

再生医療の加速化を目指した 生体適合素材細胞支持体の開発

福岡大学 薬学部 薬物送達学
准教授 櫛川 舞

2022年5月31日

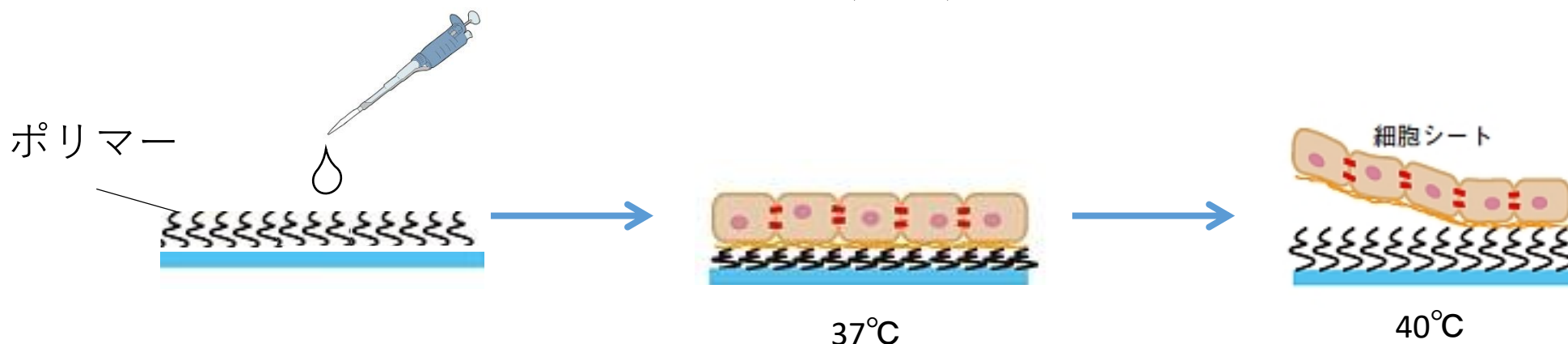
発明の背景①

再生医療へ応用可能な技術として、これまでに以下に示す細胞シート作製方法を開発した。（特許第6989116号：細胞シートの製造方法及び細胞培養支持体）今後再生医療の発展を加速するため、移植細胞シート・移植細胞の安定供給が律速となる。そのためには細胞シート作製時に機能的な**細胞支持体**を活用することが有効手段の一つと考えられる。

Step1 ポリマーコーティング
(親水性の向上)

Step2 細胞培養
(37°C)

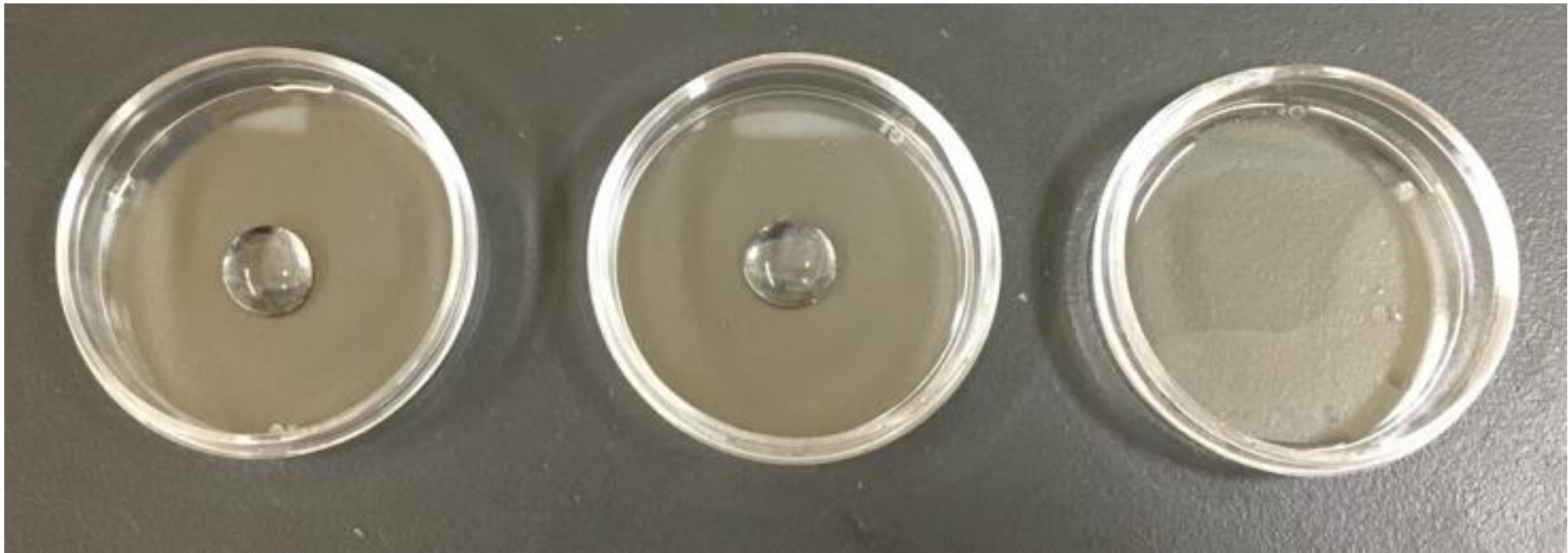
Step3 細胞シートの回収
(加温40°C)



- 特殊な培養皿を必要とせず、タンパク分解酵素処理なしで細胞シートを回収することができる。
- 細胞剥離時に温度を下げる必要がないため（従来品培養皿のプロトコル）、細胞に低温負荷がかからない。

発明の背景②

(STEP1) SCCBCコーティングにより培養皿表面の親水性が高まる
※写真はPBSを100 μ L滴下したものの



未処理

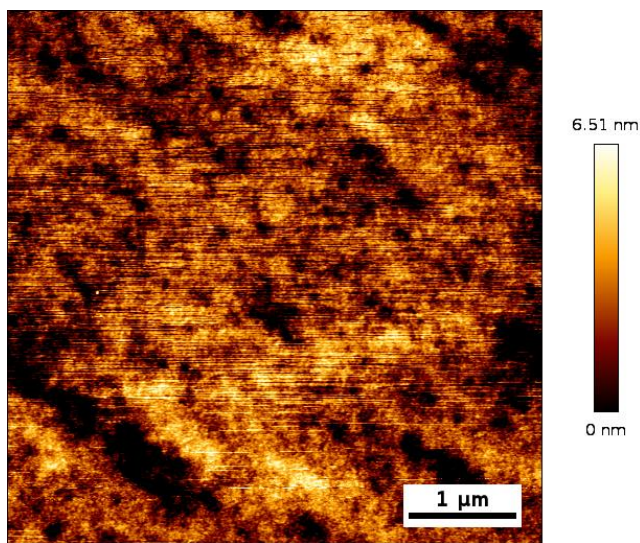
溶媒処理

SCCBC処理

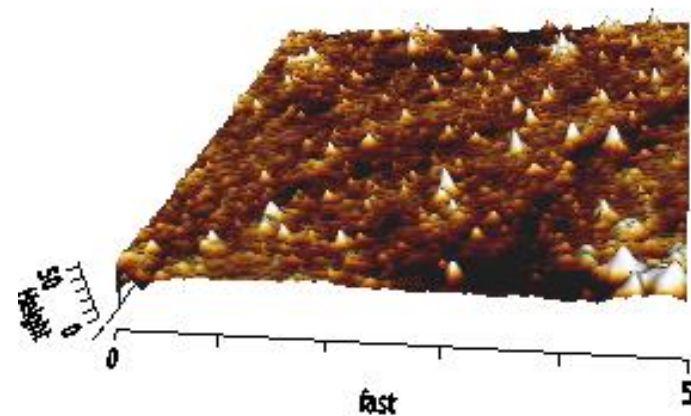
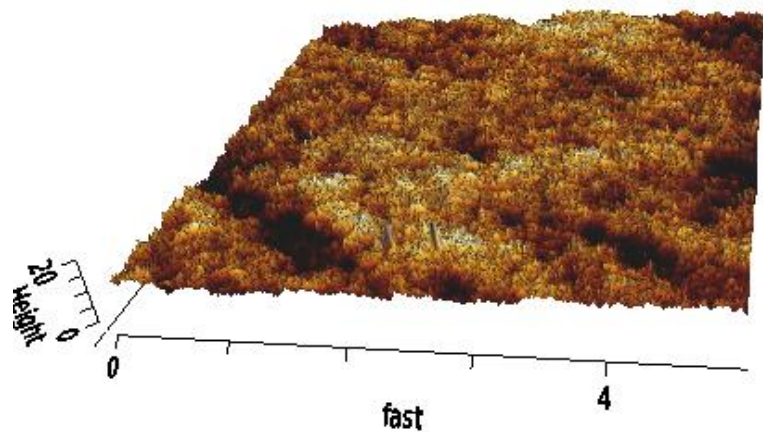
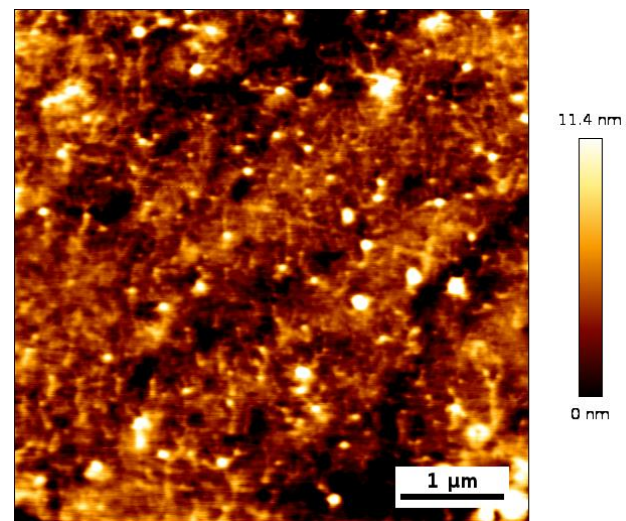
発明の背景③

(STEP1)ポリマーコーティングの様子(AFM画像)

溶媒処理

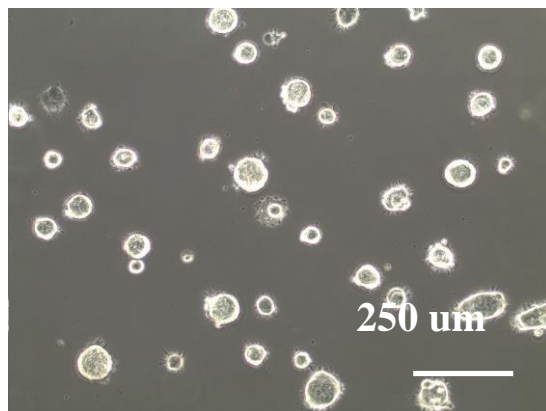


SCCBC処理

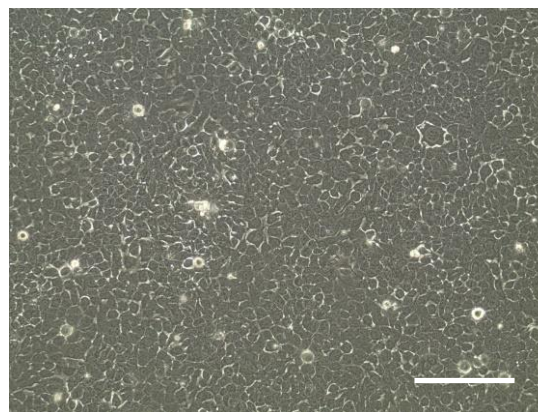


発明の背景④

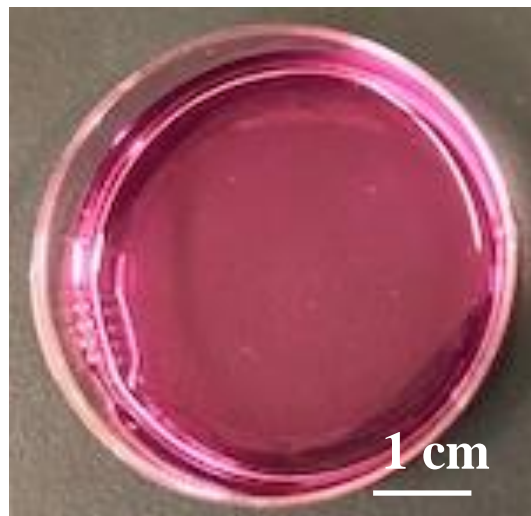
(STEP2)細胞増殖促進
溶媒処理



SCCBC処理



(STEP3)加温(40°C)すると細胞が剥離
溶媒処理



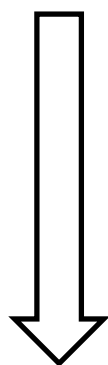
SCCBC処理



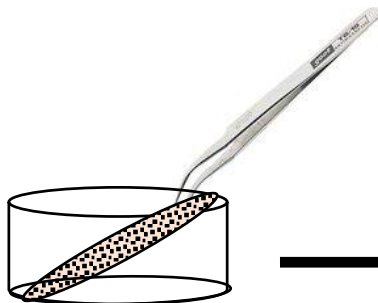
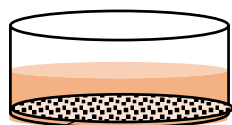
発明の背景⑤

細胞支持体の従来技術の問題点：低い細胞回収率、支持体除去の必要性

【細胞支持体なしの場合】



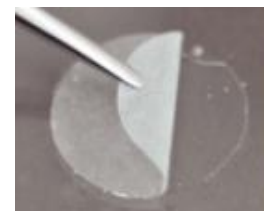
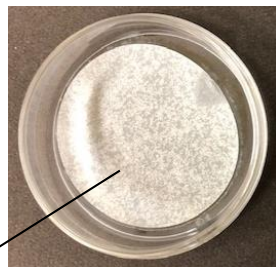
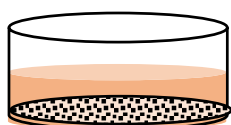
細胞シート



【課題】

- ・細胞シートが凝集してしまう
- ・細胞シートに亀裂

【細胞支持体ありの場合】



市販の細胞支持体
(不織布素材)

【改善点】

- ・操作の簡便化（取り出しやすい）

【課題】

- ・すべて細胞が回収できない
- ・最後に除去が必要

従来技術とその問題点

細胞シート作製の効率化技術としてハンドリング向上を期待した細胞支持体の利用があるが、既に実用化されている細胞支持体は、不織布素材であり、

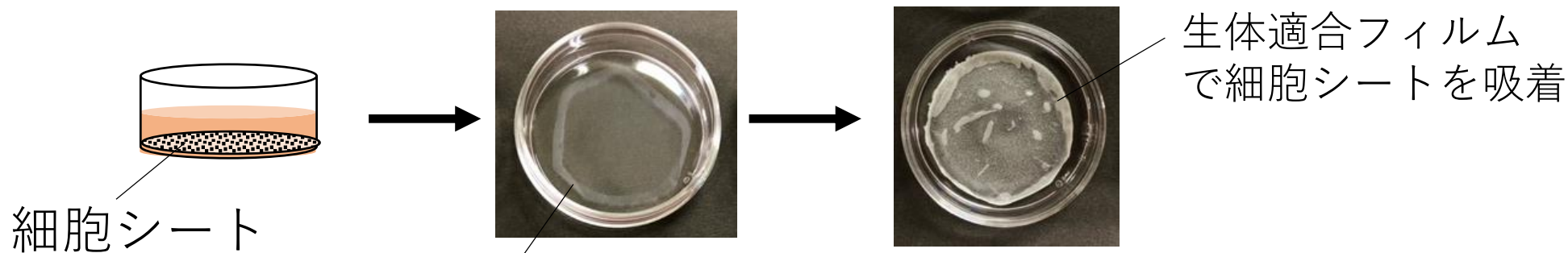
- ・細胞シートが一部培養皿に取り残されてしまう
- ・細胞シート移植後に細胞支持体は除去する必要がある

等の課題があり、広く利用されるまでには至っていない。

現在、不織布素材以外にもゼラチン素材や細胞含有支持体などの研究開発も行われているが高コストの問題を抱えている。

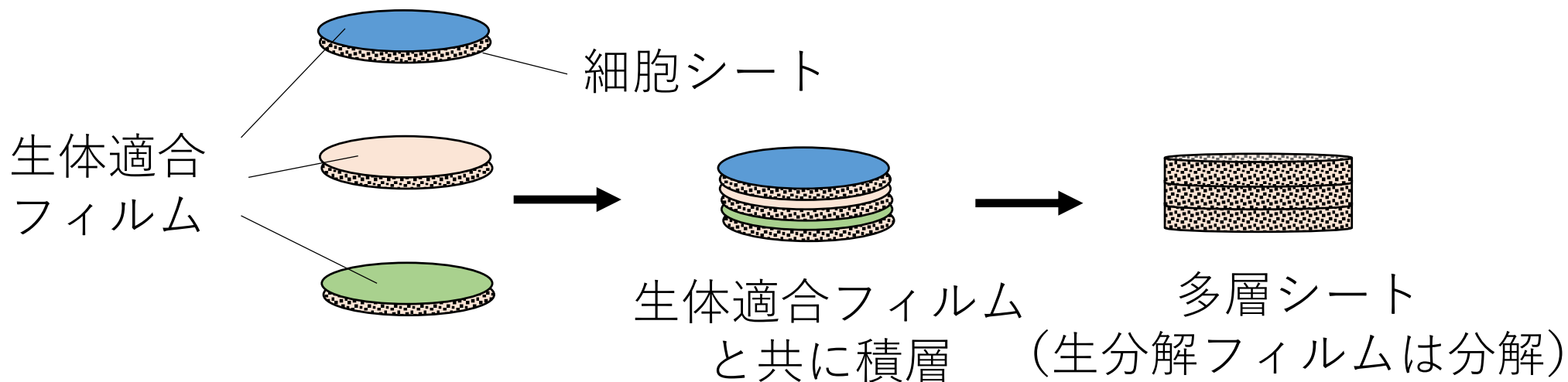
発明の技術内容①

本技術の特徴：高い細胞回収率、除去不要、多層シートの作製への応用



【メリット】

- ・ 操作の簡便化
- ・ **すべて細胞**が回収可能
- ・ **除去不要**



発明の技術内容②

P-ジオキサノンにPLGAを含ませることで、**柔軟性、操作性**などの機能性向上に成功。



PDS



PDS/PLGA (3/1)混合型



poly dioxanone:glycolide (90:10)
(セグメント化)

操作性

やや固い

良好

良好

強度

(ピンセットで扱う場合)

良好

良好

良好

柔軟性

良好

良好

良好

発明の技術内容③

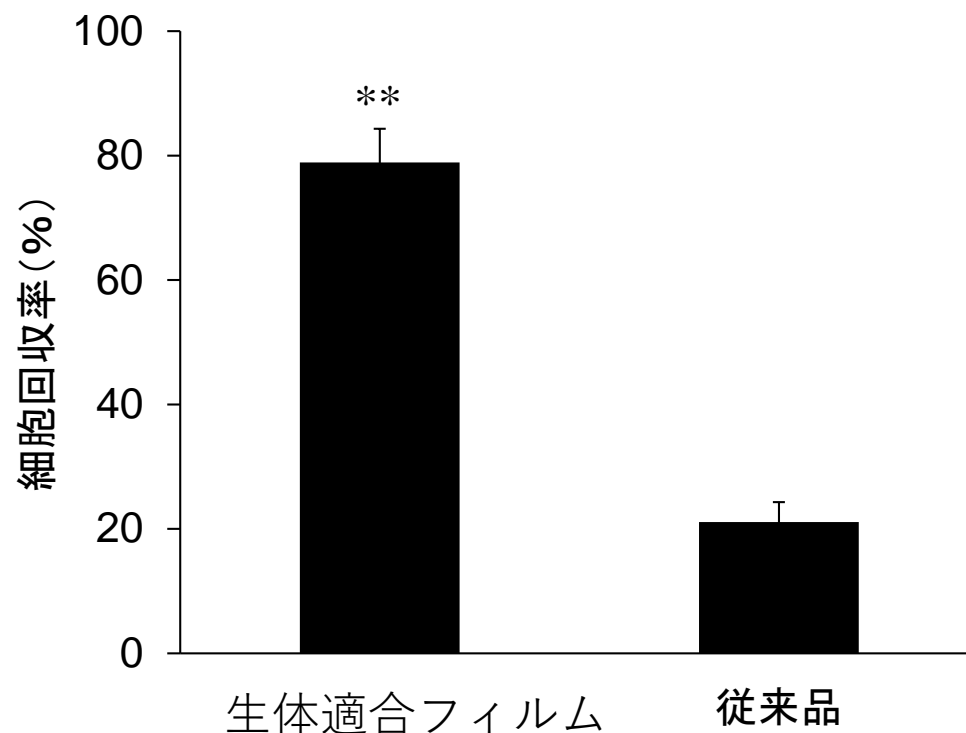
生体適合フィルムを使用すると細胞回収率が高い

細胞が残らない 細胞が残る



生体適合フィルム

従来品
(不織布)



Mean ± SD (n=3) **p<0.01 vs 従来品 (Student's t-test)

発明の技術内容④

生体適合フィルムは細胞の接着に適度な親水性と細かい凹凸構造を有する（細胞吸着性が高い）

従来品（不織布）



θ 23.38 ± 0.91

PDS 20mg



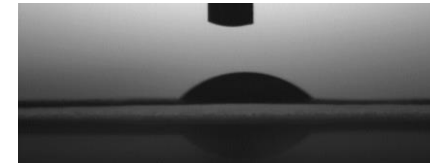
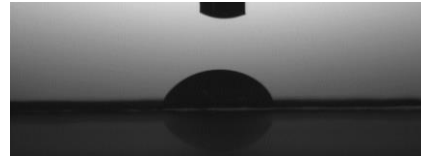
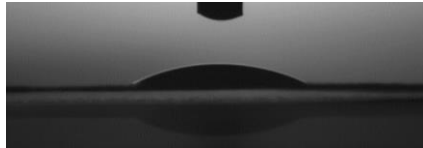
66.10 ± 1.81

PDS/PLGA 20mg

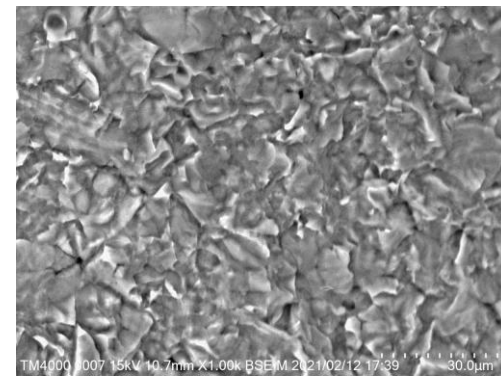
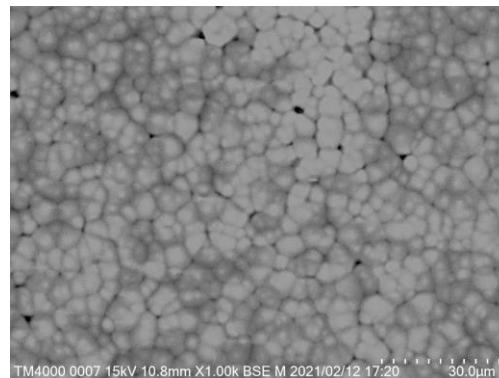
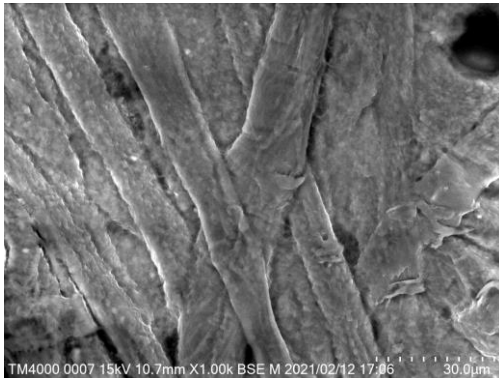


60.24 ± 3.27

接触角



SEM

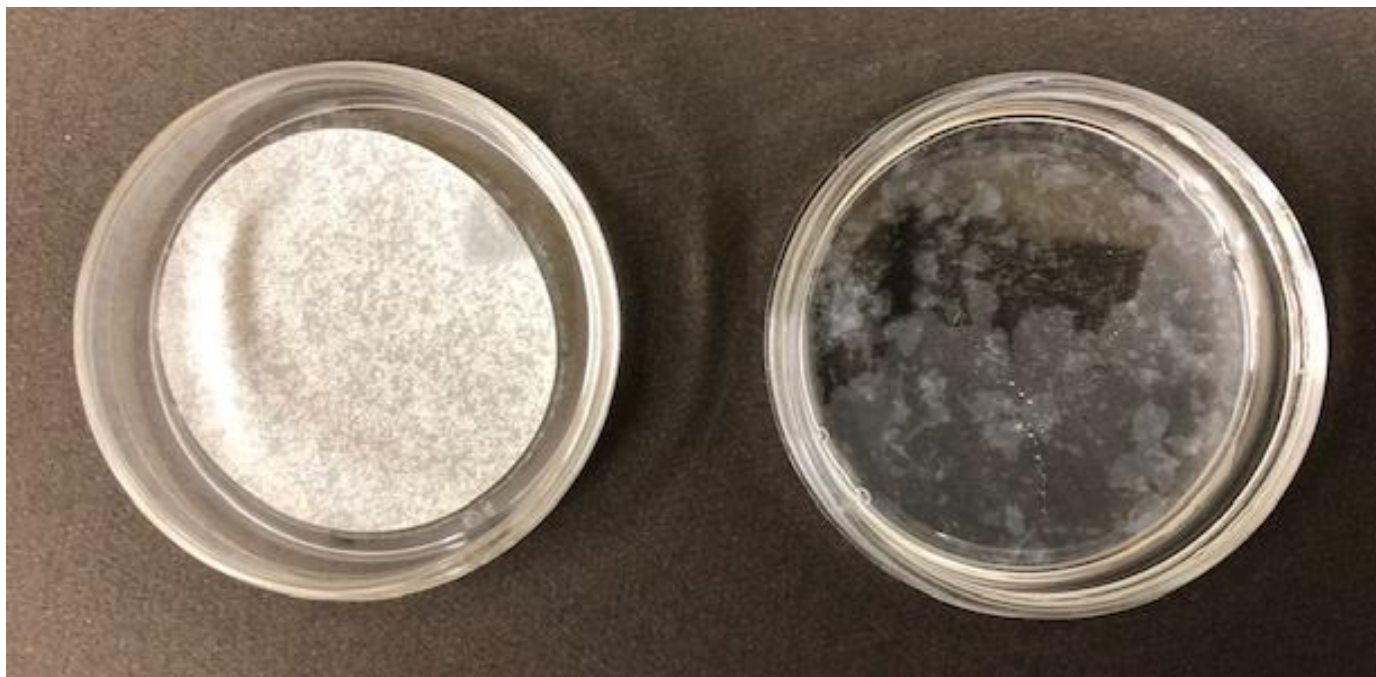


発明の技術内容⑤

生体適合フィルムを使用すると
細胞シート回収後の細胞支持体の除去が不要

従来品（不織布）

生体適合フィルム



水で分解しない
（除去必要）

水で分解する
（除去不要）

発明の技術内容⑥

生体適合高分子の組成制御により加水分解速度を制御できる

小 ← 分子量 → 大



高 ← 乳酸/グリコール酸比 → 低

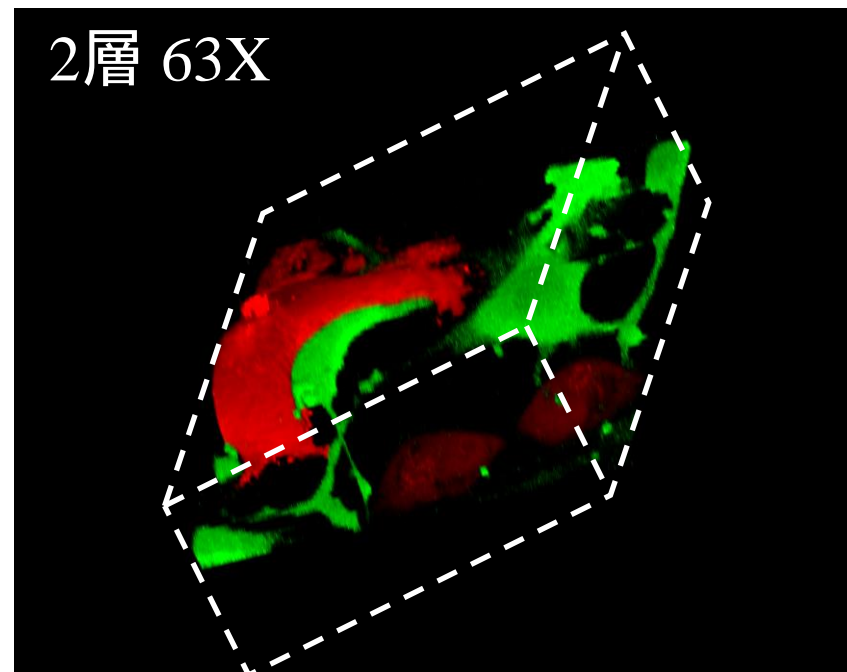
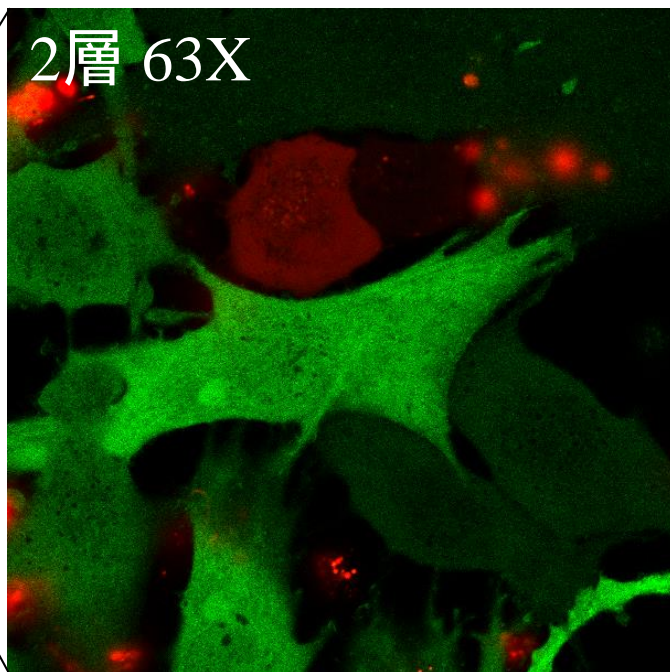


発明の技術内容⑦

2層シート作製時に2種の異なる細胞シートが
接着している様子(接着面の蛍光顕微鏡画像)

ヒト子宮頸がん細胞
HeLa (赤)

マウスメラノーマ
細胞 B16/BL6 (緑)



新技術の従来技術と比較した優位性

- 優位性① 細胞回収率が高い
- 優位性② 細胞回収後に細胞支持体の除去が不要
- 優位性③ PDSを基盤とするPLGAの混合型とすることで細胞支持体の分解速度を調節可能
- 優位性④ 多層化のシートの操作性（ハンドリング）が向上
- 優位性⑤ 市販品より低コスト化（50分の1に削減）

想定される用途

- 本技術の特徴を生かすためには、「再生医療機器」細胞支持体として、細胞シートの作成時に適用することで、移植細胞シートの量産化、多層化、低コスト化のメリットが大きいと考えられる。
- 上記以外に、薬剤含有細胞支持体の調製も可能なため、細胞シートを支持する目的のほかに培養時の細胞増殖促進や移植時の生着促進、積層時のシート間接着促進の効果を得られることも期待される。
- また、フィルムの分解速度制御に着目すると、薬物放出デバイスとして細胞支持体に限らない、徐放性製剤として創傷治療、組織再生のための「コンビネーション医薬品」としての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

- 現在、細胞支持体としての細胞吸着性、加水分解制御性、多層化について検証済みである。しかし、具体的に薬物を含有させたフィルムを用いた評価が実施できていない。
- 今後、細胞増殖・接着に関与する因子を制御可能な薬剤含有フィルムを調製し、薬物放出性、細胞シートの接着性、生体移植後の生着に関する評価について実験データを取得し、再生医療に適用していく場合の条件設定を行っていく。

企業への期待

- 未実施の薬剤含有フィルムの調製については、本技術発明者の従来の徐放性製剤化調製の経験により調製方法は見込んでおり、その評価方法も計画済みである。
- 再生医療分野におけるデバイス開発に関連があり、フィルムの生産レベルでのスケールアップに展開可能な企業との共同研究を希望。
- また、細胞培養の量産化や細胞支持体開発中の企業、再生医療分野への展開を考えている企業、さらには徐放化デバイスに興味のある企業には、本技術の導入が有用と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 細胞シート支持体、
細胞シート積層体及び
その製造方法
- 出願番号 : PCT/JP2022/005967
- 出願人 : 学校法人福岡大学
- 発明者 : 櫛川 舞、八尾 滋

お問い合わせ先

福岡大学 研究推進部 産学官連携センター

TEL 092-871-6631

FAX 092-866-2308

e-mail sanchi@adm.fukuoka-u.ac.jp