

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19918

研究課題名（和文）複数組織の異種界面接合の科学的理解と運動器モデルの生体外構築

研究課題名（英文）Scientific understanding of heterogeneous interface joining of multiple tissues and ex vivo construction of locomotor models

研究代表者

松崎 典弥（Matsusaki, Michiya）

大阪大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：00419467

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、細胞だけでなくECMや無機物など多様な構成成分で構築された組織間の界面接合を科学的に理解し、学術的に体系化することで臓器・器官の生体外構築につなげることを目的として研究に取り組んだ。腱・筋の複合組織を作製して詳細に観察することで、細胞レベルとECMレベルの接合を確認できた。また、筋・脂肪複合組織においても同様に観察することで、骨格筋細胞とECM成分が脂肪組織に侵入した接合面が観察された。以上の結果より、本研究は予定通り遂行され、異種組織の界面接合に関する学術的な知見を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、複雑な臓器・器官の生体外構築を実現するため、「複数組織の異種界面接合」の科学的な理解と学術的な体系化に取り組んだ。臓器や器官は複数組織の集合体であり、異種類の組織が界面で接合し、全体として機能を発現している。これまで、各組織の構築と機能は多数報告されてきたが、これらの組織を異種界面で接合し、複雑で機能する臓器・器官として構築した研究はほとんどなかった。本研究の結果より、細胞種とECMマトリックスの種類、粘弾性が異種界面の接合に重要であることを見出した。この知見を基に組織・組織間の異種界面接合に関する研究を深化することで、新たな学問領域が開拓できると期待される。

研究成果の概要（英文）：In this research, we aimed to scientifically understand and academically systematize the interfacial junctions between tissues constructed with diverse components, including not only cells but also ECM and inorganic materials, leading to the ex vivo construction of organs and organs. By preparing tendon-muscle composite tissues and observing them in detail, we were able to confirm junctions at the cellular and ECM levels. The same observation in the muscle-fat composite tissue revealed a junctional surface where skeletal muscle cells and ECM components invaded the fat tissue. Based on these results, this study was carried out as planned, and academic knowledge on the interfacial junction of dissimilar tissues was obtained.

研究分野：バイオマテリアル

キーワード：異種界面 複合組織 運動器 組織工学 バイオプリント

## 1. 研究開始当初の背景

日本は超高齢化社会を迎え、医療・創薬の加速化が求められている。ヒト人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) によって再生医療研究は飛躍的に進み、新たな治療法となった。近年では、遺伝子編集で T 細胞を改変したキメラ抗原受容体 (CAR-T) 細胞療法が、新たながん治療法として確立されつつある。では、次に解決すべき課題は何か。その一つとして注目されているのが、**複雑な構造を有する臓器・器官の構築**である。

生体外での臓器構築は人類の長年の夢である。組織工学の概念が発表されて以来 (*Science* 260, 920 (1993)) 既に 30 年近くが経過した。その間、オルガノイドや 3D バイオプリントなど新しい技術も報告されたが、臓器・器官の構築は未だ困難である。その原因はどこにあるのか。申請者は「**複数組織の異種界面接合**」の科学的理解と技術開発が重要と考えた。臓器・器官は複数組織の集合体であり、異種類の組織が界面で接合し、全体として機能を発現している。例えば、運動器は、筋や腱、血管、脂肪、間接、骨などの集合体であり、骨 (*Nat. Biotechnol.* 2016) や軟骨 (*Biofabrication* 2016)、筋 (*Macromol. Biosci.* 2018)、腱 (*Bioact. Mater.* 2020) など、各組織の構築と機能はこれまで報告されてきたが、これらを異種界面で接合し、機能する運動器として構築した研究は少なく、骨 - 筋 (*Bone* 2015)、骨 - 腱 (*Nat. Mater.* 2017) など報告例はわずかしかない。また、筋線維はラミニンと IV 型コラーゲンを主体とする基底膜で覆われており、脂肪や血管は I 型コラーゲンやエラスチンなどの細胞外マトリックス (ECM) と細胞の複合組織であり、骨は I 型コラーゲンとハイドロキシアパタイト (無機物) のハイブリットである。このように、**細胞だけでなく ECM や無機物など多様な構成成分で構築された組織間の界面接合を科学的に理解し、学術的に体系化することができれば、組織集合体である臓器・器官の生体外構築が可能**になると期待される。

## 2. 研究の目的

申請者は、最近、高濃度の I 型コラーゲンゲルで構成される人工腱に、3D バイオプリントで筋や脂肪、血管ファイバーを接合する「**人工腱統合バイオプリント (TIP) 法**」を考案した (*M. Matsusaki et al., Nat. Commun.* 12, 5059 (2021))。本手法は、様々なファイバー組織を人工腱に統合することで異種組織を安定に接合することが可能である。これにより、筋と脂肪、血管の配置を自在に制御した培養肉の作製を世界で初めて報告した。本研究では、TIP 法で運動器モデルを作製し、異種組織の界面接合に重要な物理化学的・生物学的因子を明らかにすることを目的とした。これは、運動器だけでなく他の臓器・器官における異種組織の界面接合の理解と構築に大変重要である。さらに、申請者らの独自技術である細胞表面ナノコーティング法により (*M. Matsusaki et al., Adv. Mater.* 24, 454 (2012))、基底膜や ECM ナノ薄膜で組織表面をコーティングすることで異種界面接合の促進と制御を図る。本研究で異種組織の界面接合を学術的に体系化することで、臓器や器官構築の新しい原理や学理の解明だけでなく、生体外構築のための技術開発への貢献が期待される。

## 3. 研究の方法

本研究では、大別して「TIP 法による運動器モデルの構築」、「運動器モデルと生体運動器の界面接合の解析と科学的理解」、「ナノ薄膜コーティングによる組織界面接合の促進」、「異種界面接合技術による臓器・器官の生体外構築」の研究に取り組んだ。

## 4. 研究成果

「TIP 法による運動器モデルの構築」：本年度は、運動器モデルとして、筋、脂肪ファイバーが、腱に固定された「筋 - 脂肪 - 腱」の構築に取り組んだ。運動器モデルの構築は、組織学的評価や蛍光免疫染色による共焦点レーザー顕微鏡観察、走査型・透過型電子顕微鏡観察、引張弾性率評価などにより多角的に解析した。筋ファイバーの分化誘導中に一部のファイバーの脱離が起こる課題があったが、ファイバーの太さを制御することで解決することができた。以上より、筋肉 - 脂肪 - 腱組織の構築を確認した。

「ナノ薄膜コーティングによる組織界面接合の促進」：運動器モデルの組織接合を促進するため、組織表面を交互積層法により ECM ナノ薄膜でコーティングした。筋と脂肪ファイバーの接合界面はラミニン - IV 型コラーゲンの基底膜ナノ薄膜でコーティングした。薄膜形成は細胞毒性を示さず、1 週間程度界面接合を維持できることが共焦点レーザー顕微鏡観察により確認された。また、より長期的な接合界面の維持を目的として様々なナノ薄膜を検討

した結果、ある組み合わせのナノ薄膜で数週間以上界面構造を維持できることを見出した。

「運動器モデルと生体運動器の界面接合の解析と科学的理解」：本年度は、構築した運動器モデルと実際の生体運動器の各組織の界面接合を比較した。特に、腱 - 筋の接合面を共焦点レーザー顕微鏡や走査型電子顕微鏡で観察した。骨格筋細胞が腱部位にも入り込み、ECMを産生することで連続した接合面が確認された。

「異種界面接合技術による臓器・器官の生体外構築と機能評価」：昨年の知見を基に、他の器官構築として「筋 - 脂肪」の接合組織の構築に取り組んだ。筋ファイバーと脂肪ファイバーを作製して酵素を用いて化学的に界面を接合した。脂肪細胞は安定に存在していたが、骨格筋細胞が脂肪組織に入り込んでいる様子が共焦点レーザー顕微鏡観察より確認された。新たな異種界面として筋 - 脂肪を有する組織構築の可能性が示された。

以上より、本研究は予定通り遂行され、異種組織の界面接合に関する学術的な知見を得ることができた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Louis Fiona, Furuhashi Mai, Yoshinuma Haruka, Takeuchi Shoji, Matsusaki Michiya	4. 巻 21
2. 論文標題 Mimicking Wagyu beef fat in cultured meat: Progress in edible bovine adipose tissue production with controllable fatty acid composition	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Materials Today Bio	6. 最初と最後の頁 100720 ~ 100720
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mtbio.2023.100720	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 Xie Zheng-Tian, Zeng Jinfeng, Miyagawa Shigeru, Sawa Yoshiki, Matsusaki Michiya	4. 巻 21
2. 論文標題 3D puzzle-inspired construction of large and complex organ structures for tissue engineering	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Materials Today Bio	6. 最初と最後の頁 100726 ~ 100726
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mtbio.2023.100726	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 Shang Yucheng, Zeng Jinfeng, Matsusaki Michiya	4. 巻 674
2. 論文標題 Construction of enzyme digested holes on hydrogel surface inspired by cell migration processes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 69 ~ 74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2023.06.077	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 Xie Zheng Tian, Zeng Jinfeng, Kang Dong Hee, Saito Shigeyoshi, Miyagawa Shigeru, Sawa Yoshiki, Matsusaki Michiya	4. 巻 12
2. 論文標題 3D Printing of Collagen Scaffold with Enhanced Resolution in a Citrate Modulated Gellan Gum Microgel Bath	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Advanced Healthcare Materials	6. 最初と最後の頁 2301090
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/adhm.202301090	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 Suezawa Tomoyuki, Sasaki Naoko, Yukawa Yuichi, Assan Nazgul, Uetake Yuta, Onuma Kunishige, Kamada Rino, Tomioka Daisuke, Sakurai Hidehiro, Katayama Ryohei, Inoue Masahiro, Matsusaki Michiya	4. 巻 10
2. 論文標題 Ultra Rapid and Specific Gelation of Collagen Molecules for Transparent and Tough Gels by Transition Metal Complexation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Advanced Science	6. 最初と最後の頁 2302637
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/advs.202302637	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 Jinfeng Zeng, Nozomi Kasahara, Zhengtian Xie, Fiona Louis, Donghee Kang, Yasumasa Dekishima, Michiya Matsusaki	4. 巻 in press
2. 論文標題 Comparative Analysis of the Residues of Granular Support Bath Materials on Printed Constructs in Embedded 3D Printing	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biofabrication	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Zeng Jinfeng, Xie Zhengtian, Dekishima Yasumasa, Kuwagaki Setsuka, Sakai Norihito, Matsusaki Michiya	4. 巻 44
2. 論文標題 "Out of the box" Granular Gel Bath Based on Cationic Polyvinyl Alcohol Microgels for Embedded Extrusion Printing	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Macromolecular Rapid Communications	6. 最初と最後の頁 2300025 ~ 2300025
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/marc.202300025	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 Karanfil Asli Sena, Louis Fiona, Matsusaki Michiya	4. 巻 in press
2. 論文標題 Biofabrication of vascularized adipose tissues and their biomedical applications	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Materials Horizons	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D2MH01391F	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 Sasaki Satoko, Suzuki Tomoko, Morikawa Kyojiro, Matsusaki Michiya, Sato Kae	4. 巻 14
2. 論文標題 Fabrication of a Gelatin-Based Microdevice for Vascular Cell Culture	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 107 ~ 107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi14010107	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 Louis Fiona, Sowa Yoshihiro, Irie Shinji, Higuchi Yuriko, Kitano Shiro, Mazda Osam, Matsusaki Michiya	4. 巻 11
2. 論文標題 Injectable Prevascularized Mature Adipose Tissues (iPAT) to Achieve Long Term Survival in Soft Tissue Regeneration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Advanced Healthcare Materials	6. 最初と最後の頁 2201440 ~ 2201440
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/adhm.202201440	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 Zhang Zhuying, Zeng Jinfeng, Groll Juergen, Matsusaki Michiya	4. 巻 10
2. 論文標題 Layer-by-layer assembly methods and their biomedical applications	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomaterials Science	6. 最初と最後の頁 4077 ~ 4094
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D2BM00497F	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 該当する

1. 著者名 Terpstra Margo L, Li Jinyu, Mensinga Anneloes, de Ruijter Mylene, van Rijen Mattie H P, Androulidakis Charalampos, Galiotis Costas, Papantoniou Ioannis, Matsusaki Michiya, Malda Jos, Levato Riccardo	4. 巻 14
2. 論文標題 Bioink with cartilage-derived extracellular matrix microfibers enables spatial control of vascular capillary formation in bioprinted constructs	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biofabrication	6. 最初と最後の頁 034104 ~ 034104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1088/1758-5090/ac6282	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 該当する

[学会発表] 計10件(うち招待講演 10件/うち国際学会 10件)

1. 発表者名 Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Smart Design of Cell Microenvironment for Biofabrication
3. 学会等名 TERMIS-AP2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Control of Oxygen and Nutrients in Cell Microenvironments by Smart Biomaterials
3. 学会等名 GPS-K2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Controlling Collective Migration of Cancer Organoids in 3D Culture with Transparent and Tough Collagen Gels
3. 学会等名 16th ISNM (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Nano-Design of Cell Surfaces for Biomedical Applications
3. 学会等名 IPC2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Construction of Structured Wagyu Meat by 3D Stem Cell Printing
3. 学会等名 SCSS annual meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Michiya Matsusaki
2. 発表標題 3D-Bioprinting Fabrication of Lab-grown Structured Wagyu Meat
3. 学会等名 8th ISCCM (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Tissue Engineering Approach to Construct a Vascularized 3D-human Tissue Model
3. 学会等名 TERMIS-AP2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Vascularized 3D-Tissue Models for Infection Assays of Cancer Cells and Bacteria
3. 学会等名 Biofabrication meets Infection Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 Development of Blood-Brain Barrier Networks With Open Structures for Screening Assays of Receptor-Mediated Transport
2. 発表標題 Michiya Matsusaki
3. 学会等名 7th Int ' l Conference on Tissue Engineering in conjugation with the 5th Int ' l Conference on Regenerative Biomedical Materials (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Michiya Matsusaki
2. 発表標題 Tissue Engineering for Construction of Vascularized 3D-Tissues for Therapy and Drug Evaluation
3. 学会等名 ACT02022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計5件

産業財産権の名称 薬物徐放性を血小板に付与する細胞デザイナー分子	発明者 松崎典弥、仲本正彦、片山量平	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-029675	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 生きた三次元組織の深部観察を可能とする透明化ポリマー	発明者 松崎典弥	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-026167	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 細胞にタンパク質付着性を付与する細胞デザイナー分子	発明者 松崎典弥	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-024508	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 立体組織構造体形成用足場材及び立体組織構造体の製造方法	発明者 北野史朗、松崎典弥、フィオナ ルイス	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-013166	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 三次元培養用細胞足場材を調製するための組成物、三次元バイオプリンティングのサポートインク、及び三次元組織の製造方法	発明者 出来島 康方、桑垣雪華、酒井紀人、松崎典弥、曾 金鳳	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-205426	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

大阪大学大学院工学研究科 応用化学専攻 松崎研究室  
<http://www.chem.eng.osaka-u.ac.jp/~matsusaki-lab/>  
 大阪大学大学院工学研究科 培養肉社会実装共同研究講座  
[http://www.chem.eng.osaka-u.ac.jp/~matsusaki-lab/joint\\_research/j12/](http://www.chem.eng.osaka-u.ac.jp/~matsusaki-lab/joint_research/j12/)  
 大阪大学大学院工学研究科 先端細胞制御化学 (TOPPAN) 共同研究講座  
[http://www.chem.eng.osaka-u.ac.jp/~matsusaki-lab/joint\\_research/j11/](http://www.chem.eng.osaka-u.ac.jp/~matsusaki-lab/joint_research/j11/)

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	下田 浩  (Shimoda Hiroshi)  (20274748)	弘前大学・医学研究科・教授    (11101)	
研究分担者	下村 和範  (Shimomura Kazunori)  (40755998)	大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教員    (14401)	
研究分担者	宮川 繁  (Miyagawa Shigeru)  (70544237)	大阪大学・大学院医学系研究科・教授    (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		
オランダ	Utrecht University		
ドイツ	Wuerzburg University		