

課題番号 : F-16-BA-0010
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, 小林 優香, 篠原 礼奈, 福田 淳二
Username (English) : J. Enomoto, Y. Kobayashi, R. Shinohara, 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社, 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、血管様構造を構築した。

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^{1, 2}。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)

なし。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) T. Kageyama, T. Osaki, J. Enomoto, D. Myasnikova, T. Nittami, T. Hozumi, T. Ito, J. Fukuda, In Situ Cross-Linkable Gelatin-CMC Hydrogels Designed for Rapid Engineering of Perfusable Vasculatures, ACS Biomaterials science & Engineering **2**, pp1059-1066 (2016)
- (2) C. Arrigoni, M. Bongio, G. Talò, S. Bersini, J. Enomoto, J. Fukuda, M. Moretti, Rational Design of Prevascularized Large 3D Tissue Constructs using Computational Simulations and Biofabrication of Geometrically Controlled Microvessels, Advanced Healthcare Materials **5**, pp1617-1626 (2016).

6. 関連特許(Patent)

なし。