

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名 : (日本語) 医療分野研究成果展開事業 先端計測分析技術・機器開発プログラム
(英語) Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfers: Development of Advanced Measurement and Analysis Systems
- 研究開発課題名 : (日本語) iPS 細胞を用いた三次元心筋組織チップ自動作製装置の開発
(英語) Development of automatic manufacturing devices for iPS cell derived three-dimensional cardiac tissue tips
- 研究開発担当者
所属 役職 氏名 : (日本語) 大阪大学大学院生命機能研究科・特任准教授(常勤)・明石 満
(英語) Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University・Specially-appointed professor・Mitsuru Akashi
- 実施期間 : 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究
開発課題名 : (日本語) 細胞集積法によるヒト iPS 由来心筋細胞を用いた三次元組織化の開発
(英語) Development of iPS cell derived three-dimensional cardiac tissues by cell accumulation technique

II. 成果の概要（総括研究報告）

細胞集積法によるヒト iPS 由来心筋細胞の三次元組織化に関して、阪大明石グループは、細胞ソースや心筋組織厚に対する拍動挙動の影響を精査し、安定的な心筋組織の作製方法を確立した。また、インクジェットプリントにより心筋組織体中に血管内皮細胞をプリントすることで、任意の血管網を有する心筋組織体を構築した。得られた心筋組織体を電気生理学的に解析した結果、4日間培養することで、心筋特有の細胞外電位波形が観察された。

細胞集積法のインクジェット応用のための最適化に関して、リコーグループは、インクジェットによる細胞吐出において、吐出細胞数を安定させるために、インクジェットヘッドの液室内インクを噴流によって攪拌する細胞分散維持システムを開発した。これにより、連続吐出直後の細胞濃度上昇、一定時間経過後の吐出細胞数減少が抑制され、10分以上の吐出細胞数安定を達成した。

心筋組織モデルの自動作製装置の最適化に関して、リコーグループは、コーティングエリア、インクジェットによる集積エリア、組織培養エリアの三つのモジュールを連続処理することで心筋の3D組織サンプルを製造した。得られた心筋組織の拍動挙動に対する経時変化を検証した結果、製造5日目に極大値をとり、その後、若干減少後、7日目まで安定していることを確認し、薬効試験に利用可能な安定性を有していることを明らかにした。

ヒト iPS 細胞の心筋細胞への分化誘導の開発に関して、阪大澤グループは、拡張型心筋症患者からの検体から iPS 細胞を樹立し、心筋細胞への分化誘導を行った。得られた心筋細胞は、拡張型心筋症で報告されている特徴を有しており、疾患モデルとしての可能性が示唆された。

ヒト心筋組織チップの薬剤スクリーニングへの応用に関して、阪大土井グループは、三次元組織化された心筋組織チップと単層心筋細胞との薬剤応答性を比較した。薬剤添加により、心筋組織チップは単層心筋細胞と比較して、細胞内カルシウム動態・収縮特性に関するパラメータの変化率が大きい傾向がみとめられた。さらに薬剤による応答が長く持続することが確認された。以上の反応は、生体内での反応と類似しており、薬剤スクリーニングシステムとしての有用性が示唆された。

As for the construction of 3D tissues composed of iPS-derived cardiac cells, Akashi group examined the effect of cell sources and thickness of cardiac tissue on beating behavior of the tissue, and established the stable manufacturing method of the 3D cardiac tissues. In addition, by inkjet printing of vascular endothelial cells into cardiac tissue, 3D cardiac tissue with optimal vascular networks was constructed. The 3D cardiac tissue obtained after 4 day culture showed electrophysiological specific character of heart in regard to extracellular potential.

Regarding optimization of inkjet printing of ECM-coated cells, RICOH group developed novel inkjet head to stabilize printing cell number. The printing device with cell dispersion system could stably print the cells over 10 min.

For optimization of automatic manufacturing devices of 3D cardiac tissue, RICOH group manufactured 3D cardiac tissue through coating area, cell accumulation area by inkjet printing, and tissue culture area. As a result of examination of time courses on beating behavior of the prepared tissue, we demonstrated that the tissues are stable for 1 week and useful for pharmaceutical assay.

With respect to development of differentiation methods of various human iPS cells into cardiac cells, Sawa group established iPS cells from dilated cardiomyopathy patient, and induced differentiation into cardiac cells. The iPS-derived cardiac cells had a specific characterization of dilated

cardiomyopathy.

For drug screening using cardiac tissue tips, Doi group demonstrated that 3D cardiac tissue tips showed highly drug responses on cardiac contraction and intracellular calcium ionic behavior compared to monolayer cardiac cells. These results indicated that the fabricated 3D cardiac tissue tips can be applied to drug screening systems.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 3 件、国際誌 4 件)

1. Chun-Yen Liu, Michiya Matsusaki, Mitsuru Akashi, Three-dimensional Tissue Models Constructed by Cells with Nanometer- or Micrometer-Sized Films on Their Surfaces, Chem. Rec., 16, 783-796 (2016).
2. Yuto Amano, Takuya Igarashi, Akihiro Nishiguchi, Michiya Matsusaki, Y. Saito, K. Nakamura, H. Ito, Mitsuru Akashi, Construction of mES Derived 3D-Pacemaker Tissues by Layer-by-Layer Nanofilm Coating, ChemNanoMat, 2, 466-471 (2016).
3. Chun-Yen Liu, Michiya Matsusaki, Mitsuru Akashi, Control of Vascular Network Location in Millimeter-sized 3D-Tissues by Micrometer-sized Collagen Coated Cells, Biochem. Biophys. Res. Commun., 472, 131-136 (2016).
4. Daichi Hikimoto, Akihiro Nishiguchi, Michiya Matsusaki, Mitsuru Akashi, High-Throughput Blood- and Lymph-Capillaries with Open-Ended Pores which allow the Transport of Drugs and Cells, Adv. Healthcare Mater., 5, 1969-1978 (2016).
5. 赤木隆美, 明石 満, 細胞操作による三次元組織体構築と創薬研究・再生医療への応用, 薬剤学 76, 297-300 (2016).
6. 松崎典弥, 3D 細胞プリンター, 日本印刷学会誌, 日本印刷学会, 53(4), 254-260 (2016).
7. 松崎典弥, 明石 満, 第 III 編 第 3 章 立体心筋組織体の創製, バイオ・医療への 3D プリンティング技術の開発最前線, シーエムシーリサーチ出版, 167-181, (2016). ISBN978-4-904482-32-2

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. インクジェットを用いる LbL 細胞工学について, 講演, 明石 満, 成功大学・台湾大学, 2016/8/28-9/2, 国外
2. 細胞表面へのナノ足場形成によるヒト iPS 由来心筋組織体の構築と組織化が誘起する高い薬剤耐性機能, 口頭, 松崎 典弥, 天野 雄斗, 西口 昭広, 宮川 繁, 澤 芳樹, 明石 満, 第 65 回高分子討論会, 2016/9/14-16, 国内
3. Development of Vascularized 3D Tissue Models using LbL Technique and Application for DDS Research, Oral, 12th France-Japan Drug Delivery Systems Symposium, 2016/10/9-12, 国外
4. Building a new drug screening system for evaluating drug response and toxicity by three dimensional cardiac constructs derived from human induced pluripotent stem cells, Oral, Takeda M, Miyagawa S, Fukushima S, Saito A, Ito E, Harada A, Matsuura R, Matsunaga Y, Mochizuki-Oda N, Matsusaki M, Akashi M, Sawa Y, American Heart Association Scientific

Sessions, 2016/11/12, 国外

5. Construction of Three-dimensional Vascularized Tissue Models using Layer-by-Layer Technique for Drug Development and Regenerative Medicine, Oral, Mitsuru Akashi, ICBS2016, 2016/11/27-30,2016, 国内
6. ヒト iPS 細胞由来 3 次元心筋組織を用いた創薬スクリーニングシステムの検討, ポスター, 武田真季, 宮川 繁, 福嶋五月, 齋藤充弘, 伊東 絵望子, 原田 明希摩, 松浦良平, 小田 - 望月紀子, 松崎典弥, 明石 満, 澤 芳樹, 第 16 回日本再生医療学会, 2017/3/7, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

(4) 特許出願

なし