

論文名: Development of Microstructured Fish Scale Collagen Scaffolds to Manufacture a Tissue-Engineered Oral Mucosa Equivalent

マイクロパターン化した魚うろこコラーゲン足場材を用いた培養口腔粘膜の開発

新潟大学大学院医歯学総合研究科 小児歯科学分野

氏名 鈴木絢子

ここから記入

【緒言】上皮組織には、幹細胞ニッチに相当すると言われる“Dermal-Epidermal Junction (DEJ)”という特有の構造が存在する。しかしながら、これまで報告のある培養口腔粘膜をはじめ、すでに商品化されているいわゆる“培養皮膚”でも、DEJ 構造が再現されている製品は開発されていない。我々は魚のうろこコラーゲンを使用した培養口腔粘膜 (TEOME) の開発を行っているが、インビトロモデルにせよ、臨床応用を目的とした移植材にせよ、生体に、より類似した培養口腔粘膜が求められる。これまで我々は、不織布の圧接により DEJ の足場材への再現に取り組んできた(特開 2017-147951)が、作成回ごとのロット差は不可避であった。また、1%うろこコラーゲン製の足場材で培養口腔粘膜を作成すると、極度に収縮することが問題であり、物性の工夫も必要であった。

本研究の目的は、半導体技術を用い、形状の異なるマイクロパターンのプロトタイプを、安定的に付与できる魚うろこコラーゲン製足場材作成法の開発、及び異なるマイクロパターンプロトタイプ形状の足場材上に形成される TEOME 上皮の組織学的な差異の検討、そして、コンドロイチン硫酸添加による TEOME の収縮について解析することである。

【実験】本実験ではグリッド型、ピラー型の基本形状に、矩形と波形の外形を組み合わせ4種類のマイクロパターンプロトタイプをデザインした。半導体技術を用いてグリッド状マイクロパターン付与用にポリジメチルシロキサン製、ピラー状マイクロパターンにシリコン製の陰性鋳型を作成し、ここへコラーゲン溶液(1%コンドロイチン硫酸添加または無添加)を填入し、 γ 線架橋を行った。インフォームドコンセントを得た患者から単離した口腔粘膜上皮細胞を足場材に播種し、本学の臨床応用プロトコールに準じて TEOME を作成した。経時的にサイズを測定し、HE 染色及び免疫染色でマイクロパターン形状と上皮組織像を観察した。

【結果】デザインしたマイクロパターンのプロトタイプをコラーゲン足場材に転写させることに成功した。TEOME のマクロ像から、コンドロイチン硫酸を添加した群は無添加群に比べ収縮抑制の効果を認めた。作成したすべての TEOME に上皮形成を認めた一方で、転写したマイクロパターンのプロトタイプ形状の原形は組織学的観察から、大多数の足場材で維持されず、変形や平坦化が生じていた。その理由として、コラーゲン製足場材の材料学的性質に起因する可能性があることが考えられるので、精密に口腔粘膜の DEJ 構造が付与、反映された TEOME を作成するために、さらなる物理化学的、機械的性質の向上が必要不可欠と思われる。本技術にの発展によって、より生体模倣された培養口腔粘膜移植材や 3 次元口腔粘膜インビトロモデルの開発が可能となり、将来的に TEOME の製品化を目指す。