

特別講演⑤

Special Session 5

講演日時: 5月9日(木) 13:00~14:30
Time & Date: 13:00-14:30, Thursday, May 9, 2013

心臓を創る ~ティッシュエンジニアリングによる三次元組織・臓器構築への挑戦~ Making Hearts: Challenges of Functional 3-D Tissue & Organ Engineering



東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 教授
Professor, Institute of Advanced Biomedical Engineering and Science, Tokyo Women's Medical University

清水 達也
Tatsuya Shimizu

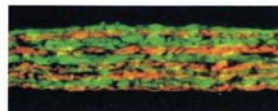


心臓を創る

~ティッシュエンジニアリングによる三次元組織・臓器構築への挑戦~

東京女子医科大学先端生命医科学研究所
清水達也

Biotech2013

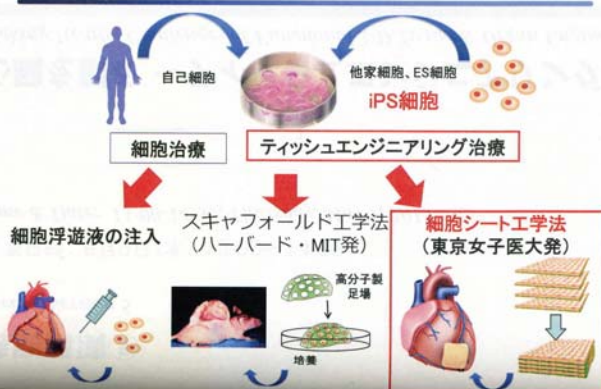


概要

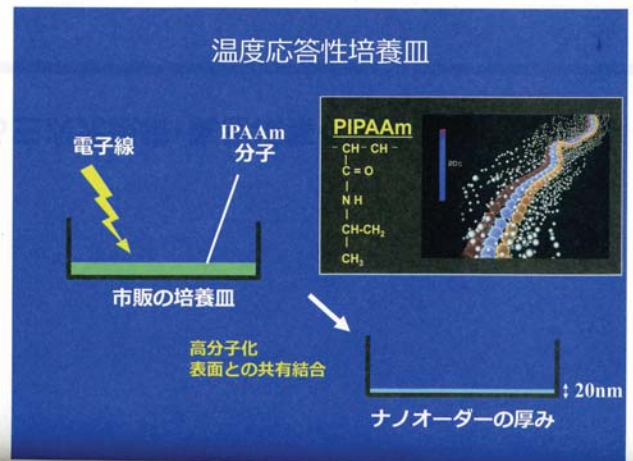


- ・日本発世界初の再生医療「細胞シート治療」
- ・無菌的自動組織作製装置「組織ファクトリー」
- ・臓器創製に向けた基盤技術①「血管網付与による立体組織構築」
- ・臓器創製に向けた基盤技術②「幹細胞の大量培養とシート化」
- ・細胞シート治療の将来展望

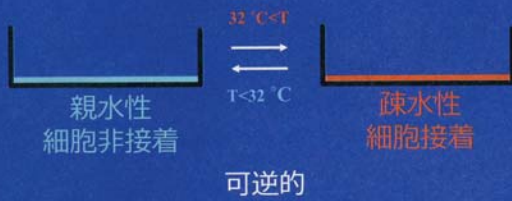
日本発世界初の再生医療



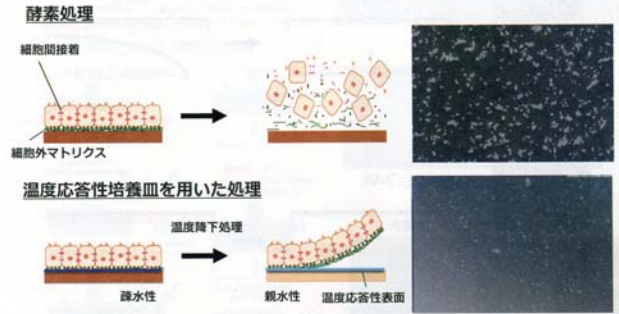
温度応答性培養皿



培養表面の性質の変化による細胞接着の制御

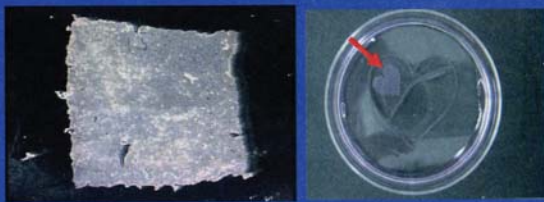


細胞シートの回収

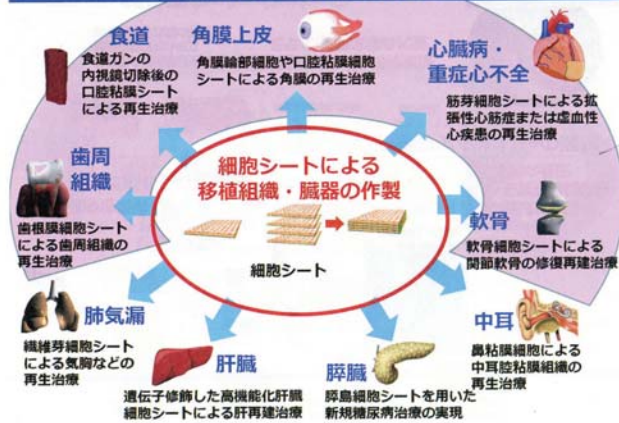


細胞シートは異物を含まない

細胞シート



細胞シート再生治療



細胞シート再生治療 (臨床研究・治験)

<h3>角膜再生治療</h3> <p>術前 術後2ヶ月</p> <p>視力0.01 視力0.7</p> <ul style="list-style-type: none"> 2003年 臨床研究開始 (阪大) 2007年 フランス治験開始 (セルシート) 2010年 フランス治験25例経過観察終了 2011年 欧州医薬品庁に角膜シートの販売承認を申請 (セルシート) 	<h3>食道再生治療</h3> <p>術前 術後4週間</p> <ul style="list-style-type: none"> 2008-2010年 臨床研究実施 (10例, 東女医大) 2010年 加リソト医科大学との共同研究開始
<h3>心筋再生治療</h3> <p>術前 術後3ヶ月</p> <p>駆出率37% 駆出率49%</p> <ul style="list-style-type: none"> 2007年 臨床研究開始 (阪大) 2012年 治験開始 (テルモ) 	<h3>歯周再生治療</h3> <p>歯根膜細胞シート</p> <p>非移植群 移植群</p> <ul style="list-style-type: none"> 2011年 臨床研究開始 (東女医大)
	<h3>軟骨再生治療</h3> <p>軟骨細胞シート</p> <p>非移植群 移植群</p> <ul style="list-style-type: none"> 2011年 臨床研究開始 (東海大)

再生医療における次なる課題

日本発世界初のテク/ロジー細胞シート工学

1-4層×数組織

手術室での製造

より有効な治療法

スケールアップ: 数十層×数組織

無菌的自動化による安全・安定な組織製造 再生組織の量産

組織ファクトリーの開発

臓器移植に変わる治療法 モデル: 動物実験の代替

臓器創製に向けた基盤技術

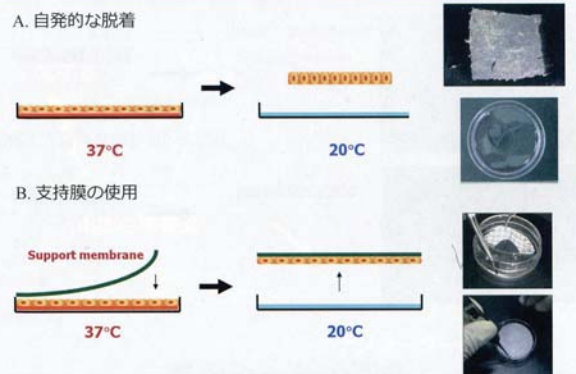
疾患に苦しむ多くの患者救済

組織ファクトリーの概略

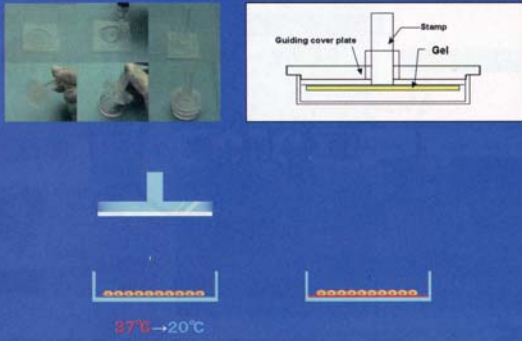


骨格筋芽細胞を用いた積層細胞シートの製造

手作業による細胞シート積層化

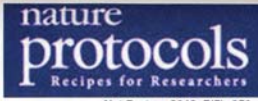


細胞シートマニピュレーションデバイス



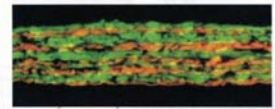
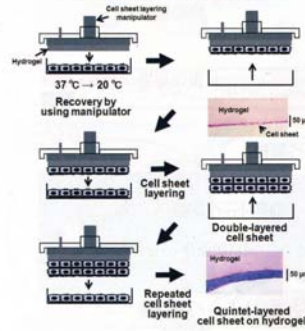
Fabrication of functional three-dimensional tissues by stacking cell sheets *in vitro*

Y Haraguchi, T Shimizu, T Sasagawa, H Sekine, K Sakaguchi, T Kikuchi, W Sekine, S Sekiya, M Yamato, M Umezaki, T Okano



Nat Protoc, 2012, 7(5): 850

細胞シート積層化技術

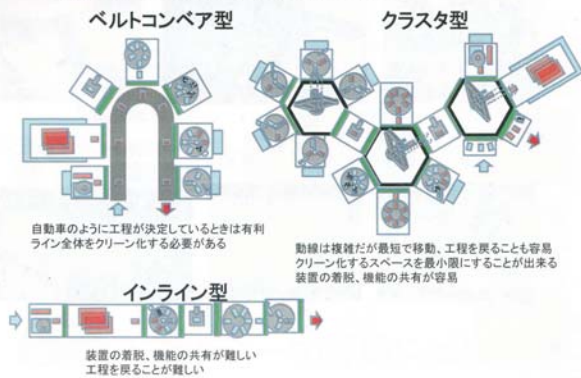


10層の積層化細胞シート

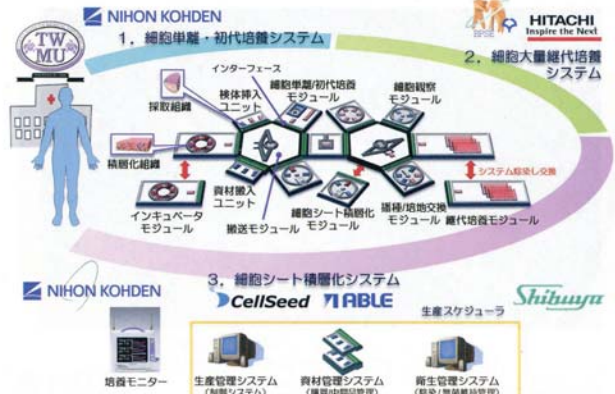
再構築した拍動する心筋組織



組織ファクトリー 自動化ライン組立ての基本コンセプト



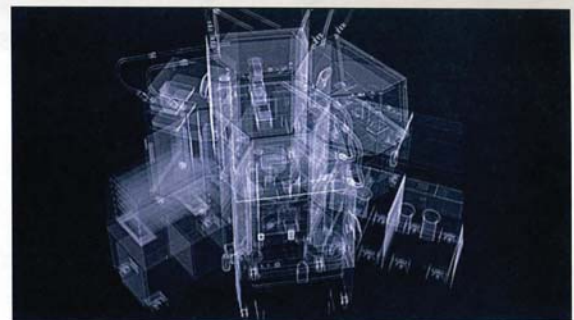
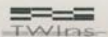
組織ファクトリー



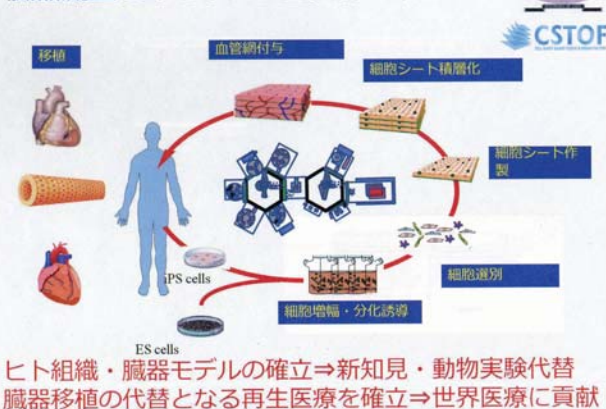
組織ファクトリーの特徴と開発要素



組織ファクトリー



臓器創生をめざした基盤技術の確立



ヒト組織・臓器モデルの確立⇒新発見・動物実験代替
臓器移植の代替となる再生医療を確立⇒世界医療に貢献

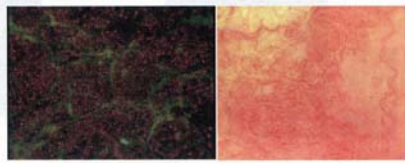
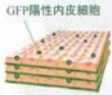
細胞シートによる心筋組織再生



Circ Res 2002;90:e4
Tissue Eng 2006;12:1 etc

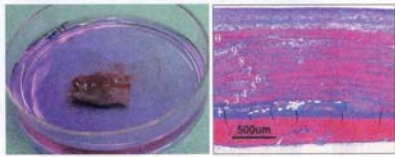
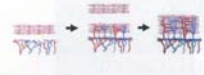
血管網付与による再生心筋組織のスケールアップ

血管内皮細胞との共培養
細胞シートを用いることにより
血管網新生を促進



(Sekiya, Shimizu et al, Biochem Biophys Res Commun, 341, 573, 2006)

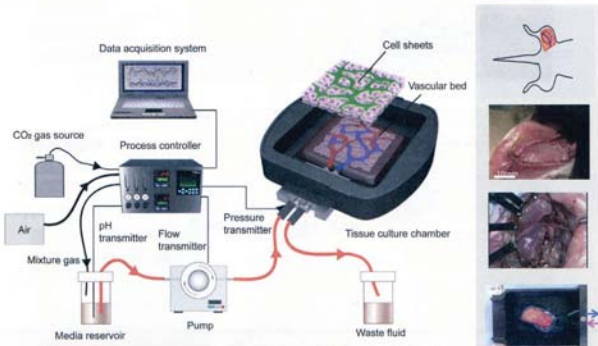
多段階移植によるin vivoでの
血管網付与とスケールアップ



(Shimizu et al, Faseb J, 20, 708, 2006)

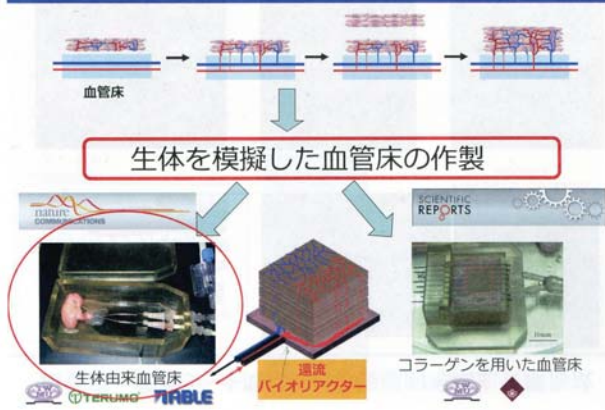
厚さ1mmの拍動心筋組織の再生を実現

吻合可能な動静脈付生体由来血管床と灌流バイオリアクター



(Sekine et al, Nat Commun, 4, 1399, 2013)

生体を模倣した血管床への移植による 生体外での血管網付与とスケールアップ



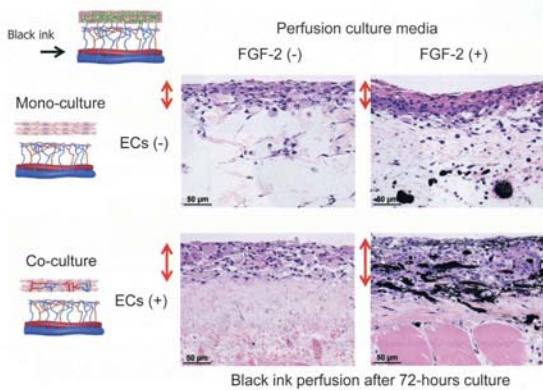
灌流バイオリアクター



圧力、流量、pH、温度をコントロール。
組織灌流量、酸素濃度などもリアルタイムモニタリング。

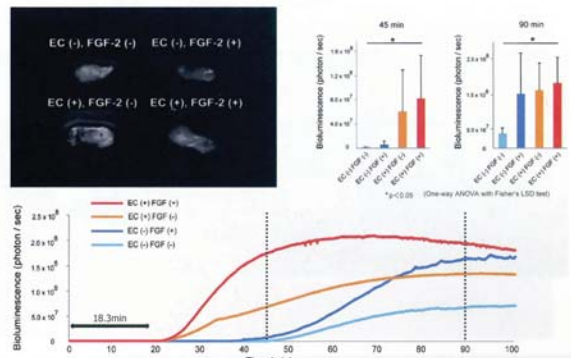
TABLE

細胞シート内への機能的な毛細血管網の構築



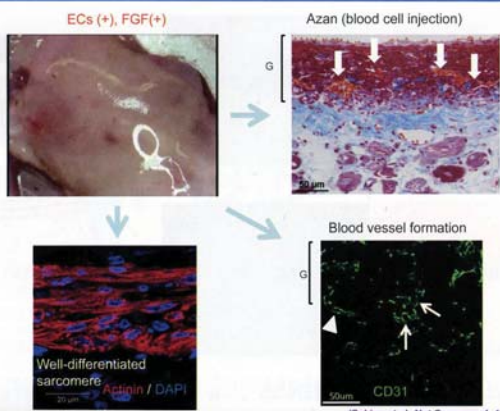
Black ink perfusion after 72-hours culture

機能的毛細血管網形成による積層化細胞シートの生着



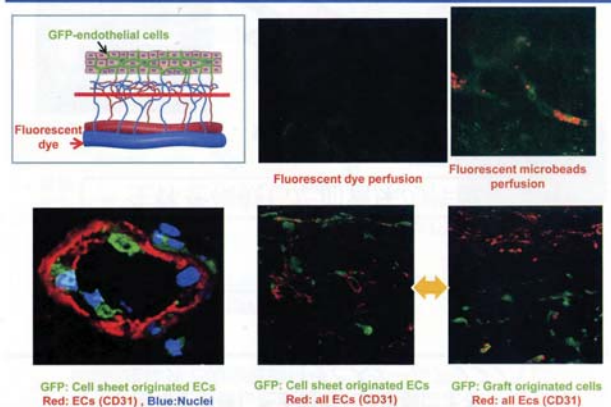
血管内皮細胞を共培養したケースでは血管網構築により早期に発光シグナルを認める
FGF-2により血管床ならびに細胞シート内の血管網形成が促進される

生体外で血管網を付与した拍動心筋組織

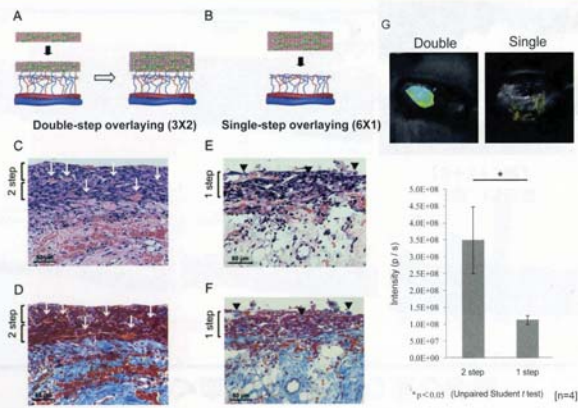


(Sekine et al, Nat Commun, 4, 1399, 2013)

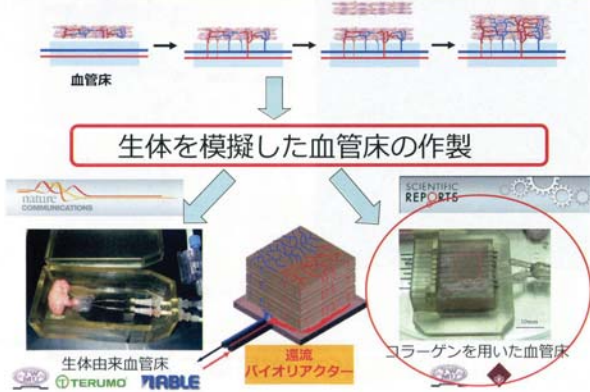
血管床—細胞シート間における機能的毛細血管網形成



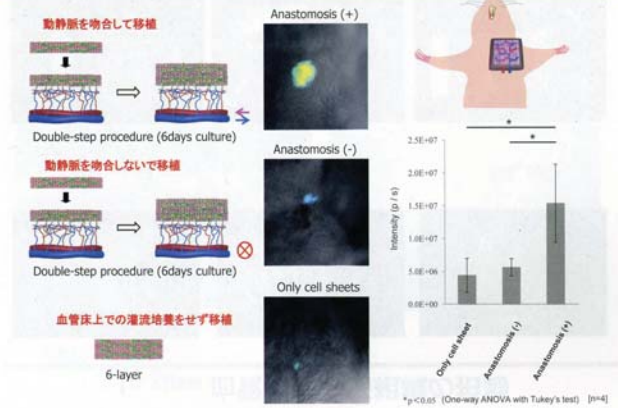
積層化細胞シートの段階的移植によるスケールアップ



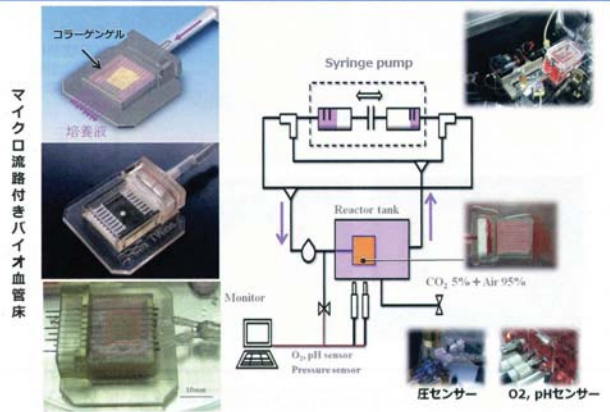
生体を模倣した血管床への移植による生体外での血管網付与とスケールアップ



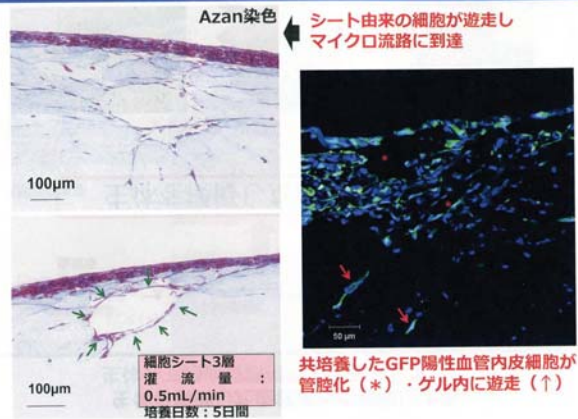
生体外で血管網付与・スケールアップした再生心筋組織の移植



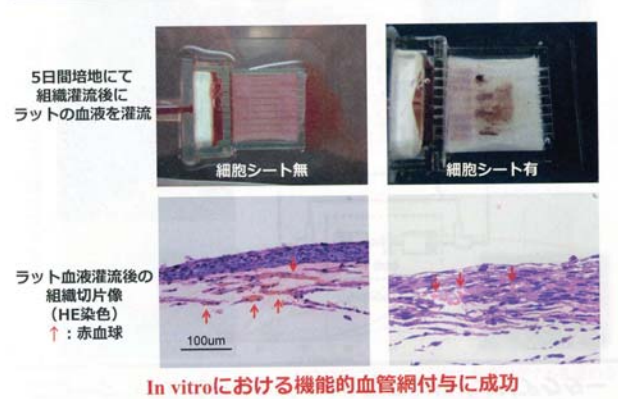
コラーゲンをを用いたバイオ血管床とバイオリアクター



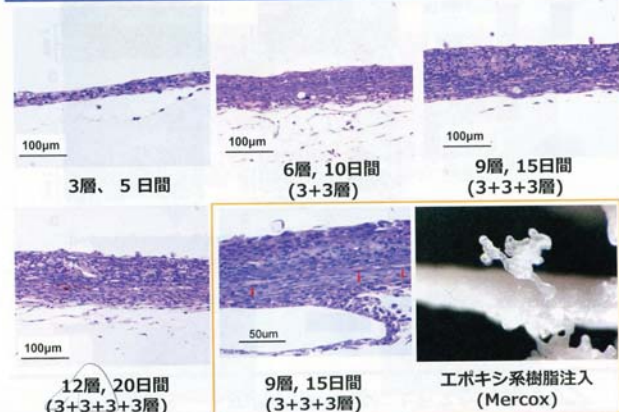
コラーゲン血管床への細胞遊走の促進



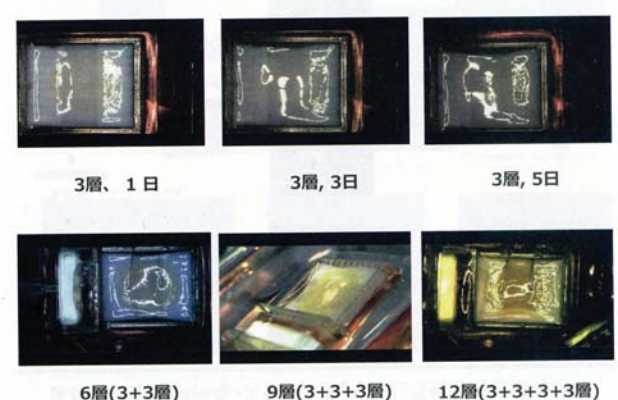
バイオ血管床+積層化心筋シートへの血液灌流実験



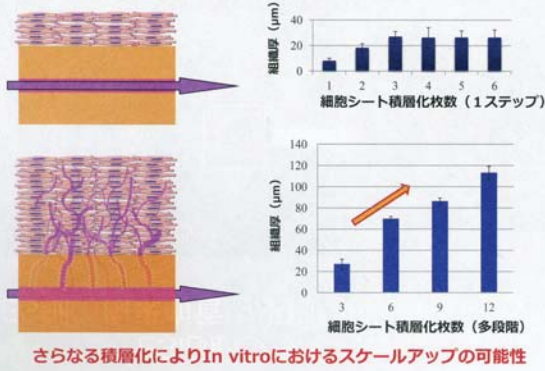
コラーゲン血管床への繰り返し移植



In vitro 血管付き心筋組織の拍動



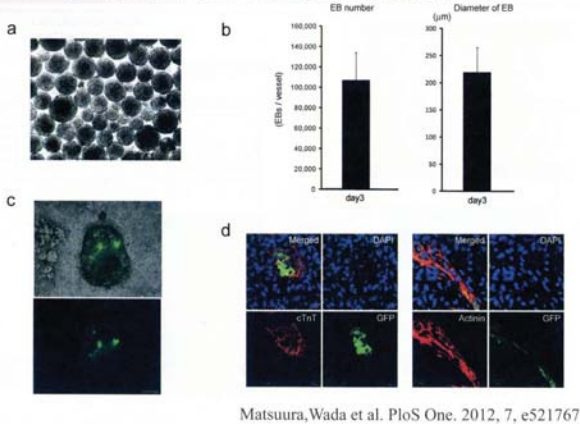
In vitro バイオ血管床への繰り返し移植 による
厚い心筋組織の作製



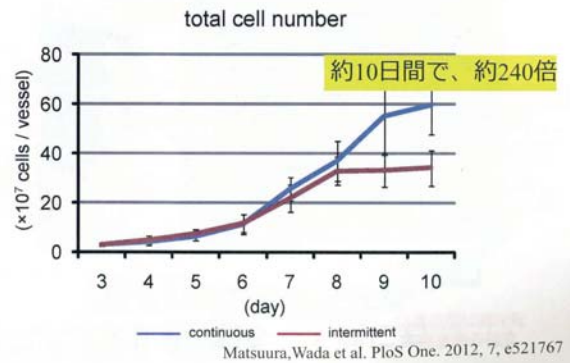
バイオリアクターによる
ES・iPS細胞の3次元浮遊培養



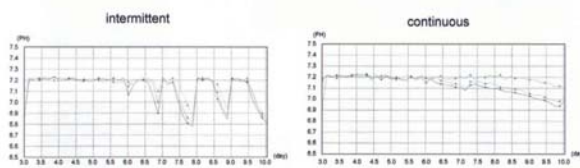
短時間で大量の胚様体が形成される



培養環境の最適化が、
細胞の発育に必要である

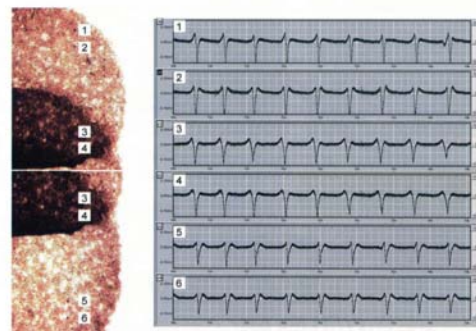


間欠的培地交換では、PHが維持できない



Matsuura, Wada et al. PloS One. 2012, 7, e521767

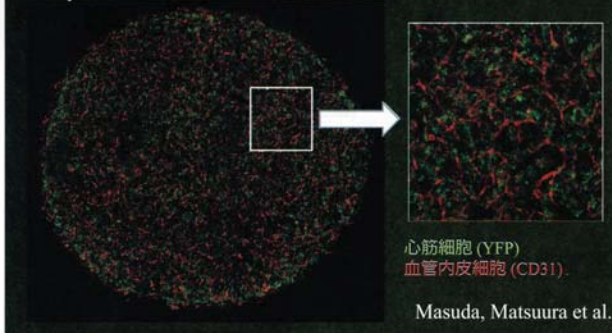
ES由来心筋シート間にも
電気的接合が存在する



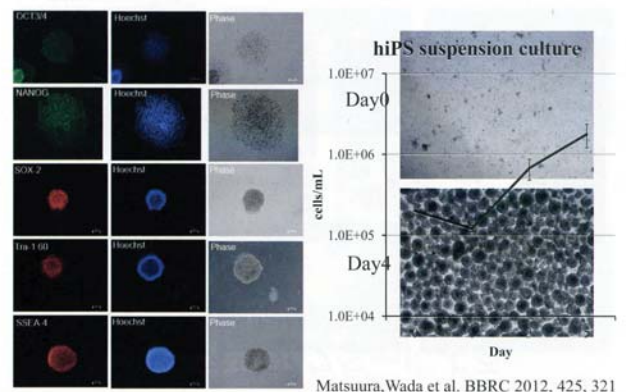
Matsuura, Masuda, Haraguchi et al. Biomaterials. 2011, 32, 7355

ES心筋シート内の
ES細胞由来血管内皮細胞ネットワーク

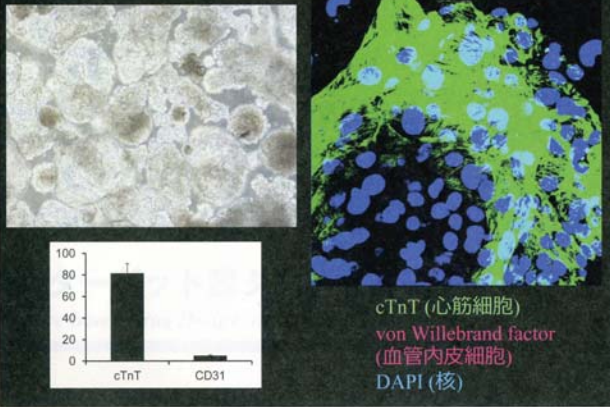
5 days in culture



バイオリアクターによるヒトiPS細胞の
未分化大量増幅

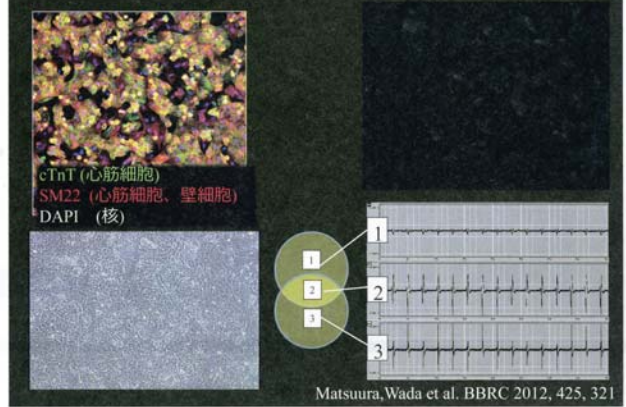


ヒトiPS細胞の心血管細胞への分化

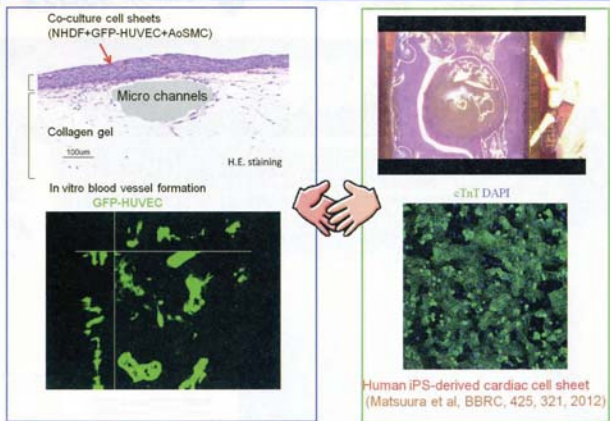


cTnT (心筋細胞)
von Willebrand factor
(血管内皮細胞)
DAPI (核)

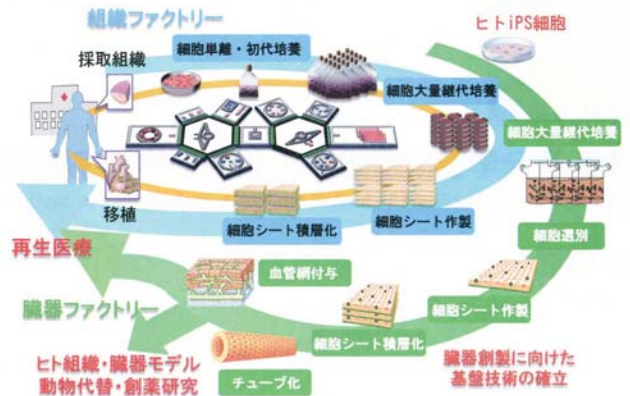
機能的ヒトiPS細胞由来心筋シート



ヒト細胞を用いた血管床の作製とiPS細胞由来心筋細胞シート



組織・臓器ファクトリーの開発



-129-



-130-