

Title	生体内での速やかな血管新生を誘導する新規足場材料の開発
Sub Title	Development of novel scaffold materials that induce rapid angiogenesis in vivo.
Author	岡部, 圭介(Okabe, Keisuke)
Publisher	
Publication year	2025
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2024.)
JaLC DOI	
Abstract	外傷や腫瘍切除後の組織欠損を補うためには種々の人工材料が用いられるが、移植床からの血管新生が速やかに起こらないと生着は得られない。そこで、移植材料にチャネル構造を造形することによって、移植床からの効率的な血管新生を誘導する移植材料を開発するべく研究を行った。移植材料へ細胞を組み込むか否かにかかわらず、直径200～300μmのチャネル構造を作ることによって、移植後の血管新生が増加することが分かった。そのメカニズムについてはまだ不明な点が多く今後の追加実験が必要である。 Various artificial materials are used to compensate for tissue loss after trauma or tumor resection, but they will not be viable unless angiogenesis from the graft bed occurs rapidly. Therefore, we conducted research to develop an implantable material that induces efficient angiogenesis from the graft bed by creating a channel structure in the implantable material. We found that the creation of channel structures with a diameter of 200-300 μm increased angiogenesis after transplantation, regardless of whether cells were incorporated into the graft material or not. The mechanism is still unclear and requires additional experiments in the future.
Notes	研究種目：挑戦的研究 (萌芽) 研究期間：2022～2024 課題番号：22K19605 研究分野：形成外科学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_22K19605seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

令和 7 年 5 月 29 日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2024

課題番号：22K19605

研究課題名（和文）生体内での速やかな血管新生を誘導する新規足場材料の開発

研究課題名（英文）Development of novel scaffold materials that induce rapid angiogenesis in vivo.

研究代表者

岡部 圭介 (Okabe, Keisuke)

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師

研究者番号：50445350

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000 円

研究成果の概要（和文）：外傷や腫瘍切除後の組織欠損を補うためには種々の人工材料が用いられるが、移植床からの血管新生が速やかに起こらないと生着は得られない。そこで、移植材料にチャネル構造を造形することによって、移植床からの効率的な血管新生を誘導する移植材料を開発するべく研究を行った。移植材料へ細胞を組み込むか否かにかかわらず、直径200～300 μm のチャネル構造を作ることによって、移植後の血管新生が増加することが分かった。そのメカニズムについてはまだ不明な点が多く今後の追加実験が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の構想は、「足場材料にチャネル構造を作る」という一見単純なもののようにあるが、移植材料に細胞を組み込む必要がなくなることの恩恵は計り知れない。移植材料の準備期間の短縮、拒絶反応などの免疫学的問題や倫理的問題の回避、コスト削減など種々の利点を持っている。そのため臨床応用のハードルが低く、皮膚以外にも応用範囲が広い。信頼性を持って本研究のコンセプトを広めるためには、メカニズムの解明や再現性など解決すべき課題が残されている。

研究成果の概要（英文）：Various artificial materials are used to compensate for tissue loss after trauma or tumor resection, but they will not be viable unless angiogenesis from the graft bed occurs rapidly. Therefore, we conducted research to develop an implantable material that induces efficient angiogenesis from the graft bed by creating a channel structure in the implantable material. We found that the creation of channel structures with a diameter of 200-300 μm increased angiogenesis after transplantation, regardless of whether cells were incorporated into the graft material or not. The mechanism is still unclear and requires additional experiments in the future.

研究分野：形成外科学

キーワード：血管新生 創傷治癒 バイオエンジニアリング

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

熱傷を含む外傷、悪性腫瘍の切除後、先天性色素性母斑の治療等、皮膚を含めた広範な軟部組織欠損に対する治療が必要となるケースは形成外科・皮膚科領域を中心に多々みられる。近年の治療技術の進歩、新規治療デバイスの開発は目覚ましいものの、それでも未だ治療に難渋することは稀ではない。手術侵襲を低減しドナー部位の犠牲を最小限にするべく、各種の人工真皮製品や自家培養表皮を移植する治療が行われているが、移植床からの血管新生が不十分で脱落してしまうことが多く、治療の障壁になっている。つまり、移植後に「いかにして移植床からの速やかな血管新生を誘導するか」が治療の成否を分けるカギとなっている。

過去に臨床応用された細胞を含む移植材料は、自家培養表皮、自家培養軟骨、心筋シートなど厚みのない自家組織をシート状に貼付して移植するもののみであり、一定以上の厚みを持つ組織移植のためには、材料内部に機能的な血管を含んでいる必要があるという共通認識がある。我々も当初、血管網を含む移植材料の開発に取り組んできたが、その過程で、足場材料に管腔（チャネル）構造を組み込むことによって、レシピエント（移植マウス）の血管がその管腔構造に入り込み血管網を構成することを示唆する所見が散見された（図1）。そこで、管腔構造を持つ移植材料を移植することでホストの血管新生を効率的に促すことができれば、効率的に組織欠損を補うことが可能な移植材料の開発が可能なのではないかという着想に至った。

2. 研究の目的

上記の背景をもとに、本研究では「足場材料の材質と造形を工夫することによって、生体内での速やかな血管新生を誘導する新規移植材料を開発すること」を目的として研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 移植材料への細胞播種と管腔径の検討

移植材料へ播種する細胞の有無や管腔（チャネル）の径によって血管新生の誘導効率がどのように違うかについて、各条件の移植材料を作成して比較検討した。

チャネルのない移植用ゲルの他、100 μm 、200 μm 、300 μm のチャネル径を持つゲルを作成した。それぞれについて、蛍光色素（GFP）を発色するヒト血管内皮細胞（HUVEC）を播種したものと播種しなかったものを作成した。細胞の定着を確認した後、それぞれの移植材料を SCID マウスの背部皮下へ移植し、2週間後に回収した。

ゲルの厚みや血管侵入の様子を肉眼的に観察することに加え、ホールマウント免疫染色標本作製し、CD31 と αSMA を指標に侵入した血管の密度や血管網の範囲について定量化を行った。

(2) ゲルの組成と造形の最適化

コラーゲンゲルの種類や濃度、フィブリンとの適切な混合比率、管腔の太さや方向など、ゲルの組成と管腔構造の違いによって移植後の血管新生がどのように異なるかについて条件を検討した。

(3) 他の移植モデルの開発

マウス背部皮下移植は最も条件の整った移植モデルではあるが、臨床的に移植材料が最も必要とされるのは深い皮膚欠損のある創傷部位であると想定される。そこで、その環境をなるべく再現するべく、マウス皮膚欠損創を作成し、移植材料をその部へ移植するモデルについても開発を行った。

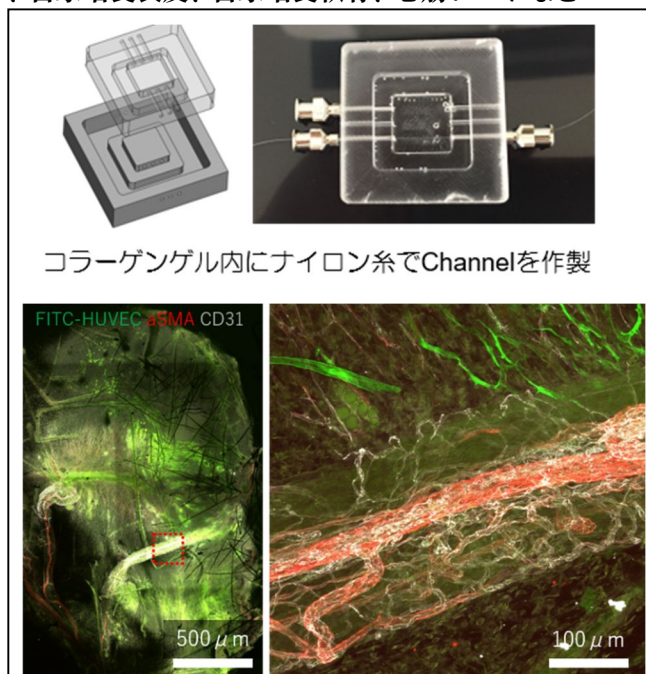
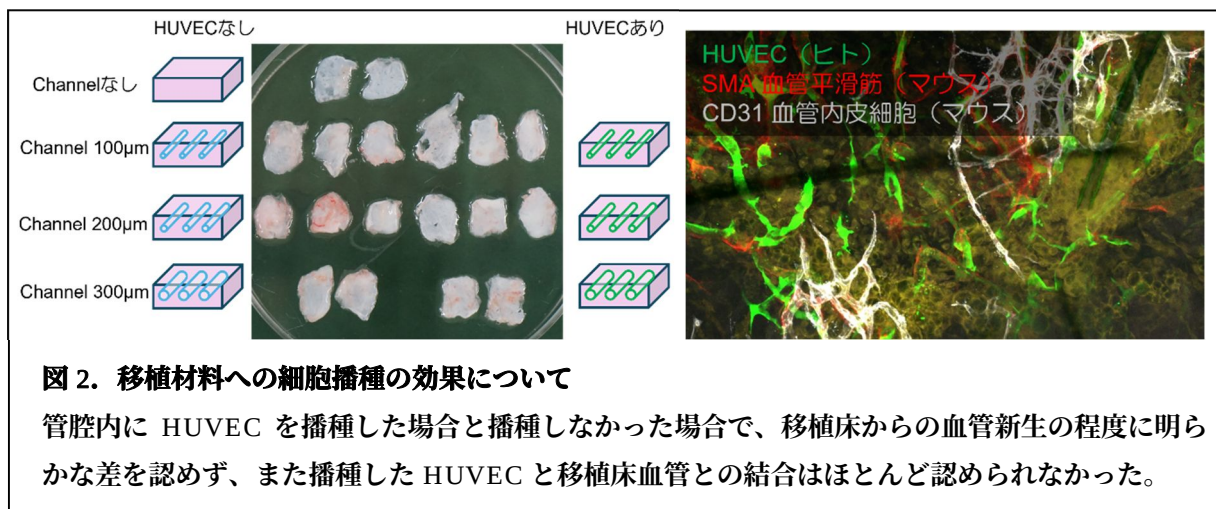


図1. 管腔（チャネル）構造のあるゲルの移植

ナイロン糸で管腔を開けたゲルをマウスの皮下へ移植すると、管腔内へホストの血管が侵入し、それを起点に血管網が形成されることを示唆する所見が観察された。



4. 研究成果

(1) 移植材料への細胞播種と管腔径の検討

3D プリンターで作製した鋳型にコラーゲンを流し込んで固化し、移植用ゲルを作成した。ナイロン糸を通すことで内部に管腔（チャンネル）構造を作成した。図 2 に示す通り、移植材料へヒト血管内皮細胞（HUVEC）を播種するかどうかにかかわらず、チャンネルのないゲルには血管の侵入が乏しく、チャンネルのあるゲルには血管が良く侵入している様子が観察された。

また、ホルマウント染色で観察した結果、移植材料に播種した GFP-HUVEC と、ホストの血管網は、それぞれが独自に血管網を形成しているものの、お互いが結合する像はほとんど認められなかったことから、移植材料に播種した細胞が血流を受ける程度はごくわずかであることが示唆された。チャンネルの径については、200 μm のものにおいて最も血管の侵入が多かった。

次にチャンネルの内腔に沿って細胞を接着したものと、ゲル内に満遍なく播種したものを作成して比較した（図 3）。すると、本実験においても周囲に満遍なく HUVEC を播種したかどうかにかかわらず、チャンネルを作成しているかどうかによってゲルへの血管侵入が認められることが分かった。

以上より、**移植用ゲル内へ効率的に血管新生を促すためには、細胞を播種するかどうかによらず、チャンネル構造を作成するかどうか**が最も重要であることが示唆された。

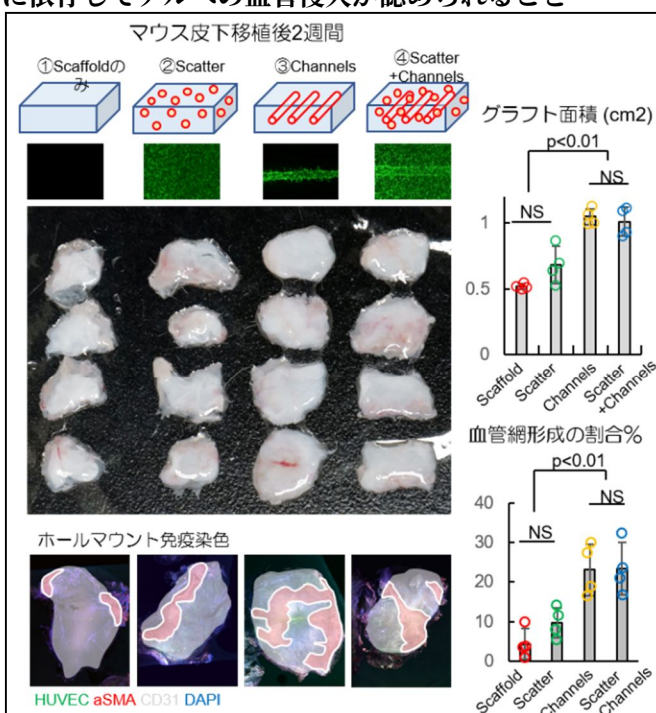
(2) ゲルの組成と造形の最適化

移植材料のゲルの組成について次に検討した。ウシ、ラット、ブタ由来のコラーゲン、およびコラーゲンとフィブリンの混合によって作成されたゲルをそれぞれ作成して比較した。

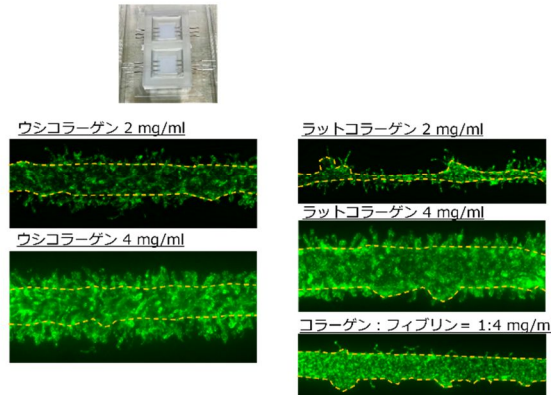
in vitro での周囲への血管新生の所見、およびマウス背部皮下移植後の血管侵入の程度を比較したところ、ゲルの組成としてはブタコラーゲン：フィブリン＝1：4 の割合で混合したゲルが最も優れていると判断された（図 4）。そこで、以後の研究においては本組成のゲルを使用して実験を行った。

また、実際の創部における血管新生の様式を考えると、血管は深部の筋膜より垂直方向に近いベクトルをもって移植組織へ侵入することが観察される。したがって、鉛直方向に管腔構造を持つ移植材料ではより効率的な血管の侵入が可能となると考えられた。しかし、実際に移植実験を行ったところ、水平のチャンネルを持つゲルと比較して血管新生は乏しいことが分かった（図 5）。

その他、3D プリンターでゲルに管腔を作成する構想も練ったものの、実験として使用する段階には至らなかった。



【ゲル組成の検討 (in vitro)】



【ゲル組成の検討 (in vivo)】

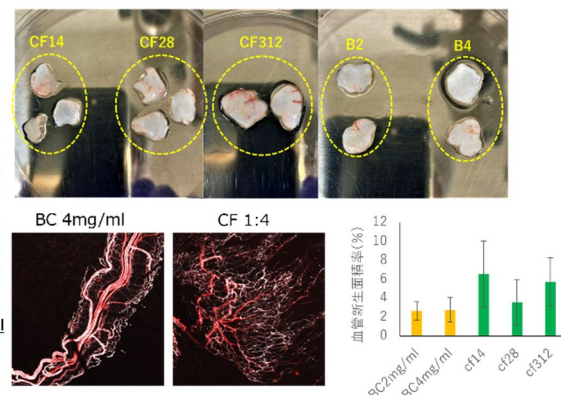


図 4. ゲルの組成について

ウシ、ラット、ブタ由来のコラーゲンゲル、コラーゲンとフィブリンの混合ゲルを作成して比較したところ、ブタコラーゲン：フィブリン=1：4のゲルにおいて最も効率的な血管新生が誘導された。

(3)他の移植モデルの開発

マウス皮膚欠損モデルを作成してゲルを移植する実験を行った。SCID マウス背部の左右に直径 8mm 大の皮膚欠損創を作成し、創の収縮を抑制するためにシリコン製のスプリントを縫合した。中央にゲルおよび市販の人工真皮製品を移植し、フィルムで被覆し観察した。しかし、観察期間中にマウス自身による搔抓や体動により、ゲルが脱落する個体が散見され、正確な血管新生の程度を評価するには至らなかった。

本研究の構想は、「足場材料にチャンネル構造を作る」という一見単純なもののようにであるが、移植材料の準備が簡便であること、拒絶反応などの免疫学的問題の回避、コストの削減など種々の利点を持っているため臨床応用のハードルが低く応用範囲が広いと思われる。

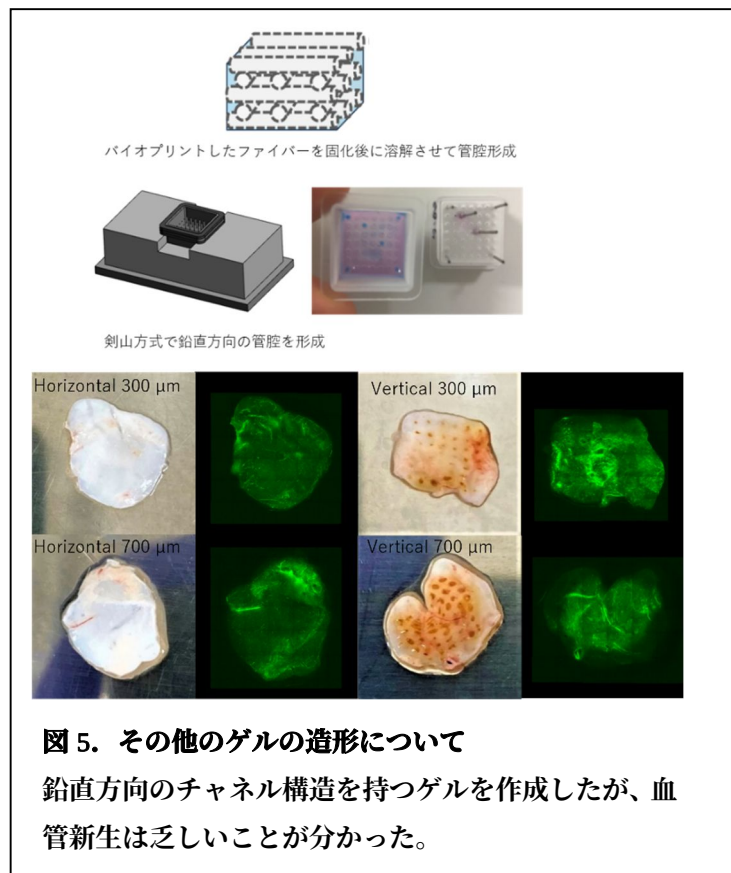


図 5. その他のゲルの造形について

鉛直方向のチャンネル構造を持つゲルを作成したが、血管新生は乏しいことが分かった。

チャンネルへ血管が誘導されるメカニズムの解明など、残された課題は多いものの、さらなる研究を重ねることによって有用な知見が得られる可能性があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

—

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------