

キトサン/ヒアルロン酸ハイドロゲルの特性評価と細胞足場への応用

(横国大理工¹・横国大院工²) ○山内一輝¹・飯島一智²

Characterization of chitosan/hyaluronic acid hydrogels and their application to cell scaffolds (¹ College of Engineering Science, Yokohama National University, ² Faculty of Engineering, Yokohama National University) ○Kazuki Yamauchi,¹ Kazutoshi Iijima²

Regeneration of cartilage tissues by using bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) attracts attentions. Transplanting artificial cartilage-subchondral bone continuous tissues are expected to exert a high therapeutic effect on articular diseases such as osteoarthritis. In this study, carboxymethyl chitosan (CM-CHI)/hyaluronic acid dialdehyde (HDA) hydrogels were prepared from CM-CHI and HDA via chemical cross-linking and characterizations of the gels were performed. The gels having porous structure showed rapid gelation behavior and self-repairing ability. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) were seeded in the hydrogels and viabilities of MSCs were examined by Live/Dead assay. The gels maintained their shapes after more than 14 days culture. MSCs cultured in the hydrogels showed high viabilities. Obtained results suggested that CM-CHI/HDA hydrogels have a potential application to construction of artificial cartilage-subchondral bone continuous tissues.

Keywords : Hydrogel; Chitosan; Hyaluronic Acid; Mesenchymal Stem Cell; Regenerative Medicine

[緒言] 骨髄などから単離される間葉系幹細胞 (MSCs) を用いた関節組織に対する再生医療が注目されている。特に、変形性膝関節症などの関節疾患に対しては軟骨-軟骨下骨連続組織を移植することで高い治療効果が期待される。そこで本研究では、カルボキシメチルキトサン (CM-CHI) とヒアルロン酸ジアルデヒド (HDA) のハイドロゲル (CM-CHI/HDA ゲル) ¹⁾ を作製し、軟骨-軟骨下骨連続組織の構築を目指した。

[手順] HDA はヒアルロン酸を過ヨウ素酸ナトリウムにより酸化開裂することで得た¹⁾。CM-CHI/HDA ゲルは CM-CHI 溶液と HDA 溶液を混合することで作製し、得られたゲルに対して特性評価を行った。具体的には、フーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR) によるゲル中の化学架橋の確認、走査型電子顕微鏡 (SEM) によるゲル微細構造の確認、ゲルの自己修復性の確認、細胞培養に用いる培地中での損失率の算出、Live/Dead アッセイによるゲル中での MSCs の細胞生存率の評価を行った。

[結果と考察] FT-IR において HDA のアルデヒド基に由来するピークが消失したことから、CM-CHI/HDA ゲルが化学架橋によるものであることが示唆された。ゲルの断片を接触させたところ、約 1 分後に断片同士の接着が見られ、本ゲルが自己修復性を有することが示された (Fig.1)。また、本ゲルが 14 日間以上、培地中で形状の維持が可能であることと、その期間 MSCs を培養可能であることを確認した。以上から、軟骨-軟骨下骨連続組織の構築に応用できる可能性を示した。軟骨-軟骨下骨連続組織の構築に向け、現在 CM-CHI/HDA ゲルにおける MSCs の骨、軟骨分化挙動を解析中である。



Fig.1. Repaired CM-CHI/HDA gel after two pieces of the gels were put together.

1) L. Li, N. Wang, X. Jin, R. Deng, S. Nie, L. Sun, Q. Wu, Y. Wei, C. Gong, *Biomaterials* 35, 3903-3917 (2014).