

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 24 日現在

機関番号：東海大学
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2011～2012
課題番号：23760241
研究課題名（和文）マイクロバイオデジタルファブリケーション技術による三次元状細胞組織の作製
研究課題名（英文） Fabrication of 3D Cell Structures Utilizing Micro Bio-Digital Fabrication Method
研究代表者 梅津 信二郎（UMEZU SHINJIRO） 東海大学・工学部・助教 研究者番号：70373032

研究成果の概要（和文）：申請者らが独自に開発している静電マイクロドロップ・インジェクションは、市販のインクジェットプリンタよりも高画質で高粘性な液体の吐出が可能であり、細胞を高精度に生きたままプリント可能なことを実証してきた。また、十分高精度にスキャホールドをプリントできることも実証してきた。複数の細胞を有する細胞組織をプリントする場合、それぞれの細胞を含む液体を満たしたシリンジとスキャホールドを含む液体を満たしたシリンジをマルチノズル化し、各シリンジの位置と印加電圧を制御することで、作製可能である。細胞は、シリンジ内のメディウムに浮遊した状態であり、通常接着している細胞にとって大きなストレスである。浮遊している時間がより短くなるように、装置を改良する必要がある。本研究では、この改良をまず行った。さらに、内部に空洞を有する人工血管を有する三次元状バイオデバイスを作製し、この内部に血管内皮細胞を接着・成長させることが可能なことを実証した。

研究成果の概要（英文）：Electrostatic micro drop-injection method has good merits those are high resolution to print and ability to eject highly viscous liquid. We demonstrated that living cells and highly viscous scaffolds can be print utilizing electrostatic micro drop-injection method. When syringe that is filled with liquid that contains living cells and syringe that is filled with liquid that contains scaffolds are set, we can print 3D living cell structures. Floating condition is not good for cells. We developed new experimental set-up to reduce floating time of cells. We fabricate 3D bio-device that has blood vessels.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・(5002)生産工学・加工学

キーワード：(K)ナノ・マイクロ加工

1. 研究開始当初の背景

難病の克服やドナー不足の解消などを主たる目的として、再生医療・人工臓器などのバイオテクノロジー分野の研究が盛んに行

われている。特に京都大学の山中教授らによって作製された iPS 細胞や ES 細胞は、上記分野のブレークスルーの決定打になると考えられており、現在様々な研究が盛んに行わ

れている。東京大学の中内教授らによって、iPS 細胞を利用してマウスの体内にラットの膵臓を作ること成功したことが報告された。この研究成果は、別の動物の体内で人間の臓器を作製できる可能性を示唆したものであり、ドナー不足の解消につながると思われる。また、任意の細胞組織が最終的に作製可能なことから、インクジェット技術を利用して、細胞やバイオマテリアルを印刷することで、立体の人工臓器を作製しようとする研究も行われている。申請者らは、高粘性なスキャホールド材料であるゼラチンを含む液体を数 μm の太さのライン状に描画できることを実証した。これは、数 $10\mu\text{m}$ の大きさの細胞のスキャホールドとして十分高精度であり、任意の三次元状の細胞組織を作製できることに繋がると考えた。また、繰り返し積層することで三次元状に積層可能なことを実証している。

2. 研究の目的

精密で任意の三次元状細胞組織を作製するにあたり、基礎研究が不足している状況である。そこで、まず細胞にかかるストレスを低減することを目標に、スキャホールドなどのバイオマテリアルを高速で高精度に配列・積層プリントする装置の改良を行う。さらに複雑な三次元状の細胞組織を作製し、この生化学特性を調査することで、人工の三次元状細胞組織を作製する際に必要な知見を得ることを目的とした。

3. 研究の方法

任意の三次元状細胞組織を高速で作製するために、独自に開発している静電マイクロドロップ・インジェクション装置に、加圧ユニットを搭載する。本改良装置を用いて、複数種類の細胞とスキャホールドを高速かつ精密に三次元状にパターンニングする技術の確立を行う。さらに、血管を内包する三次元状細胞組織を作製する。血液が通る空洞部分には、熱可逆性を有するメビオールをプリントする。三次元状細胞組織を 37 度にて一日弱培養し、細胞がスキャホールドまたは他の細胞にしっかりと接着したことを確認して、 5 度に冷却する。 37 度環境下でメビオールはゲル状だが、 5 度環境下では液状になるので、血液が通るための空洞を作製できる。血管の入り口・出口部分にテフロン製のチューブをつなぎ、血清入りのメEDIUMを流しつづけ、血管組織として機能するように培養する。この状態で、各細胞の生化学特性に関する調査を行う。

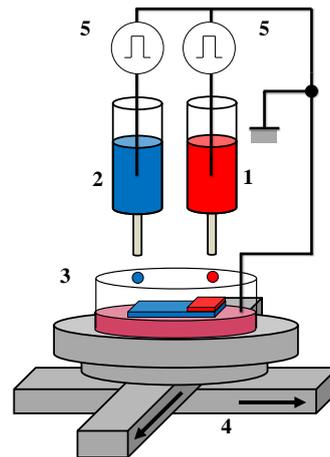


図-1 静電マイクロドロップ・インジェクション装置 (加圧ユニット付)
(1:細胞含有溶液 2:スキャホールド含有溶液 3:メEDIUMディッシュ 4:XYZ 軸リニアステージ 5:高圧電源)

4. 研究成果

複雑な中空を有するバイオデバイスの作製に成功した。さらに、この中空部にコラーゲン、血管内皮細胞を配置することにより、人工血管を形成することにも成功した。本デバイスを用いて、様々な細胞の三次元状生化学特性の把握が可能になると考える。

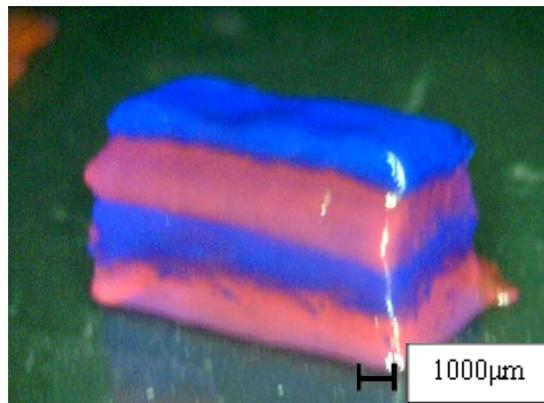


図-2 静電マイクロドロップ・インジェクション装置の繰り返し描画による積層



図-3 人工血管を有する三次元状細胞組織



図-4 人工血管の流路確認

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 13 件)

1. Umezu, S., Kawata, S. and Kunugi, Y., Development of the Dye-Sensitized Solar Cell by Micro Digital Fabrication, *J. of Advanced Science*. (accepted)
2. Umezu, S. and Aoki, T., Patterning Collagen for 3D Cell Structures, *J. of Advanced Science*. (accepted)
3. Umezu, S., Tanaka T., Azetsu A., and Hashimo H., Fabrication of Wings that Mimic Micro Spikes on Wing Vein of Dragonfly, *J. of Advanced Science*. (accepted)
4. Umezu, S., Flow Visualization of Sheet Counting Machine and Improvement for Counting Thin Sheet Materials, *Advanced Material Research* (accepted).
5. Umezu, S., Patterning Collagen Utilizing PELID Method, *Advanced Material Research* (accepted).
6. Umezu, S., Kunugi, Y. and Ohmori, H., Dye-Sensitized Solar Cell Utilizing Electrostatic Inkjet, *Japanese J. Applied Physics*. (in printing)
7. Umezu, S., Hatta T. and Ohmori, H., Fundamental Characteristics of Bioprint on Calcium Alginate Gel, *Japanese J. Applied Physics*. (in printing)
8. 梅津信二郎, マイクロデジタルファブリケーション技術を利用した色素増感型太陽電池の作製, *工業化学* (accepted).
9. 梅津信二郎, マイクロデジタルファブリケーション技術による色素増感型太陽電池のチタニア層のパターン形成, *コンバーテック*, 41 (2013) 93-96.
10. Umezu, S., BioCell Print Utilizing PELID (Patternin with Electrostatically-Injected Droplet) Method, *J. Artificial Life and Robotics*, 4, 18, (2012) 116-119.
11. 梅津信二郎, マイクロデジタルファブリケーション技術を利用したバイオテクノロジー・グリーンテクノロジーへの応用, *日本機械学会トピックス*, 115 (2012) 847.
12. 橋本巨, 梅津信二郎, ロール・ツー・ロールプリントドエレクトロニクスにおける基幹技術, *精密工学会誌*, 78, 8 (2012) pp. 647-677.
13. 梅津信二郎, インクジェット技術の太陽電池・バイオ分野への応用, *日本画像学会誌*, 51, 4 (2012) pp. 360-366.

[学会発表] (計 件)

1. Umezu, S., Fabrication of 3D Bio Devices Utilizing PELID Method, *Proc. of MJIT-JUC Joint Symposium 2012* (2012).
2. Ishii T., Umezu S., Kunugi, Y., Ishii, A., Ohmori, H., Fabrication of TiO₂ layer Utilizing PELID (Patterning with Electrostatically-Injected Droplet) Method, *Proc. of The 2012 International Conference on Flexible and Printed Electronics (ICFPE 2012)* (2012) S5-P6.
3. Hatta T., Umezu S., Ohmori, H., Print of 3D Bio-structure Utilizing PELID (Patterning with Electrostatically-Injected Droplet) Method, *Proc. of The 2012 International Conference on Flexible and Printed Electronics (ICFPE 2012)*, (2012) S5-P5.
4. Umezu, S., Hatta, T., Ohmori, H., Patterning Calcium Alginate Utilizing PELID (Patterning with Electrostatically-Injected Droplet) Method, *Proc. of The Third International Conference on nanomanufacturing (nanoman 2012)* (2012) pp. 316-319.
5. Umezu, S., Kunugi, Y., Fabrication of dye-sensitized solar cell utilizing inkjet method, *Proc. of JSME-IIP/ASME-ISPS Joint Conference on Micromechatronics for Information and Precision Equipment (IIP/ISPS Joint MIPE) 2012* (2012) S09_02.
6. Umezu, S., Hashimoto, H., Ohmori, H., Fabrication of artificial biomimetic wing of dragonfly and its aerodynamic

effect, *Proceedings of the 12th euspen International Conference* (2012) pp473-477.

7. Umezumi, S., Hatta, T. Ohmori, H., Digital Fabrication of 3D Bio Devices Utilizing PELID Method, *Proc. of Digital Fabrication* (2012) pp. 338-340.

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称：中空部を有する三次元構造体およびその製造方法

発明者：梅津信二郎，八田達

権利者：東海大学

種類：

番号：特願 2013-022153

出願年月日：2013 年 2 月 7 日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梅津 信二郎 (UMEZU SHINJIRO)

東海大学・工学部・助教

研究者番号：70373032