

第32回日本炎症・再生医学会

新たな血管新生法, 人工血管作製法を紹介

再生医学領域では、新たな知見の集積や人工多能性幹(iPS)細胞など新技術の研究開発が進んでいる。京都市で開かれた第32回日本炎症・再生医学会(会長=京都府立医科大学・吉川敏一学長)のシンポジウム「血管再生」(座長=東京医科歯科大学分子細胞機能学分野・森田育男教授, 京都大学再生医科学研究所幹細胞分化制御研究領域・山下潤准教授)では、デフェロキサミン(DFO)徐放化ゼラチンハイドロゲルの血管新生効果、「光老化」現象を利用した人工血管作製など、血管再生に関する新たな知見や手法が紹介された。

～DFO徐放化ゼラチンハイドロゲル～ 局所投与により血管新生が可能

組織が低酸素状態に陥ると、低酸素誘導因子HIF-1 α が活性化され、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)など血管新生作用を有する蛋白質の産生が亢進することが知られている。一方、鉄キレート剤であるDFOは細胞から鉄を除去することで、低酸素状態を模倣した状態に誘導できる。このことから、DFOを局所で作用させることで血管新生が期待できるが、DFOは半減期が短いのが難点である。京都大学再生医科学研究所生体材料学分野の齊藤高志氏、田畑泰彦教授らは「ゼラチンハイドロゲルを用いることでDFOを徐放化することが可能であり、DFO徐放化ゼラ

また、培養上清中のVEGF発現量も有意に増加していた。

次に、ゼラチンとDFOを水溶液中で混合した後、凍結乾燥、真空乾燥、熱脱水処理してDFO含有ハイドロゲルを作製し、DFOの放出を検討したところ、DFOはDFO含有ゼラチンハイドロゲルから徐放することが確認できた。

さらに、同教授らは下肢急性虚血モデルマウスを作製し、マウスの患部にDFO含有ゼラチンハイドロゲルを埋め込み、3および7日後にマウスを犠牲死させて組織切片を作製、組織学的解析を行い、血管新生を評価した。組織切片をヘマトキシリン

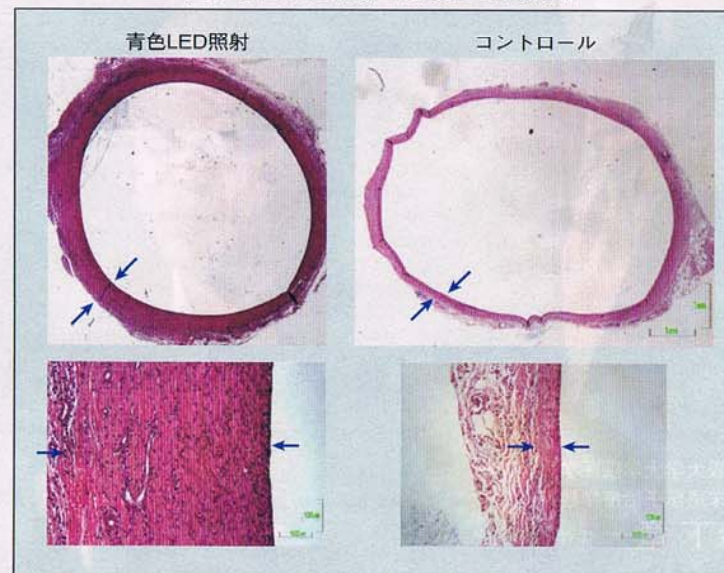
光色の発光円柱基材をビーグル犬の皮下に埋入して、形成されたバイオチューブを組織学的に評価したところ、短波長光ほど壁が厚く、高い弾性を有するバイオチューブが形成された。青色LEDを3日間照射した場合、3週間後に形成されたバイオチューブの壁厚は、非照射基材において2カ月間で得られた壁厚の6倍以上に達していた(図)。

また、バイオチューブには平滑筋細胞を伴う成熟した新生血管が多数誘導されていた。バイオチューブの主成分はコラーゲンと線維芽細胞であったが、血管様に円周方向に配向した多数のエラスチンが観察された。現在、同室長ら

は新幹工業(株)と実用化を目指し、同バイオチューブを用いて、ビーグル犬の頸動脈への移植実験を実施中である。

今回の実験で、光照射を行うことで、皮下組織の光応答反応が誘起され、コラーゲン形成の促進、エラスチン産生、新生血管の促進が誘導され、バイオチューブの完成度を高めることができた。また、新生血管が豊富に誘導されたことから、虚血性疾患への応用も可能と考えられ、体内光刺激は画期的な再生医療技術の開拓につながると期待される。

〈図〉青色LED照射で形成された組織



(中山泰秀氏提供)

～PRPの血管新生作用～

第32回日本炎症・再生医学会

新たな血管新生法, 人工血管作

再生医学領域では、新たな知見の集積や人工多能性幹(iPS)細胞など新技術の研究開発が進んでいる。京都市で開かれた第32回日本炎症・再生医学会(会長=京都府立医科大学・吉川敏一学長)のシンポジウム「血管再生」(座長=東京医科歯科大学分子細胞機能学分野・森田育男教授, 京都大学再生医科学研究所幹細胞分化制御研究領域・山下潤准教授)では、デフェロキサミン(DFO)徐放化ゼラチンハイドロゲルの血管新生効果、「光老化」現象を利用した人工血管作製など、血管再生に関する新たな知見や手法が紹介された。

～DFO徐放化ゼラチンハイドロゲル～ 局所投与により血管新生が可能

組織が低酸素状態に陥ると、低酸素誘導因子HIF-1 α が活性化され、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)など血管新生作用を有する蛋白質の産生が亢進することが知られている。一方、鉄キレート剤であるDFOは細胞から鉄を除去することで、低酸素状態を模倣した状態に誘導できる。このことから、DFOを局所で作用させることで血管新生が期待できるが、DFOは半減期が短いのが難点である。京都大学再生医科学研究所生体材料学分野の齊藤高志氏、田畑泰彦教授らは「ゼラチンハイドロゲルを用いることでDFOを徐放化することが可能であり、DFO徐放化ゼラチンハイドロゲルは血管新生効果を有する」と述べた。

下肢急性虚血モデルマウスで確認

田畑教授らは、正常ヒト臍帯静脈内皮細胞をDFO添加培地にて培養し、HIF-1 α とその下流因子の1つであるVEGFの発現量を酵素結合免疫吸着測定(ELISA)法で定量した。その結果、DFO非添加培地で培養した細胞に比べて添加培地で培養した細胞ではHIF-1 α の発現量の有意な亢進が認められ、その発現量はDFO非添加培地で1%の酸素分圧下で培養したときと同じレベルであった。

また、培養上清中のVEGF発現量も有意に増加していた。

次に、ゼラチンとDFOを水溶液中で混合した後、凍結乾燥、真空乾燥、熱脱水処理してDFO含有ハイドロゲルを作製し、DFOの放出を検討したところ、DFOはDFO含有ゼラチンハイドロゲルから徐放することが確認できた。

さらに、同教授らは下肢急性虚血モデルマウスを作製し、マウスの患部にDFO含有ゼラチンハイドロゲルを埋め込み、3および7日後にマウスを犠牲死させて組織切片を作製、組織学的解析を行い、血管新生を評価した。組織切片をヘマトキシリンエオジン(HE)染色して全血管数を評価したところ、未処置群および遊離DFOを筋注した群に比べて、DFOゼラチンハイドロゲル埋め込み群では血管数の有意な増加が認められた。

また、抗 α -SMA抗体を用いて組織切片を免疫染色して成熟血管数を評価したところ、他の群に比べてDFOゼラチンハイドロゲル埋め込み群では成熟血管の有意な増加が認められた。

以上の結果から、DFO徐放化ゼラチンハイドロゲルを用いることによって新生血管が増加することが確認できた。

光皮チる性れ合ユて上チ滑う血導ハの一芽たに配の観現性あにか解剖一のい組(E