

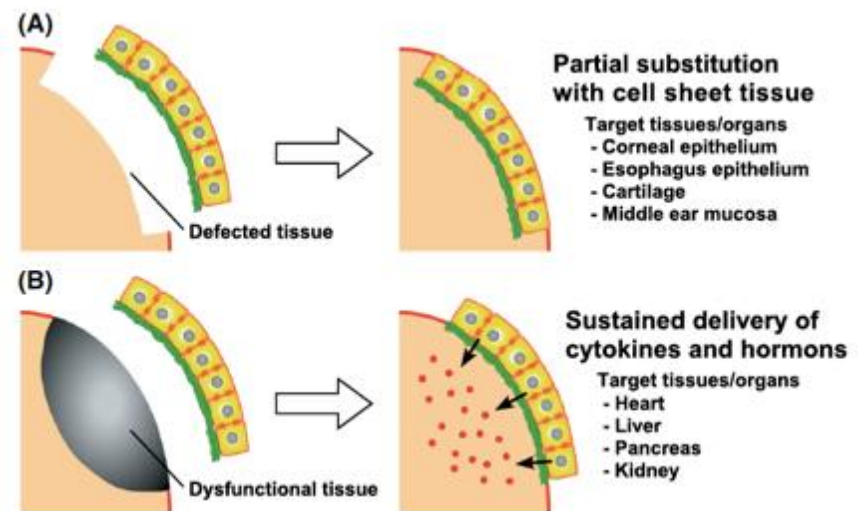
# 三次元細胞集合体を用いた 生体医療材料の開発

横浜市立大学 学術院医学群 医学科 循環制御医学  
助教 中村 隆

# 日本発の細胞シート工学

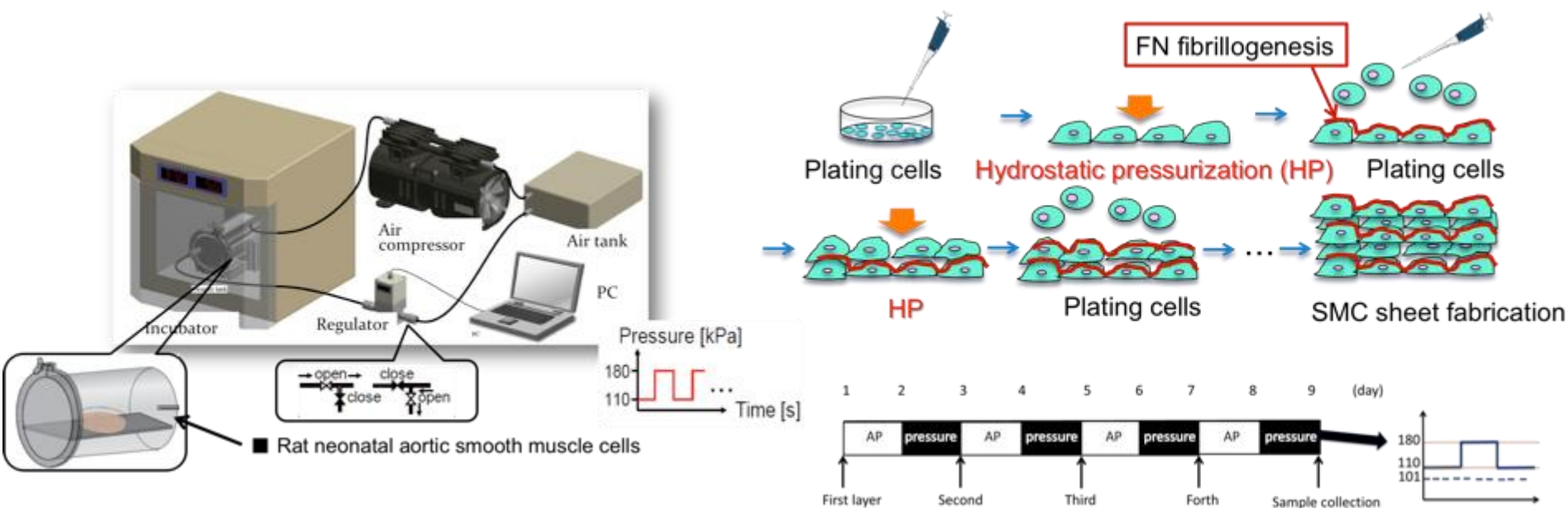
- 細胞シート工学は様々な組織の修復を可能にする再生医療分野として注目されている
- 2016年に世界に先駆けて、心不全治療用細胞シート「ハートシート」が販売された (テルモ株式会社)
  - 虚血性心疾患患者の心筋機能を改善する
  - メカニズムはサイトカイン放出による血管新生誘導

- 現行の細胞シート作製技術では欠損部の補強・補填を行うだけの強度・弾性を有していない
  - 血管への移植にはscaffoldが必要



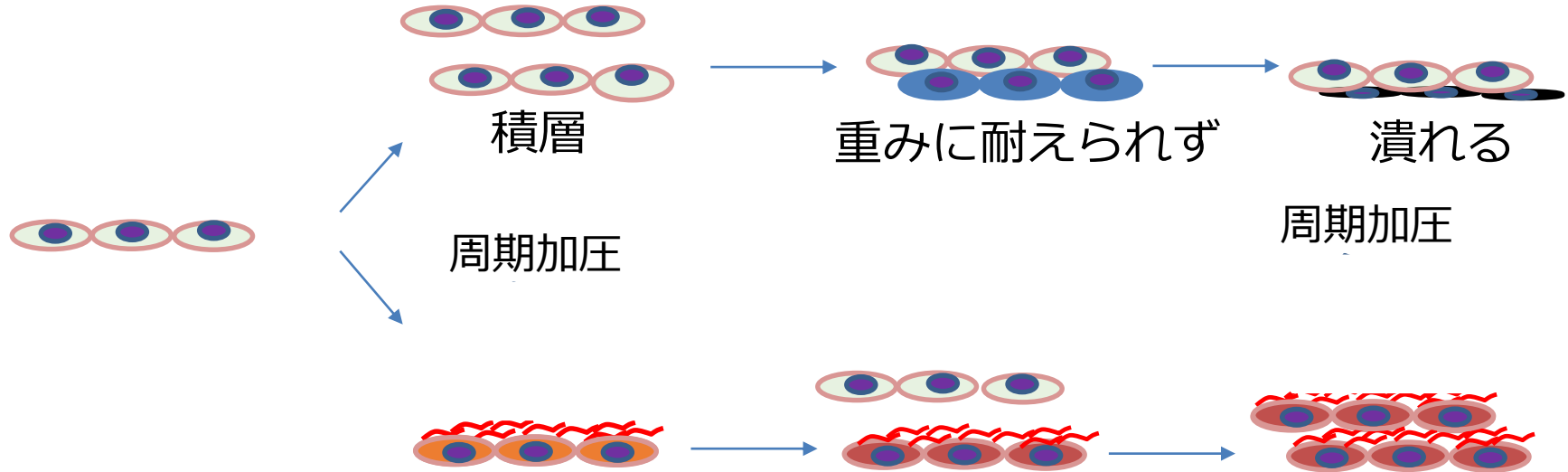
# 周期加圧技術による細胞の重層化

当研究室では、**通常**の細胞培養に**周期加圧処理**を行うことにより、**弾性と強度に優れる重層組織構造**を、廉価・簡便に作成する方法を開発した(PCT移行済み) (*Sci Rep* 2017)(特願2016-552042)



# 周期加圧技術による細胞の重層化

- 周期加圧負荷重層細胞シートは、培養細胞に**周期加圧を**  
**負荷**することで、細胞を**重層化**することが可能となる。



細胞外基質や細胞骨格の発現が上昇することで、下層の細胞でも潰されずに重層可能

# 重層細胞シート

ラット大動脈平滑筋細胞より作成された細胞シート

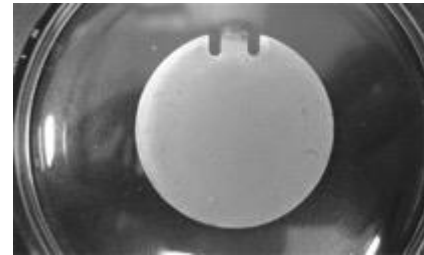
大気圧培養



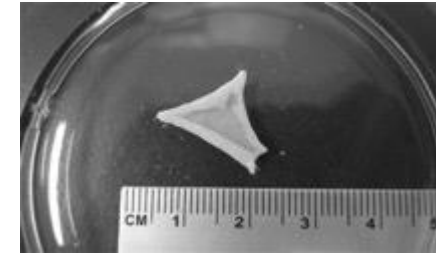
加圧培養



ディスクからはがす前

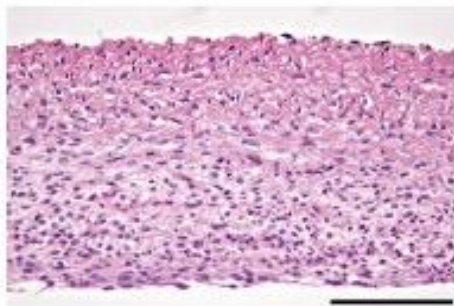


はがした後

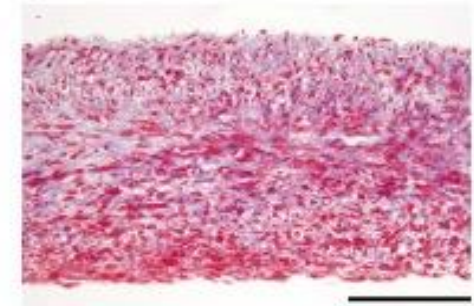
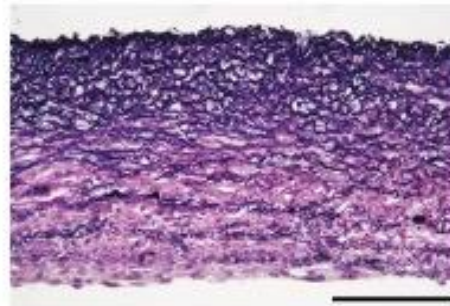


➔ 大気圧培養では積層できないが、加圧培養では積層可能

HE染色



エラスチカワンギーソン染色 (EV染色) マットソントリクローム染色 (MT染色)

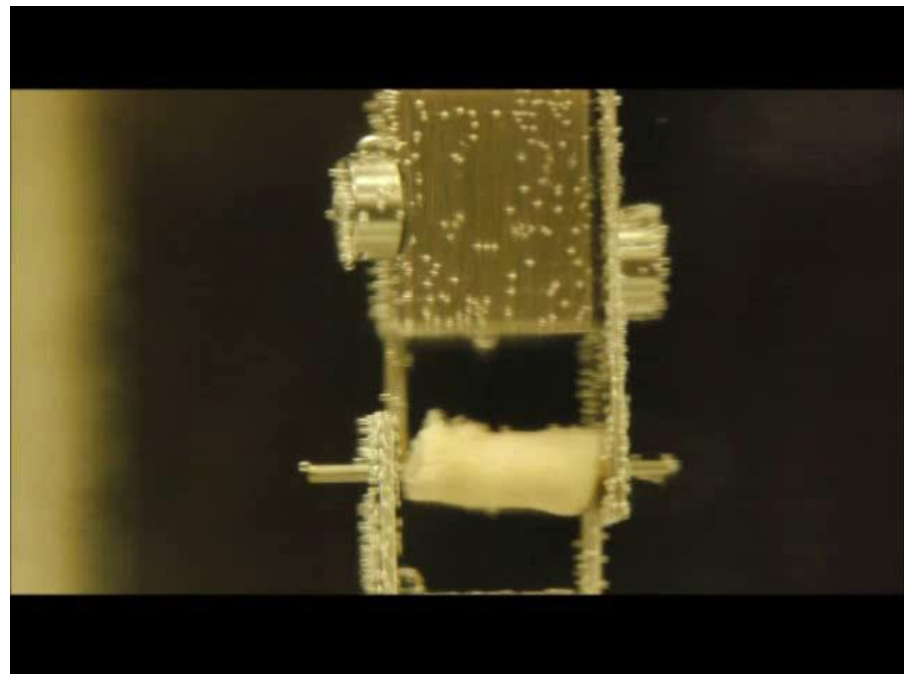
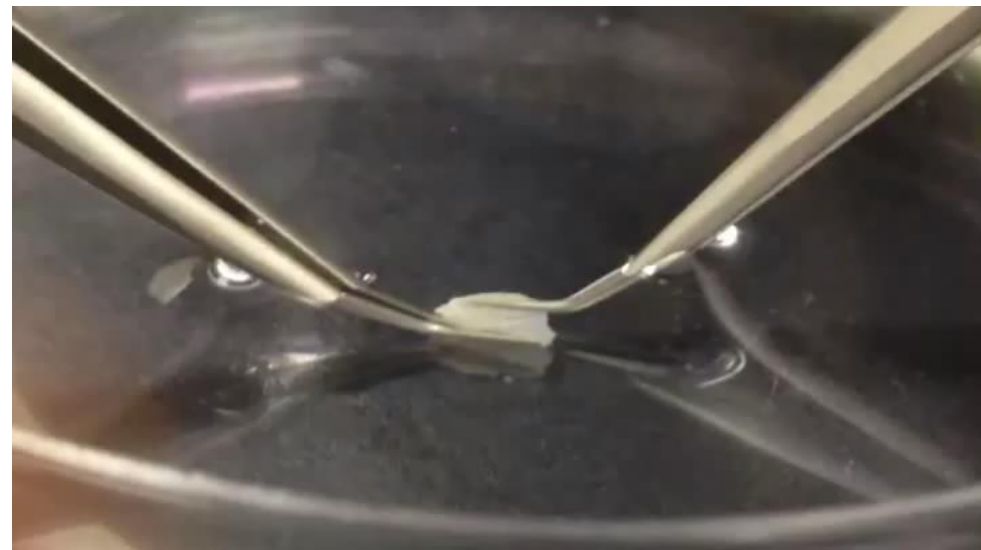


100μm

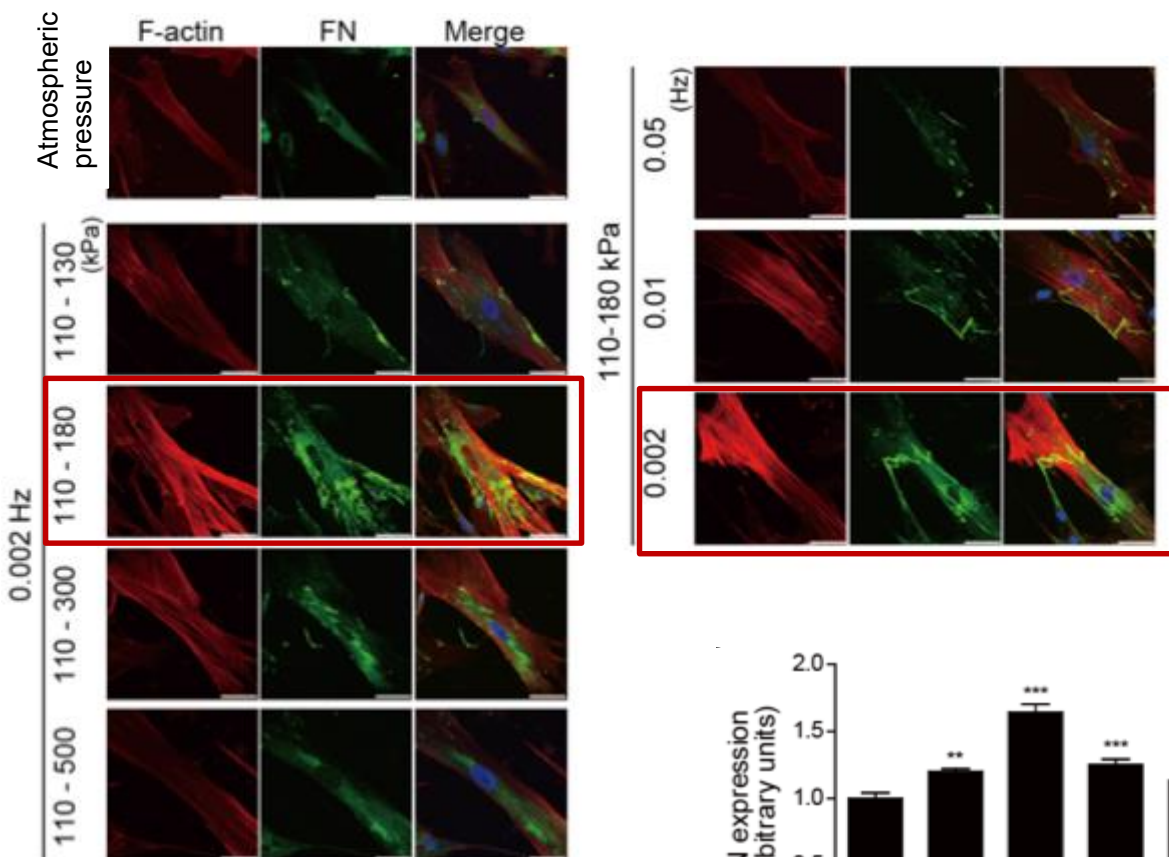
# 重層細胞シートは弾性と強度を有する



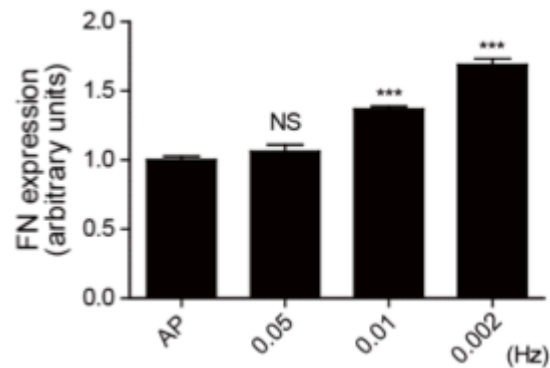
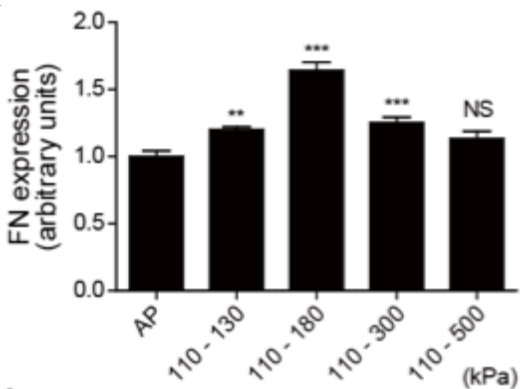
周期加圧培養(6週間)



# 加圧周期に依存した細胞骨格成分の形成



- 周期加圧処理により**細胞骨格の形成**が顕著となる
- ただし、細胞種により加圧条件が異なることを確認



# 従来技術とその問題点

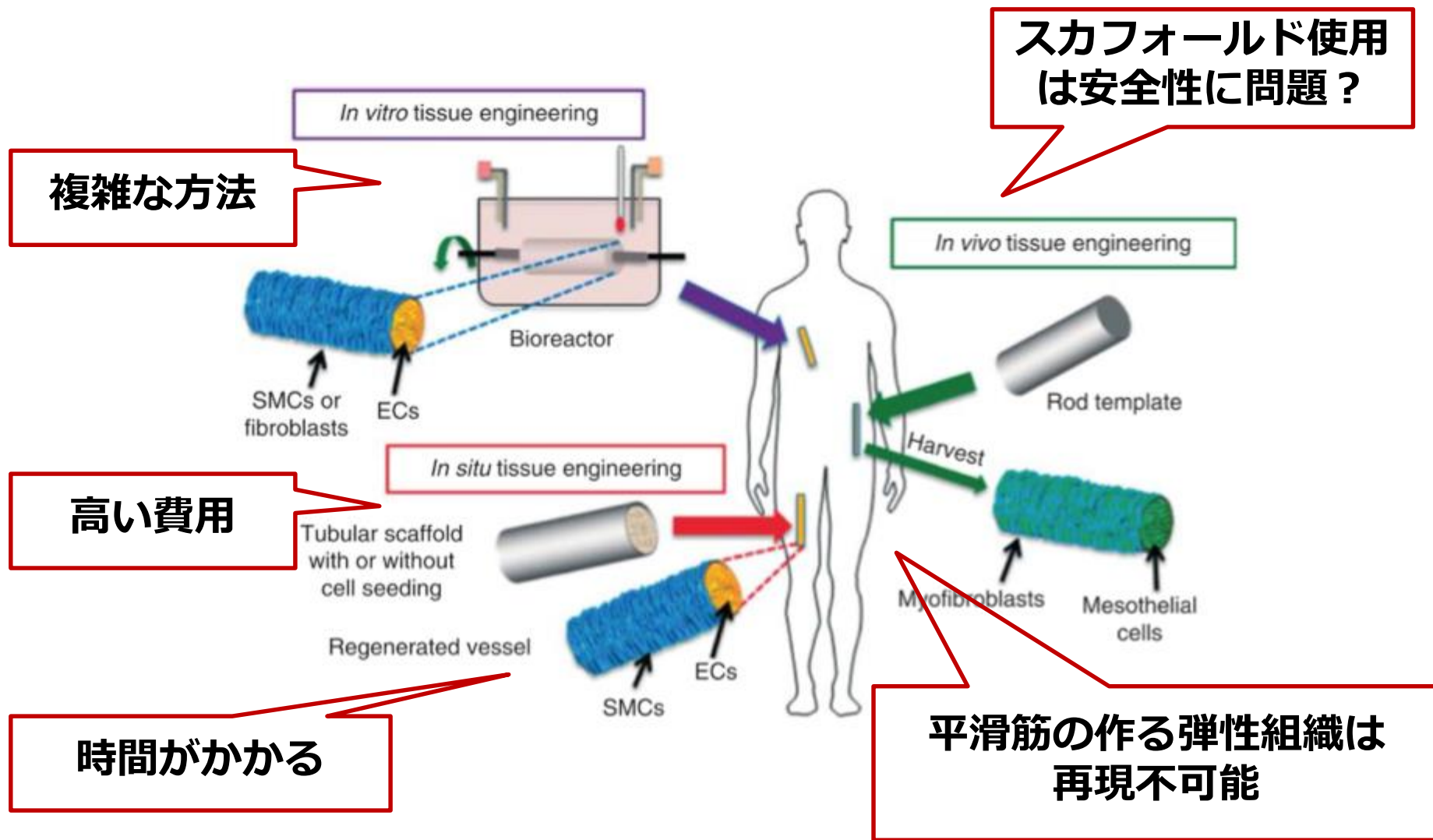
- 細胞シート技術は再生医療分野において、様々な臓器の再生および創傷治癒の促進を期待されている
- 筋芽細胞を用いた細胞シートによる心不全治療が大阪大学を中心に行われている
- しかしながら、
  - ① 厚みのある細胞シートを簡易に作成することができない
    - 薄い細胞シートを何枚も重ね合わせる必要がある
    - 特殊な細胞皿が必要 (セルシード®)
  - ② 移植可能な部位が限られる
    - 耐圧性が望まれる部位には移植不可



# 本技術の特徴・従来技術との比較

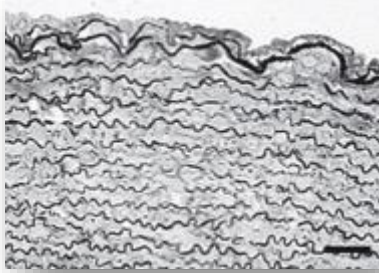
- 細胞の播種と圧力印加を繰り返すだけで簡便に厚みのあるシートを作成可能
  - 足場材は必要ない
  - 特殊な技術は必要ない
  - 特殊な試薬も必要ない
- 強度に優れた細胞シートを作製可能なため、移植可能な部位が多い
  - 血管や消化管への適応

# どうして人工血管の合成は難しいのか？

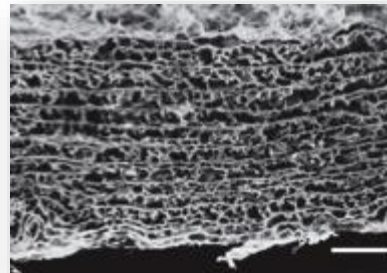


# 血管の弾性組織・構造はこれまで合成不可能とされてきた

ヒト大動脈



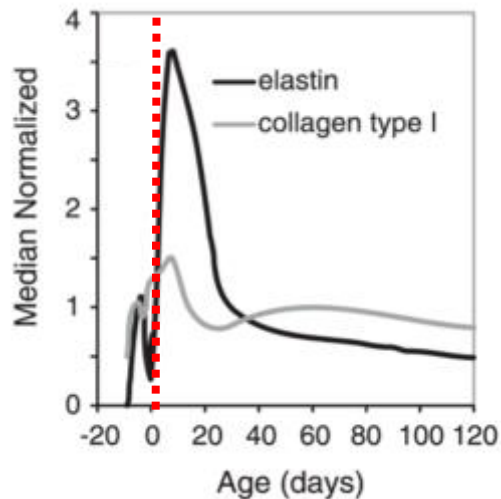
ヒト動脈のエラスチン構造



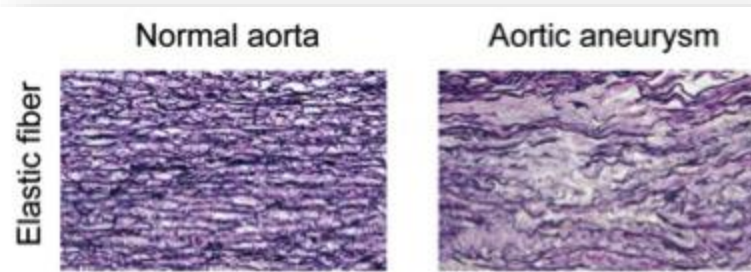
弾性がなければ生理的  
血圧は形成されない

中膜成分の50%は弾性組織からなる  
エラスチンは弾性動脈の主成分であり、細胞外基質の大半を占める

*Wagenseil JE and Mecham RP. Physiol Rev, 2009*



成人では弾性線維はつくられない



*Yokoyama U et al., PLoS ONE, 2012*

**弾性線維構造を持つ血管グラフトに成功した例はない**

# 重層細胞シート

ラット大動脈平滑筋細胞より作成された細胞シート

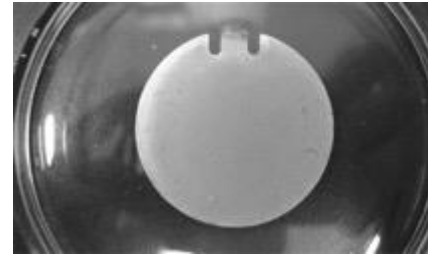
大気圧培養



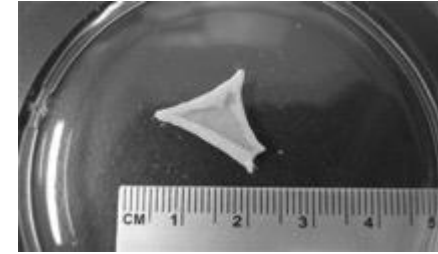
加圧培養



ディスクからはがす前

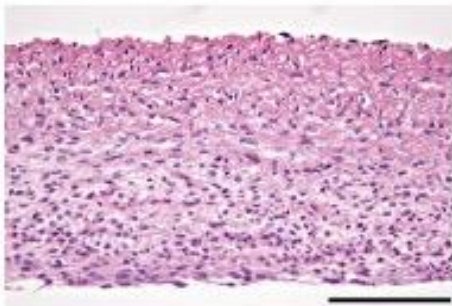


はがした後

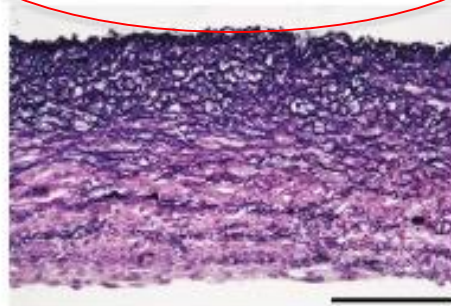


➔ 大気圧培養では積層できないが、加圧培養では積層可能

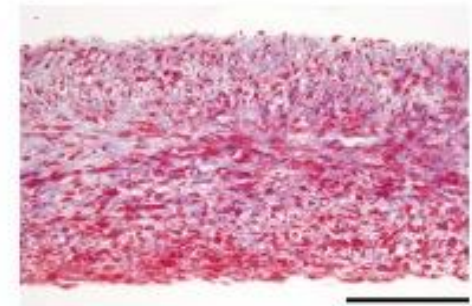
HE染色



エラスチカワンギーソン染色 (EV染色)

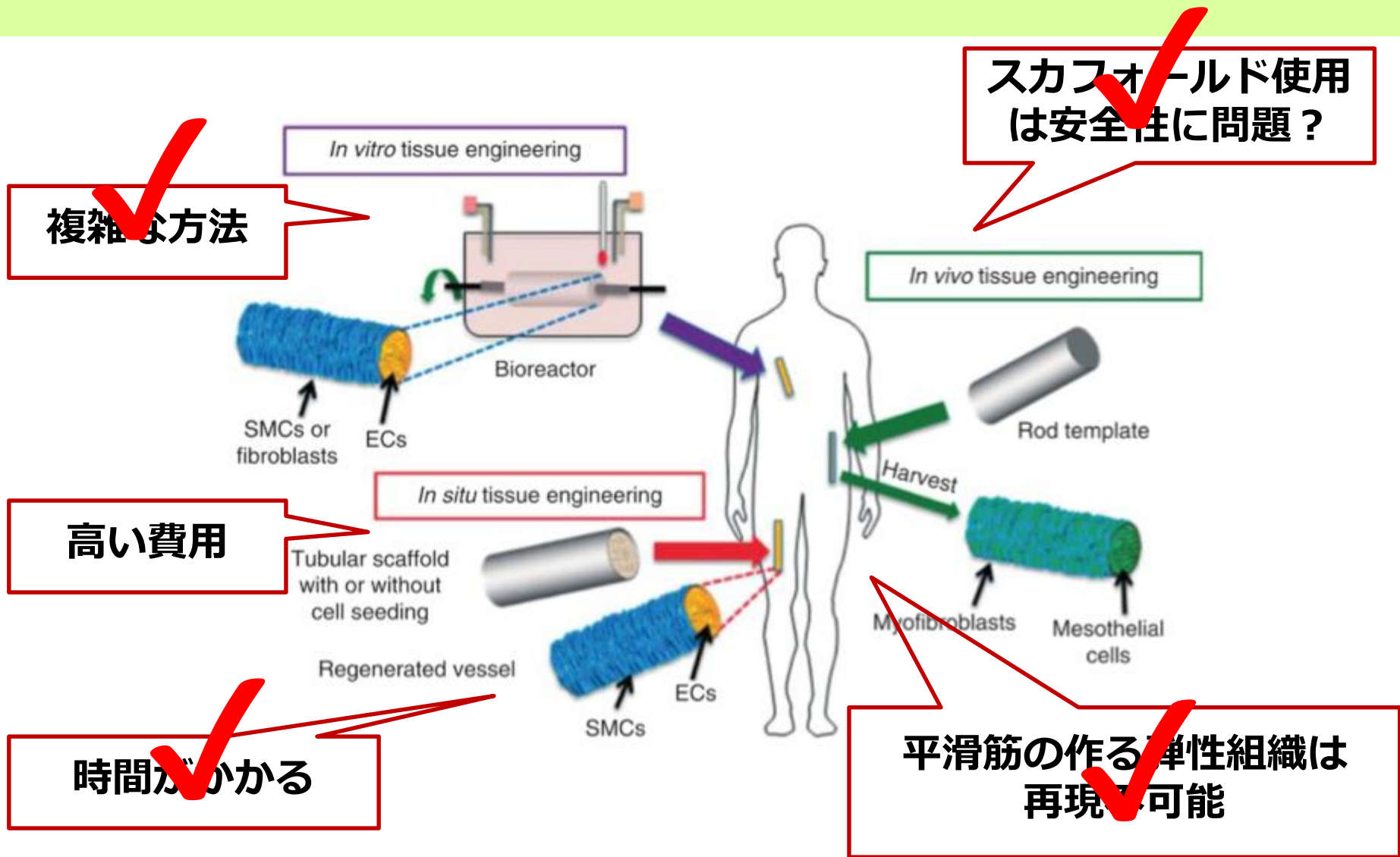


マッソントリクローム染色 (MT染色)

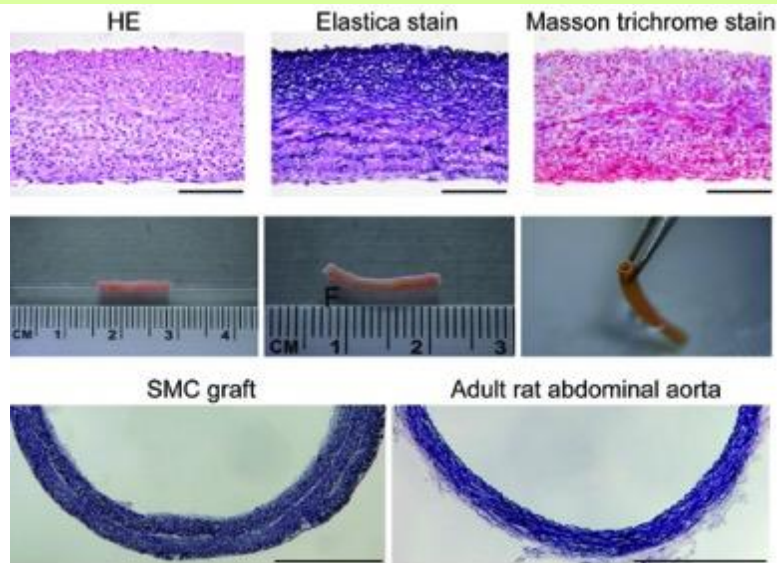


100μm

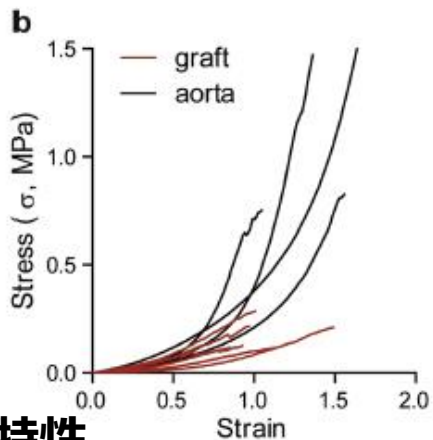
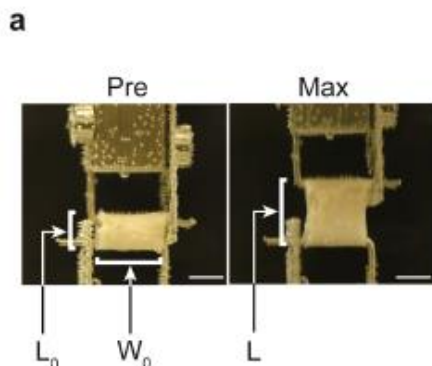
# どうして人工血管の合成は難しいのか？



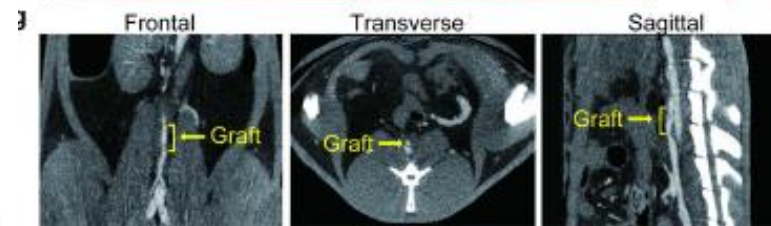
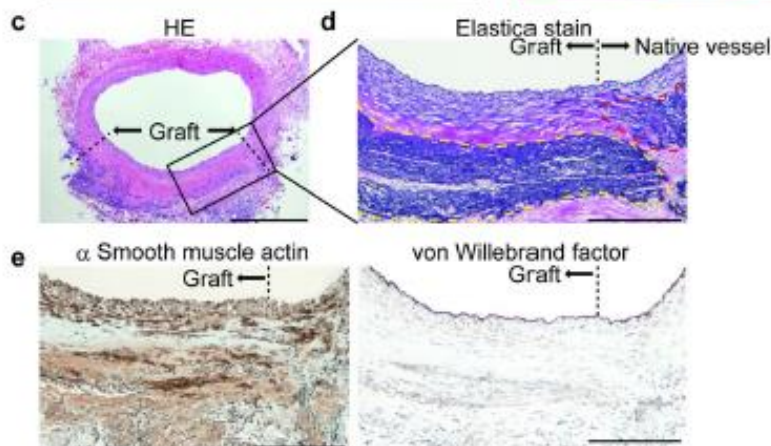
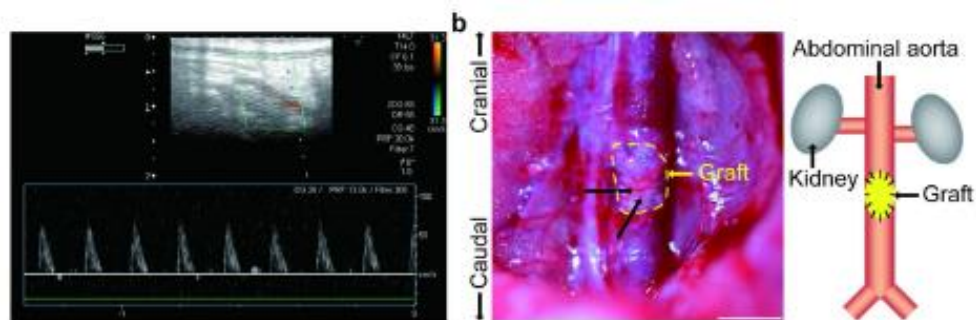
# 周期加圧で合成された血管チューブは 生体血管に類似する 組織構造、物理特性をもち 生体移植可能である



## 組織構造



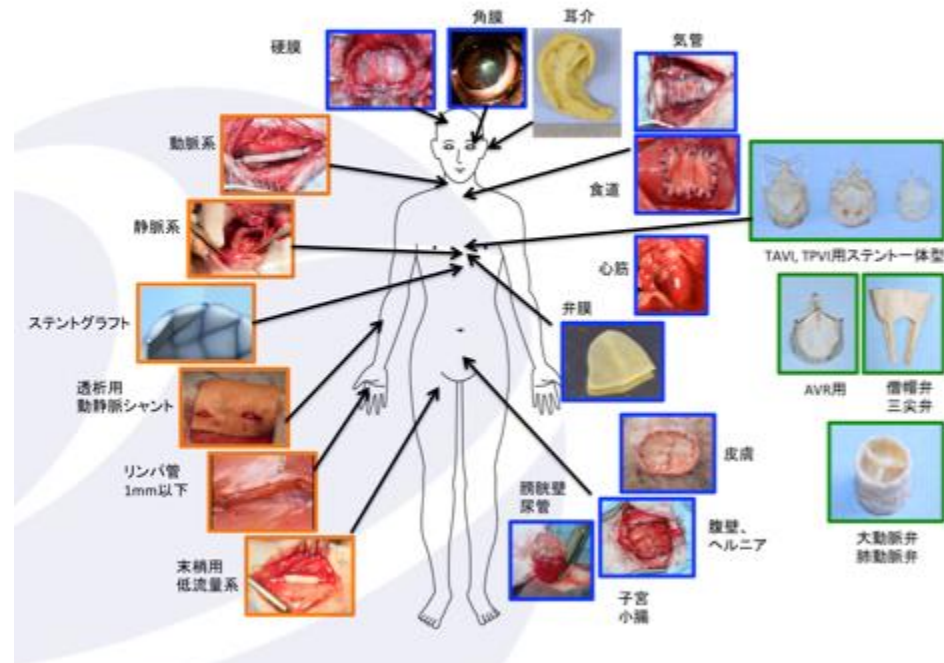
## 物理特性



## 生体移植実験

# 想定される用途

- 臍帯血管平滑筋細胞を用いた人工血管
- 筋芽細胞や間葉系幹細胞を用いた消化管縫合部被覆材
  - 肺葉や脾臓にも応用可
- その他に、皮膚や角膜、横隔膜、膀胱壁などにも応用可能であると考える



# 実用化に向けた課題

- 細胞ごとに適切な周期加圧条件を探索する必要がある
- 製品の統一化のための指標を探索する
- 様々な製品形態を作製する方法を模索する
- 実用化に向けた、周期加圧装置の開発を行う
  - 大量生産
  - 操作の簡易化



# 企業への期待

- 細胞培養皿の販売実績や3Dプリンター技術を有する企業と、本製品の加工に関する共同研究を希望する。
- 医療機器の販売実績を有する企業に、周期加圧装置の製品化を委託を希望する。
- 再生医療材料開発の分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効であると思われる。

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 三次元細胞集合体の作製方法
- 登録番号 : 特許第6733126号
- 出願人 : 公立大学法人横浜市立大学  
国立大学法人大阪大学  
国立大学法人名古屋大
- 発明者 : 横山詩子、石川義弘、  
金子真、佐久間臣耶、  
新井史人

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：消化管被覆材及び  
移植用材料
- 出願番号：特願2020-160797
- 出願人：公立大学法人横浜市立大学
- 発明者：石川義弘、横山詩子、  
中村隆

# お問合せ先

**横浜市立大学**

**研究推進部 研究・産学連携推進課**

**TEL 045-787-2536**

**FAX 045-787-2509**

**e-mail [sanren@yokohama-cu.ac.jp](mailto:sanren@yokohama-cu.ac.jp)**