

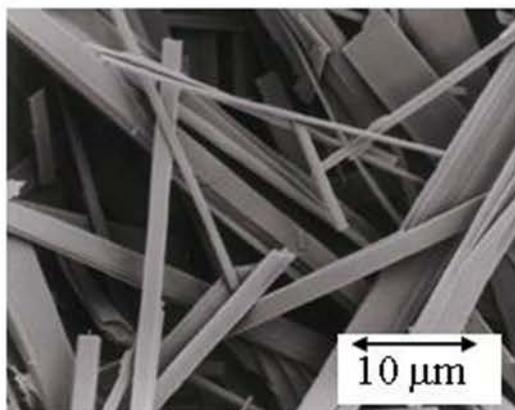
3Dスキキャフールドを利用した 細胞毒性評価系の開発

上智大学 工学部 物質生命理工学科
教授 神澤 信行

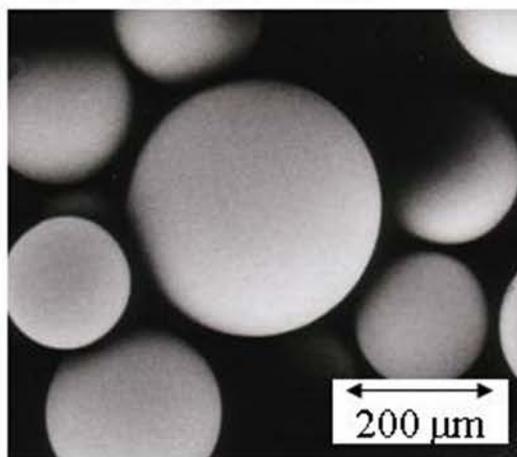
2019年9月12日

背景1: 骨代替材料としてのAFS

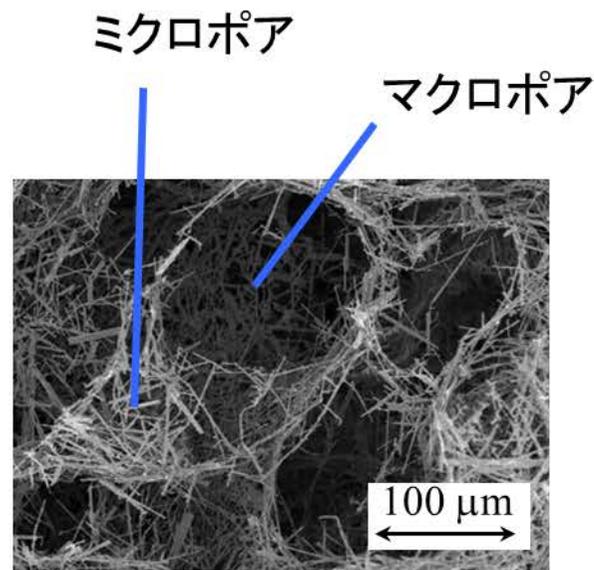
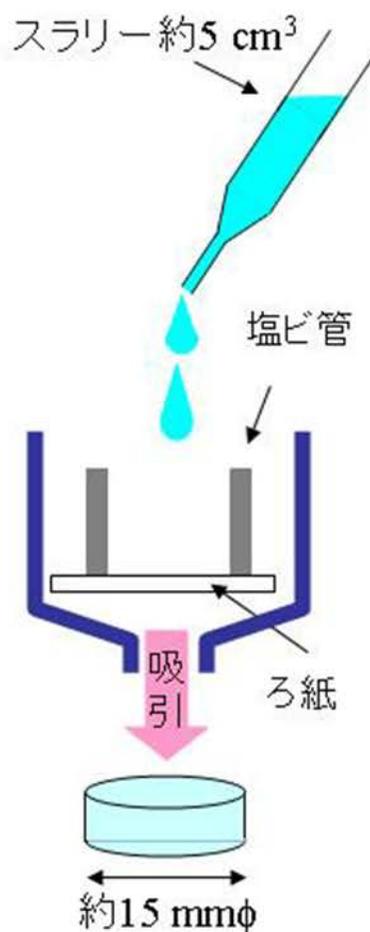
AFS2000の作製



Apatite Fiber



Carbon beads



1300°C水蒸気気流中で焼結したAFS2000の微細構造

AFS、骨代替材料として開発された。現在は、軟組織培養等に用途が拡大している。
※AFS: apatite-fiber scaffold

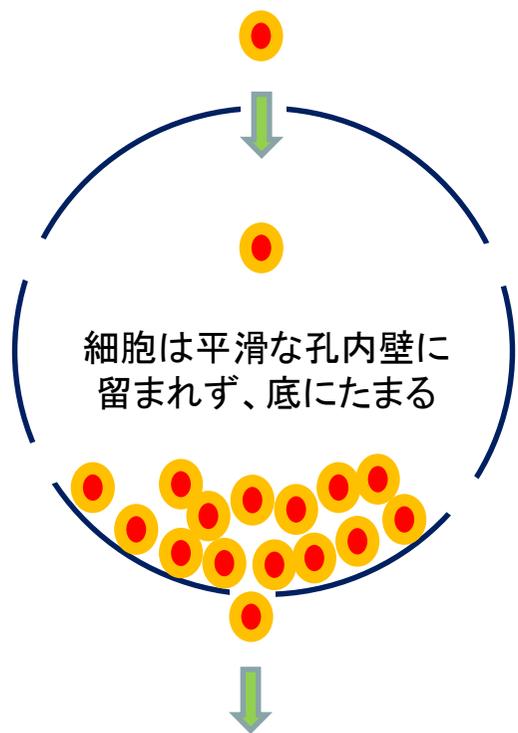
写真は明治大学相澤教授より提供

AFSに関する特許

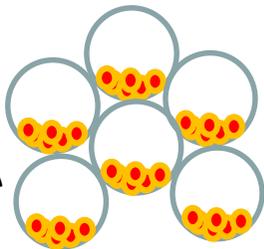
発明の名称	: 繊維状リン酸カルシウム
出願番号	: 特願2003-82521/特許第4764985号
出願人	: 宇部マテリアルズ株式会社、学校法人明治大学
発明者	: 相澤守

背景2: 細胞が均等にばらまかれる

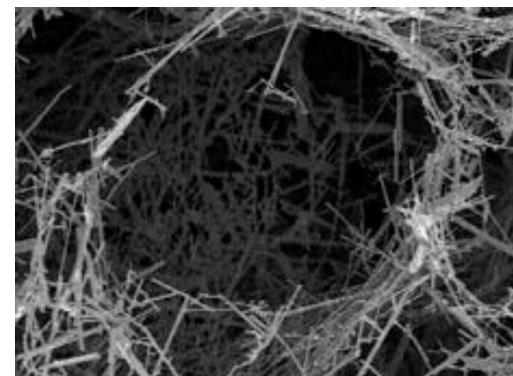
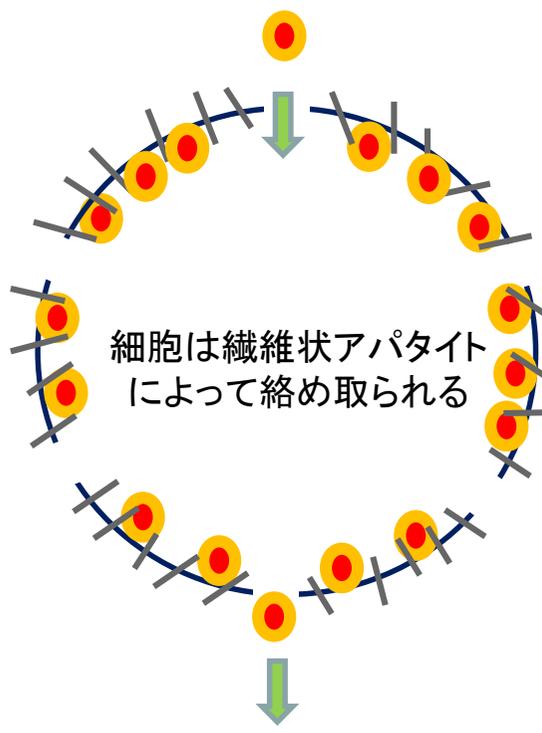
一般的な
多孔質材料



細胞塊の間に
連携は出来ない

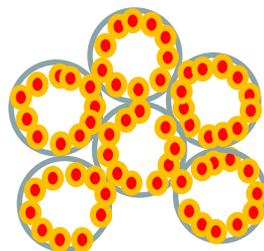


AFS



繊維構造が孔内部
で程よく細胞を絡め
とる → 均等分布

連携を保った
3D培養が可能

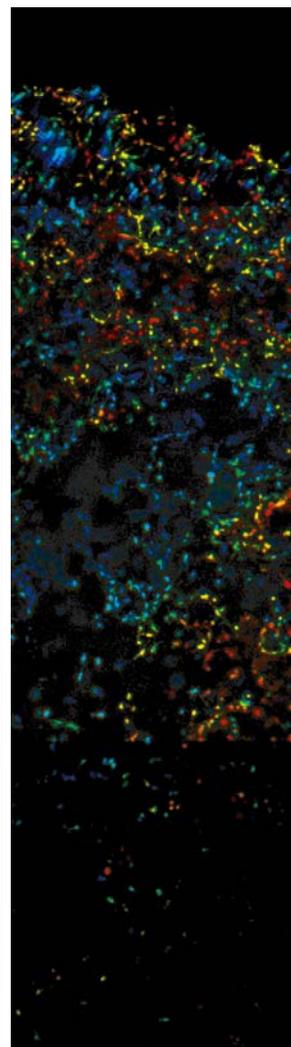
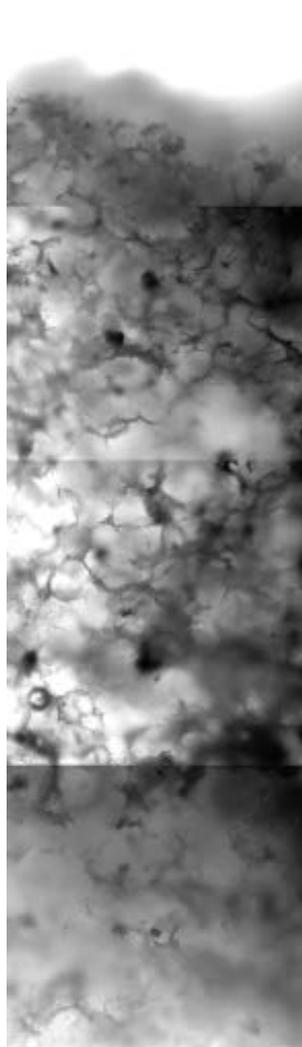
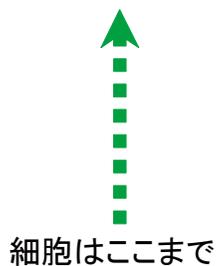
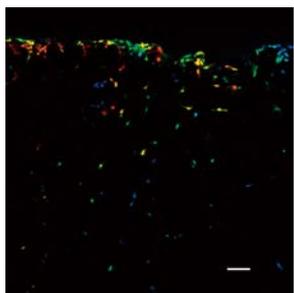


背景3: 細胞が均等にばらまかれる

一般的な
多孔質材料

AFS

足場に後から細胞を導入すると、通常は播種面付近だけに細胞が集まり、均等にならない。



特別な処理を必要とせず、適当量の細胞が足場の深部にまで均等に導入される。

骨芽細胞培養に関する特許

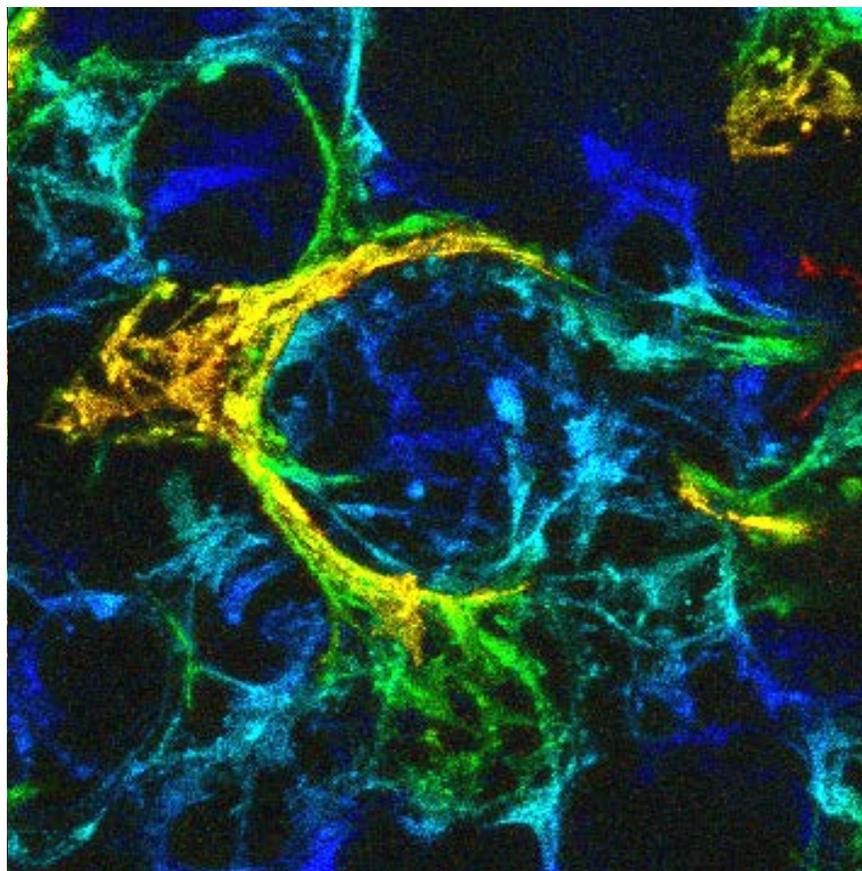
発明の名称 : 骨芽細胞の培養方法

出願番号 : 特願2001-288576/特許4790944

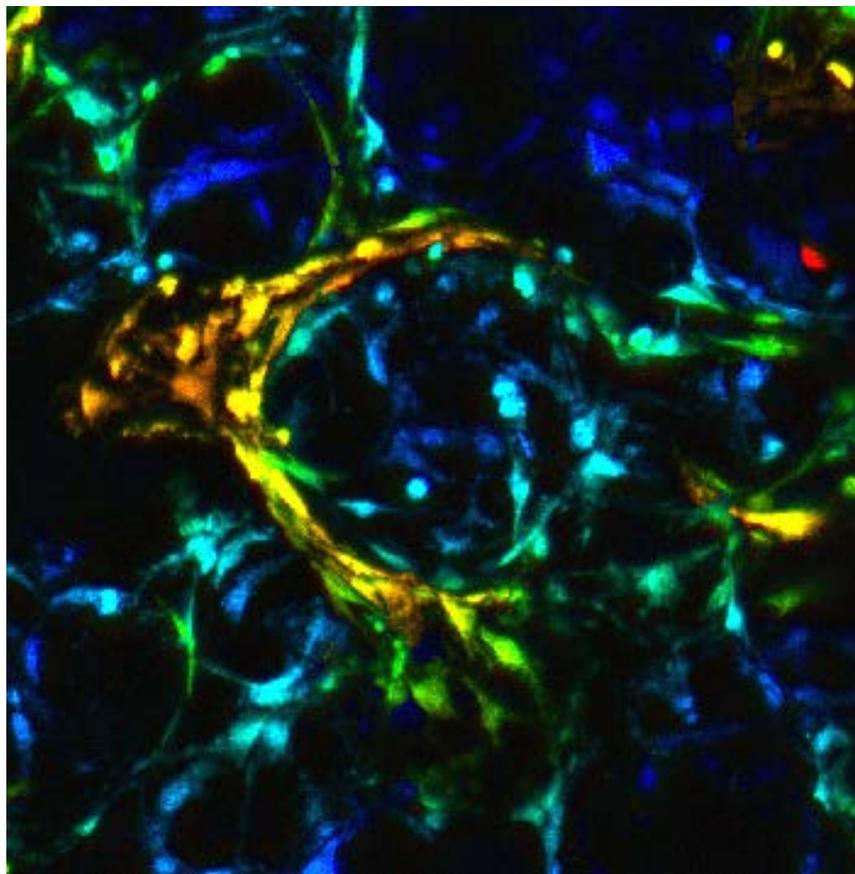
出願人 : 宇部マテリアルズ株式会社、学校法人明治大学

発明者 : 相澤守

背景4: 3次元ネットワークの構築



F-actin(細胞骨格)



核

0 μm
↓
150 μm

3次元ネットワーク → より生理的な環境

応用範囲の拡大へ

メリット:

均等培養が可能

気孔率が98%以上で、溶媒の交換が容易

バイオリアクターとの組み合わせも可能

デメリット:

化学修飾が制限される

孔サイズの最適化が必要



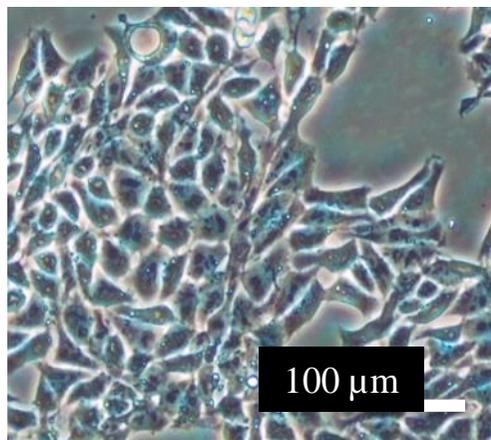
3次元細胞培養デバイスとしての利用

- ・HeLa細胞を用いた、効く薬の探索 (新薬探索)
- ・心筋細胞を用いた、効かない薬の探索 (毒性評価)

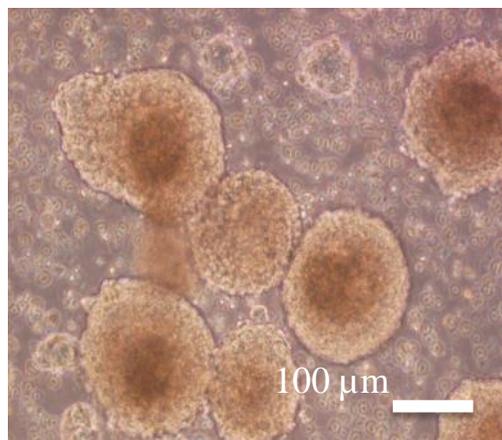
心毒性評価: 心筋様細胞の培養

P19.CL6細胞
(マウス由来)

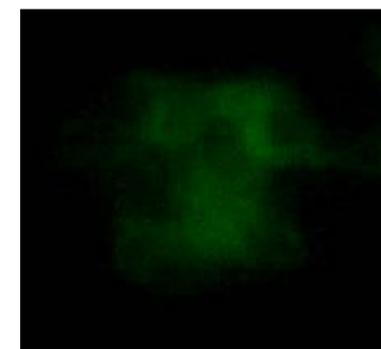
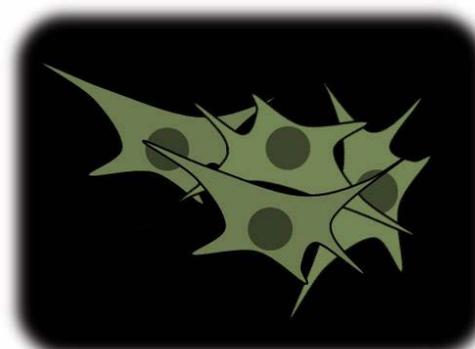
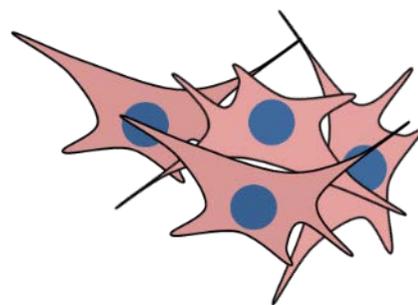
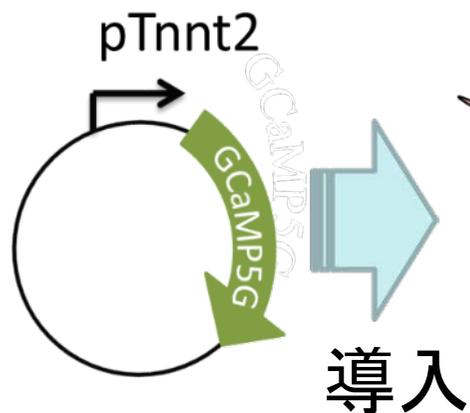
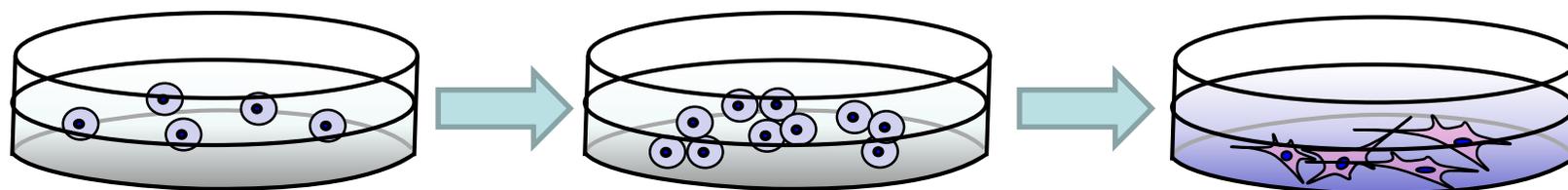
通常培養



凝集体



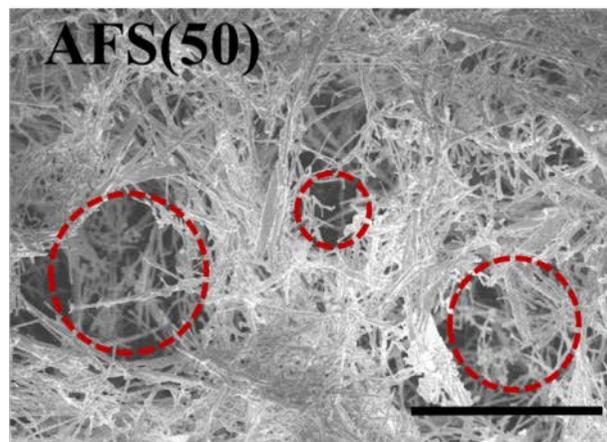
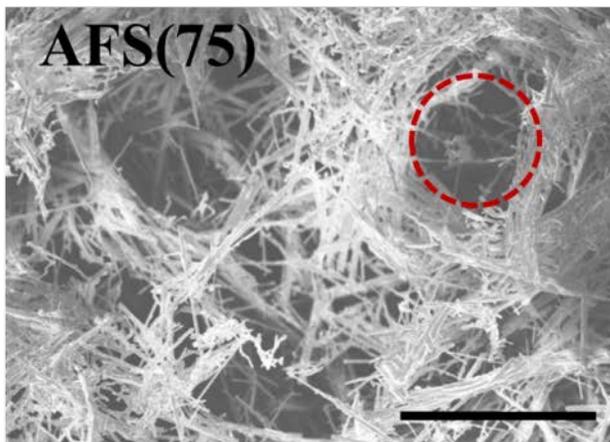
拍動心筋



3次元では動きが捉えられない? → 遺伝子導入により光る心筋細胞を作製

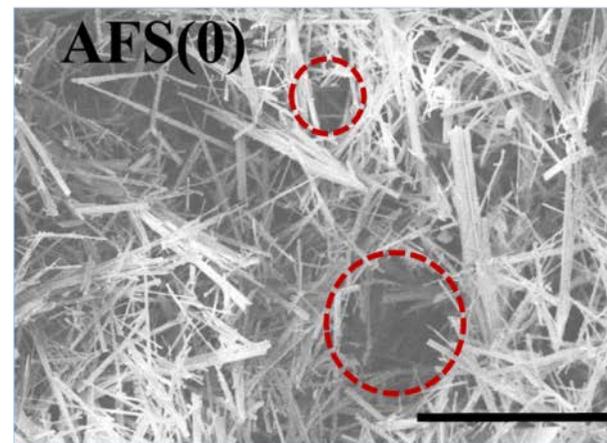
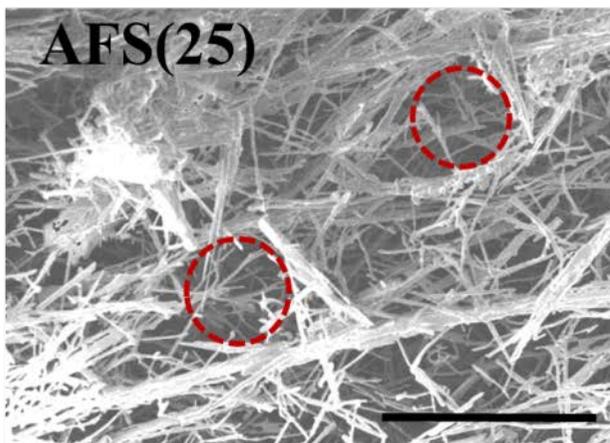
細胞サイズに合わせた 孔構造の最適化の例

$\Phi 150 \mu\text{m} : 20 \mu\text{m}$
75 : 25



50 : 50

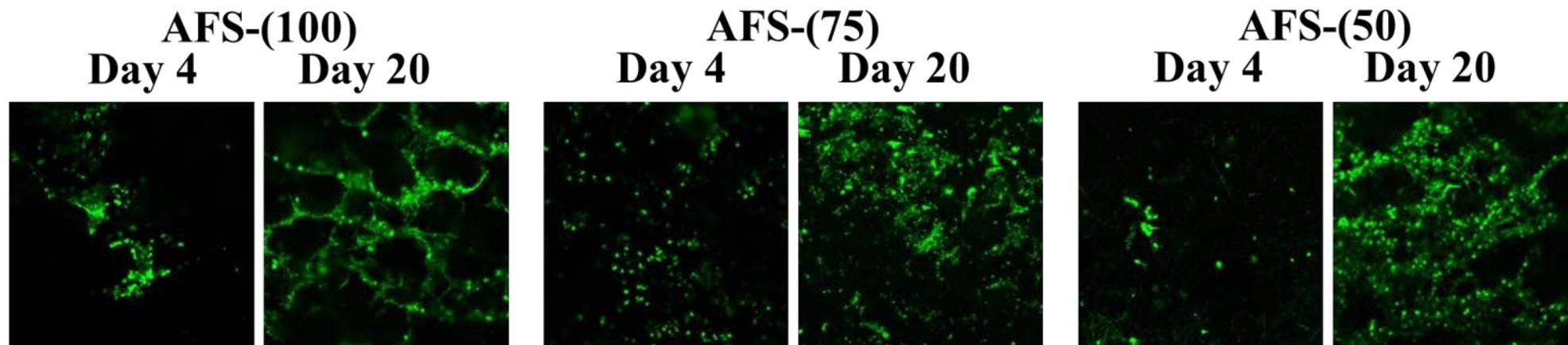
25 : 75



0 : 100

異なるサイズのカーボンビーズを組み合わせることで
多様な細孔構造をアレンジできる。

異なる孔構造での細胞培養

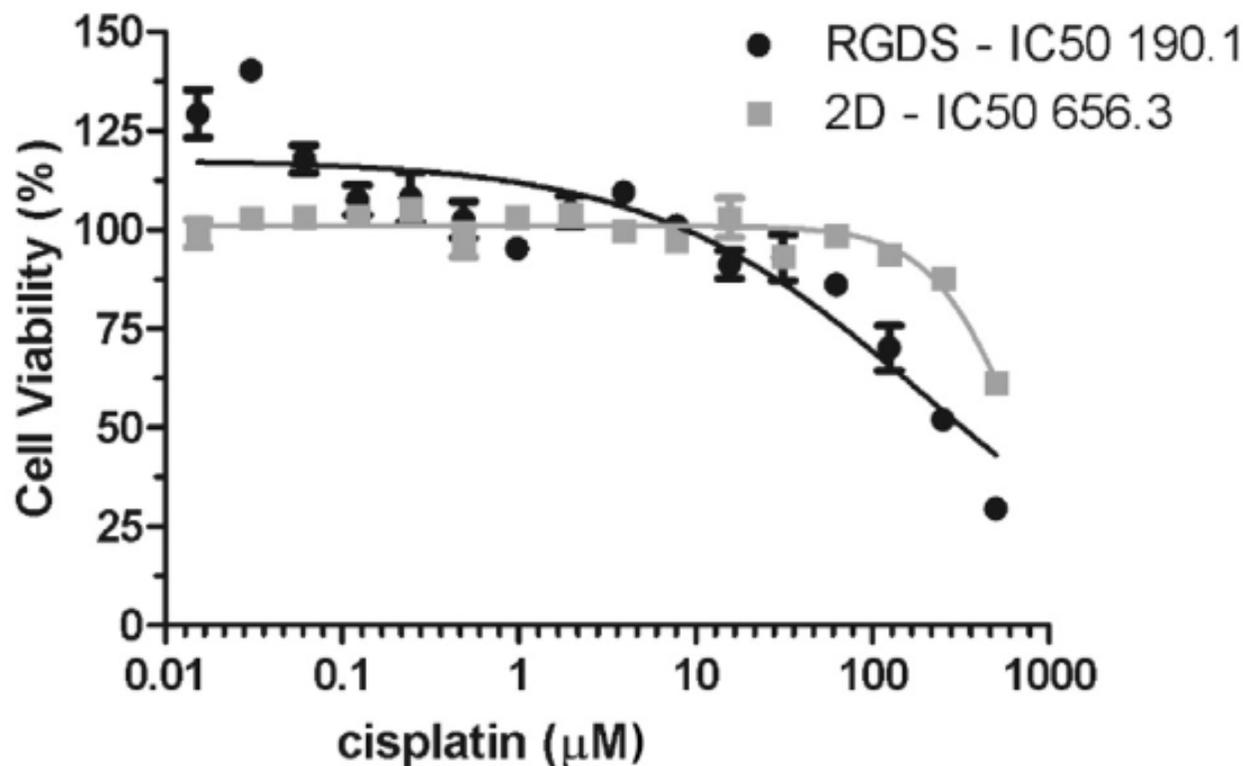


孔サイズが合わないと孔内側に二次元的に細胞が培養されるが最適化後は多様なネットワークが形成される



孔構造の最適化は細胞分化(機能分化)に影響

2次元と3次元では薬剤の効果が異なる



Worthington *et. al.*, Anal. Biochem. **535**: 25-34 (2017)より

※発表当日は、私たちの結果もお示しします。

2次元と3次元の差から新しい作用機序を持った新薬が...

従来技術とその問題点

新薬探索
(抗がん剤)



特に循環系の中心である
心毒性評価

早期に生理学的に
意味ある薬剤の発見



3次元細胞培養の”最適化”が重要

	三次元培養	均一充填培養	長期培養	親和性・炎症反応
足場 AFS	○	○	○	○
足場 PLAなど	○	×	○	△
ハイドロゲル	○	○	×	△
スフェロイド	○	○	×	○
シート積層	○	○	×	○

※PLA, polylactic acid

想定される用途

- 本技術は2次元と3次元培養の違いを反映させた新薬スクリーニングに適している。
- 本技術をコンパクトに収納し、光学系と組み合わせることで、簡便に使用可能なデバイスとなる。
- TCP(tricalcium phosphate)でも同様の足場が作製可能であり、生体吸収性の医療用器具としての展開も考えられる。

実用化に向けた課題

- 薬剤の効果については、実験室内での相対評価であり、動物実験モデル等との対照が取れていない。
- 培養dishを用いた3次元培養では、培地交換が不十分になるため長期培養が難しい。
- RFB(radial flow bioreactor) では長期安定培養が可能であるが、同時稼働が難しく、RFBを使わない、よりコンパクトな回路作製が有効である。

企業への期待

- 光学系と組みあせたコンパクトなパッケージング技術の提供と実用化（光学機器メーカーとの共同研究）
- 創薬デバイスとしての応用が主と考えられる。
(製薬企業との共同研究)
- その他デバイス応用の提案および共同研究

本技術に関する知的財産権

AFSを用いた毒性評価システムに
関しては特許出願に向けて準備中

産学連携の経歴

- 2002年-2004年 NEDO 若手研究グラント
研究分担者
- 2009年-2012年 KAST 創造展開プロジェクト
研究分担者

お問い合わせ先

上智大学

学術情報局 研究推進センター

TEL 03-3238-3173

FAX 03-3238-4116

e-mail g_rant-co@sophia.ac.jp