

研究テーマ番号	IPSN191002
研究・発明のタイトル	多孔質材料への細胞導入法の開発
研究分野	医用材料、組織再生
1) 研究・発明の概要	<p>1) 組織再生では、細胞培養の足場となる生体適合性多孔質材料（ポリ乳酸（PLA）、コラーゲン、ゼラチン、チタンなど）に細胞を播種して、細胞が遊走することで細胞含有多孔質材料を作製している。しかしながら同法では、孔内の空気が物理的障害となり、細胞を材料内部に導入させることが困難である。多孔質材料に液体を浸透させる方法としては真空加圧含浸法（VPI）が食品加工分野で用いられている。VPIは、多孔質材料と液体を減圧下に接触させた後加圧処理を行うことで、材料内部にまで液体を浸透させることのできる方法であるが、同法を固体の導入に応用した例はない。今回、発明者らは、このVPI法を基に、細胞を生きたまま短時間に多孔質材料内部へ導入する方法を開発した。</p>
2) 成果概要	<p>2) ・密閉容器に L929 細胞懸濁液 (<math>1.0 \times 10^6</math> cells/mL) を約 3 mL 注入し、室温で 5 分間の減圧処理 (11Pa) と 5 分間の加圧処理 (1.45MPa) を行い、同処理が細胞に与える影響を調べた。処理細胞を 1~3 日間培養し生細胞数を測定したところ、未処理細胞と変わらない生細胞数と増殖能を示すこと、培養皿への細胞接着能にも変化を及ぼさないことがわかった。</p> <p>・ポリ乳酸 (PLA) 含有濃度が異なる 3 種の PLA 多孔質材料 (溶液濃度: 7.5、10、15 w/v%; 平均孔径 15 <math>\mu\text{m}</math>) に、上記と同じ条件で L929 細胞懸濁液を注入し、異なる圧力処理 (①減圧後に加圧 (VPI)、②減圧のみ、③加圧のみ、④未処理) を施した後、PLA 材料の重量増加から細胞懸濁液の導入率を算出した。その結果、いずれの PLA 材料においても①と②の両群は高い導入率を示したが、④群の導入率は低く、③群はこれらの中間的な値を示した。また、VPI 処理した PLA 材料の凍結切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行ったところ、材料内部への細胞浸潤が観察された。さらに、導入処理 14 日後の PLA 材料内部の DNA 含有量を定量したところ、①群が最も高い含有量を示したことから、細胞導入には VPI 処理が適していることがわかった。PLA 材料内部の DNA 含有量を経時的に定量することで、多孔質内においても細胞増殖が認められること、導入処理 14 日後においても細胞生存が確認された。</p> <p>・ゼラチン多孔質材料 (平均孔径 30<math>\mu\text{m}</math>) および市販コラーゲン多孔質材料に上記と同じ条件で L929 細胞を注入し、異なる圧力処理 (①減圧後に加圧 (VPI)、②減圧のみ、③加圧のみ、④未処理) を施した後、各材料の重量増加から細胞懸濁液の導入率を算出した。その結果、どちらの材料を用いた場合でも①、②、③、④の順に導入率が減少したことから、これら多孔質材</p>



技術紹介シート

3) 適用分野・目標 4) 今後の研究予定	料への細胞導入には VPI 処理が適していることが示された。 3) 細胞含有生体材料、組織再生、三次元細胞培養 4) ・減圧および加圧処理条件（圧力の強さ、処理時間など）の検討、・ラット体内への細胞含有生体材料の挿入実験、・コラーゲン多孔質材料と幹細胞を用いた軟骨再生実験など
希望する提携の種類	共同研究、委託研究、ライセンスなど
特許出願の予定	出願済
関連特許の出願の有無	有
学会発表の予定	無
共同研究の有無	無
紹介時の希望事項	特になし

註：本資料は知的財産戦略ネットワーク（株）が全ての権利を有しており、本目的外の使用を禁ずる。