

令和 3 年 5 月 24 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H01797

研究課題名（和文）酵素反応で定着・除去可能なインク群を駆使して実現する血管網構造含有組織体の構築

研究課題名（英文）Fabrication of 3D tissues including vascular-like network using bioinks gellable and removable through enzymatic reactions

研究代表者

境 慎司（SAKAI, SHINJI）

大阪大学・基礎工学研究科・教授

研究者番号：20359938

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、酵素反応で定着・除去可能なインク群を駆使した3Dバイオプリンティングにより、機能的な3次元組織体を構築する方法の開発を行った。これを実現するために、当該インクを用いた新たな3Dバイオプリント法を開発するとともに、同インク群を用いることで、酵素だけでなく可視光応答性光触媒を用いたヒト脂肪由来幹細胞の分化能を損なうことなく構造体を作製できることを示した。さらに、インクジェット式3Dプリンタに適用することによって、球状や繊維状などの微小な組織体を造形できることを明らかにした。これらの成果は、血管網を含有する組織体の構築につながるものと期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

3Dプリンティングは、あたらしい造形技術として様々な分野で今後の活用が期待されている。再生医療分野においても、細胞を含むインクを使って構造物の造形を行う3Dプリンティングには大きな期待が寄せられている。本研究成果は、機能的な組織体を3Dプリンティングによって作製するにあたって不可欠な要素技術を開発したというものであり、今後、生体外で作製した組織体を用いる再生医療分野の発展に寄与すると期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we attempted to develop methods for constructing functional 3D tissues by 3D bioprinting using a series of inks that is gellable and removable by enzymatic reactions. In order to achieve this, we developed a new 3D bioprinting method and showed that the inks can be used to fabricate structures without impairing the differentiation ability of human adipose-derived stem cells using visible light-responsive photocatalysts as well as enzymes. Furthermore, by applying the ink to an inkjet 3D printer, it was shown that microsphere-shaped and microfiber-shaped tissues can be fabricated. These results are expected to lead to the construction of tissue bodies containing vascular networks.

研究分野：生物化学工学

キーワード：再生医療 組織工学 バイオプリンティング 3Dプリンティング

## 1. 研究開始当初の背景

各種組織や臓器の移植を待つ患者数に対し、移植実施数は圧倒的に少ない。このため、機能不全の組織や臓器を、生体外で作製した組織体を用いて治療する再生医療に対して大きな期待が寄せられている。このような社会的要請もあり、より厚みのある、より機能的な組織体の構築を目指した研究が世界中で行われている。これまで、生体外での組織体構築のために最も広く検討されてきた方法は、スポンジのような多孔質の鋳型に、細胞分散液を流し込み定着させるものである。しかし、この方法では、任意の位置への細胞配置は不可能であり、各種細胞が適材適所に存在することで高い機能を発揮している生体組織とは全く異なるものしか作製できない。さらに、機能発現に適した細胞外環境を、配置される細胞種毎に構築することも不可能である。これらに加え、組織体の隅々の細胞にまで酸素や栄養分を供給するために必要な、血管網様流路の構築も不可能である。なお、十分な酸素の供給が行われなければ、酸素不足により生じる壊死を生じさせずに作製できる細胞のみからなる組織体の厚さの限界は、わずか 0.3 mm であることが知られている (*Biotechnol Lett* 20:549(1998))。これら「血管網様構造の構築」、「細胞の適所配置」、「各細胞に適した周囲環境の構築」に関する問題は広く認識されており、それぞれの解決に寄与する方法は報告されつつある (*Nat Mater* 11:768(2012); *Nat Biotechnol* 34, 312 (2016)など)。しかし、これら全てを同時に解決できる方法は存在しなかった。

このような状況に対して、研究代表者は、細胞に穏和な酵素反応を使って得られるゲルを使った再生医療・組織工学に関する研究を行ってきた。そのなかで、「血管網様構造の構築」に関する問題の解決を目指し、直径約 0.5 mm のゲルファイバーの周囲に細胞を封入した直径約 0.3 mm のマイクロカプセルを配置し、その後、ゲルファイバーのみを分解することで、培養液を流通可能な流路を有する組織体を構築する方法を開発していた (日刊工業新聞 2014/5/20 掲載, *Heliyon* 2, e00067(2016))。さらに、PC で作成したデジタルデータにもとづいて、3次元の細胞含有構造物を作製する 3D バイオプリンティングに関する研究にも取り組んできた。3D バイオプリンティングは、「細胞の適所配置」や「血管網様構造の構築」を可能とするものとして、再生医療・組織工学分野で近年、精力的に研究開発が行われている技術である。このような研究を進めてきたなかで、これまでの知見を融合・連結すれば、生体外での厚みのある機能的な組織構築を阻んでいる、前述の 3 つの問題の解決を同時に達成した革新的な方法を世界に先駆けて開発できるのではと考えるようになった。

## 2. 研究の目的

本研究では、生体外での厚みのある機能的な組織体の構築を阻んでいる、上記の 3 つの障壁を同時に解決することのできる組織体構築法の開発を最終的な目的とした。これを実現するために、これまでに研究代表者が独自に開発を行ってきたインクジェット式 3D バイオプリントシステム、微小押し出し式 3D バイオプリントシステムについて、それぞれのシステムで使用可能な細胞の増殖や機能発現、得られる構造体の強度向上に寄与するインクの開発を行うことを目的とした。なお、この各方式のバイオプリントにおいて、インクのゲル化には過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) 存在下で進行する西洋わさび由来ペルオキシダーゼによるフェノール性水酸基間の架橋形成反応 (図 1) を利用するものとした、また、機能的な組織体の構築を実現するために、インクジェット式 3D プリントにより、新たな微小组織を作製する技術を開発することも目的とした。

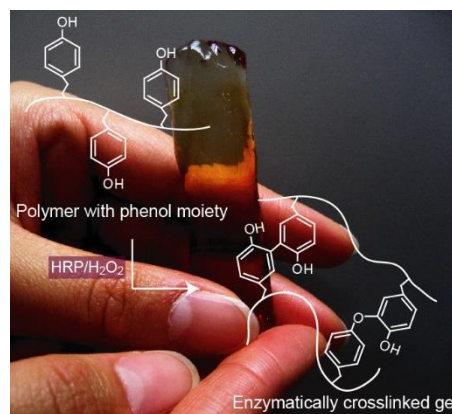


図 1. 西洋わさび由来ペルオキシダーゼ(HRP)が触媒するフェノール性水酸基間の架橋形成反応模式図と得られたゲルの写真。

## 3. 研究の方法

### 3.1) 微小押し出し式 3D バイオプリントに関する検討

西洋わさび由来ペルオキシダーゼ (HRP) の酵素反応によりフェノール性水酸基を導入した高分子の水溶液をゲル化させながら造形するために、ゲル化反応に必要な  $H_2O_2$  を周囲の気相から供給した。また、HRP 濃度、気相中の過酸化水素濃度、フェノール性水酸基を導入したヒアルロン酸誘導体の濃度を変化させ、それらが造形に与える影響を調べた。さらに、造形精度を向上させるとともに、得られる構造体の物理的な安定性を向上させるために、インク中に直径 100~300 nm、長さ 1~3 マイクロメートルのシルクナノファイバーを添加し、これによるインクの粘性への影響と造形精度に与える影響について調べた。

HRP と H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を使用せずに、フェノール性水酸基を有する高分子の水溶液インクをゲル化させる方法として、塩化トリス(ピピリジン)ルテニウム(II)と過硫酸ナトリウムを溶解させたヒアルロン酸とゼラチンの誘導体溶液に、可視光を照射してゲル化を誘導しながら微小押し出し式 3D バイオプリントを行い、ヒト脂肪由来幹細胞の分化能に与える影響を調べた。

### 3.2) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を添加しない新たなゲル化方式の開発と 3D プリントへの適用に関する検討

HRP の酵素反応を進行させるために H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> が必要である。この H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の供給方法として、還元糖であるグルコースを HRP に含まれるチオール基に作用させ、これにより H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を反応系に供給することを試みた。この検討では、HRP 濃度、グルコース濃度がフェノール性水酸基を導入した高分子水溶液のゲル化に与える影響を調べた。また、微小押し出し式 3D バイオプリントに適用し、その有効性を評価した。

### 3.3) インクジェット式 3D バイオプリントに関する検討

インクジェット式 3D バイオプリント用のインクとして、HRP を用いたゲル化が可能となるようにフェノール性水酸基を導入したヒアルロン酸とゼラチンの誘導体を用い、これをゲル基板の上にさまざまな形状でプリントした。その後、細胞を播種し、プリントしたパターンと同じ形状を持つ組織体の作製を試みた。

## 4. 研究成果

### 4.1) 微小押し出し式 3D バイオプリントに関する検討

過酸化水素水に空気をバブリングすることにより、8, 16, 57 ppm で H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を含有する空気を作製し、これを 0.38% のヒアルロン酸誘導体 (HA-Ph) と 0.30% のゼラチン誘導体 (Gelatin-Ph) および 0.78% のヒアルロン酸ナトリウム (Na-HA) を含む溶液に HRP を溶解させた溶液に曝露させ、ゲル化に要する時間を測定した。その結果、図 2a, b に示されるように、HRP 濃度と H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 濃度の操作によりゲル化時間を制御できることが明らかとなった。また、最短で、5 秒程度でゲルを形成させることができた。さらに、このようなゲル化に要する時間の制御により、造形性を制御できるのかを調べるために、ゲルフィラメントをプリントした場合の、フィラメント径の測定を行った。

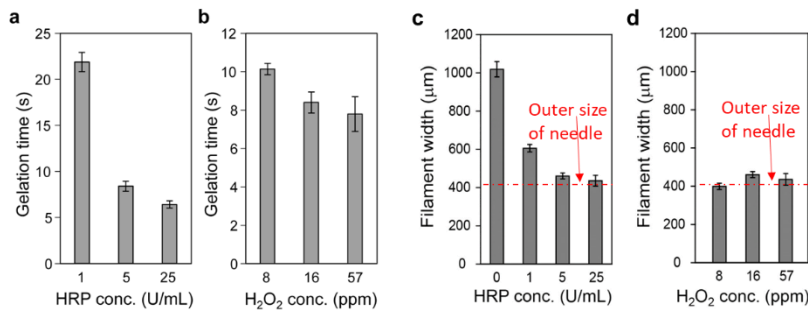


図 2. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 濃度を 16 ppm として HRP 濃度を変化させた場合の(a)ゲル化時間と(c)ゲルフィラメント直径の変化および、HRP 濃度を 5 U/mL として H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 濃度を変化させた場合の(b)ゲル化時間と(d)ゲルフィラメント直径変化。

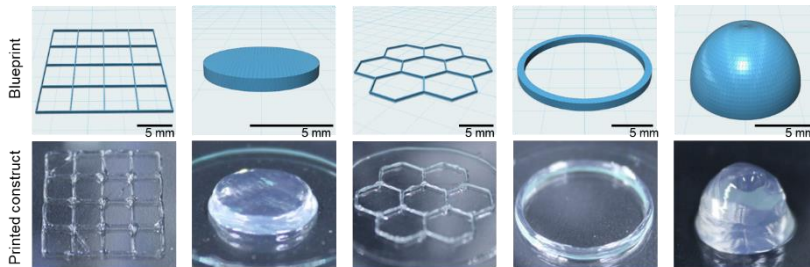


図 3. 気相から H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を供給する方法で 3D プリントした構造体。

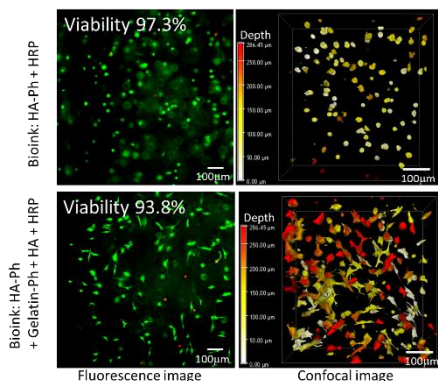


図 4. 気相から H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を供給する方法で 3D プリントした組成の異なる構造体中の培養 3 日目の細胞形態。

インクにマウス繊維芽細胞を分散させたバイオインクを用いた構造体を作製した。作製 3 日後に

この H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の供給方法として、還元糖であるグルコースを HRP に含まれるチオール基に作用させ、これにより H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を反応系に供給することを試みた。この検討では、HRP 濃度、グルコース濃度がフェノール性水酸基を導入した高分子水溶液のゲル化に与える影響を調べた。また、微小押し出し式 3D バイオプリントに適用し、その有効性を評価した。

インクジェット式 3D バイオプリント用のインクとして、HRP を用いたゲル化が可能となるようにフェノール性水酸基を導入したヒアルロン酸とゼラチンの誘導体を用い、これをゲル基板の上にさまざまな形状でプリントした。その後、細胞を播種し、プリントしたパターンと同じ形状を持つ組織体の作製を試みた。

過酸化水素水に空気をバブリングすることにより、8, 16, 57 ppm で H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を含有する空気を作製し、これを 0.38% のヒアルロン酸誘導体 (HA-Ph) と 0.30% のゼラチン誘導体 (Gelatin-Ph) および 0.78% のヒアルロン酸ナトリウム (Na-HA) を含む溶液に HRP を溶解させた溶液に曝露させ、ゲル化に要する時間を測定した。その結果、図 2a, b に示されるように、HRP 濃度と H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 濃度の操作によりゲル化時間を制御できることが明らかとなった。また、最短で、5 秒程度でゲルを形成させることができた。さらに、このようなゲル化に要する時間の制御により、造形性を制御できるのかを調べるために、ゲルフィラメントをプリントした場合の、フィラメント径の測定を行った。

その結果、ゲル化時間 10 秒以内の条件では、インクを押し出す微細管の外径とほぼ同じフィラメントを造形可能であり、良好な 3D プリントによる造形が可能であることが示唆される結果を得ることができた。そこで、このような知見に基づいて、3次元構造体のプリントを行ったところ、図 3 に示すように、さまざまな形状の構造物を良好に造形することができた。さらに、低濃度の高分子のインクから精度よく造形するために、シルクナノファイバーを添加することを試みた。その結果、1% のシルクナノファイバーを添加することで、非添加の場合と比較して優れた造形ができることを見出した。

次いで、この方法の細胞適合性および機能的な組織体の構築を行うために必須である様々なインク材料からプリントを行えるかどうかを確認するために、HA-Ph 単独インクおよび HA-Ph と Gelatin-Ph 混合インクにマウス繊維芽細胞を分散させたバイオインクを用いた構造体を作製した。作製 3 日後に



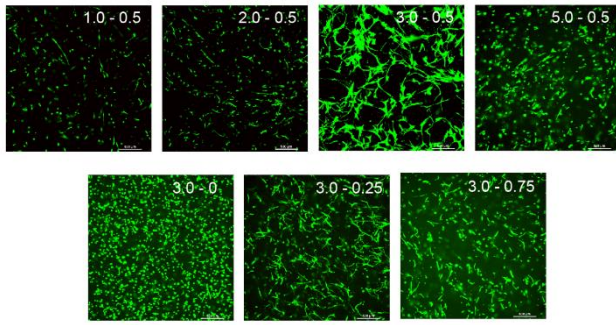


図 5. 可視光照射 3D プリントにより Gelatin-Ph と HA-Ph の濃度(写真中数字)が異なる組成で作製された構造物中で培養されたヒト脂肪由来幹細胞の培養 7 日目の形態(Bar: 0.5 mm).

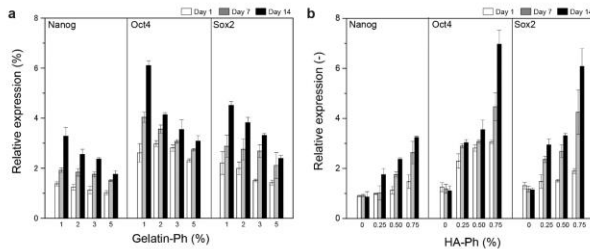


図 6. 可視光照射 3D プリントにより Gelatin-Ph と HA-Ph の濃度(写真中数字)が異なる組成で作製された構造物中のヒト脂肪由来肝細胞の幹細胞マーカー遺伝子発現挙動変化.

状態を制御しながら 3D プリントで造形した組織体中の細胞を成長させられる可能性を見出すことができた。

#### 4.2) $H_2O_2$ を添加しない新たなゲル化方式の開発と 3D プリントへの適用に関する検討

HRP の酵素反応による高分子水溶液のゲル化を利用した 3D バイオプリント法の有用性をさらに向上させるために、系外からの  $H_2O_2$  の添加を必要とせず、また、安全性の高い物質を用いて  $H_2O_2$  を生成させるシステムを新たに開発した。具体的には、還元糖であるグルコースを用いて、HRP 中のジスルフィド結合からチオール基を生成させ、このチオールの自己酸化により  $H_2O_2$  を発生させ、この  $H_2O_2$  を利用して HRP の反応を進行させることを試みた (図 7 左)。グルコー

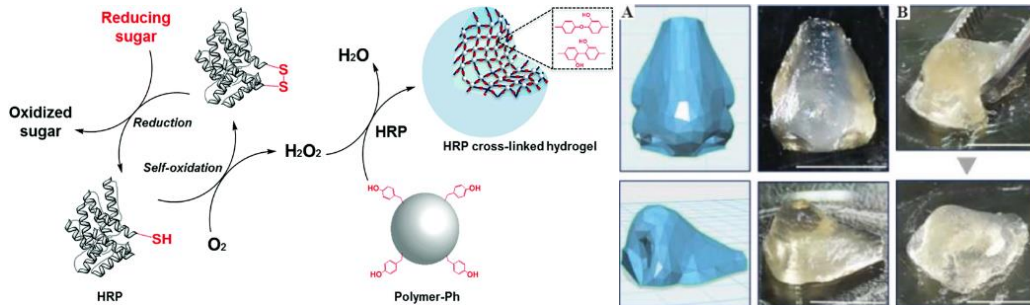


図 7. 左図) グルコースの還元糖としての作用を利用して  $H_2O_2$  を HRP から発生させてそれを HRP 反応に使用する反応の模式図. 右図) この反応を利用して 3D プリントにより作製した鼻形状の構造物.

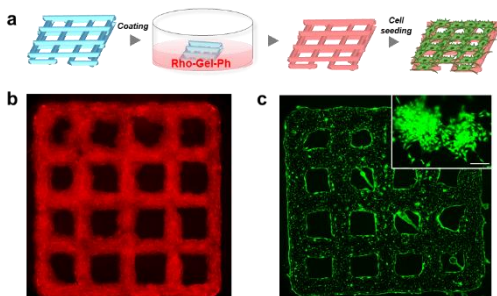


図 8. 3D プリントで造形した構造物の表面に細胞を成長させることによる細胞集積構造物の作製.

細胞の形態の観察を行ったところ、生存率はいずれのインクの場合にも 90%以上であったことから (図 4)、この 3D プリント法の高い細胞適合性を確認することができた。さらに、細胞は、Gelatin-Ph を含むインクから作製した構造体中においてのみ伸長しており、インク組成を操作することによって細胞の挙動を制御できることがわかった。

機能的な組織体を作製する上での細胞源として、脂肪由来幹細胞は魅力的である。そこで、可視光照射によりゲル化するインクを使った 3D プリントに関する検討において、ヒト脂肪由来幹細胞を含んだ構造物を造形し、インク組成が幹細胞の分化能に与える影響を評価した。その結果、インクに含まれる Gelatin-Ph と HA-Ph 濃度を制御することにより、幹細胞の増殖性と形態が変化することが明らかとなった (図 5)。さらに、HA-Ph 濃度を高めることで、未分化状態の維持に関わる Nanog, Oct4, Sox2 の発現が向上することがわかった (図 6)。すなわち、Gelatin-Ph と HA-Ph 濃度の制御により、分化・未分化

ス濃度や HRP 濃度に関する最適化を行った後に、3D プリンティングに適用したところ、3次元構造物を精度よく造形することができた (図 7b)。さらに、この 3D プリントにより得られる構造物の表面に、細胞を進展させて細胞層を形成させることができた (図 8)。この結果は、得られた構造物が細胞適合性を有することを示しているだけでなく、例えば、血管構成細胞を表面に接着・増殖させれば、その後プリントにより得られた構造部分を除去することにより、血管網の鋳型などとしてもこの造形物を利用可能であることを示している。すなわち、機能的な組織体の構築につながると考えられる 3D プリント法を開発できた。

### 3.3) インクジェット式 3D バイオプリントに関する検討

インクジェット 3D プリントは、他の方式の 3D プリントよりも高い解像度で造形を行うことができることから、球状や血管のような繊維状などの小さな組織体を集積させた組織体の構築に向いている方式である。そこで、直径 60  $\mu\text{m}$  の吐出口から細胞接着性・細胞非接着性の高分子を含むインクを吐出し、HRP の酵素反応でゲル化させることで、球状と繊維状の構造体を作製することを試みた (図 9)。その結果、図 10 に示されるように、適当な間隔と吐出するインクに

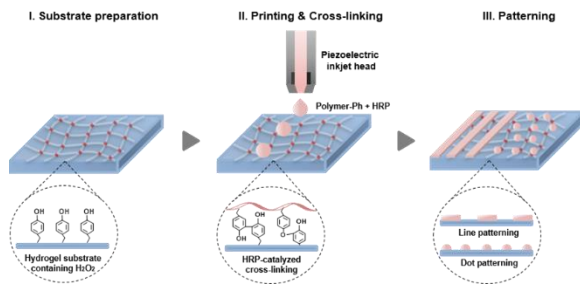


図 9. インクジェット 3D プリンタを用いて球状、繊維状組織体を作製する方法模式図。

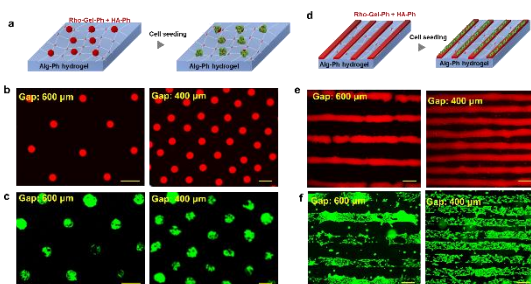


図 10. 球状、繊維状組織体を作製するために印刷されたパターンおよびその上で成長した細胞。

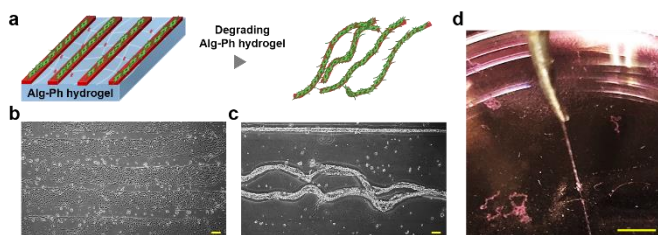


図 11. 繊維状組織をアルギン酸分解酵素(アルギン酸リアーゼ)で分解除去可能なアルギン酸誘導体を成分とするインクで作製した後、酵素分解することで回収した繊維状組織。

細胞接着性を付与するための Gelatin-Ph を含むものを用いることで、印刷したパターンの領域で細胞を成長させることができた (図 10)。さらに、繊維状組織を形成させるパターンを、細胞に穏和にパターンを分解除去可能な高分子成分であるアルギン酸誘導体を含むインクからプリントした (図 11)。その結果、細胞が十分に成長した後に、アルギン酸分解酵素であるアルギン酸リアーゼで処理することで、細胞間の結合を維持したま

ま、繊維状組織を得ることができた (図 11d)

以上に示したように、本研究では、機能的な組織体の構築につながる、「血管網様構造の構築」、「細胞の適所配置」、「各細胞に適した周囲環境の構築」に寄与する 3D バイオプリンティングに関する技術の開発に取り組んだ。その結果、独自の 3D バイオプリント法や微小な組織体の作製法などの開発に成功することができた。今後は、これらをさらに深化させ機能的な 3 次元構造体の構築に取り組む。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Sakai Shinji, Mochizuki Kei, Qu Yanfei, Mail Matthew, Nakahata Masaki, Taya Masahito	4. 巻 10
2. 論文標題 Peroxidase-catalyzed microextrusion bioprinting of cell-laden hydrogel constructs in vaporized ppm-level hydrogen peroxide	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biofabrication	6. 最初と最後の頁 045007 ~ 045007
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1088/1758-5090/aadc9e	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Khanmohammadi Mehdi, Sakai Shinji, Taya Masahito	4. 巻 30
2. 論文標題 Characterization of encapsulated cells within hyaluronic acid and alginate microcapsules produced via horseradish peroxidase-catalyzed crosslinking	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition	6. 最初と最後の頁 295 ~ 307
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09205063.2018.1562637	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Gantumur Enkhtuul, Sakai Shinji, Nakahata Masaki, Taya Masahito	4. 巻 15
2. 論文標題 Horseradish peroxidase-catalyzed hydrogelation consuming enzyme-produced hydrogen peroxide in the presence of reducing sugars	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Soft Matter	6. 最初と最後の頁 2163 ~ 2169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8SM01839A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakai Shinji, Ohi Hiromi, Taya Masahito	4. 巻 9
2. 論文標題 Gelatin/Hyaluronic Acid Content in Hydrogels Obtained through Blue Light-Induced Gelation Affects Hydrogel Properties and Adipose Stem Cell Behaviors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 342 ~ 342
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom9080342	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Gantumur Enkhtuul, Nakahata Masaki, Kojima Masaru, Sakai Shinji	4. 巻 6
2. 論文標題 Extrusion-Based Bioprinting through Glucose-Mediated Enzymatic Hydrogelation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Bioprinting	6. 最初と最後の頁 43 ~ 52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18063/ijb.v6i1.250	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Gantumur Enkhtuul, Kimura Miyu, Taya Masahito, Horie Masanobu, Nakamura Makoto, Sakai Shinji	4. 巻 12
2. 論文標題 Inkjet micropatterning through horseradish peroxidase-mediated hydrogelation for controlled cell immobilization and microtissue fabrication	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biofabrication	6. 最初と最後の頁 011001 ~ 011001
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1088/1758-5090/ab3b3c	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tai Chia, Bouissil Soukaina, Gantumur Enkhtuul, Carranza Mary Stephanie, Yoshii Ayano, Sakai Shinji, Pierre Guillaume, Michaud Philippe, Delattre C?dric	4. 巻 9
2. 論文標題 Use of Anionic Polysaccharides in the Development of 3D Bioprinting Technology	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Applied Sciences	6. 最初と最後の頁 2596 ~ 2596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/app9132596	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sakai S., Yoshii A., Sakurai S., Horii K., Nagasuna O.	4. 巻 8
2. 論文標題 Silk fibroin nanofibers: a promising ink additive for extrusion three-dimensional bioprinting	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Materials Today Bio	6. 最初と最後の頁 100078 ~ 100078
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mtbio.2020.100078	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Furuno Kotoko, Wang Jing, Suzuki Keiichiro, Nakahata Masaki, Sakai Shinji	4. 巻 5
2. 論文標題 Gelatin-Based Electrospun Fibers Insolubilized by Horseradish Peroxidase-Catalyzed Cross-Linking for Biomedical Applications	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 21254 ~ 21259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.0c03164	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mubarak Wildan, Qu Yanfei, Sakai Shinji	4. 巻 4
2. 論文標題 Influence of Hydrogen Peroxide-Mediated Cross-Linking and Degradation on Cell-Adhesive Gelatin Hydrogels	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Applied Bio Materials	6. 最初と最後の頁 4184 ~ 4190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsabm.0c01675	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hidaka Mitsuyuki, Kojima Masaru, Nakahata Masaki, Sakai Shinji	4. 巻 13
2. 論文標題 Visible Light-Curable Chitosan Ink for Extrusion-Based and Vat Polymerization-Based 3D Bioprintings	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Polymers	6. 最初と最後の頁 1382 ~ 1382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/polym13091382	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計27件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 11件)

1. 発表者名 日高光将、小嶋勝、中畑雅樹、境慎司
2. 発表標題 多糖類のフェノール誘導体を基盤とした組織構築を目指したバイオプリンティング技術の開発
3. 学会等名 ロボティクス・メカトロニクス 講演会 2020
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 原田涼平, 中畑雅樹, 小嶋勝, 境慎司
2. 発表標題 コリンオキシダーゼとペルオキシダーゼを利用した3Dバイオプリンティングの最適化
3. 学会等名 化学工学会 広島大会2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森田 崇裕、吉井 彩乃、中畑 雅樹、小嶋 勝、境 慎司
2. 発表標題 ゼラチンスラリーを用いたシルクフィブロイン構造体の3Dバイオプリンティング
3. 学会等名 化学工学会 広島大会2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北谷 優樹・白石 康浩・中畑 雅樹・小嶋 勝・平井 隆之・境 慎司
2. 発表標題 可視光照射により過酸化水素を生成させる光触媒を用いたヒドロゲルの作製
3. 学会等名 化学工学会第23回学生発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 境 慎司・森田 崇裕・中畑 雅樹・小嶋 勝
2. 発表標題 低粘度シルクフィブロインインクの3Dバイオプリンティング
3. 学会等名 化学工学会第86年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mubarok Wildan · Qu Yanfei · Nakahata Masaki · Kojima Masaru · Sakai Shinji
2. 発表標題 Influence of hydrogen peroxidase-mediated cross-linking and degradation on cell-adhesive gelatin hydrogels
3. 学会等名 化学工学会第86年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 日高 光将 · 山本 誠士郎 · 小嶋 勝 · 中畑 雅樹 · 岡野 泰則 · 境 慎司
2. 発表標題 高精度なバイオインク切り替えのための単一ノズルの流路設計と評価
3. 学会等名 化学工学会第86年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Miyu Kimura, Enkhtuul Gantumur, Shinji Sakai, Masahito Taya
2. 発表標題 Inkjet plus enzyme-mediated bioprinting for controlled cell immobilization on substrates
3. 学会等名 The 14th Asian Congress on Biotechnology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kotoko Furuno, Shinji Sakai, Keiichiro Suzuki, Masahito Taya
2. 発表標題 Development of Nanofiber Non-Woven Fabric Applicable for Genome Editing in Vivo
3. 学会等名 The 14th Asian Congress on Biotechnology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Enkhtuul Gantumur, Shinji Sakai, Masahito Taya
2. 発表標題 Horseradish Peroxidase-Catalyzed Hydrogelation Consuming Enzyme-Produced Hydrogen Peroxide in the Presence of Reducing Sugars
3. 学会等名 The 14th Asian Congress on Biotechnology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinji Sakai, Koji Hattori, Shota Yamamoto, Masahito Taya
2. 発表標題 Development of Bioinks Containing Nanofibrillated Chitosan for Extrusion 3D Bioprinting
3. 学会等名 The 14th Asian Congress on Biotechnology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Jing Wang, Masahito Taya, Shinji Sakai
2. 発表標題 Preparation of alginate and chitosan water-insoluble nanofibers through electrospinning and horseradish peroxidase-mediated crosslinking
3. 学会等名 Asian Pacific Confederation of Chemical Engineering 2019 (APCChE 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Enkhtuul Gantumur, Miyu Kimura, Masahito Taya, Shinji Sakai
2. 発表標題 Fabrication of disk and filament tissues through inkjet printing and enzymatic reaction
3. 学会等名 Asian Pacific Confederation of Chemical Engineering 2019 (APCChE 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinji Sakai, Koji Hattori, Shota Yamamoto, Masahito Taya
2. 発表標題 Development of bioinks containing nanofibrillated chitosan for extrusion 3D bioprinting
3. 学会等名 Asian Pacific Confederation of Chemical Engineering 2019 (APCChE 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本翔太 境慎司
2. 発表標題 創傷被覆材への応用を目指したキトサン + キトサンナノファイバーインクを用いた3Dプリンティング
3. 学会等名 日本バイオマテリアル学会関西ブロック 第14回若手研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本翔太、中畑雅樹、境慎司
2. 発表標題 ポリシクロデキストリンを含有する擬塑性バイオインクの開発
3. 学会等名 第41回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉井彩乃, 永砂修, 櫻井俊輔, 境慎司
2. 発表標題 シルクフィブロインナノファイバーを主要な成分とする三次元組織構築のためのバイオインクの開発
3. 学会等名 第41回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 Shinji Sakai, Shota Yamamoto, Ayano Yoshii
2. 発表標題 Horseradish Peroxidase-mediated Bioprinting in Air Containing Hydrogen Peroxide
3. 学会等名 The 16th Pacific Polymer Conference (PPC16) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hidaka Mitsuyuki, Kojima Masaru, Sakai Shinji
2. 発表標題 3D Printing of Cell-laden Hydrogels Through Visible Light-initiated Crosslinking
3. 学会等名 The 16th Pacific Polymer Conference (PPC16) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森田崇裕、吉井彩乃、境慎司
2. 発表標題 シルクフィブロインインクを用いた3Dバイオプリンティング技術の開発
3. 学会等名 化学工学会 第85年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本翔太・境慎司
2. 発表標題 キトサン&キトサンナノファイバー含有インクを用いた創傷被覆材の3Dプリンティング
3. 学会等名 化学工学会 第85年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉井彩乃, 永砂修, 櫻井俊輔, 境慎司
2. 発表標題 シルクフィブロインナノファイバー含有インクを用いた3Dバイオプリンティング
3. 学会等名 化学工学会 第85年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 原田 涼平、山本翔太、Delattre Cedric、境 慎司
2. 発表標題 2つの酵素反応を組み合わせた3Dバイオプリンティング技術の開発
3. 学会等名 化学工学会 第85年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村美夢、Enkhtuul Gantumur、Mubarak Wildan、境 慎司
2. 発表標題 様々なゲル基板上における細胞遊走試験のためのinkjet式バイオプリンティングによる細胞パターンニング
3. 学会等名 化学工学会 第85年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shinji Sakai, Kei Mochizuki, Masahito Taya
2. 発表標題 Micro-extrusion bioprinting mediated by horseradish peroxidase
3. 学会等名 CHISA2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Gantumur Enkhtuul, Miyu Kimura, Shinji Sakai, Masahito Taya, Masato Nakamura
2. 発表標題 Multi-ink inkjet bioprinting for cell- patterning through enzymatic cross-linking
3. 学会等名 Biofabrication 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinji Sakai, Kei Mochizuki, Masahito Taya
2. 発表標題 Horseradish peroxidase-mediated Micro-extrusion Bioprinting in Air Containing Vaporized Hydrogen Peroxide
3. 学会等名 Biofabrication 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 境慎司	4. 発行年 2019年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 269
3. 書名 バイオ3Dプリント関連技術の開発と応用	

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 Ink for 3D printing system	発明者 境慎司、吉井彩乃、 永砂修、堀井和輝	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、EP19212812	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 3Dプリンティングシステム用インク	発明者 境慎司、吉井彩乃、 永砂修、堀井和輝	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-57397	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 凝集物の製造方法	発明者 境慎司、吉井彩乃、 永砂修、堀井和輝	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-57399	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中畑 雅樹  (Nakahata Masaki)  (40755641)	大阪大学・基礎工学研究科・助教    (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
フランス	University of Clermont Auvergne	University of Picardie Jules Verne	