

# 多孔質材料に細胞を封入した 組織再生材料

信州大学 繊維学部 応用生物科学科  
助教 根岸 淳

2019年8月6日

# 現在の細胞治療技術

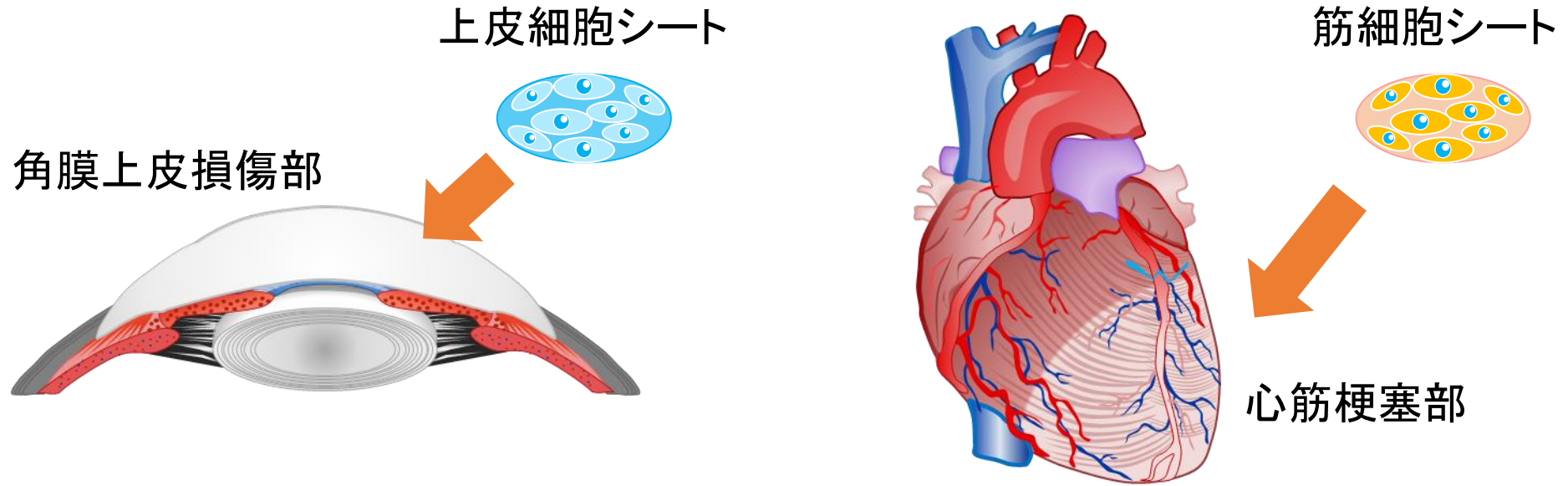


Fig 1. 細胞シートを用いた治療例

現在、再生医療技術を用いた組織の再構築が実施されている。

例) iPS細胞を用いた角膜上皮細胞シート

自己細胞を用いた心筋シートなど

# 現在の細胞治療技術

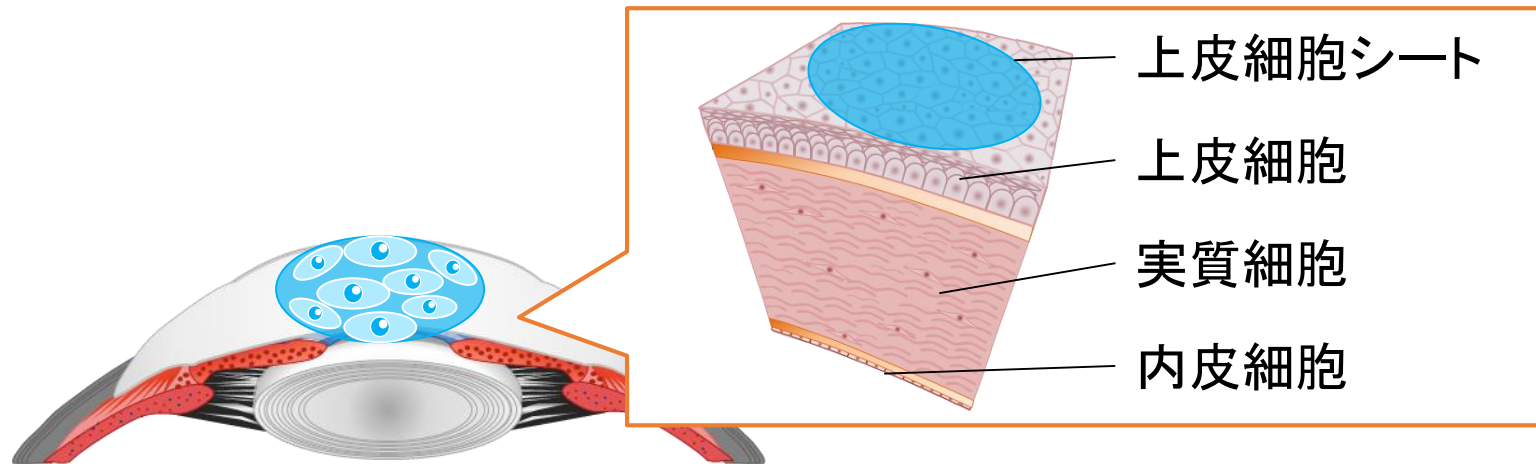


Fig 2. 角膜の構造と細胞治療ターゲット

現在、再生医療技術を用いた組織の再構築が実施されている。  
単層～数層からなる細胞シートの実用化が実現している。  
将来的には、3次元的な組織への応用が期待されている。

# 現在の細胞治療技術と問題点

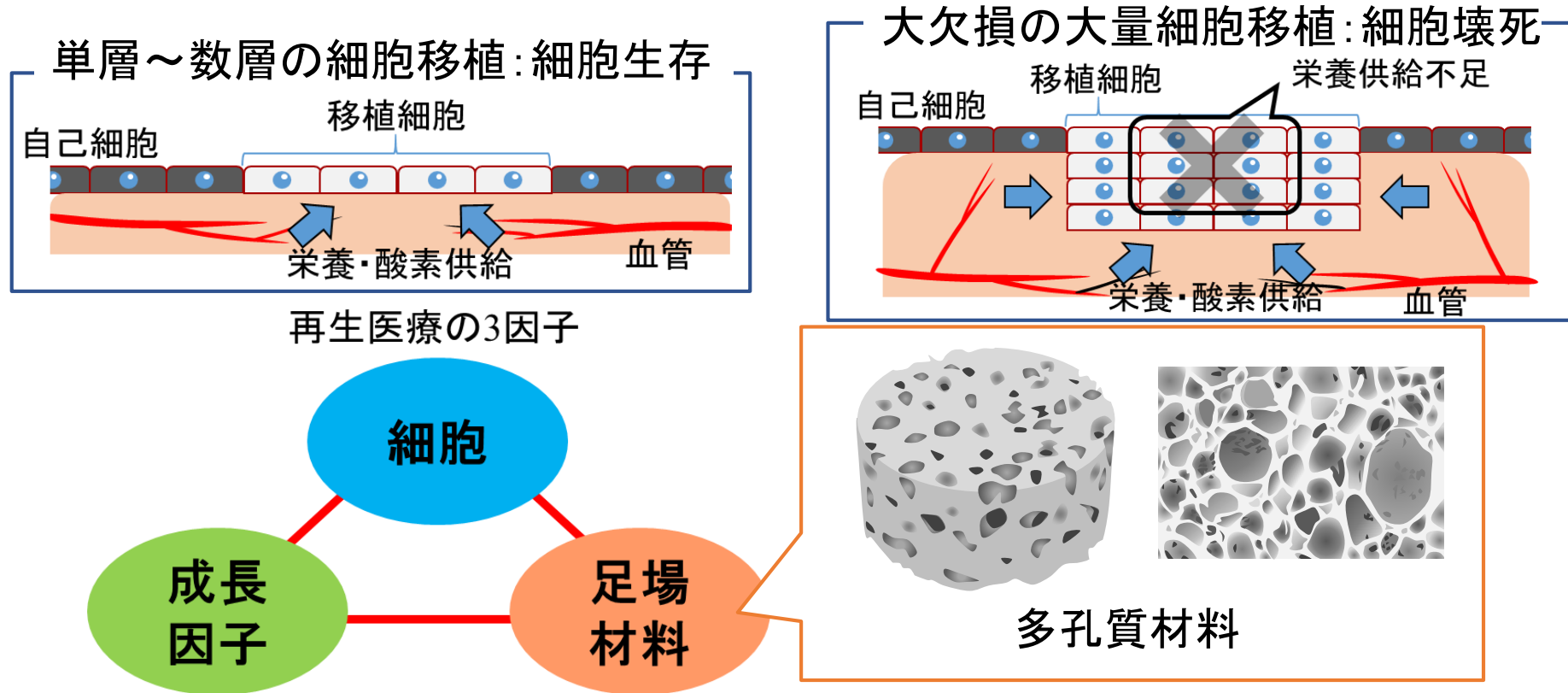
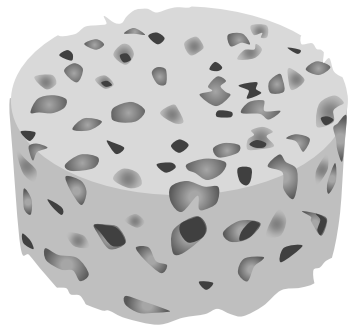


Fig 3. 現在の細胞治療とこれからの組織再構築

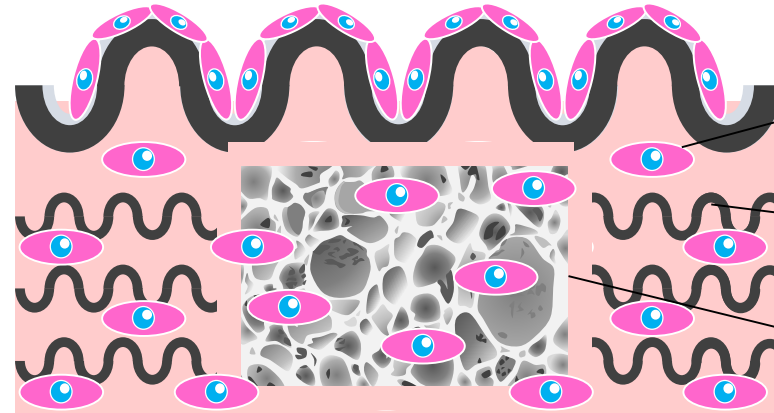
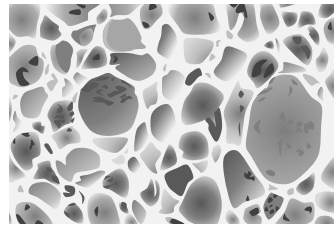
- 数層の細胞移植では、移植細胞への酸素や栄養供給が可能
- 大量の細胞移植では、酸素や栄養供給が不足し、実現困難

→**足場材料(多孔質材料)の利用**

# 多孔質材料とは



多孔質材料の構造



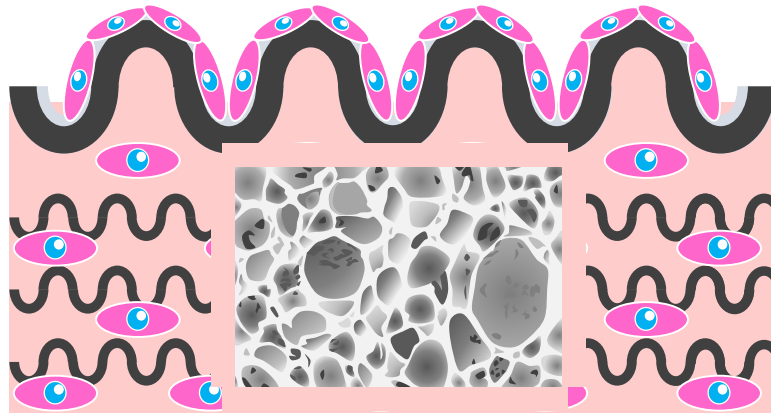
生体移植した多孔質材料への細胞浸潤

Fig 4. 多孔質材料の基本構造と多孔質材料への細胞浸潤イメージ

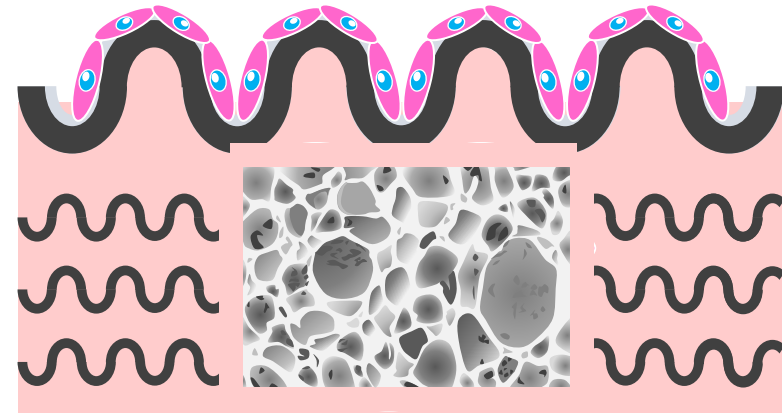
○多数の孔を有し、孔から細胞や組織が浸潤することにより、3次元的な組織の再構築を促す材料

○タンパク質、金属、無機など様々な素材の多孔質材料が開発

# 多孔質材料の問題点



多孔質材料への細胞浸潤不全



細胞が少ない部位への移植

Fig 5. 多孔質材料の問題点

- 生体移植後の細胞浸潤が不十分な多孔質材料
- 移植部での細胞浸潤が望めないため、事前に細胞導入が必要  
→ **多孔質材料内部への細胞導入の検討**

# 従来の多孔質材料への細胞導入



Fig 6. 現在の多孔質材料への細胞導入方法

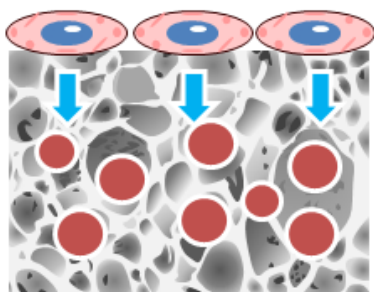
## 移植前の多孔質材料への細胞導入の検討

- 多孔質材料への細胞播種：細胞自身の遊走による細胞導入
- 材料作製中の細胞混合：溶液に細胞を混合し、ゲル化する。  
(コラーゲン、アガロースなど)



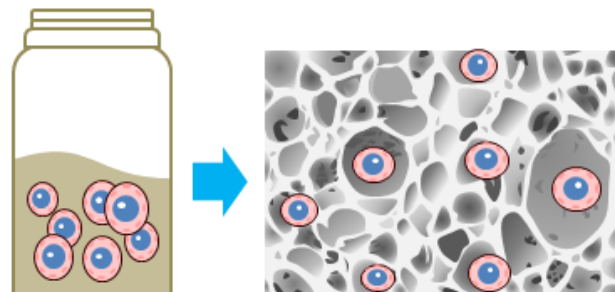
# 従来の多孔質材料への細胞導入

## 現在の細胞含有材料作製法



### 成長因子含有材料

- 移植後の細胞浸潤促進
- 高価・細胞浸潤に時間が必要



### 材料作製工程での細胞混合

- 移植前に細胞導入可能
- 細胞導入可能な素材が限定的

Fig 7. 現在の多孔質材料への細胞導入方法と問題点

## 多孔質材料への細胞播種

- 細胞遊走に依存し、一定の孔径、時間が必要になる。

## 材料作製中の細胞混合

- 細胞死を誘導しない作製工程の材料のみ適用できる。



# 新たな細胞導入法へ求められる性質

Table 1. 現在の細胞導入方法と新たな細胞導入法の要求事項の比較

	細胞播種	材料作製中の混合	新たな細胞導入法
細胞導入原理	細胞の遊走	細胞含有溶液→ゲル	
所要時間	1日～2週間以上	材料作製時間に依存	可能な限り短時間
多孔質材料孔径	100μm以上	材料に依存	幅広い孔径に対応
適用可能な素材	一部の親水性素材	コラーゲンなど限定的	種々の素材に適用
その他	遊走しない細胞は×	力学的強度不足	種々の細胞に適用

- 短時間での多孔質への細胞導入
  - 完成している多孔質材料への細胞導入
  - 様々な素材からなる多孔質材料の応用可能
  - 従来技術よりも小さい孔径の多孔質材料への細胞導入
- **上記を満たす細胞導入法の開発**

# 真空加圧含浸法とは

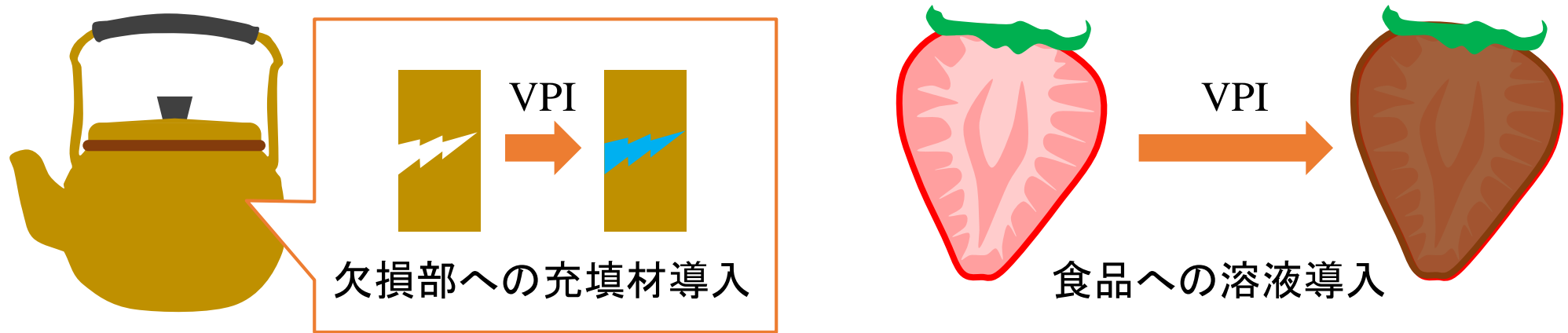


Fig 8. 真空加圧含浸法の適用例

**真空加圧含浸法** : **V**acuum **P**ressure **I**mpregnation (**VPI**)

- 金属製品の欠損部への充填材導入、果物へ油脂導入などに使用されている技術。
- 真空処理と加圧処理を組み合わせることによる短時間で高効率な溶液導入法

# 真空加圧含浸法とは

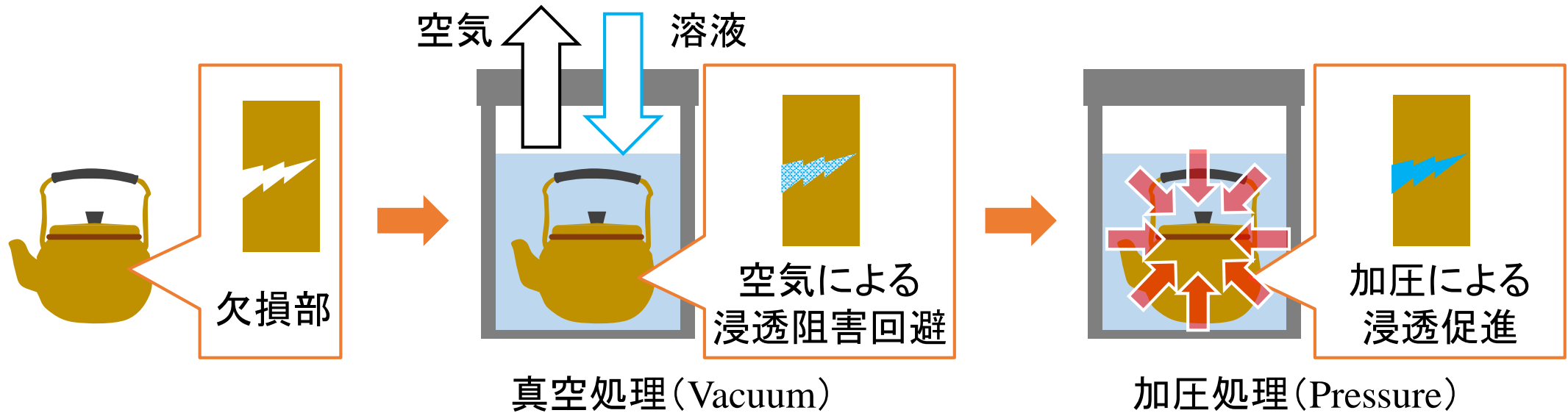


Fig 9. 真空加圧含浸法の原理

**真空加圧含浸法: Vacuum Pressure Impregnation (VPI)**

-真空処理: 材料と溶液を真空下で接触させて溶液を導入

-加圧処理: 材料と溶液を加圧して溶液浸透促進

例) 金属製品の欠損部充填、果物へ油脂導入など

# VPIの細胞導入への応用

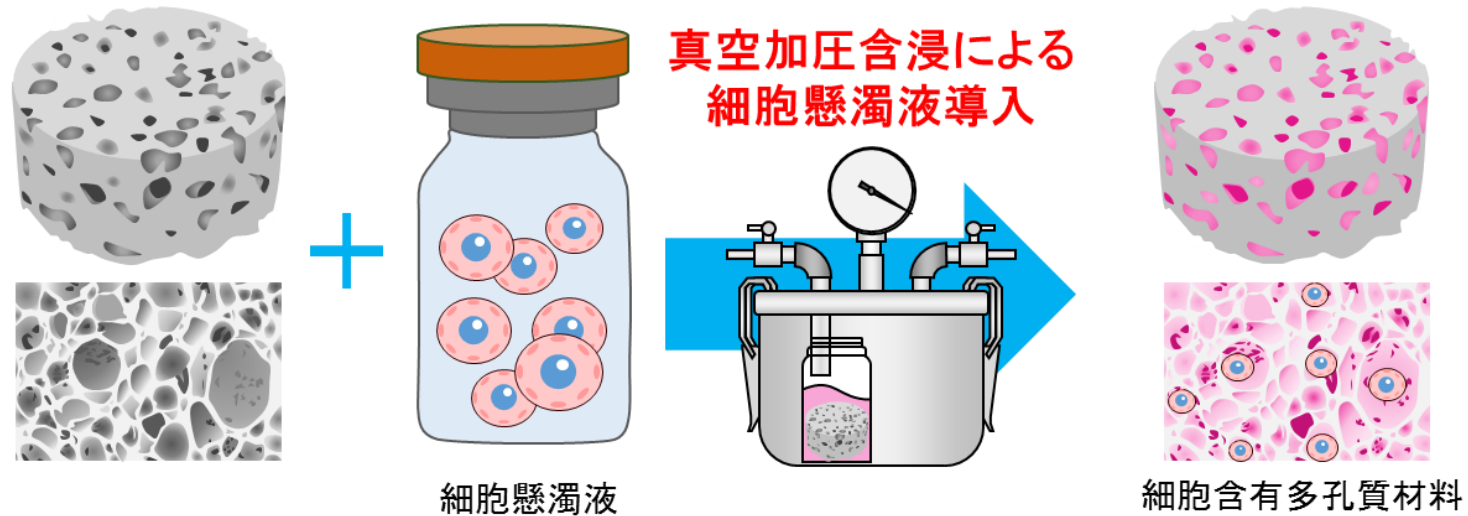


Fig 10. 真空加圧含浸法の細胞導入法としての応用

真空加圧含浸法を多孔質材料への細胞導入法として応用

- 短時間での多孔質への細胞導入
- 完成している多孔質材料への細胞導入
- 様々な素材からなる多孔質材料の応用可能
- 従来技術よりも小さい孔径の多孔質材料への細胞導入

# VPIの細胞機能への影響評価

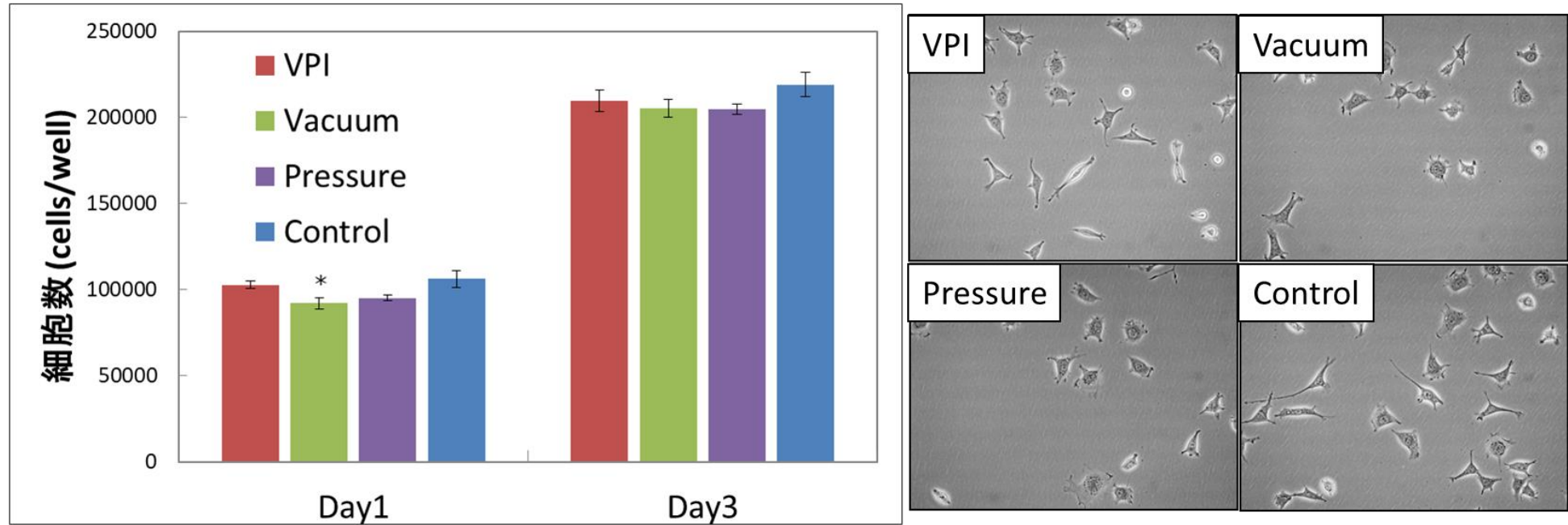


Fig 11. 真空加圧処理した線維芽細胞の細胞数測定と形態観察

真空処理、加圧処理、真空加圧処理した線維芽細胞は培養皿に接着し、顕著な細胞数の減少は認められなかった。また、3日目の細胞数もControlと同等であった。

→ **線維芽細胞の生存、増殖にVPIは影響しない。**

# ゼラチン多孔質材料への細胞導入

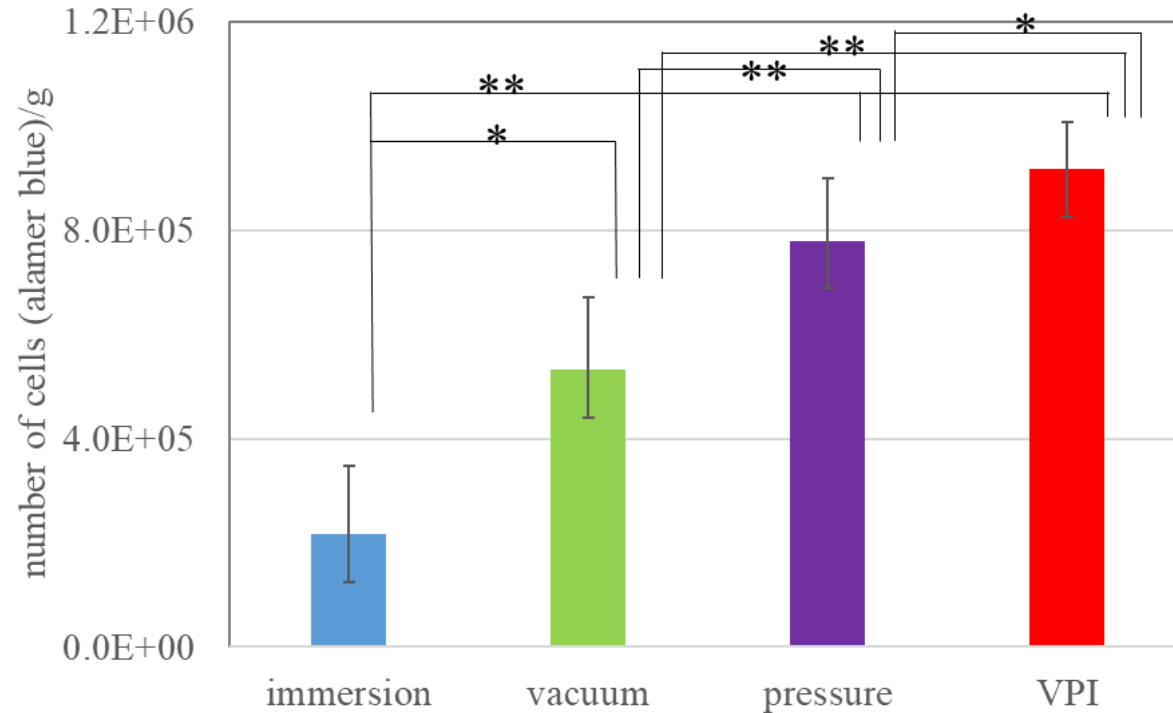


Fig 12. 線維芽細胞導入1日目のゼラチン材料の細胞数測定

VPI > Pressure > Vacuum > Immersionの順でゼラチン多孔質材料内の細胞数が多かった。

→ **VPIまたは加圧処理、真空処理によりゼラチン多孔質材料に細胞導入可能**

# PLA多孔質材料への細胞導入

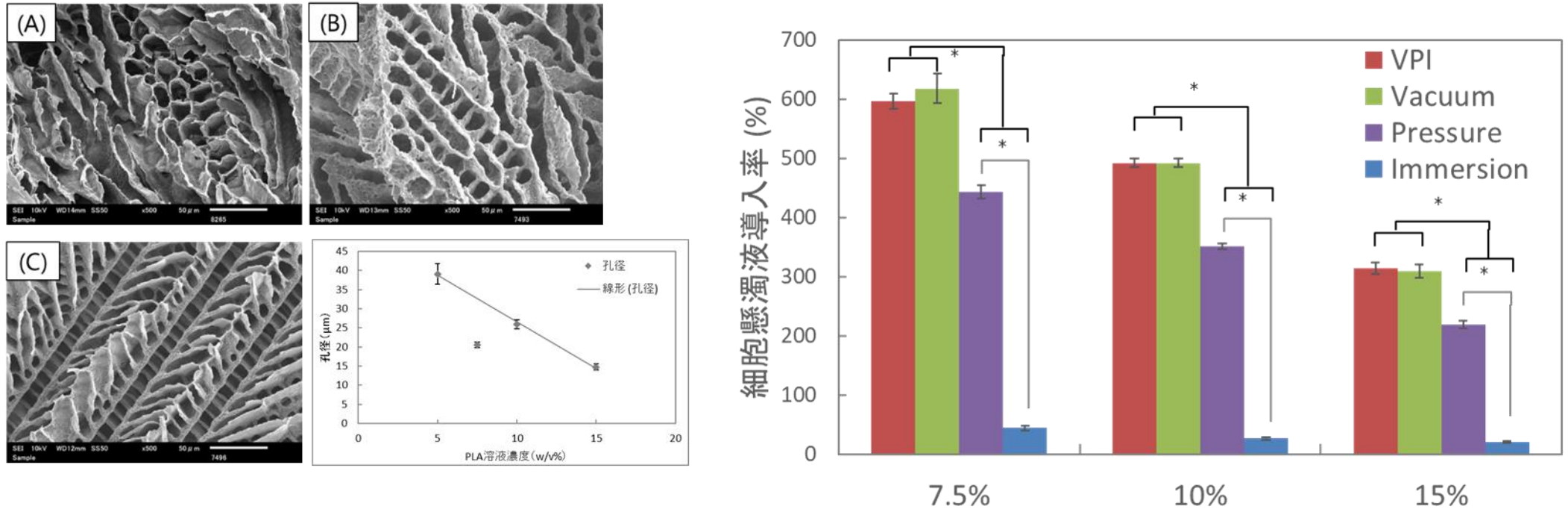


Fig 13. PLA材料のSEM画像と細胞懸濁液導入率

孔径の異なるポリ乳酸 (PLA) 材料への細胞導入において、  
VPI ≒ Vacuum > Pressure > Immersion の順で細胞懸濁液の導入量が多かった。



# PLA多孔質材料への細胞導入

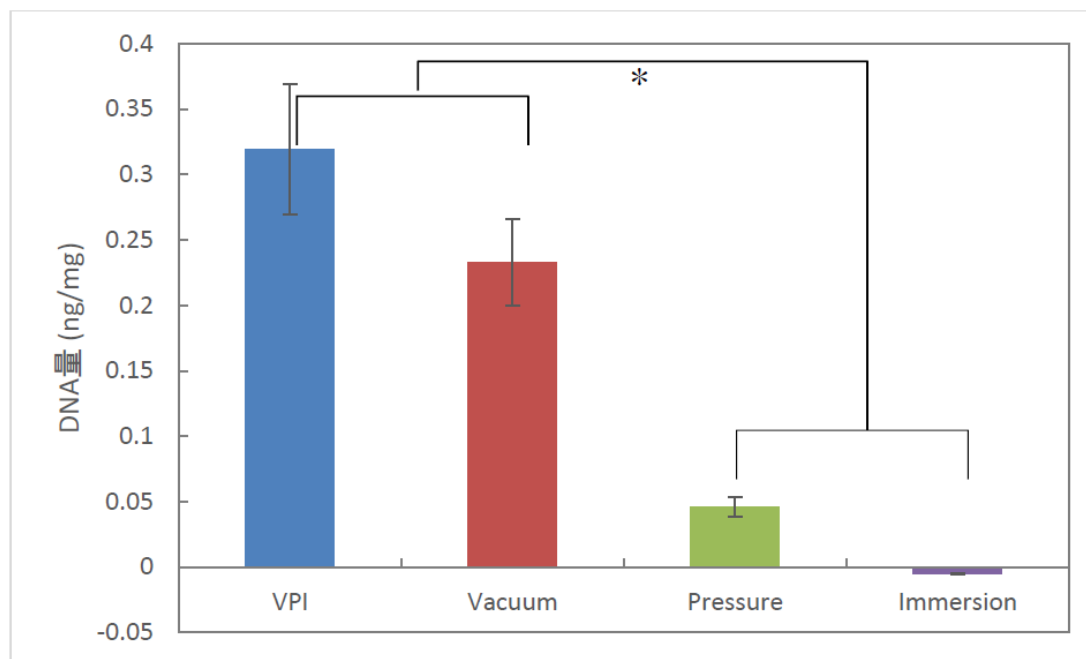


Fig 14. 線維芽細胞導入1日目のPLA材料のDNA定量

10%PLA材料(孔径:25 $\mu$ m)のDNA定量において、  
 VPI $\doteq$  Vacuum > Pressure > Immersionの順でPLA材料内の  
 DNAが多かった。

→ **VPI、真空処理によりPLA材料への細胞導入が可能**

# PLA多孔質材料への細胞導入

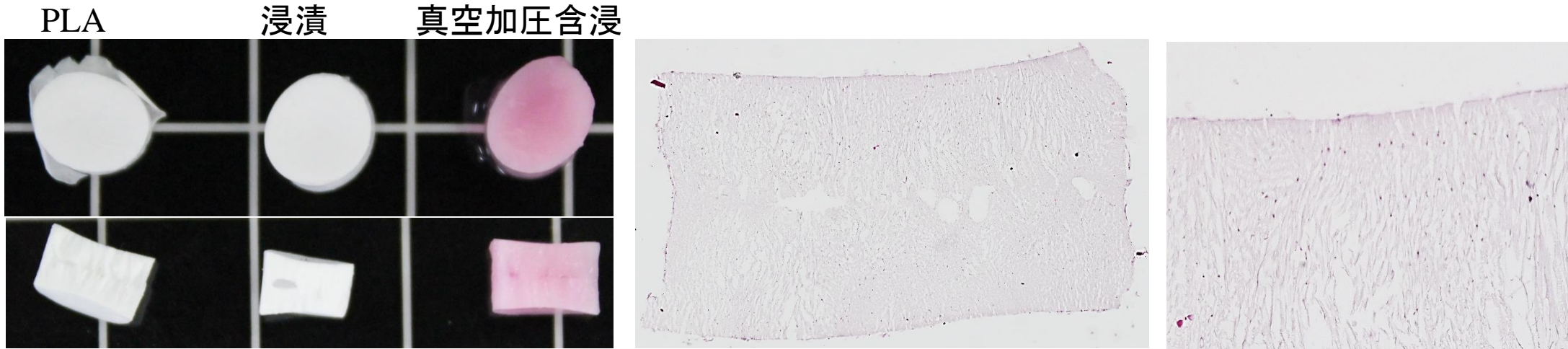


Fig 15. 線維芽細胞導入直後のPLA材料と横断面切片画像

VPI処理により、PLA材料全体に細胞懸濁液が導入されていた。  
また、切片観察によりPLA材料全体に細胞が認められた。

→**10分程度のVPI処理で多孔質材料内部に細胞導入可能**

# PLA多孔質材料への細胞導入

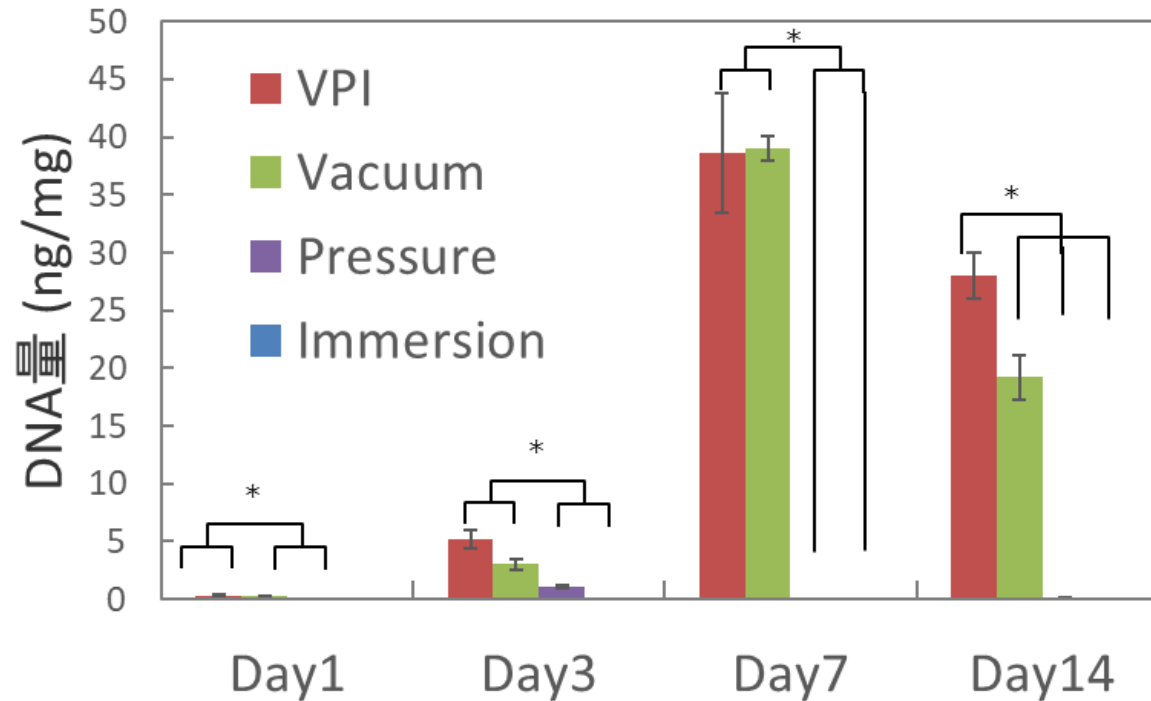


Fig 16. 線維芽細胞導入PLA材料のDNA量変化

細胞導入したPLA材料の経時的なDNA定量において、  
真空処理とVPI処理したPLA材料のDNA量増加が認められた。

→ **PLA材料内に導入された細胞は増殖可能**

# 想定される用途

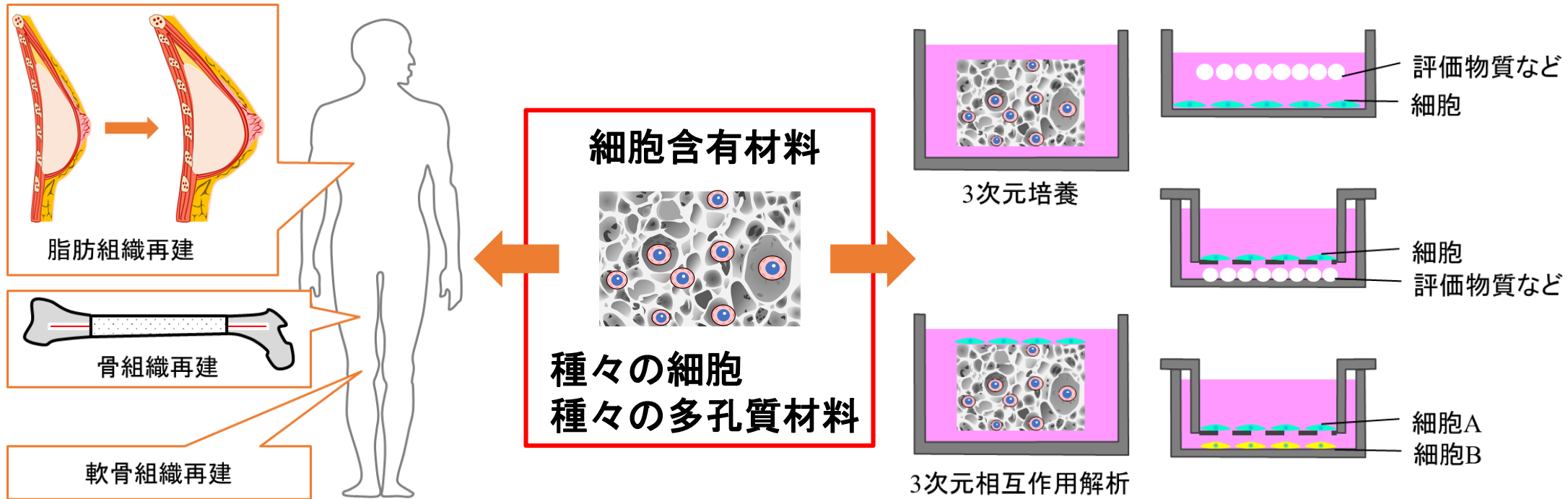


Fig 18. 本技術の想定用途

細胞導入した多孔質材料による3次元組織の治療  
例) 軟骨再生、骨再生、脂肪再生など

細胞導入多孔質材料を用いた細胞機能解析  
例) 生体組織模倣環境での細胞挙動解析など

# 実用化に向けた課題

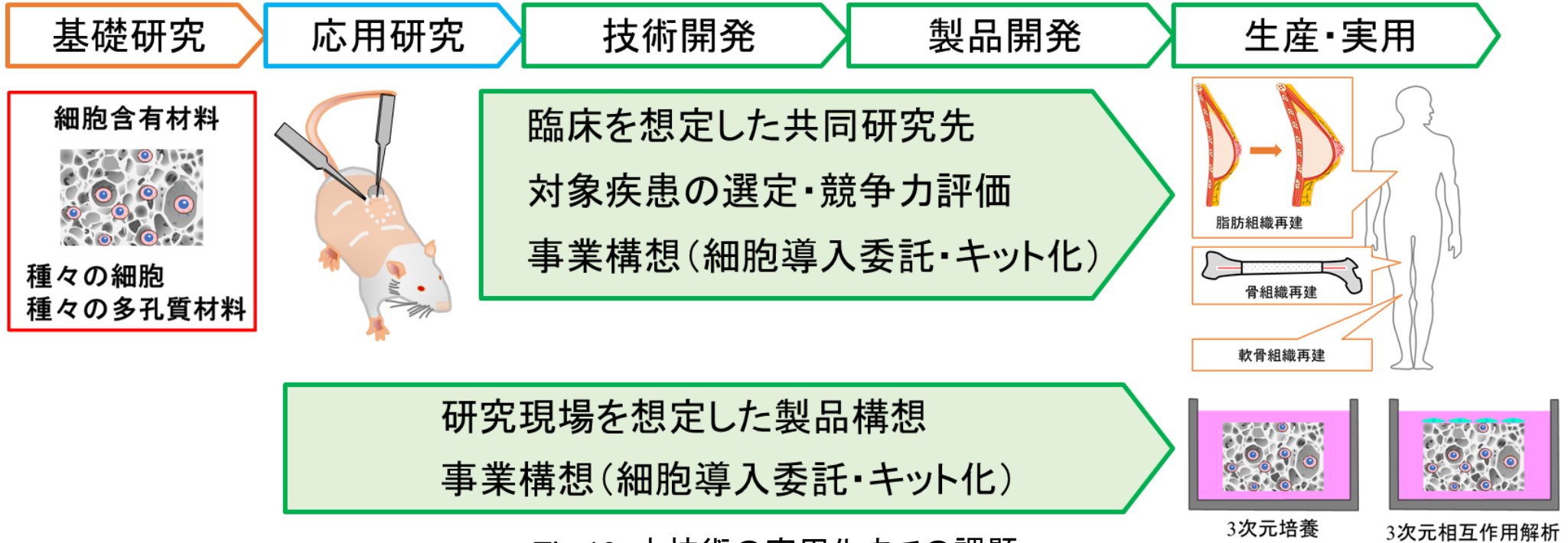


Fig 19. 本技術の実用化までの課題

## 細胞導入した多孔質材料による3次元組織の治療

- 医療機器または医薬品認可に向けたキット・材料の設計
- 臨床応用に準拠した材料、細胞への適用検討

## 細胞導入多孔質材料を用いた細胞機能解析

- 研究用に適した細胞導入キットの設計

# 企業への期待

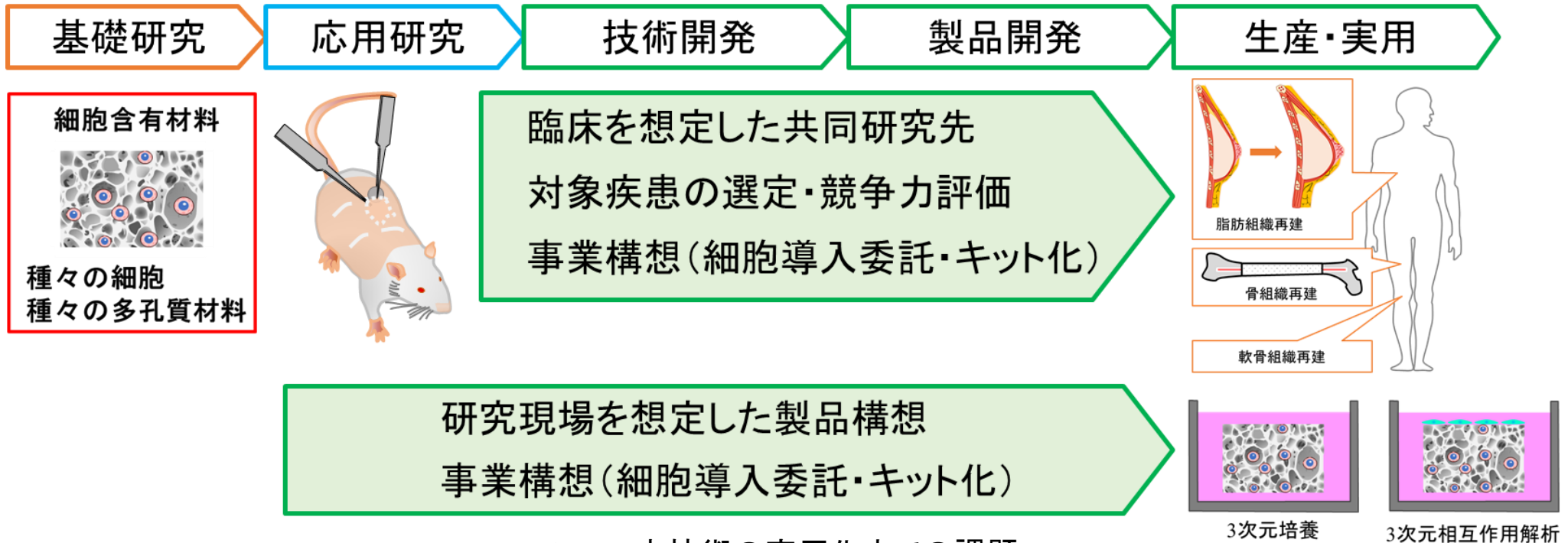


Fig 19. 本技術の実用化までの課題

- 医療機器・医薬品認可や協力経験がある企業との共同研究
- 研究用機器や研究用製品開発・販売企業との共同研究
- 生体材料開発に携わる企業との共同研究
- 上記分野に興味を持っている企業

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 多孔質材料への固体の封入方法
- 出願番号 : 特願2019-100085
- 出願人 : 信州大学
- 発明者 : 根岸淳、柳澤宏太郎



# お問い合わせ先

株式会社信州TLO



**T E L 0268-25-5181**

**F A X 0268-25-5188**

**e-mail [info@shinshu-tlo.co.jp](mailto:info@shinshu-tlo.co.jp)**