

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：未来医療を実現する医療機器・システム研究開発事業
機能的生体組織製造技術

Research and Development of Advanced Medical Devices and Systems to Achieve the Future of Medicine / Functional biotissue production technology

研究開発課題名：立体造形による機能的な生体組織製造技術の開発/細胞を用いた機能的な立体組織作製技術の研究開発/バイオ3Dプリンタで造形した小口径 Scaffold free 細胞人工血管の臨床開発

Development of the functional biotissue production technology by the three-dimensional shaping / Research and development of the functional three-dimensional tissue and the three-dimensional organ manufacturing technology using cells / Development of Scaffold-free Small caliber blood vessels modeled with Bio 3D Printer.

研究開発担当者 京都府公立大学法人京都府立医科大学 大学院医科学研究科 心臓血管外科

所属 役職 氏名：人工臓器・心臓移植・再生医学講座 教授 五條 理志

Satoshi Gojo, M.D., Ph.D., Professor, Department of Regenerative Medicine

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 1 日

II. 成果の概要（総括研究報告）

（研究開発代表者：佐賀大学 医学部 臓器再生医工学講座・中山功一 平成 28 年度 委託研究開発成果報告書と共通）

我々は従来の再生医療 / ティッシュエンジニアリングの手法とは全く異なるアプローチで、細胞だけで大型の立体細胞構造体を作製することに成功しており、関節軟骨の再生医療の分野で臨床応用を開始している。さらに細胞凝集塊を積み上げる技術を発展させ、任意の XYZ の位置に複数の細胞を配置することにも成功し、ロボットシステム「バイオ3Dプリンタ」により、三次元データと細胞を投入するだけで、生きた細胞による立体的な構造体を作ることも可能となった。

本プロジェクトでは医療ニーズの高い小口径人工血管を、バイオ3Dプリンタを用いて細胞のみで作製し、非臨床での POC を取得する。さらに透析用の動静脈バイパス用グラフトとしての臨床応用を実現

し、同時に各種臓器再生における血管再建としての応用に向けての研究開発をすすめ、血管構造体の作製工程の最適化及び大動物実験による有効性の検証を実施する。さらに、実用化を見据え、非臨床安全性試験の実施及び製品の製造工程・最終規格を確立し、複数の患者由来細胞を用いた製造試験を実施する。最終的にはヒト臨床研究を開始することを目標とする。

本年度は主に製造工程の改善と臨床応用を見据えた動物試験を引き続き行った。その結果、内圧1000mmHg以上の耐圧を持った構造体が安定して作製できるようになり、臨床応用を見据えて従来内径2ミリ程度であった構造体を上肢の血管用グラフトに適合しやすいよう内径5ミリに変更しても強度的に問題ないことを確認した。また、培養条件を再度検討し、短期間に強度を向上させる培養方法を見出し、さらなる最適化を進めている。

昨年度実施したミニブタへの移植試験では、上腕動静脈シャントと同等なサイズを検討し、ミニブタの頸動静脈バイパスへの移植手技の確立および一か月の生存は得られるようになった。しかし、組織学的所見から、移植後2週間程度で激しい拒絶反応が起こっており、その結果構造体の閉塞が判明した。そのため当初の目標である一か月程度の開存結果が得られていなかった。これは種を超えた移植であるため当初から激しい拒絶反応が起こることが想定されていたが、従来の標準的な免疫抑制のプロトコルでは制御できなかったため、ブタ自身の細胞を用いた同種移植の検討も行った。しかし、ヒト細胞で確立していた血管構造体の作製プロトコルではブタの細胞では安定して構造体が作製できなかった。そのため、より強力な免疫抑制のプロトコルを導入した結果、一か月以上の開存が得られた。一か月の血管造影でも内径の狭小化はみられず、一定の流量が得られていた。回収後の移植部には正常の血管とほぼ同等の組織の再生が部分的に起こっていることが確認できており、より技術的には長期の開存が期待できると思われた。免疫抑制が強力すぎるため、さらなる長期データを得るのは困難であるが、より長期の移植データを得られるよう改善を務める。

さらに臨床応用にむけて周辺環境の整備も行った。

[英文]

We developed a novel method to create a designed scaffold-free tubular tissue from multicellular spheroids (MCS) using a “Bio-3D printer (Regenova®, Cyfuse Biomedical K.K., Japan)”-based system, which enables us to load MCSs into needles and produce programmable three-dimensional structures. We generated scaffold-free tubular tissues from MCS composed of endothelial cells, smooth muscle cells and fibroblasts using the Bio-3D printer, which were successfully implanted in nude rat models in an acute study. We newly set up the Bio-3D printer in Saga University and Kyoto prefectural university of medicine in this year. Large animal study (immunosuppressed mini pig) was underway. Vascular structures (length 1-2 cm, diameter 5 mm) was implanted in mini pig (shunt model: the internal jugular artery to vein). The flow in the graft was assessed by ultrasonography every other week after implantation, and evaluated by angiography after one month. All animals were survived and post-operative event such as bleeding was not observed.

However, there were sever immune rejection were observed after two weeks of implantation. To overcome the rejection we choose stronger immunosuppression protocol. Finally, there were no obvious immune rejection in graft area after one month, and Angiography showed good flow in implanted area. Mechanical evaluation (burst test and tension test) of the tubular tissue

cultured in a bioreactor for one month was performed. We confirmed resistance of more than 1000mmHg in the burst test. Further studies are promising for the clinical application of this novel technology.

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 0件、国際誌 0件）

該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

該当なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし