

P-411 マイクロゲルプリンターを用いた複数ゲル素材による3次元構造の構築

西山 勇一、中村 真人、逸見 千寿香、山口 久美子、望月 修一、瀧浦 晃基、中川 英元

〔財〕神奈川科学技術アカデミー中村プロジェクト、¹東京医科歯科大学生体材料工学研究所

【目的】我々は3次元的な厚みを持った生体組織をインクジェット技術を用いて人工的に作製することを目指している。インクジェットノズルから打ち出される液滴の大きさは1~数百plであり、細胞と同程度の大きさである。したがって、これを積み重ねれば個々の細胞の配置を制御しながら厚みのある組織を構築できると考えられる。細胞は生体に対して悪影響の少ないゲル前駆体と共に打ち出し、これをゲル化させて安定した3次元組織の構築を目指す。そこでまずはゲルのみで3次元の様々な構造を構築することを目的とした。

【方法】打ち出すゲル前駆体はアルギン酸ナトリウム水溶液、ゲル化には塩化カルシウム水溶液を用いた。試作した装置はインクジェットノズルを3軸に移動させることが可能なもので、変位および打ち出しタイミングをPCにより制御した。ノズルを断続的に運動させながらゲル前駆体を打ち出すことでゲルの構造物を構築した。

【結果】直径1mm以下の複数のゲルを素材とする管を試作できた。これは、交互に素材が入替る縞状のものや、内側と外側で素材が異なるものである。また、複数の平面を積層した厚みのある構造などの構築にも成功した。

【考察】管の内側に血管内皮、外側に平滑筋細胞を含む構造を構築できれば人工的な血管構造もできる可能性がある。また、積層構造を持つ生体組織は多いため、今回構築できたゲル積層構造作製技術は様々な組織に応用が可能と思われる。

P-413 細胞接着性ペプチドナノファイバーを利用した3次元足場材料の構築

西下 直希、平野 義明

¹大阪工業大学大学院工学研究科

【目的】Arg-Gly-Asp-Ser- (RGDS) 配列が、細胞接着に重要であることが知られている。このRGDS配列を足場に用いることで細胞との親和性を向上させることが期待できる。しかし、RGDSペプチドそのものは溶解性が高いために他の材料と組み合わせなければ足場材料としては用いることができない。そこで、RGDSに難水溶性ペプチドでありβシート構造を形成するペプチドを組み合わせたペプチドを設計することで、βシート構造の相互作用を利用し、さまざまな形状の足場材料を設計することを目的とした。

【結果】今回合成したペプチドは、Fmocケミストリーを用いた固相合成法により行った。HPLCで生成した後、アミノ酸分析・元素分析・MALDI-TOF-MSによりペプチドの合成を確認した。また、円二色性測定によりβシート構造であることも確認した。さらに、細胞接着実験の結果、このペプチドは高い細胞接着性および細胞伸展活性を示した。また、pHなどの条件をコントロールすることにより、ナノファイバーが可能となった。さらに、これらのペプチドを自己組織化させることでペプチドスポンジの構築にも成功した。

【考察】この材料は、細胞親和性にも秀で、再生医学用の足場材料に利用できること期待できる。また、細胞接着に重要なRGDSの構造を変化させることで、細胞形態にどのような変化が見られるのかを分光学的な観点より考察した。

P-412 スキャフォールドへの新規細胞播種方法の検討

染川 将太¹、江橋 具²、森反 俊幸¹、藤里 俊哉¹

¹鈴鹿医療科学大学医用工学部臨床工学科、²国立循環器病センター研究所再生医療部

【目的】我々は、心筋梗塞などの心疾患の治療に用いる脱細胞化心筋スキャフォールドを作製してきた。しかし、これまでにスキャフォールドへの細胞播種方法をいくつか検討したもの、いずれの方法でも細胞接着が困難で、また、スキャフォールド内部まで細胞を播種することができなかった。そこで本研究は、心筋スキャフォールド内部に細胞を播種することを目的として、通常の穿刺針あるいは無針注射器を用いたスキャフォールドへの新規細胞播種方法を検討した。

【方法】ブタ心筋を超高静水圧印加処理法により脱細胞化処理をして、心筋スキャフォールドとした。このスキャフォールドに穿刺針、もしくは無針注射器を用いて、細胞を播種した。このとき、スキャフォールドの孔の向きに対する細胞注入の方向などについて検討した。スキャフォールドに播種した細胞は、染色した後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。また、注射器を用いることによるスキャフォールドへの物理的影響について検討した。

【結果・考察】無針注射器で注射した細胞は、心筋スキャフォールドに内部にも存在していることが確認された。また、注射器によるスキャフォールドの穴は穿刺針と比べ、無針注射器を使用したときのほうが小さかった。したがって、無針注射器を使用することにより、最小限の影響でスキャフォールド内部にまで細胞を播種することが可能となった。

P-414 ACL細胞と生体親和性 scaffold 型 Leeds-Keio 人工靭帯による靭帯再生

菊地 寿幸¹、塚崎 哲史²、富士川 恭輔³、

笹崎 義弘⁴、シードホーム ババ⁵

¹独立行政法人国立病院機構村山医療センター、²自衛隊横須賀病院整形外科、³白井聖仁会病院、⁴Academic Unit of Musculo-Skeletal and Rehabilitation Medicine, Univ. of Leeds, UK

【目的】我々は ACL (前十字靭帯) 細胞と生体親和性 scaffold 型 Leeds-Keio 人工靭帯(Bio-LK)を用いた靭帯再生を試みている。靭帯は、実質部(線維性組織)と靭帯・骨付着部(enthesis)(軟骨組織)といった異なる組織が一つの unit を構成する特殊な構造を有しており、ACL細胞という単一の細胞からそれらを再生させる必要がある。そこで今回は ACL細胞を用いた靭帯実質部と enthesis 再生の可能性について検討した。

【方法】家兔の ACL より単離した細胞をテープ状 Bio-LK とともに遠心し、高密度の細胞塊を作成した。これを DMEM-10%FBS 内で培養した群を DMEM 群、軟骨分化培地内で培養した群を CDM 群とし、3週間培養を行った。培養後、プロテオグリカン量および DNA 量の計測と樹脂切片による免疫染色、走査電子顕微鏡による形態観察を行った。【結果】プロテオグリカン量は CDM 群で、DNA 量は DMEM 群で有意に高値を示した。免疫染色ではケラタン硫酸および II 型コラーゲンが CDM 群に染色され、DMEM 群ではほぼ染色されなかった。形態観察では、DMEM 群では細胞主体で、CDM 群では基質によりテープ全体が覆われていた。【考察】ACL細胞が、異なる培地によって軟骨様基質と線維性基質を産生することが明らかとなった。このことから、ACL細胞単独で靭帯実質部および enthesis の再生がなされる可能性が示唆された。