細胞の増殖が示され、敷石状でコンフルエントとなった。断面の HE 染色像では、脱細胞化血管上での HUVEC の単層状態が観察され、SEM 像では、細胞間接着様子が観察された。以上より、脱細胞化法の違いは細胞の初期接着に強く影響を与えることがわかった。

2P-064- II

Development of three-dimensional fat tissues as a hypodermis layer

¹ 大阪大学大学院工学研究科先端細胞制御化学 (TOPPAN) 共同研究講座, ² 大阪大学大学院工学研究科, ³ JST-さきがけ

○Fiona Louis¹, 北野史朗¹, 入江新司¹, 松崎典弥^{1,2,3}

【緒言】

Fat cells are existed in a hypodermis layer of human skin and it has an important function such as energy source, release of growth factor, and cushioning property. Accordingly, fabrication of fat tissues is a key challenge for *in vitro* reconstruction of a full thickness skin model for regenerative medicine and pharmaceutical assay. Here, we report *in vitro* reconstruction of three-dimensional (3D) fat tissues by sedimentary culture using collagen microfibers. We recently discovered a novel technique to fabricate millimeter-sized connective tissues with high concentration of extracellular matrix (ECM) similar to our natural connective tissues. The reconstructed 3D-fat tissues will be useful as a hypodermis layer for *in vitro* fabrication of a full thickness skin model.

【実験】

Porcine type I collagen were kindly donated from NH Foods Ltd. Collagen microfibers were prepared by homogenization and the length and diameter of the obtained microfibers are approximately 100 μ m and 20 μ m, respectively. Adipose derived stem cells (ADSC) were cultured and differentiated by the sedimentary culture with collagen microfibers to fabricate 3D-fat tissues. The collected matured fat cells from mice or rats were also used instead of ADSC.

【結果と考察】

The differentiation of ADSC in 3D-fat tissues was evaluated using a Nile red staining by observation of confocal laser scanning microscopy (CLSM). Although about 70 days culture are necessary for maturation of fat cells in general two-dimensional (2D: monolayer) culture, less than 20 days were enough for the maturation of the fat cells in 3D-tissues. Moreover, the matured fat cells were stably cultured in the 3D-tissues for over 1 week whereas they were not stable in 2D-culture due to dedifferentiation. From these results, the constructed 3D-fat tissues were expected to be useful for application as a hypodermis layer.

2P-065-Ⅱ

幹細胞から骨芽細胞への分化を短期間に誘導する細胞低接着性コラーゲン

¹近畿大学生物理工学部, ²新田ゼラチン株式会社

○國井沙織¹ (Kunii Saori), 堀内喜高¹, 山本 衛¹, 伊田寛之², 平岡陽介², 森本康一¹

【緒言】I型コラーゲンは再生医療などの分野で、体性幹細胞を効率的に増殖させるために利用されている。幹細胞は培養足場に接着して分裂を開始し、増殖が接触障害で停止すると、分化しやすくなる。しかし、分裂過多により老化や分化能の低下が起こりうる。最終的には未分化細胞が混在した状態となるので分化効率の改善が待たれている。我々はこれまでに細胞が接着しにくくなるI型コラーゲン (Low Adhesive Scaffold Collagen, LASCOL) を調製し、新規な性状などを見出してきた。昨年の本会では、LASCOL上で培養した線維芽細胞が能動的に移動し、接触・接着して凝集塊を形成することを示した。本年度は、骨髄間質細胞に含まれる間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化誘導に与えるLASCOL培養の効果を解析したので報告する。

【実験】ブタ真皮由来I型コラーゲンからLASCOLを調製した(特許出願中)。LASCOLを培養皿に固定化してラット骨髄間質細胞(rMMCs)を播種し、翌日に骨芽細胞分化培地で培養を開始した。形成した細胞凝集塊を位相差顕微鏡で観察した。また骨芽細胞への分化状態をアルカリホスファターゼ(ALP)活性染色、石灰化をアリザリンレッド染色にて調べた。さらに分化した骨芽細胞により沈着したリン酸カルシウムを走査型電子顕微鏡/エネルギー分散型X線分光法(SEM/EDX)にて定量化した。次に細胞からmRNAを抽出し、細胞が分泌する石灰化タンパク質や転写因子などの遺伝子発現量を定量RT-PCR装置にて解析した。対照群は単層培養の間質細胞とした。

【結果と考察】LASCOLで培養したrMMCsは、細胞分裂が停滞することが示された。また、短期間でALP活性が上昇し、アリザリンレッド染色も有意に充進した。さらにリンとカルシウムが培養皿一面に沈着していることが示された。LASCOLで培養したrMMCsは骨芽細胞への分化を示す遺伝子発現量が増加していた。よって、分子機構は未だ不明だが、LASCOLを培養足場として活用することで、幹細胞から骨芽細胞への分化誘導は著しく促進することが明確に示された。

【謝辞】本発表内容は、JSTA-STEP シーズ育成タイプの研究支援で得られた成果である。

2P-066-Ⅱ

転写因子タンパク質導入による細胞機能制御

東京工業大学 生命理工学院

○島村萌里 (Shimamura Hori), 眞下泰正, 三重正和, 小島英理

【緒言】

細胞への転写因子導入による細胞分化誘導は、基礎研究のみならず組織工学において目的細胞を取得するうえでも重要な技術である。この転写因子導入の手法として、ウイルスベクターを使用した遺伝子導入が行われている。当研究室では、遺伝子導入に代わる手法として、転写因子タンパク質導入による分化誘導を試み、MyoD、NeuroD2、Olig2といった転写因子タンパク質導入による細胞分化の誘導に成功した。一方近年、Mash1、Brn2、Myt1lなどの複数種類の転写因子の導入により線維芽細胞から神経細胞へのリプログラミングが可能であることが報告されている。そこで本研究では、複数種類の転写因子タンパク質導入による細胞機能制御を目的とする。ここでは線維芽細胞から神経細胞への分化転換を目指し、Mash1タンパク質の発現と機能評価を行った。また、同一細胞に効率よく複数種類の転写因子タンパク質を導入する手法の開発を行った。

【実験】

マウスcDNAよりクローニングしたMash1の大腸菌発現用ベクターを作製したのち、大腸菌を形質転換したタンパク質を発現させた。精製後、神経芽細胞N1E-115細胞にMash1タンパク質を添加し、神経突起伸張を指標として細胞の形態変化を観察し、Mash1タンパク質の活性を評価した。また、複数種類の転写因子タンパク質を同一細胞内に効率よく導入するために、導入するタンパク質にコイルドコイル構造を形成するペプチド配列を導入した。ここでは当研究室の先行研究において使用した転写因子Olig2とEGFPに、それぞれコイルドコイル構造を形成するペプチドを付加したhelixA-Olig2とEGFP-helixBを作製し、コイルドコイル構造を介したOlig2-EGFP複合体を作製した。

【結果と考察】

Mash1タンパク質は細胞膜透過能ペプチドを付加しなくても細胞内に取り込まれることが明らかになった。また、helixを付加したOlig2とEGFPの発現ベクターを作製し、タンパク質の発現・精製を行った。今後、Olig2-EGFP複合体形成能、細胞内導入能、および機能発現について評価する。

2P-067-II

タンパク質ハイドロゲルを利用した三次元神経組織の構築

東京工業大学 生命理工学院

○長田紗也加 (Osada Sayaka), 水口佳紀, 眞下泰正, 三重正和, 小島英理

【緒言】

組織を構築するにあたり、その高度な機能を再現するためには生体内の環境に近づけた三次元足場材料の設計が不可欠である。当研究室で作製したタンパク質 O-CUBE((AVGVP)42-D88-CL2)は、温度に応答してゲル状に変化する。この O-CUBE ゲル内で細胞は生存、増殖が可能である。したがって O-CUBE に細胞機能を制御する様々なペプチド配列を遺伝子工学的に導入すれば、組織構築の足場材料として利用可能になることが期待される。そこで本研究では、神経組織構築のための足場となるタンパク質の作製、および三次元神経組織を構築することを目的とした。ラミニン由来のペプチド配列 AG73 は神経細胞の接着、神経突起伸長を促す。また、NCAM 由来のペプチド配列 C3 は神経突起伸長を促す。これらのペプチド配列をそれぞれ O-CUBE に挿入し、三次元神経組織の構築を試みた。

【実験】

O-CUBE に AG73、C3 ペプチド配列をそれぞれ挿入したタンパク質をコードするプラスミドを構築し、大腸菌 BL21(DE3)を用いて菌体内に発現させた。菌体破碎後、ITC 法を用いて目的タンパク質の精製を行った。得られたタンパク質溶液を加温することでハイドロゲルを作製し、そのゲル化温度・ゲル崩壊温度を測定した。また、ハイドロゲルに神経細胞への分化能を有するマウス胚性腫瘍細胞である P19 細胞を内包し、ゲル内で細胞が生存可能であるかを検討した。

【結果と考察】

タンパク質発現誘導時の培養条件と精製条件の検討により、目的タンパク質を得ることができた。得られたタンパク質は 2.5 ~ 5.0 w/v %において加温するとゲル化することが確認された。ハイドロゲルに P19 細胞を内包し培養を行ったところ、細胞はハイドロゲル内で生存、接着、増殖が可能であること、更に神経分化誘導条件下では神経突起伸長が促進されることが明らかとなった。以上より、作製したタンパク質ハイドロゲル内で細胞の三次元培養が可能であることが示された。

2P-068-II

ナノインプリント製フォトニック結晶を用いるDNA非標識検出法の検討

¹大阪府立大学大学院工学研究科, ²大阪府立大学大学院生命環境科学研究科, ³JST さきがけ

○西辻凌輔¹ (Nishitsuji Ryosuke), 末吉健志¹, 三宅眞実², 久本秀明¹, 遠藤達郎^{1,3}

【緒言】 DNA チップは、医療・生命科学分野において遺伝子の発現や変異、1塩基多型の検出・定量に用いられる重要な分析ツールの一つである。しかし DNA チップは、DNA 検出に①蛍光標識が必要、②光学系が高額、③操作が複雑、という課題があった。これら課題を解決するために我々は、ナノ周期構造を有する光デバイス「フォトニック結晶 (Photonic crystal : PhC)」をナノインプリントリソグラフィ (Nanoimprint lithography : NIL) を用いてポリマーフィルム上へ作製し、DNA 非標識検出への応用研究を行っている。PhC は周囲の屈折率変化に依存した光学特性変化を示すため、非標識の簡易な操作で DNA 検出できる。加えて、可視領域の光を回折・反射可能な NIL 製 PhC の作製により安価な光学系も利用できる。今回は、NIL 製 PhC を用いて DNA ハイブリダイゼーションによる周囲の屈折率変化を反射スペクトル変化として検出することに成功し、また pH による光学特性変化への影響を評価したので報告する。

【実験】 実験では、初めに NIL にて作製したピラーアレイ型 PhC (ピラー径・間隔: 230 nm、ピラー高さ: 200 nm) 表面へプローブ DNA (5'NH₂-GGG CAG ACT CCT ACG GGA GGC AGC AGT 3') を固定化した。そしてターゲット DNA (5'ACT GCT GCC TCC CGT AGG AGT CTG 3') 水溶液 (濃度 1・100 nM) を滴下し、60℃にて1時間静置・反応させた。なお各操作後は NIL 製 PhC を洗浄・風乾させ、白色光を照射した際の反射スペクトル測定を行った。また反応時に使用する緩衝液 (リン酸バッファー) の pH を変化 (pH 6・9) させ、反射スペクトル変化を観察した。

【結果と考察】 本 PhC は、ターゲット DNA 水溶液をプローブ DNA 固定化 PhC に滴下すると、濃度に依存した反射スペクトル変化が観察された。また pH 8 の緩衝液を用いたとき最も反射スペクトル変化量が大きかった。これは塩基性条件下でプローブ DNA 同士が反発するために PhC 表面に空隙が形成され、ターゲット DNA とのハイブリダイゼーション効率が向上したためと考えられる。以上の結果から pH 条件の最適化により更なる高感度化に成功した。

2P-069-I

ウイルス認識ナノ粒子を用いた電気抵抗ナノパルス法によるウイルス計測

¹ 東京医科歯科大学学生体材料工学研究所, ² 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

○堀口諭吉¹ (Horiguchi Yukichi), 合田達郎¹, 松元 亮¹, 武内寛明², 山岡昇司², 宮原裕二¹

【緒言】電気抵抗ナノパルス法 (RPS) は微細な孔を通過する微粒子を電気抵抗として検出する手法であり、粒子が通過するイオン電流値の変化 (パルス波形) から、微粒子のサイズ、電荷といった粒子の特性に関する情報を粒子個別に得ることができる。RPS は細菌やウイルス等、生物学的な微粒子の計測に応用が期待されているが、微粒子の物理的な情報を得るにとどまるため、高度な微粒子の解析を行うことは難しい。そこで、RPS の手法に分子認識機能を盛り込むため、人工のウイルス認識ナノ粒子を作製し、ウイルスと相互作用させることに依る物理的特性変化を計測した。

【実験】ヒトインフルエンザが認識するシアル酸構造 (Neu5Ac(2-6)Gal-) を含む糖リガンドを固定化した金ナノ粒子 (6'sia-AuNP) を調製した。不活化 A 型インフルエンザウイルス H1N1 の粒径および、6'sia-AuNP と混合した場合のウイルスの粒径を測定し、その比較を行った。参照実験として、非特異的な糖鎖リガンドの固定を行った金ナノ粒子 (3'sia-AuNP) を用いて同様の実験を行った。

【結果と考察】RPS の測定の結果、6'sia-AuNP と混合を行ったサンプルでは、インフルエンザウイルスとナノ粒子の結合に由来する粒径の増大が見られた。このことから、ウイルス認識ナノ粒子を用いたウイルス計測は原理的に可能であることが示唆された。しかしながら、3'sia-AuNP を用いた粒子を用いた場合でも粒径の増大が見られ、非特異吸着による相互作用が特異的な認識を阻害することも明らかとなった。そこで、この非特異吸着を抑制するため、両性イオンであるスルホベタイン構造を有する分子を金ナノ粒子に共固定化したところ、分散安定性が向上し、非特異的な結合によるウイルスの粒径変化を抑制することができた。以上から、粒径分布変化によるウイルス診断が可能であることが示された。本報告では、数百個のウイルス粒子の粒径分布を用いたウイルス診断を示したが、RPS の技術が向上し、より詳細な粒子の特性を解析できるようになれば、将来的に数個のウイルスを計測するだけで診断が可能になることが期待される。

【謝辞】本研究は、総合科学技術・イノベーション会議が主導する革新的研究開発推進プログラム (ImPACT) の一環として実施したものです。

2P-070-II

アレルギー糖タンパク質を認識可能な配向性分子インプリント空間の構築

神戸大学大学院工学研究科

佐伯哲郎 (Saeki Tetsuro), 砂山博文, ○北山雄己哉, 竹内俊文

【緒言】

糖タンパク質は生物学的・病理学的プロセスにおいて重要な働きをすることから、アレルギーやバイオマーカーとして検出対象とされている。しかし、分子認識材料として一般に用いられる抗体では、糖鎖に対する高親和性抗体の調製が困難なことから、抗体に代わる人工分子認識材料の開発が必要とされている。本研究では、分子インプリンティング技術により構築される標的分子認識空間内の相互作用部位として、糖鎖と可逆的共有結合を形成可能なボロン酸を用いることで、高感度・高選択的に標的糖タンパク質を検出可能な配向性分子インプリント空間の構築を試みた。

【実験】

標的糖タンパク質として卵アレルギーとして知られる ovalbumin (OVA) を選択した。ボロン酸を修飾した表面プラズモン共鳴 (SPR) センサーチップ上に、OVA 糖鎖とのボロン酸エステル形成を介して OVA の配向固定化を行った。OVA と静電相互作用を示す pyrrolidyl acrylate および 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine をそれぞれ機能性モノマーおよびコモノマーとして用い、OVA 固定化基板上から表面開始原子移動ラジカル重合を行った後、ボロン酸エステル結合を切断することにより配向制御認識空間を有する分子インプリントポリマー (MIP) 薄膜を作製した。得られた MIP 薄膜の OVA 認識特性を表面プラズモン共鳴 (SPR) によって評価した。

【結果と考察】

得られた MIP の OVA に対する結合能及び選択性を SPR によって評価した結果、結合定数は $4.7 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ と推定され、同時に類似糖タンパク質に比べて有意に OVA を結合したことから、OVA に対する MIP の選択性を確認した。OVA 親和性および選択性は、鋳型分子を用いずに作製したリファレンスポリマー (NIP) に比べて明らかに向上し、分子インプリンティングによる認識空間構築の有効性を示した。さらに、実際の卵白サンプルをモデル実サンプルとし、MIP 薄膜を用いた OVA 添加回収実験を行ったところ、高い回収率を示し実試料に対しても MIP 薄膜の有用性が示された。

2P-071-II

肝がんマーカー糖タンパク質を高感度検出可能な分子インプリントセンシングシステム

神戸大学大学院工学研究科

森重貴裕 (Morishige Takahiro), 香門悠里, 高野恵里, ○北山雄己哉, 竹内俊文

【緒言】 α -Fetoprotein (AFP)は肝臓疾患のバイオマーカーとして知られている糖タンパク質であり、その高感度検出は肝臓がんの早期診断に有用である。分子インプリントポリマー(MIPs)は、標的分子を選択的に結合可能な三次元認識空間を構築した人工分子認識材料であり、抗体などの生体由来分子に代わる分子認識素子として注目を集めている。さらに、当研究室では分子認識空間内選択的修飾法であるポストインプリンティング修飾 (PIM) を開発し、種々の MIPs の高機能化に成功している。本研究では、相互作用部位として AFP のもつ糖鎖と可逆的共有結合を形成可能なボロン酸と負電荷や疎水性アミノ酸残基と相互作用可能な pyrrolidyl 基を同一鑄型空間内に配置した AFP 二点認識空間を形成した。さらに、認識空間内選択的に蛍光分子を導入することで、AFP 結合情報を蛍光として発信可能な分子インプリントセンシングシステムを構築した。

【実験】ジスルフィド結合を介してメタクリロイル基を AFP 上に導入した鑄型 AFP を合成した。3-fluorophenyl boronic acid および Br 基を修飾した金薄膜蒸着ガラス基板上に、ボロン酸エステル形成によって鑄型 AFP を固定化した。機能性モノマーとして pyrrolidyl methacrylate, コモノマーとして 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine を用いて表面開始原子移動ラジカル重合によりポリマー薄膜を形成した。可逆結合切断により AFP を除去した後、鑄型空間内に残存するチオール基に対して蛍光分子を導入し、得られた MIP 薄膜の AFP 結合特性を表面プラズモン共鳴 (SPR)測定および蛍光測定によって評価した。

【結果と考察】SPR 測定の結果、MIP 薄膜の AFP 認識能を確認し、その際の親和性および選択性は、鑄型分子を用いずに合成したノンインプリントポリマー (NIP) や機能性モノマーを用いずに合成したリファレンス MIP (R-MIP) 薄膜に比べて高い親和性・選択性を示した。また、蛍光検出によってヒト血中における AFP 閾値以下の 10 pM AFP が検出可能であった。さらに、ウシ血清アルブミンを用いたブロック処理によって MIP の認識空間外への非特異吸着を抑制し、1%の血清溶液中においても、高感度に AFP 蛍光検出を行うことに成功した。

2P-072-II

ポストインプリンティング修飾による前立腺癌特異抗原インプリント空間の高機能化

神戸大学大学院工学研究科

松本大樹 (Matsumoto Hiroki), 砂山博文, 高野恵里, ○北山雄己哉, 竹内俊文

【緒言】

前立腺特異抗原 (PSA) は、前立腺がんにおけるバイオマーカーとして知られ、前立腺がん早期診断や経過観察などに役立つため、高感度検出法の開発が求められている。本研究では、非共有結合型分子インプリンティングによって、PSA を高感度に検出するための分子インプリントポリマー (MIP) 薄膜の合成を試みた。その際、当研究室独自に開発したポストインプリンティング修飾 (PIM) によって、高親和性空間を低濃度の標的分子によって動的に保護し、低親和性空間を無効化するキャッピング処理によって高親和性認識空間のみを有する MIP 薄膜への改変を試みた。

【実験】

相互作用部位として安息香酸部位と PIM 用官能基として二級アミノ基を有する機能性モノマーを合成した。金蒸着基板上に、アミノ基および重合開始基として働くブロモ基を末端にもつ混合自己組織化単分子膜を作製した後、アミノ基にポリエチレングリコール鎖を介して 4-carboxy-3-fluorophenylboronic acid をアミンカップリングにより導入した。PSA 上の糖鎖と基板上的ボロン酸による環状ジエステル形成を利用して PSA を基板表面に配向固定化し、機能性モノマー、2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine、*N,N'*-methylenebisacrylamide の表面開始原子移動ラジカル重合を行い、ポリマー薄膜を形成した。その後、環状ジエステルを切断することで鑄型 PSA を除去し、PSA 認識空間を有する MIP 薄膜を得た。

【結果と考察】

表面プラズモン共鳴 (SPR) 測定の結果、PSA 濃度の上昇に伴って MIP 薄膜の SPR レスポンスが増加し、得られた吸着等温線からその結合定数は $6.0 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ と推定されたことから、得られた MIP 薄膜は、抗体にせまる親和性を有していることがわかった。さらに PIM (低親和性空間に対するキャッピング処理) により、参照タンパク質 human serum albumin, immunoglobulin G の非特異的吸着が明らかに低減し、明確な選択性の向上が確認されたことから、PIM により高親和性認識空間のみを有する高選択的な MIP 薄膜への改変が可能であることが示された。

発表者索引 (Index to Authors)

Abe Shigeaki	243	Hashimoto Yoshihide	249	Ito Masanori	227
Aida Shuhei	70	Hashizume Mineo	170	Ito Rina	130
Akimoto Mizutani Aya	209	Hattori Koji	131	Ito Shun	159
Akita Kazuya	224	Hayakawa Tohru	55	Ito Tomoki	112
Akiyama Hiroki	112	Hayamizu Ryoki	123	Iwasaki Norimasa	178
Anada Takahisa	213	Hayashi Koichiro	77, 221	Iwasaki Sana	199
Anamizu Mina	231	Hayashi Takaaki	186	Joutoku Zenta	96
Anqi Tao	146	Hayashi Tomohiko	168	Kagami Sanae	131
Aoki Takashi	201	Hee Sook Hwang	105	Kagawa Genki	121
Aoki Takuto	185	Higashi Taishi	183	Kagechika Hiroyuki	244
Aratsu Fumihiko	68	Hirai Keigo	71	Kajii Fumihiko	97
Arisaka Yoshinori	103	Hiromoto Sachiko	58	Kamada Shohei	193
Asawa Kenta	185	Hiruta Tomoko	155	Kambe Yusuke	202
Asayama Shoichiro	182	Honda Naoyuki	164	Kamegawa Rimpei	139
Azuma Tomoyuki	58	Hontsu Shigeki	81	Kamimura Masao	60
Baba Kazuyoshi	245	Horiguchi Yukichi	253	Kamino Kenta	167
Cheol-Min Han	104	Horikawa Ayumi	241	Kamon Yuri	200
Cho Eol	148	Horiuchi Naohiro	225	Kanayama Naoki	171
Deromachi Takehiro	76	Hoshi Ayako	145	Kaneko Kyoshiro	159
Ebara Mitsuhiro	64	Hoshiba Takashi	237	Kaneko Masahiro	125
Ebata Masahiko	77	Hsu Chun Jui	139	Kaneko Rin	155
Egawa Satoru	79	Hyodo Katsuya	126	Kashiwazaki Aki	75
Endo Yoshitsugu	92	Ichikawa Shoko	215	Kasuga Toshihiro	173
Fiona Louis	250	Ida Yuta	98	Kataoka Kazunori	179
Fujie Toshinori	52	Igarashi Atsushi	158	Kato Hibiki	194
Fujii Daisuke	130	Ikeda Yusuke	62	Kato Reiko	235
Fujimura Nozomi	119	Ikeda Yutaka	79	Kawagishi Koki	116
Fujisawa Ayano	240	Ikeda Yui	119	Kawai Yusuke	98
Fujita Naoki	137	Ikeuchi Nao	121	Kawamura Akifumi	242
Furuzono Tsutomu	88	Ikumi Reo	233	Kawashita Masakazu	171
Fuse Megumi	226	Imamura Yuki	87	Kayano Hidenari	117
Goda Tatsuro	192, 198	Inanaga Daimu	127	Kikuchi Akihiko	67
Goto Mitsuaki	63	Inoue Tomomi	93	Kikuchi Emi	146
Gotoh Yohko	226	Inoue Yuuki	211	Kimura Naruki	165
Haga Yuta	190	Irie Shunya	213	Kimura Tsuyoshi	217, 250
Haishima Yuji	240	Isama Kazuo	247	Kinoshita Ryo	151
Haniu Hisao	234	Ise Hirohiko	67	Kishida Akio	179
Hara Eiki	248	Ishida Haruka	65	Kitagawa Kazuki	134
Hara Emilio Satoshi	95	Ishihara Ryo	199	Kitahara Yoko	59
Harai Tomohiro	153	Ishikawa Kunio	205	Kitano Otome	122
Hariya Ryo	66	Ishikawa Raga	152	Kitazawa Joe	107
Hasegawa Chihiro	122	Ishimoto Takuya	82	Kizukuri Rihoko	134
Hashimoto Shogo	126	Ishizaka Haruhiko	175	Kobayashi Jun	249
Hashimoto Takuya	150	Isobe Jun	215	Kojima Kentaro	163
Hashimoto Tomoko	231	Ito Eri	197	Kokado Kanako	76

発表者索引 (Index to Authors)

Kokubo Nana	167	Mori Yuta	228	Nozaki Kosuke	225
Komatsu Syuuhei	91	Morimoto Koichi	238	Ochiai Takuro	120
Komuro Hiroaki	89	Morimoto Naoki	94	Ogawa Hiroaki	69, 188
Kondo Seina	216	Morioka Tomoko	234	Ogiya Satoru	178
Koyama Jun	111	Morishige Takahiro	254	Ohtsu Naofumi	222
Kozuma Miyabi	99	Morishita Yuki	157, 239	Ohya Yuichi	53
Kunii Saori	251	Morita Erika	124	Oishi Yoshifumi	232
Kurashina Yuta	81	Morita Kentaro	115	Oji Masashi	191
Kuriki Izumi	113	Mu Mingwei	114	Okada Masahiro	221
Kyomoto Masayuki	170	Murahashi Yasutaka	156	Okada Ryusaku	150
Le Thi Minh Phuc	236	Muraji Yuichi	61	Okada Yuki	106
Lee Eujin	166	Murakami Daiki	235	Okamoto Ichie	132
Lee Sungho	88	Murata Yuki	138	Okiji Takashi	56
Long Binh Vong	104	Nagahama Koji	182	Okubo Minori	147
Maeda Junki	128	Nagaishi Takeru	138	Okuda Chihiro	229
Mahara Atsushi	95	Nagase Kenichi	212	Onishi Azusa	162
Majima Kenya	187	Nagashima Kazuki	149	Ono Dai	116
Maruhashi Takuma	181	Nagashima Miki	106, 207	Ono Kimika	160
Masatsugu Hirota	245	Nagata Kohei	84	Ooya Tooru	190
Masuda Marin	145	Nagata Takuya	142	Osada Sayaka	252
Masuda Tsukuru	103	Nagata Yuki	135	Oshibe Narumi	206
Masuyama Kazuhira	196	Nakada Masaru	189	Otaka Akihisa	236
Matsubayashi Makoto	152	Nakahara Keiko	151	Otsuka Hikari	74
Matsuda Akana	129	Nakahata Masaki	230	Owaki Mitsuhiko	107
Matsugaki Aira	214	Nakamura Jin	85	Oyane Ayako	80
Matsumoto Daisuke	162	Nakamura Maki	61	Ozasa Ryosuke	210
Matsumoto Hiroki	254	Nakamura Naoko	248	Peng Chen	66
Matsumoto Rempei	80	Nakamura Naoto	184	Ren Zhang	125
Matsusaka Shuhei	72	Nakamura Noriko	183	Robin Rajan	191
Matsusaki Michiya	101	Nakanishi Yohei	124	Saeki Tetsuro	253
Min Sang Lee	105	Nakata Yoshimi	219	Saijo Saaya	62
Miyagi Daisuke	224	Nakaura Hiroshi	141	Saito Mio	117
Miyajima Atsuko	241	Nakayama Masanori	208	Sakai Takashi	175
Miyamoto Yuji	60	Namera Takayuki	187	Sakamoto Kota	188
Miyata Shogo	208	Narita Moe	237	Sakamoto Yuki	220
Miyazaki Tetsuro	73	Narusawa Hideaki	89	Sakemoto Ryu	149
Mizuguchi Yoshinori	65	Narutaki-Sugawara Ayae	195	Sana Ahmed	74
Mizuno Yosuke	154	Niiyama Eri	59	Sanada Yuka	128
Mizuta Ryo	194	Nishida Kei	127	Sasaki Kazuki	229
Mochizuki Kei	161	Nishimura Shinnosuke	140	Sato Rikiya	230
Mohamad Alaa Terkawi	217	Nishioka Satoru	238	Sato Taira	205
Momotori Naoki	161	Nishitsuji Ryosuke	252	Sato Takumi	242
Mori Kazuma	71	Noiri Makoto	64	Sato Tomoya	210
Mori Shunsuke	181	Nomura Yusuke	239, 246	Sato Yuto	144
Mori Yusuke	108	Norimatsu Jumpei	147	Sawada Shin-ichi	232

発表者索引 (Index to Authors)

Sekine Kazumitsu	86	Toda Tatsuki	118	Yoneda Kenji	91
Sekishita Asuka	189	Tonegawa Junichi	204	Yoshida Shota	148
Seo Won Kim	113	Toratani Midori	203	Yoshida Yusuke	133
Seung Kyun Yoon	110	Torun Gözden	83	Yoshihara Akifumi	211
Shimabukuro Masaya	109	Toyama Shoko	143	Yoshii Toshitaka	206
Shimada Naohiko	69	Tsuchido Yuji	192	Yoshikawa Yuto	142
Shimamura Hori	251	Tsuchiya Akira	220	Yoshimitsu Ryosuke	247
Shimizu Daisuke	228	Tsuge Mirei	153	Yoshioka Takuya	85
Shioji Yudai	158	Tsuji Kazushi	114	Yoshizaki Yuta	141
Shiraishi Koichi	184	Tsutsui Sei	223	Yufeng Zheng	90
Shukuwa Risa	129	Tuchiya Haruka	123	Yui Nobuhiko	179
Sonoda Toshiki	200	Uchida Noriyuki	73	Yunoki Shunji	196
Sonotaki Seiichi	140	Uchida Satoshi	78	Yutani Tomoyo	216
Sudo Hideki	96	Ueda Masato	68	Zhou Lu	132
Sugahara Atsuhiko	198	Ueda Tomoya	136	Zhou Weiwei	83
Sugaya Tsutomu	56	Uehara Koki	118		
Sugiura Yuki	222	Uemura Toshimasa	202		
Sumida Hiromichi	163	Ueno Taro	135		
Sumiya Manami	160	Uo Motohiro	55		
Sun Xiaohao	82	Uo Motohiro	233		
Suzuki Ayako	97	Usuba Ryo	166		
Suzuki Ginga	108	Uto Koichiro	63		
Suzuki Jin	99	Uyama Emi	223		
Suzuki Yuka	176	Waku Tomonori	243		
Tagami Junji	51	Wakuda Yuka	111		
Takahashi Haruko	100	Washio Ayako	219		
Takahashi Hiroka	227	Watanabe Shin	154		
Takahashi Hironobu	100	Yabutsuka Takeshi	70		
Takahashi Mari	209	Yamada Naoki	120		
Takai Hiroki	204	Yamada Shota	75		
Takano Hiroki	136	Yamada Yuta	133		
Takebe Jun	244	Yamaguchi Seiji	84		
Takeda Rikiya	87	Yamamoto Masaya	90		
Takeda Yoshihiro	165	Yamamoto Osamu	207		
Takeuchi Masato	110	Yamamoto Shota	214		
Takeuchi Toshifumi	78	Yamanouchi Tsubasa	144		
Takimoto Shun	193	Yamaoka Tetsuji	93, 94		
Tamura Atsushi	52	Yamazaki Daisuke	212		
Tanabe Kanta	195	Yamazoe Hironori	72		
Tanaka Keita	164	Yanagisawa Kosuke	157		
Tanaka Ryusuke	246	Yanokuchi Satoshi	137		
Tanino Yuuya	115	Yarinome Kenji	186		
Tatehata Shoji	92	Yeh Shuyun	201		
Teramura Yuji	203	Yokogawa Yoshiyuki	86		
Terauchi Masahiko	156	Yokota Tomohiro	109		

第 39 回日本バイオマテリアル学会大会 予稿集 (2017)
© 2017 Japanese Society for Biomaterials

発行日：平成 29 年 11 月 13 日
発行人：第 39 回日本バイオマテリアル学会大会
 大会長 山下 仁大
 〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台 2-3-10
 東京医科歯科大学学生体材料工学研究所
 医療基盤材料研究部門 無機生体材料学分野
印 刷：壮光舎印刷株式会社
 〒116-0014 東京都荒川区東日暮里 6-20-9
 電話：03-3802-6311

(本会に無断にて複写・転載することを禁じます)

第
39
回

日
本
バ
イ
オ
マ
テ
リ
ア
ル
学
会
大
会

予
稿
集

二
〇
一
七
年