

3P-245 送液可能な血管構造を有する三次元組織の構築

○嶋津 祐香¹, 平出 亮二², 大崎 達哉³, 福田 淳二⁴
 (1)横国大, (2)テクダイヤ株式会社, (3)筑波大院・数理工学, (4)横国大院・工)
 fukuda@ynu.ac.jp

細胞そのものを用いる新しい治療法として再生医療が注目を集めており、一部の組織については臨床試験も始まっている。しかし、酸素や栄養素を供給するための血管構造の作製法が確立されていないため、酸素の拡散距離を超える三次元組織は作製できないのが現状である。そこで、我々は電気化学的な細胞操作技術を用いて、送液可能な等間隔配置された血管様構造を作製する手法を確立し、特に立体的な肝組織の構築に取り組んでいる。本研究では、テーパー状の血管様構造を作製することで、隣接する血管様構造の間に圧力差を生じる機構を組み込み、液流れによって能動的に酸素や栄養素を供給できる血管システムの構築を目指した。

[方法と結果]

血管様構造を作製するために、まず金をコートしたストレートまたはテーパー型のニードルにオリゴペプチドを修飾し、ヒト臍帯静脈内皮細胞を接着させた。その後、ニードルを培養チャンバー内に固定し、周囲をゲルで覆った。ここで、電位を印加してペプチドと金ニードルの結合を切断し、周囲を覆っているゲルへ細胞を転写して、送液培養を行った。

その結果、規則配置された血管様構造を有し、長期間維持培養できる三次元組織を構築することができた。また、テーパー構造により付与した圧力勾配によって並列する血管構造間に液流れが生じることを確認した。

Fabrication of 3D tissues with vascular-like structures

○Yuka Shimazu¹, Ryoji Hiraide², Tatsuya Osaki³, Junji Fukuda⁴
 (1)Yokohama Natl. Univ., (2)TECDIA CO.,LTD., (3)Grad. Sch. Pure Appl. Sci., Univ. Tsukuba, (4)Grad. Sch. Eng., Yokohama Natl. Univ.)

Key words vascular, hydrogel

3P-246 肝不全モデルに対する血液体外循環による再細胞化肝臓の評価

坂本 裕希, 趙 宰庸, 白木川 奈菜, ○井嶋 博之
 (九大院・工)
 ijima@chem-eng.kyushu-u.ac.jp

【背景・目的】

現在、重度の肝臓病に対する根治療法は肝移植のみであり、慢性的なドナー不足が深刻な問題となっている。そのため、移植用肝組織の構築が急務であるが、未だに治療に有効な肝組織の構築はできていない。そこで本研究では、精緻な血管構造を有する脱細胞化肝臓を鋳型として自己由来の肝細胞を播種・培養することにより、移植治療用の再細胞化肝臓の構築を目標としている。この実現のためには十分な治療効果が期待できる移植用グラフトを構築する必要がある。そこで今回は、再細胞化肝臓を回路に組み込んだ血液体外循環系を構築し、肝不全ラットに対して適用することでその治療効果を評価した。

【実験方法・結果】

治療効果の評価に必要な肝不全モデルラットの開発を行った。温血虚と部分肝切除を行うことによって、再現性の高く個体差の小さい肝不全モデルの開発に成功した。また、この肝不全モデルは虚血時間を変えることによって重篤度の制御が可能であった。一方、ラットに対する血液体外循環系の開発に取り組んだ。ラットの頸動脈・頸静脈を用いて血液体外循環回路を構築し、回路内に臓器を組み込むことにより血液体外循環系を構築した。この肝不全モデルと血液体外循環系を組み合わせることによって再細胞化肝臓の治療効果の評価を行った。現在は、系の最適化、再細胞化肝臓の更なる機能の向上に向けた検討、ならびに最終目標である移植に向けた検討を行っている。

Evaluation of a recellularized liver by applying a blood extracorporeal circulation system to hepatic failure rats

Hiroki Sakamoto, Jaeyong Cho, Nana Shirakigawa, ○Hiroyuki Ijima
 (Fac. Eng., Kyushu Univ.)

Key words recellularized liver, whole organ engineering, hepatic failure rat, extracorporeal circulation

3P-247 コラーゲン微粒子を用いた毛細血管内包3次元ブロック状組織の形成

○宮崎 満理, 堀 綾香, 矢嶋 祐也, 山田 真澄, 関 実
 (千葉大院・工)
 m-yamada@faculty.chiba-u.jp

【背景と目的】

近年、細胞解析のためのモデルとして、あるいは創薬のためのツールとして利用可能な三次元組織を生体外で構築する手法の開発が盛んに行われている。比較的大きなサイズの大きな生体組織の中心部に存在する細胞に酸素や栄養を効率的に供給するためには、組織内部に血管様構造を形成する必要がある。本研究では、導管機能を有する生体組織を作製するための新たな手法として、微小なコラーゲン粒子を立体的足場として血管内皮細胞とともに細胞非接着性容器内で培養することで、毛細血管網を内包したブロック状組織を作製する手法を提案する。

【方法】

膜乳化法を用いて、直径約10マイクロメートルのコラーゲン微粒子を作製した。作製したコラーゲン微粒子を、血管内皮細胞とともにアガロースゲル製のウェル内部で培養することで、コラーゲン微粒子と血管内皮細胞からなるブロック状組織を作製した。この際、直方体(長さ5mm, 幅100μm, 深さ300μm)、および円柱状(直径200μm, 深さ350μm)の2種類の形状を有するウェルを用い、ブロック状組織の形状制御を試みた。また、集塊を形成するコラーゲン微粒子と血管内皮細胞の個数比を変化させ、細胞の凝集挙動を観察した。

【結果と考察】

コラーゲン微粒子と細胞を微細ウェル内において一定の割合で混合し、7日間培養を行ったところ、コラーゲン微粒子を内部に有するブロック状組織が形成された。組織内部においては細胞が粒子の間隙において増殖し細胞同士のネットワークが形成される様子が観察された。今後は灌流培養による導管形成の制御と組織体の形態評価を行う予定である。

Fabrication of capillary embedding 3D block tissues using collagen microparticles

○Mari Miyazaki, Ayaka Hori, Yuya Yajima, Masumi Yamada, Minoru Seki
 (Grad. Sch. Eng., Chiba Univ.)

Key words Capillary-tissues, Microparticles

3P-248 カルボキシメチルセルロース不織布/リン酸カルシウム複合シートによる骨再生促進効果の検討

○威 蟠¹, 大庭 伸介², 原 雄一³, 福家 正哉³, 伊藤 大知^{1,2}
 (1)東大院・医, (2)東大院・工, (3)旭化成せんい)
 taichi@m.u-tokyo.ac.jp

【背景・目的】 カルボキシメチルセルロース(CMC)は高い生体適合性を持ち、骨補填剤のマトリックスポリマーとしても使用されている。本研究では、新たにカルボキシメチル化率を制御したCMC不織布の空隙中に、交互浸漬法によってリン酸カルシウム(CaP)を充填した新規ハイブリッド材料を開発し、骨再生促進効果を検討した。

【方法・結果】 CMC不織布(カルボキシメチル置換度: 0-0.48)中に、CaPを析出させ、凍結乾燥後、重量、膜厚、XRD測定、SEM観察を行った。形成されたCaPはブルシャイトが主成分であり、一部ヒドロキシアパタイトが含まれた混合物であった。浸漬回数を増やすことで、CaP担持量は制御可能であり、20回浸漬したシートを用い、フィルム中の線維芽細胞通過試験を行った所、高置換度のシートでは高い細胞通過阻止能を示し、CaP担持により、さらに細胞通過阻止能力が向上した。更にマウス前骨芽細胞株(MC-3T3-E1)及びヒト間葉系間質細胞(hMSC)を本シートと共培養し、骨分化誘導能をRT-PCR、ALP染色、Von Kossa染色によって評価した。CMCやCaPの存在下で、骨芽細胞分化マーカー発現量が有意に増加し、ALP活性、カルシウム沈着が促進された。さらにマウス頭蓋骨欠損モデルへ本シートを移植し、1か月後に、軟X線、μCT撮影、HE、マッソントリクローム、骨芽細胞マーカーに対する免疫蛍光染色を行った。欠損部端面から新生骨の再生が観察され、その周囲では骨芽細胞に必須の転写因子osterixを発現する細胞を認めた。

Bone regeneration promoting effect by CMC non-woven / calcium phosphate composite sheet

○Pan Qi¹, Shinsuke Ohba², yuichi Hara³, Masaya Fuke³, Taichi Ito^{1,2}
 (1)Grad. Sch. Med., Univ. Tokyo, (2)Grad. Sch. Eng., Univ. Tokyo, (3)Asahi Kasei Fibers Corp.)

Key words carboxymethyl cellulose, calcium phosphate, bone regeneration