

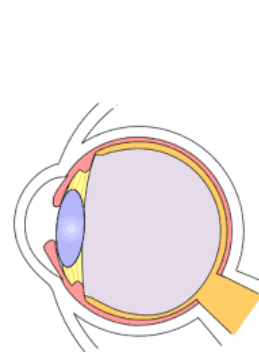
体内に移植した細胞・組織に 新たな血管を誘導する技術

神戸大学大学院 工学研究科 応用化学専攻
准教授 大谷 亨

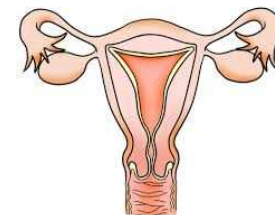
2019年8月1日

技術背景：再生医療

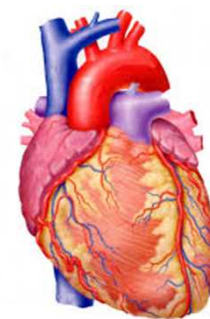
欠損・損傷・機能低下した組織や臓器を、患者の体外で培養した細胞や組織を用いて修復再生し、機能を補完する医療



Retina



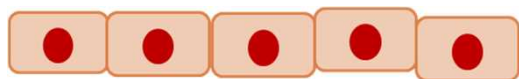
Uterus



Heart

最近の研究例

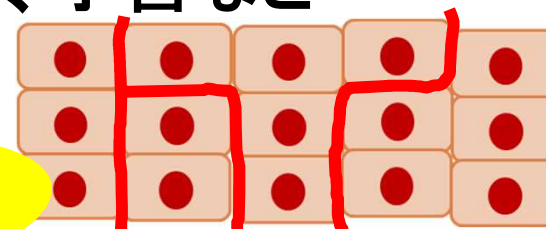
Ex) 網膜



- 血管新生の必要がない
- 2次元シート状

次の課題(3次元組織化)

Ex) 心臓、子宮など



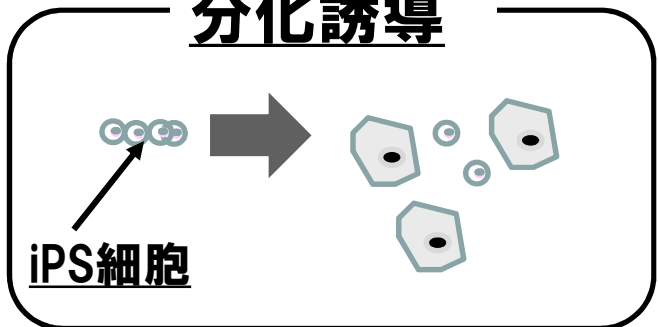
必要不可欠!!

- 血管構築
- 3次元組織化

従来技術とその問題点

iPS細胞研究の現在の取り組み

分化誘導

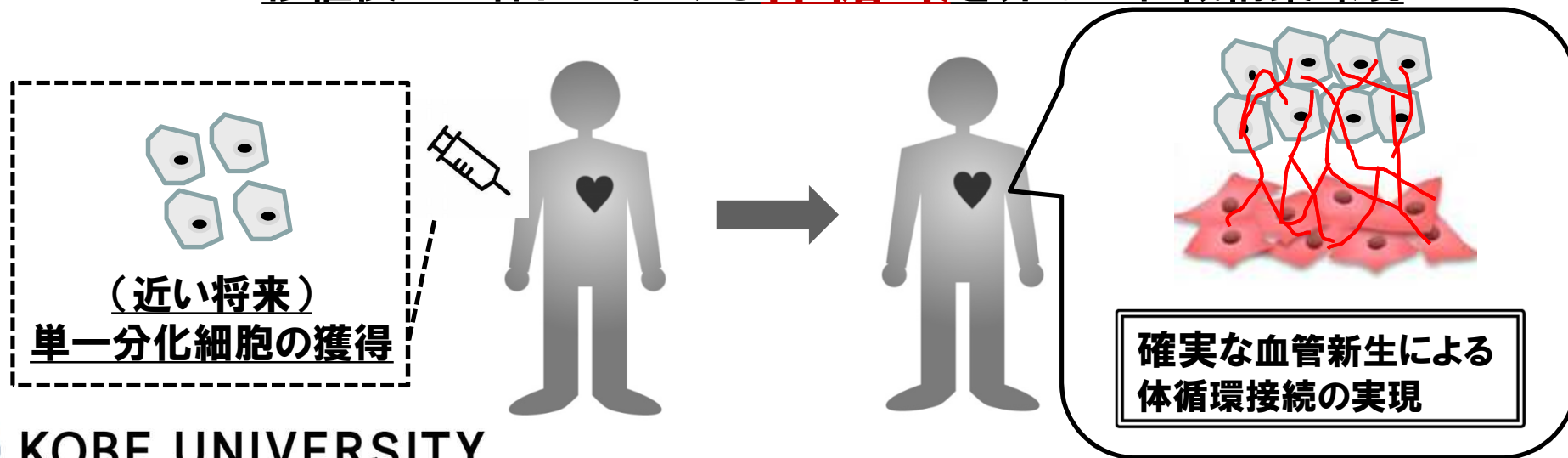


問題点

- 1) 単一の分化細胞を誘導・単離できない
- 2) 分化誘導効率が低い
- 3) 分化細胞の増殖が困難
- 4) 分化誘導にコストと時間がかかる

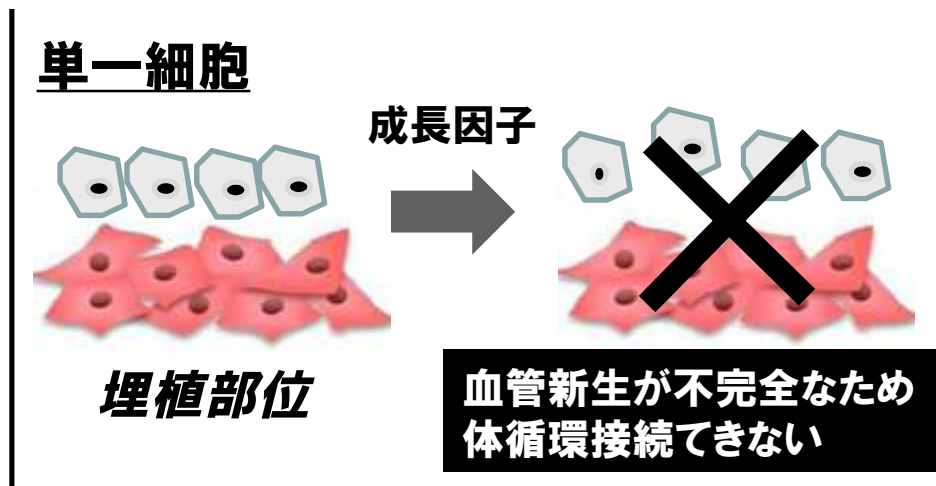
今後必要とされる技術

移植後の人体内における**体循環**を介した組織構築環境

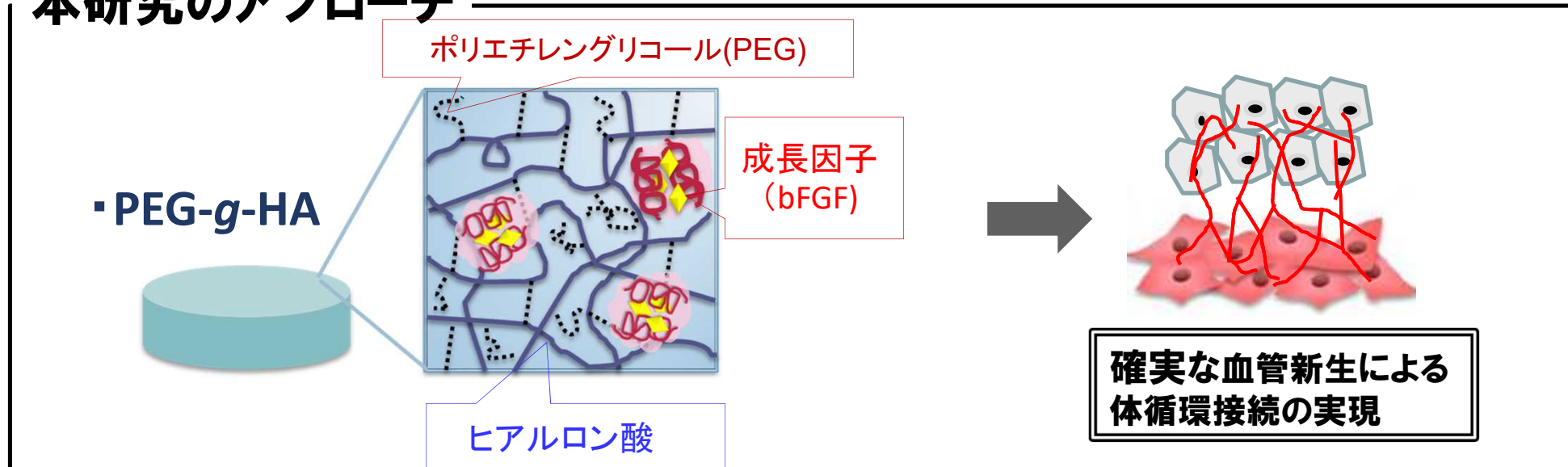


体循環接続を見越した次の再生医療ステージ

従来のアプローチ



本研究のアプローチ

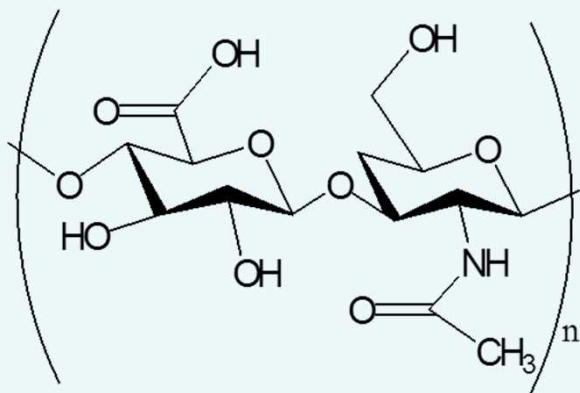


新技術の特徴・従来技術との比較

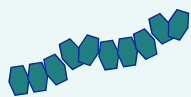
- 従来は、体外で培養した細胞を体内に移植した後、血管新生を促すために**血管内皮細胞を共移植することが不可欠**であった。
- 本技術は従来技術とは異なり、**血管内皮細胞を共移植することなく**、単一細胞（iPSモデル）のみで体循環への接続が可能である。

新技術：体内での血管新生を誘導

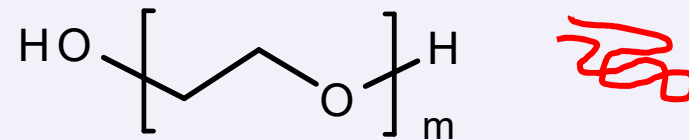
ヒアルロン酸



- 高保水性
- 高粘弾性



ポリエチレングリコール (PEG)



- タンパク質安定化

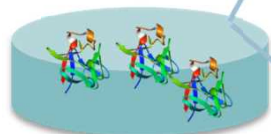
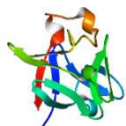
疎水性相互作用

排除体積効果

Arakawa, T., Timasheff, S., *Biochemistry*, 24, 6456 (1985).

PEG含有ヒアルロン酸架橋ゲル

塩基性繊維芽細胞増殖因子(bFGF)

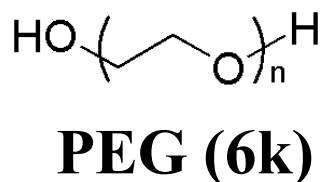
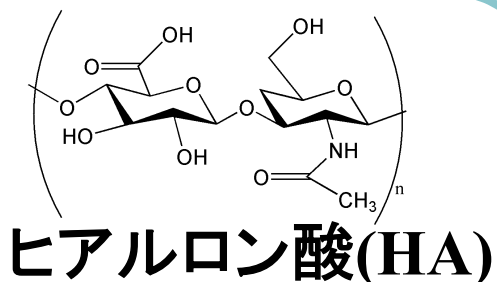
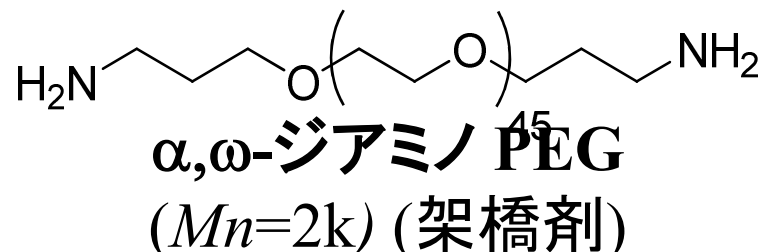


ポリエチレングリコール(PEG)

成長因子(bFGF)

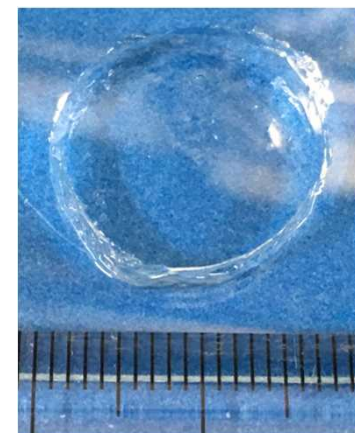
ヒアルロン酸

ヒドロゲルの調製法



DMT-MM (縮合剤)

R.T. 24h

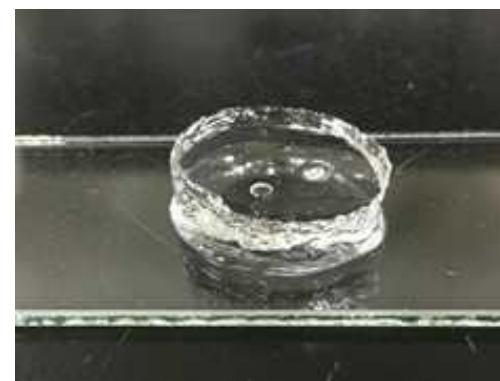


ヒドロゲルの解析(含水率)



乾燥ゲル: W_{dry}

純水に9日間浸漬

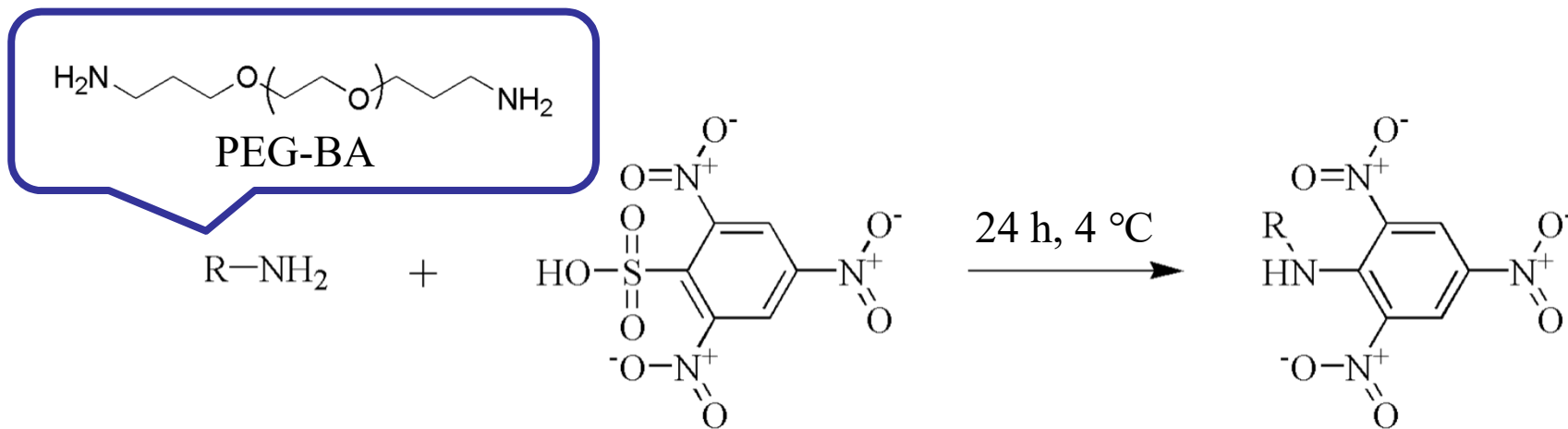


膨潤ゲル: W_{wet}

$$\text{含水率} = \frac{W_{wet} - W_{dry}}{W_{wet}} \times 100 [\%]$$

サンプル	含水率 (%)
HA	93.4
5PEG/HA	89.9

ヒドロゲルの解析 (架橋剤の反応率)



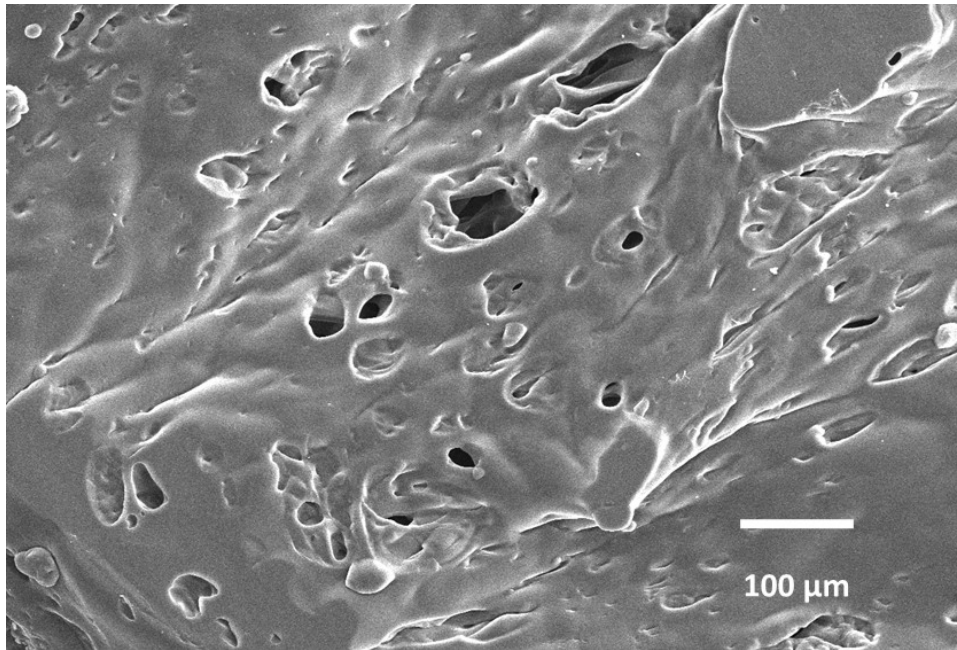
2,4,6-Trinitrobenzenesulfonic acid

345 nmの吸光度測定

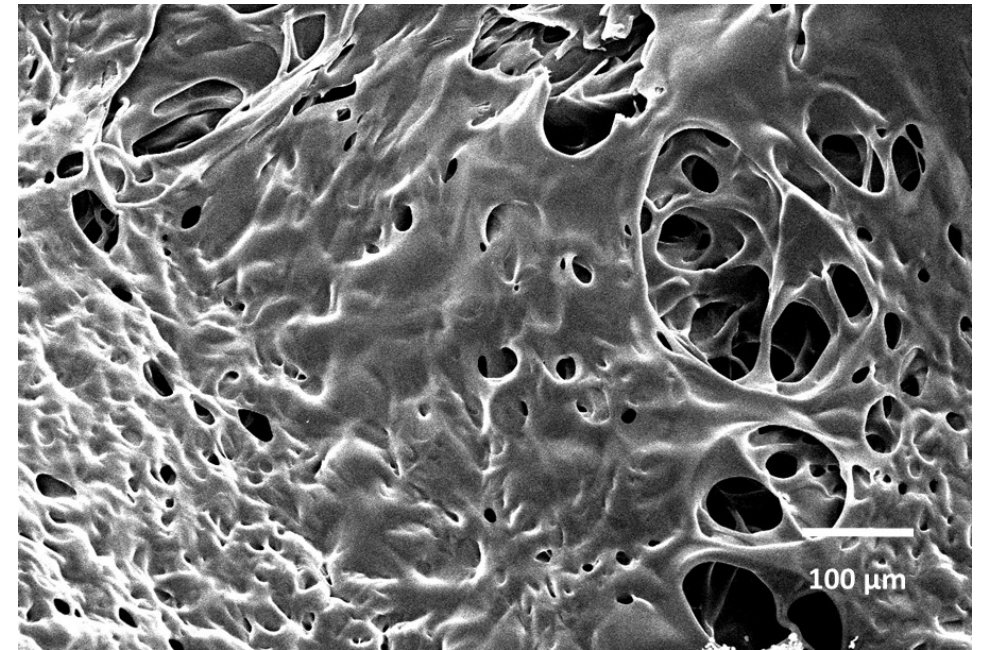
サンプル	架橋剤反応率 (%)
HA	96.0
5PEG/HA	96.1

ヒドロゲルの解析 (SEM観察)

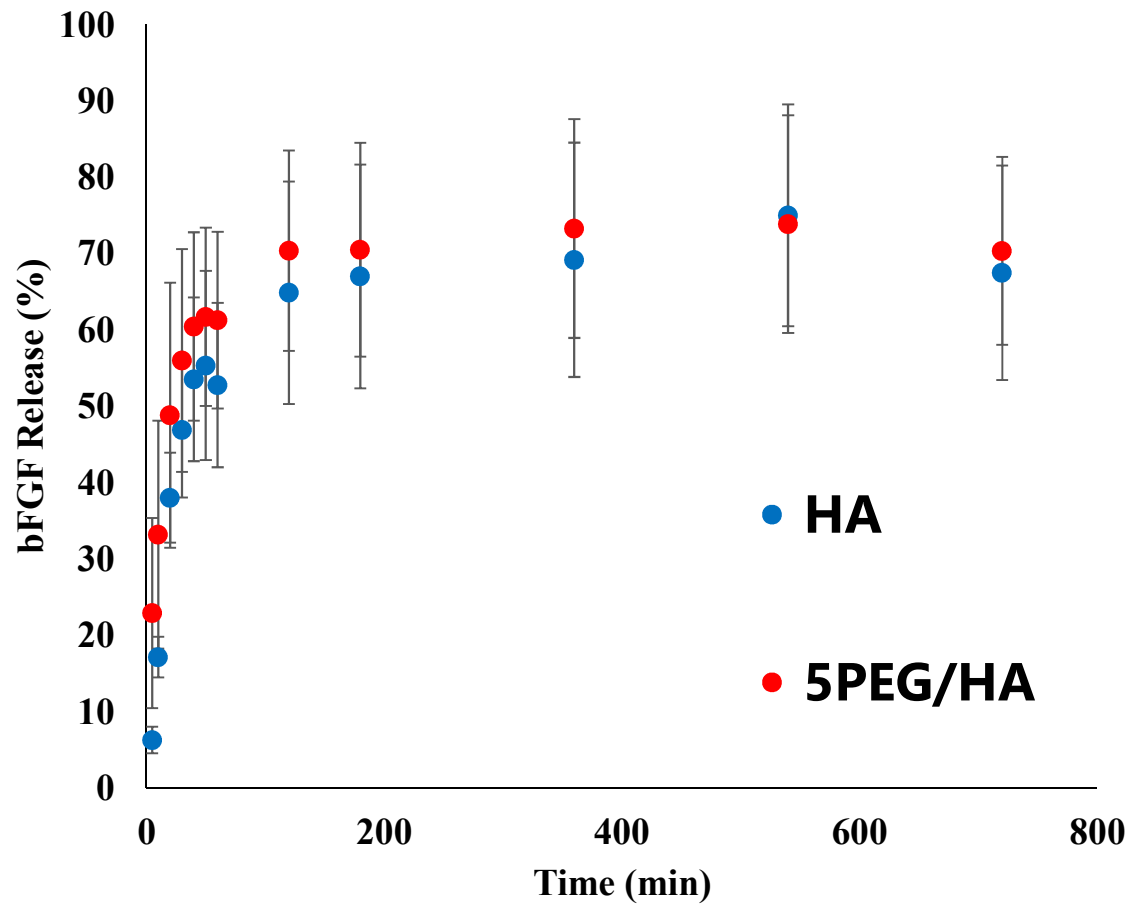
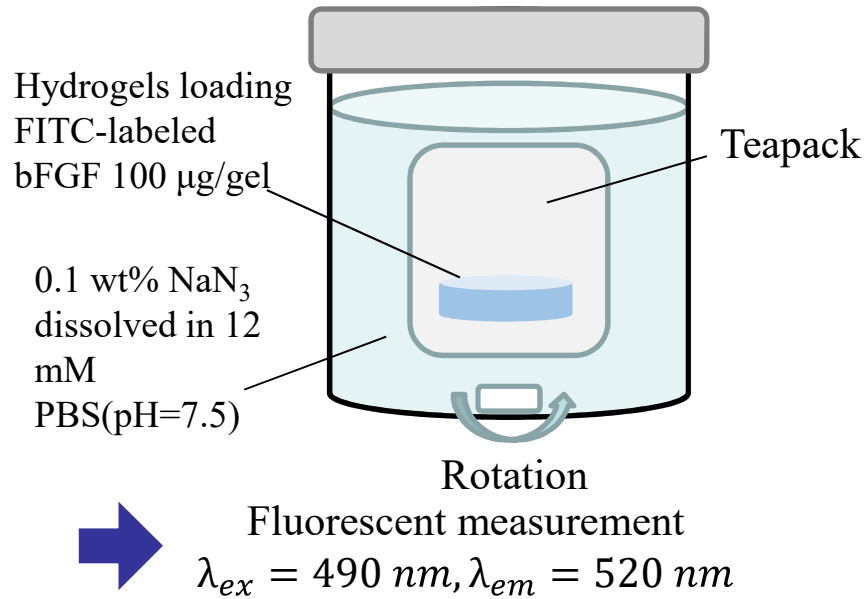
HA



5PEG/HA

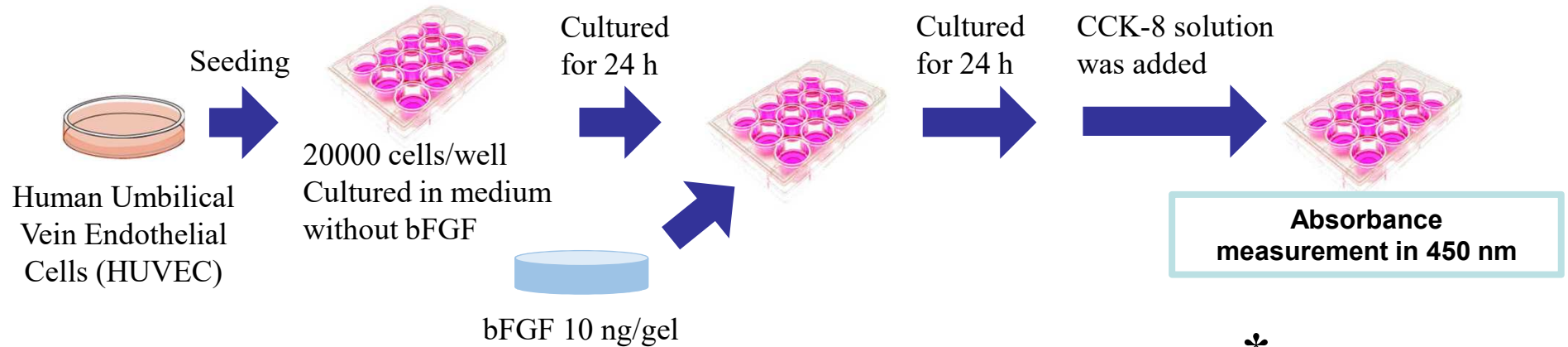


ヒドロゲルへのbFGF内包と放出

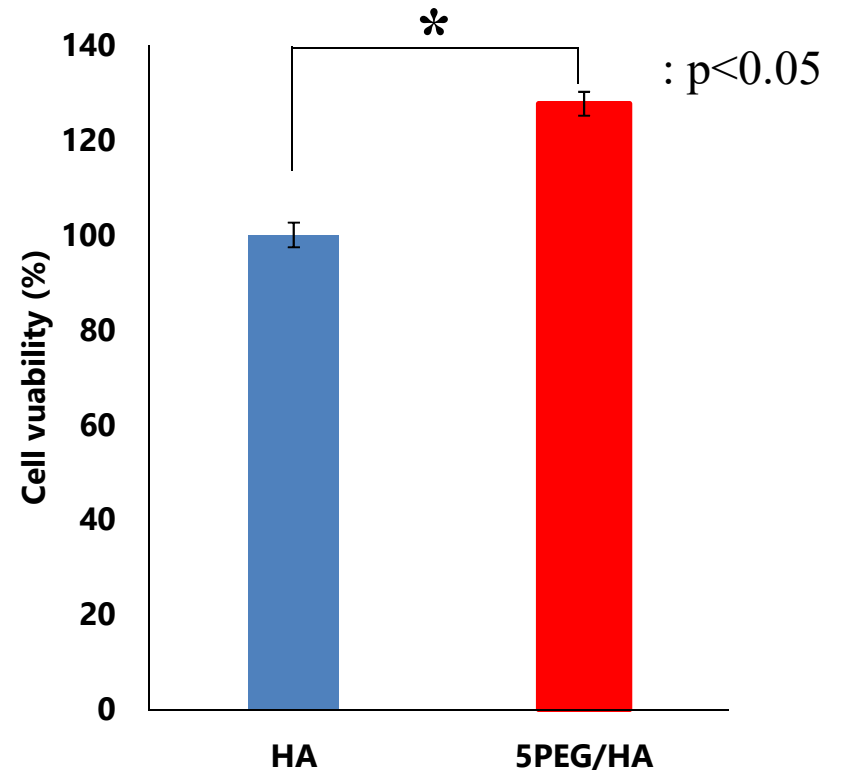


- どのゲルからも200分以内で放出がほぼ完了
- ヒドロゲル間で有意差なし
- 約70%のbFGFは放出される

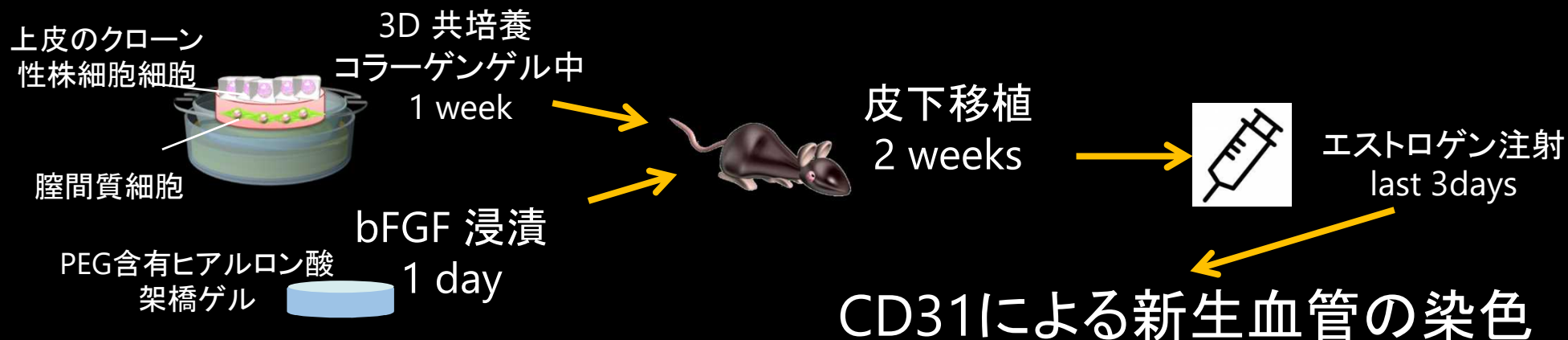
培養血管内皮細胞の増殖



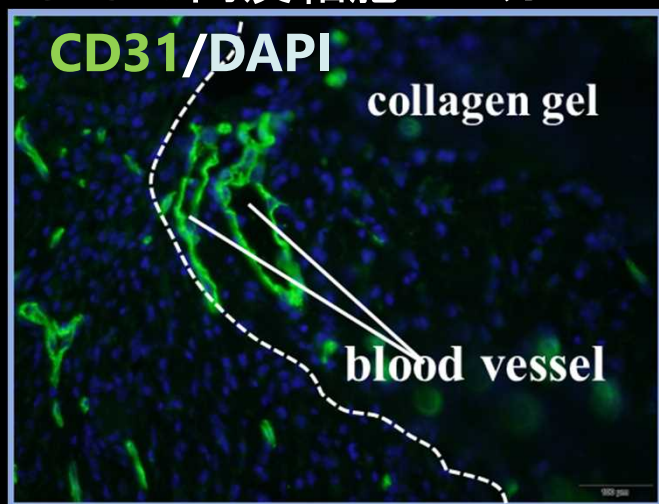
- PEGを含有することによってHUVEC細胞が増殖した。
- bFGFの活性が保持される。



実験データ1: 血管新生の評価



CD31: 内皮細胞マーカー



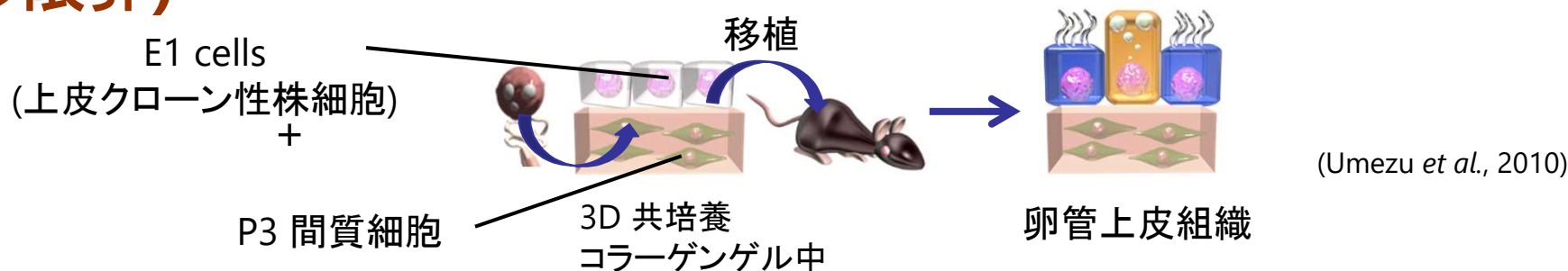
ヒアルロン酸
PEG含有ヒアルロン酸

Hydrogel	The area of blood vessel (%)
HA	3.8
5PEG/HA	7.6 ± 1.6

PEG含有ヒアルロン酸ゲル+bFGFは**体内**で血管新生を誘導

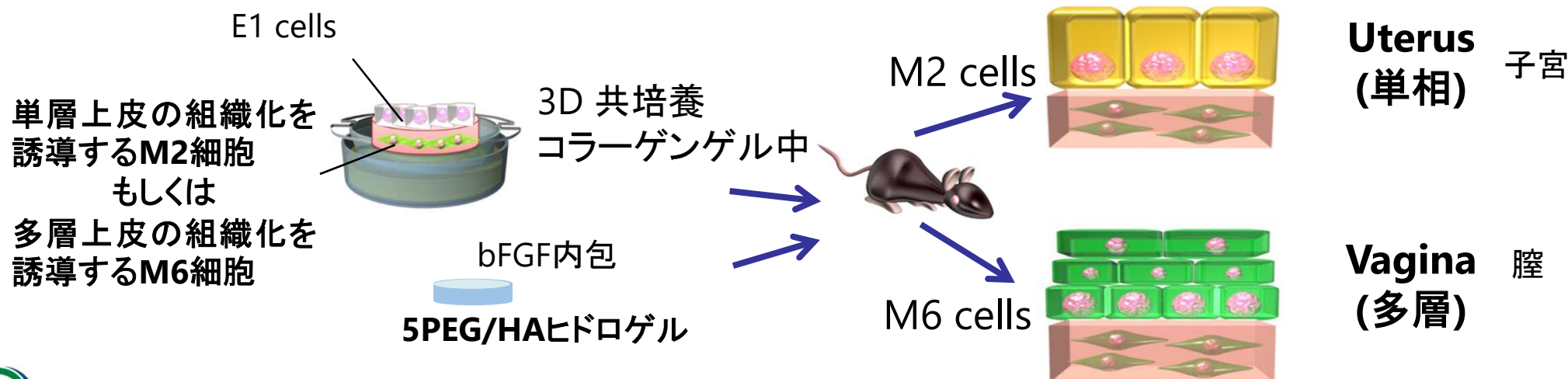
実験データ2: 分化誘導の評価

(従来の限界)

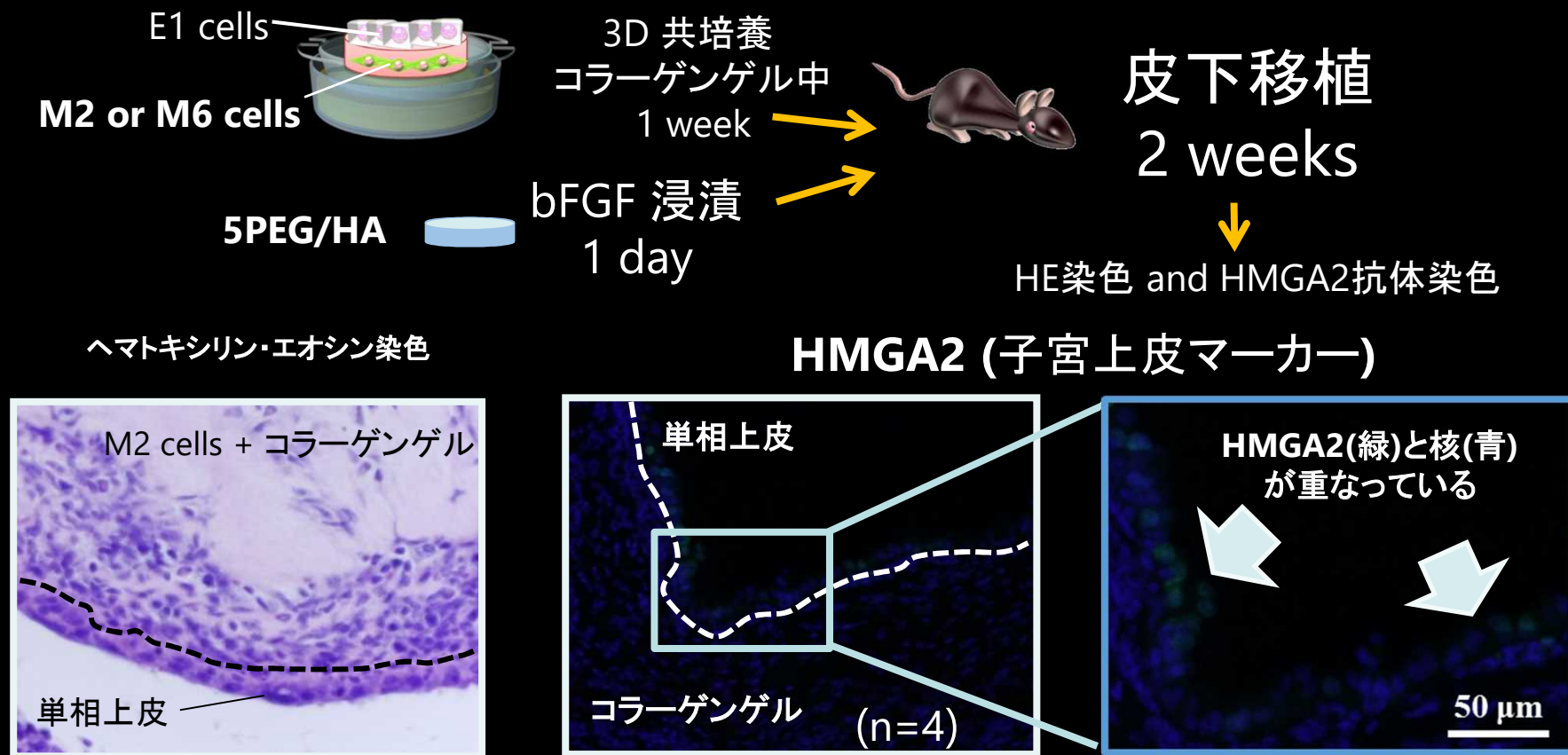


株細胞はコラーゲンゲル中では生存せず、脱分化してしまう。
また、コラーゲンゲル中には血管が見られず。

(新技術による分化誘導評価)



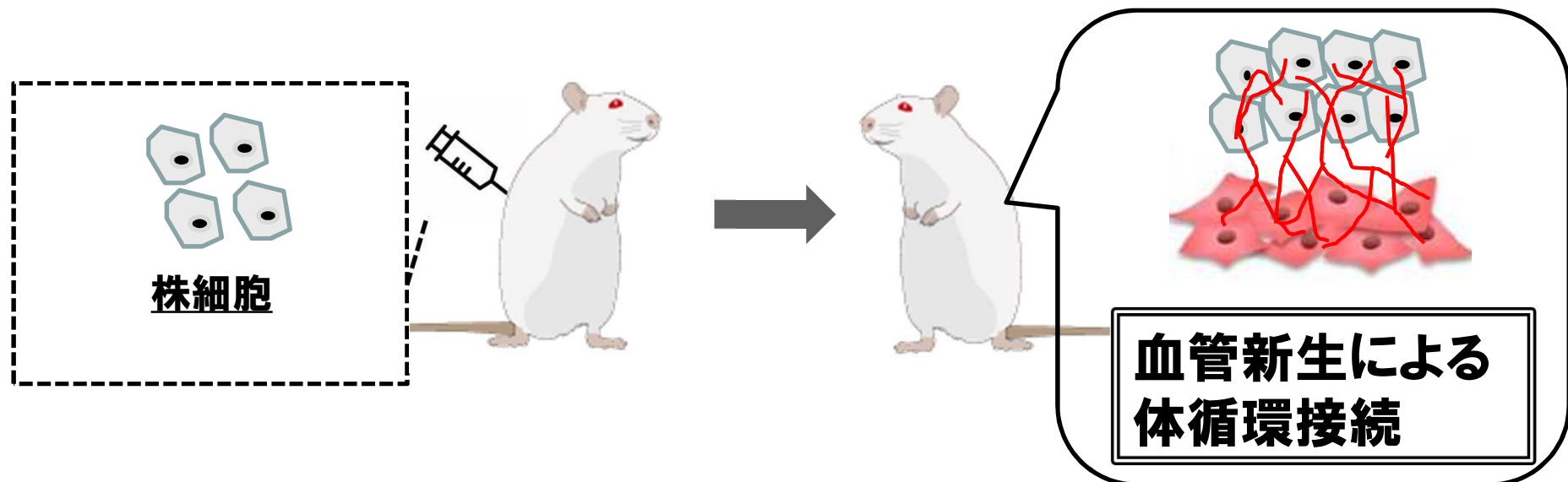
実験データ2: 分化誘導の評価



- M2細胞と共培養した系では、単層上皮を有する組織構造が確認できた。
- この組織は再現性も高く(7回中5回成功)、幅広い領域に見られました。
- 5PEG/HAを用いることで、クローン性株細胞から完全な組織の再構築を可能とする移植系の開発に成功

新技術によって可能になったこと

- クローン性株細胞のみを移植し、体循環と接続させることができる（血管系細胞は必要ない）。



想定される用途

- 再生医療の分野
- iPS細胞の臨床応用
- 上記以外に、**バイオ医薬品**の生理活性保持効果が得られることも期待される。
- また、ヒアルロン酸の生分解性とタンパク質保持性の観点から、**癒着防止剤**や**タンパク質製剤**といった用途に展開することも可能と思われる。

実用化に向けた課題及び対応策

1. 臨床実施例の推進による体循環接続、分化の再現性実証
(対応策: 金沢大学医学部との臨床研究の推進)



2. 低コストHAヒドロゲル調製法の開発(生産化)
(対応策: 企業と一部HAゲル化法の検討)

(特許申請の実績あり)
公告番号 WO2017010518 A1
特開2017-019791
出願番号PCT/JP2016/070704

企業への期待

- 細胞治療や再生医療用製剤の開発を目指している企業との共同研究を希望。
- また、細胞と生体組織の接着・融合させる機能や、細胞の生着及び増殖を促進させる機能を開発中の企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 血管新生促進材
- 出願番号 : 特願2018-089002
- 出願人 : 国立大学法人 神戸大学
学校法人 東京理科大学
- 発明者 : 大谷 亨、中島 忠章、
上妻 雅、友岡 康弘

お問い合わせ先

神戸大学

学術・産業イノベーション創造本部

担当コーディネータ 濱田 糾

TEL 078-803-5467

FAX 078-803-5947

E-mail oacis-sangaku@edu.kobe-u.ac.jp

<http://www.innov.kobe-u.ac.jp/sangaku/>