

課題番号 : F-15-BA-03
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : 三次元細胞組織の再生医療実現に向けた血管構造作製技術の確立
Program Title (English) : Engineering of three dimensional vascular structures for regenerative medicine
利用者名(日本語) : 榎本詢子, 福田淳二
Username (English) : J. Enomoto, J. Fukuda
所属名(日本語) : 横浜国立大学工学研究院
Affiliation (English) : Faculty of Engineering, Yokohama National University

1. 概要(Summary)

スパッタ装置を用いてマルチニードル上に金薄膜をコートし、これを細胞培養担体として利用する。ここへ接着させた血管内皮細胞は電気化学的に表面から脱離させ、コラーゲンなどのゲルへ転写することができる。この反応を利用して内表面が血管内皮細胞に覆われた血管様の構造を作製する。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

スパッタリング装置(芝浦メカトロニクス、CFS-4EP-LL)

【実験方法】

洗浄したガラス製のマルチニードルにクロムを密着層として金をスパッタすることで、金電極を作製した。電極上に金-チオール結合を利用して、自己組織化オリゴペプチドの単分子膜を形成し、ペプチド層を介して細胞を金電極上に接着させた。金電極に電位を印加することで、オリゴペプチド分子と金電極の結合を還元反応により切断し、分子層とともに細胞を周囲のゲル側に転写することで、血管様構造を構築する^{1,2}。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

-1.0 V の電位を 5 分間印加することで、直径 500 μm の内表面が血管内皮細胞に覆われた血管様構造を作製することができた。ハイドロゲル側に、血管内皮細胞や間葉系幹細胞を導入することで、ハイドロゲル内に血管内皮細胞のネットワークが形成できることを示した。ゲル内にヒト iPS 由来肝細胞を導入することで、肝細胞の重要な機能の 1 つであるアルブミンを分泌することを確認し、培養とともに肝細胞が成熟していくことがわかった。さらに、作製した血管様構造をマウスの血管に吻合した結果、マウスの血液が作製した血管様構造に流入し、血管として機能することが示された。

4. その他・特記事項(Others)

・参考文献

1. T. Osaki, T. Kakegawa, T. Kageyama, J. Enomoto, T. Nittami, J. Fukuda, PLoS ONE Vol. 10(4) (2015) pp. e0123735.
2. T. Kageyama, T. Kakegawa, T. Osaki, J. Enomoto, T. Ito, T. Nittami, J. Fukuda, Biofabrication Vol 6 (2014) pp. 025006-025017

・本研究は文部科学省科学研究費補助金、NEDO 先導的産業技術創出事業、リプロセス研究助成、動物実験代替法学会助成、旭硝子財団研究奨励により、助成されたものである。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) J. Enomoto, N. Mochizuki, K. Ebisawa, T. Osaki, T. Kageyama, D. Myasnikova, T. Nittami, and J. Fukuda, Regenerative Therapy, Vol. 3 (2016) pp.24-31.
- (2) T. Osaki, T. Kakegawa, T. Kageyama, J. Enomoto, T. Nittami, J. Fukuda, PLoS ONE, Vol.10 (4) (2015) pp. e0123735.

6. 関連特許(Patent)

なし。