

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08932

研究課題名（和文）バイオ3Dプリンターを用いた人工臓器作成におけるiPS細胞応用に関する基礎研究

研究課題名（英文）Research on the application of iPS cells in the creation of artificial organs using a bio 3D printer

研究代表者

鎌尾 智幸（Tetsuo, Tomoyuki）

長崎大学・医歯薬学総合研究科（医学系）・研究協力員

研究者番号：10817414

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：人工気管や食道の作成のためバイオ3Dプリンターによる、人工足場材(スキャフォールド)を用いない三次元構造体作成の研究を行った。早期の血管網構築のため幹細胞の供給が重要と考えiPS細胞の三次元臓器内での有用性を証明し、人工臓器の臨床応用への足がかりとすべく研究を進めたがiPS細胞由来の血管内皮細胞の安定した供給が困難であったため、iPS細胞を用いてバイオ3Dプリンターで人工構造体を作成し、構造体評価や構造体移植を行った。気管様3D構造体を作成し評価を行なっている。軟骨・平滑筋への分化を促し、構造体作成を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腫瘍等に対する外科的切除後の気管や食道の欠損に対しては、気管は解剖学的に切除可能な長さに限界があり、また食道に関しては胃や大腸を用いた再建が行われるが腹部手術を同時に行う必要があり侵襲が高い。これを解決すべく人工気管・食道の作成に着手している。iPS細胞は理論上細胞増殖に限度がなく再生医療の細胞ソースとしての役割が期待され、臓器移植に変わる治療になりうる。気管・食道に関しては臓器移植は困難でもあり、この研究とさらに臨床応用により、手術侵襲の低減や切除可能疾患の範囲拡大に寄与すると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We conducted research on the creation of three-dimensional structures without artificial scaffolds using a bio 3D printer for the creation of artificial tracheas and esophaguses. However, it was difficult to obtain a stable supply of iPS cell-derived vascular endothelial cells, so we created artificial structures using a bio-3D printer with iPS cells, evaluated the structures, and transplanted the structures. Therefore, we created artificial structures using iPS cells with a bio 3D printer, evaluated the structures, and transplanted the structures. A trachea-like 3D structure was created and evaluated. Differentiation into cartilage and smooth muscle was promoted, and structures were created.

研究分野：外科系臨床医学

キーワード：iPS細胞 人工気管 人工食道 バイオ3Dプリンティング

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人工気管や食道は研究段階であり、その多くがスキャフォールドという細胞を播種する足場を使用しているが、感染や生体適合性の低下、経時的な劣化変性などの問題も有する。我々はバイオ3Dプリンター“Regenova”によるスキャフォールドを用いない三次元構造体作成の研究を行い、ラット由来細胞やヒト由来細胞を用いて人工気管や人工食道の作成・移植を行ってきた(図1)。移植片が生着する際に早期の血管ネットワークの構築のために品質の高い多くの血管内皮細胞が必要となる。これまで当科ではヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVECs)が人工気管としての三次元構造体の維持や微小血管形成に中心的な役割を果たすことを報告し、(R Machino, et al. 2019, Advanced healthcare materials 8.7)、さらに人工気管モデルにおいて HUVECs、ヒト肺微小血管内皮細胞(HMVEC-Ls)、iPS細胞(iCell)を比較し(図2)、HMVEC-Lsでは毛細血管の数や径がHUVECsを使用したものと同等であることを見出したが、iPS細胞由来の内皮細胞を使用したものでは血管形成、グリコサミノグリカン量が低い結果でありiPS細胞の使用に関して使用条件の設定に関して課題が残るものであった(図3)(D Taniguchi, et al. 2020, Tissue Cell Apr;63:101321)。自己血管内皮細胞の採取は極めて困難であり、また三次元臓器における血管の構築・生着までは幹細胞の供給が重要であり、採取が比較的容易な細胞で血管構造へ寄与する細胞の同定と条件設定が望まれる。

図1

Bio-3D printing with spheroids

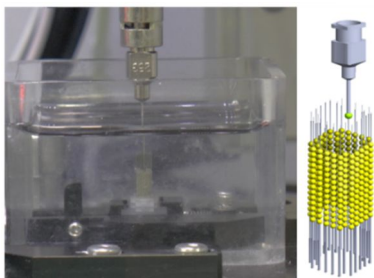


図2

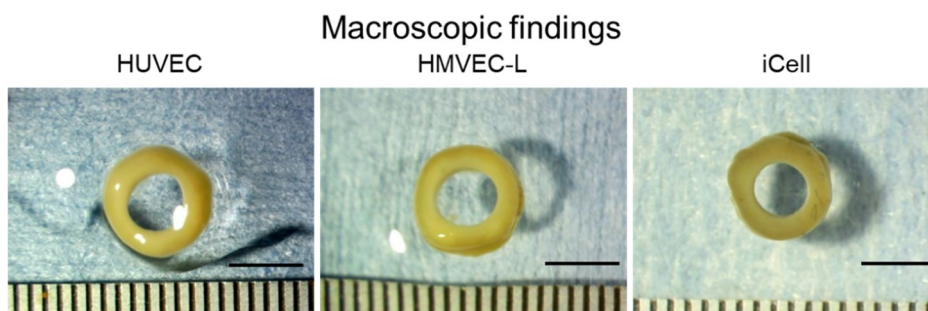
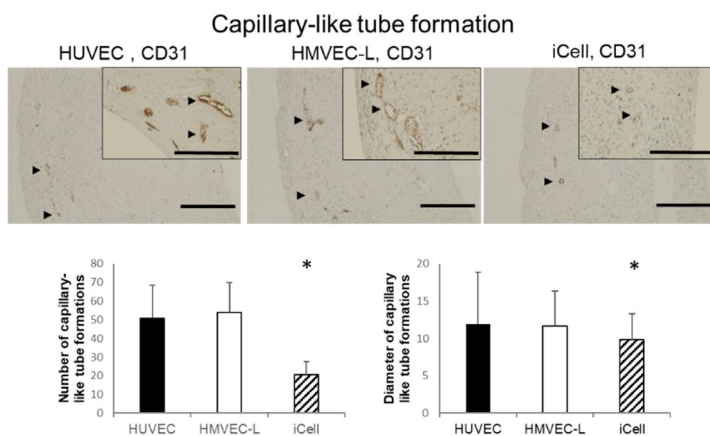


図3



## 2. 研究の目的

人工臓器の臨床応用を見据え、iPS 細胞の幹細胞として、血管内皮細胞ソースとしての三次元臓器内での有用性を証明する。また iPS 細胞によるスキャフォールドを用いない三次元構造体を作成する。

## 3. 研究の方法

(1) 人工臓器内での臍帯静脈内皮細胞と iPS 由来血管内皮細胞の有効性の比較—臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)および iPS 由来血管内皮細胞を用いて、バイオ 3D プリンターで人工気管および人工食道構造体を作製し、それぞれの構造体の機能を比較検討し、iPS 細胞の有用性を明らかにする。

(2) iPS 細胞の臓器内での細胞分化と構造体に与える影響の検証—人工気管、食道において、iPS 細胞を骨髄幹細胞の代替として使用し、3D 組織内での iPS 細胞の分化、移植時組織適合の評価、大口径臓器での評価を行い、より臨床へ向けた iPS 細胞の役割と重要性について明らかにする。

## 4. 研究成果

当初の計画では iPS 細胞由来の血管内皮細胞を用いて研究を行う予定であったが COVID-19 の蔓延や戦争といった世界情勢の影響で、培養液等の必要物品の供給が安定せず、特別に成分調整された培養液で、内容が非公開のため代替品の使用がかなわず在庫状況をみながらの研究継続となった。そのため、iPS 細胞由来の間葉系幹細胞を用いて実験を継続した。

iPS 細胞由来の細胞を用いてスフェロイドを形成し、バイオ 3D プリンタを用いて剣山法により管腔構造体を作成した(図 4)。3 週間の培養によりスフェロイドは癒合し輪状となった(図 5)。鑷子の把持に耐えうる強度を有した(図 6)。

現在、引き続き iPS 由来の血管内皮細胞を用いたバイオ 3D プリンターによる人工気管および人工食道構造体の作成に取り組んでいる。現時点で得られている iPS 由来の間葉系幹細胞から作った構造体の評価や移植を行い新しい知見を得ながら、HUVEC および iPS 由来血管内皮細胞による人工気管および人工食道構造体を作製し、iPS 細胞を用いることによる構造体の変化や iPS 細胞自体の分化などを観察しながら、気管や食道といった生体移植が困難な臓器への臨床応用を目指し iPS 細胞を用いた人工臓器作成の研究を続けていく所存である。

図 4

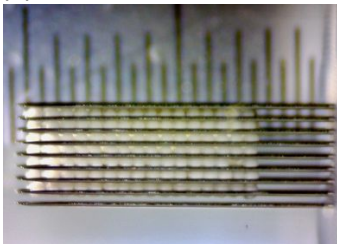


図 5

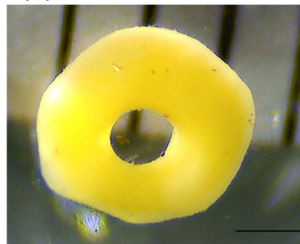


図 6



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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	松本 桂太郎  (Matsumoto Keitaro)  (80404268)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・教授   (17301)	
研究分担者	永安 武  (Nagayasu Takeshi)  (80284686)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・教授   (17301)	
研究分担者	李 桃生  (Li Tao-Sheng)  (50379997)	長崎大学・原爆後障害医療研究所・教授   (17301)	
研究分担者	土谷 智史  (Tsuchiya Tomoshi)  (30437884)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員教授   (17301)	
研究分担者	高木 克典  (Takagi Katsunori)  (90635856)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員研究員   (17301)	
研究分担者	田浦 康明  (Taura Yasuaki)  (60437887)	長崎大学・病院(医学系)・助教   (17301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	町野 隆介  (Machino Ryusuke)  (90728081)	長崎大学・病院（医学系）・助教    (17301)	
研究分担者	谷口 大輔  (Taniguchi Daisuke)  (20773758)	長崎大学・医歯薬学総合研究科（医学系）・客員研究員    (17301)	
研究分担者	森山 正章  (Moriyama Masaaki)  (90815953)	長崎大学・病院（医学系）・医員    (17301)	
研究分担者	内田 史武  (Uchida Fumitake)  (00866270)	長崎大学・医歯薬学総合研究科（医学系）・研究協力員    (17301)	

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