

Engineering a prevascularized tissue using scaffold-free method

佐賀大学医学部附属再生医学研究センター

YU JUNJIE, 中山 功一

Junjie YU, Koichi NAKAYAMA



1. 背景・目的

移植組織の壊死は、宿主組織から十分な血流供給が得られない場合に発生し、さらに組織の厚みや代謝特性なども関連しており、体積が大きく代謝の高い組織では、移植時の組織壊死がより高頻度で起こることが報告されている¹⁾。血管網の構築が不十分な組織は、移植直後に発生する血流供給不足が細胞の生存に影響を及ぼし、最終的に移植組織の壊死を引き起こす。十分な微小血管網が構築された組織 (prevascularized tissue) を作製することができれば、移植後に十分な血液灌流が獲得されて組織壊死は最小限に抑えられ、かつ、移植後早期より機能的な役割を果たすことが期待できる。Prevascularized tissueは、血管網の構築が不十分な組織に比べ、移植後宿主組織 (host tissue) に早く接続されるという報告もある²⁾。微小血管網が構築された組織を作製することは、今後の再生医療の発展において、非常に重要である。

微小血管構造を形成するために、3Dバイオプリンティング³⁾、sacrificial template⁴⁾、microfluidic device⁵⁾などのマイクロ技術を使用した、多くの先進的なアプローチが提案されている。しかし、いずれの研究でも、構造体作製のために生体材料が使用されている。生体材料による免疫反応などの懸念から、スキャフォールドフリーのprevascularized tissueの開発が強く求められている。本研究は、灌流機能と微小血管を持つスキャフォールドフリーのセルチューブの開発が目的である。

2. 方法

本研究では佐賀大学の中山功一教授が考案した「剣山法」を用いる。剣山法は数百個の細胞凝集塊 (スフェロイド) を剣山にプリントして細胞構造体を作製する方法である。本研究で用いるプリントに適したスフェロイドは、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) とヒト皮膚線維芽細胞 (normal human dermal fibroblast, NHDF) で作製し、最初はスフェロイドを血管組織として成熟させるため、内皮細胞増殖培地 (EGM) と線維芽細胞増殖培地 (FGM) の構成比率について最適な培地組成を検討する。プリントされたスフェロイドは灌流装置内で培養することで構造体を成熟させて、セルチューブを作製する (図1)。得られたセルチューブは幹細胞との共培養を通じてセルチューブの内部に形成された微小血管の機能を検証する。

3. 波及効果と将来の展望

セルチューブは厚み、幅や長さについて、自由に変更することが可能であるため、患者に合わせたオーダーメイドのprevascularized tissueを作製することが可能である。さらに、本研究の成果を他種類の移植用細胞へ応用することで、幅広い組織への波及効果が期待できる。

4. 独創性

本研究は剣山法により細胞のみを用いて機能的な組織を構築することで、スキャフォールドフリーのprevascularized tissueの作製を目指す。したがって、本構造体は生体材料由来する移植後の免疫反応のリスクが低い。また2種類の細胞から管状構造体を作製し、幹細胞との共培養で微小血管の形成や機能を解析することを計画しているが、細胞

■ 著者連絡先

佐賀大学医学部附属再生医学研究センター
(〒840-8502 佐賀県佐賀市本庄町1番地)
E-mail. junjie81@cc.saga-u.ac.jp

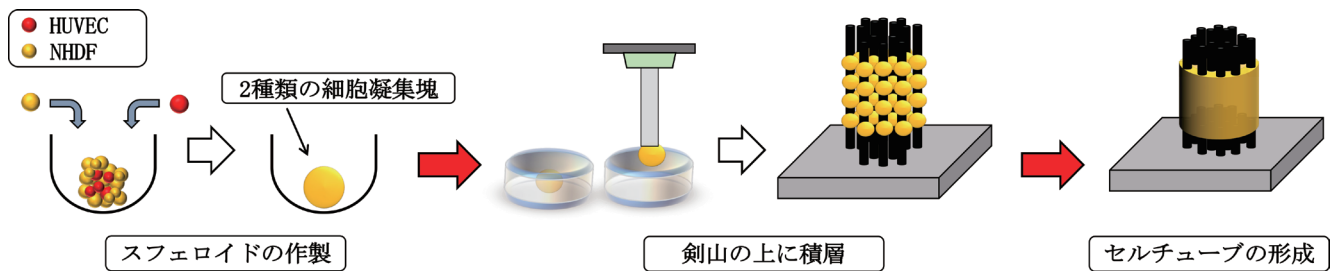


図1 Scaffold-free method (剣山法)

とセルチューブの共培養を通じて微小血管の機能を実証した研究は存在せず、本研究が初めての試みである。

謝辞

この度は、2023年度「第61回日本人工臓器学会大会」において、Grant-MERAの採択を受けましたことを心より感謝申し上げます。この場をお借りして、関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。

利益相反の開示

中山 功一：【役員・顧問職】株式会社アルクタス社外取締役、
【株】株式会社アルクタス、株式会社サイフューズ
創業者株
そのほかの著者には規定されたCOIはない。

文献

- 1) Jahani M, Rezazadeh D, Mohammadi P, et al: Regenerative Medicine and Angiogenesis; Challenges and Opportunities. *Adv Pharm Bull* **10**: 490-501, 2020
- 2) Ben-Shaul S, Landau S, Merdler U, et al: Mature vessel networks in engineered tissue promote graft-host anastomosis and prevent graft thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A Feb* **116**: 2955-60, 2019
- 3) Son J, Hong SJ, Lim JW, et al: Engineering Tissue-Specific, Multiscale Microvasculature with a Capillary Network for Prevascularized Tissue. *Small Methods* **5**: e2100632, 2021
- 4) Wang XY, Jin ZH, Gan BW, et al: Engineering interconnected 3D vascular networks in hydrogels using molded sodium alginate lattice as the sacrificial template. *Lab Chip* **14**: 2709-16, 2014
- 5) Nashimoto Y, Hayashi T, Kunita I, et al: Integrating perfusable vascular networks with a three-dimensional tissue in a microfluidic device. *Integr Biol (Camb)* **9**: 506-18, 2017