

課題番号	LR026
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	1細胞レベルで3次元構造を制御した革新的ヒト正常・疾患組織モデルの創製
研究機関・ 部局・職名	大阪大学・大学院工学研究科・助教
氏名	松崎典弥

1. 当該年度の研究目的

前年度に引き続き細胞表面へのナノ薄膜形成を検討する。また、ナノ薄膜を形成した細胞を用いてインクジェットプリントによる細胞の吐出を検討することで、1細胞レベルでの3次元組織化法に取り組む。

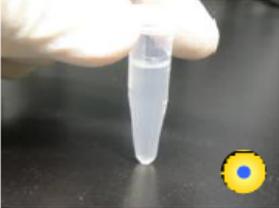
ナノ薄膜間の接着、または薄膜と細胞膜表面のインテグリンとの接着を巧みに使い分けることで、3次元での1細胞レベルの接着制御を実現し、3次元組織化法を確立する。また、3次元組織化した後の細胞生存率や構造安定性を明らかにする。1細胞レベルで3次元配置を制御しても、その後の培養期間において細胞が移動してランダムな構造となる可能性がある。そのため、個々の細胞が当初の配置を安定に保持できるかを、ナノ薄膜の種類や膜厚、電荷と関連して詳細に明らかにする。

2. 研究の実施状況

<ナノ薄膜による細胞表面の制御>

1細胞レベルでの3次元組織化法には、細胞-細胞間の接着制御技術の開発が重要となる。そこで、細胞膜レセプターと結合する様々な細胞外マトリックス (ECM) 成分に着目し、細胞表面に形成後の凝集化を評価した。その結果、あるECM成分において特異的な凝集塊の形成を初めて見出した (図1)。

a) 薄膜形成なし



b) あるECM成分の
薄膜形成後



図1. ECM 薄膜形成無し (a) および有り (b) の細胞凝集塊形成の様子。

他にも、細胞毒性を発現することなく細胞表面の電荷を制御できるナノ薄膜や、物理的負荷への耐性を与えるナノ薄膜を世界で初めて見出した。組織工学や再生医療へ応用が期待される。

＜細胞の吐出制御と1細胞レベルでの3次元組織化法の確立＞

本研究課題の実現には、細胞吐出をリアルタイムで観察できるインクジェット装置が必要である。そこで、共同研究企業の協力により、世界で初めて開発した（図2a）。

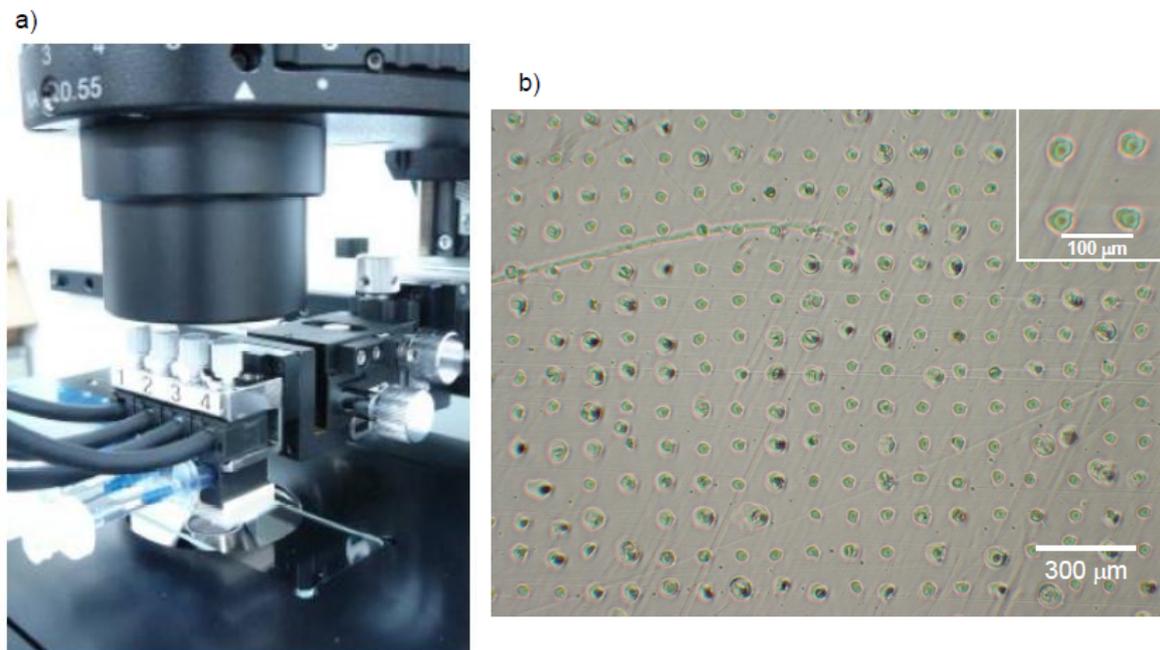


図2. 作製したインクジェットプリント装置 (a) および吐出した細胞の様子 (b)。

本装置を用いることで基板への細胞吐出のリアルタイム観察が可能であったが（図b）、吐出後の細胞溶液の瞬時の乾燥が課題であった。そこで、乾燥を防ぐため基板表面にゲル膜を形成し、表面に培地を極少量添加して吐出を検討した。薄膜をコーティングしない細胞は、吐出後におこる拡散により配置制御は困難であった。一方、上述のECM薄膜コーティングは細胞間の接着性を有するため、3次元的な細胞の吐出制御の可能が示された。まだまだ課題は多いが、1細胞レベルでの3次元組織化法の基本的な技術を確立できたと考えられる。

＜派生研究への展開＞

次年度に予定していた様々な組織モデルのプロトタイプ構築を開始した。従来の細胞積層技術を用いて癌浸潤モデルや鼻粘膜、胎盤モデルを構築し、基礎知見の収集に着手することができた。

＜国民との対話＞

国民との科学・技術対話にも積極的に取り組むことができた。サイエンスカフェを開催し、本研究の意義・重要性を紹介することができた（写真1）。また、日本学術会議主催の「科学・技術フェスタ in 京都 2011」では、若手研究者の代表として国民との科学技術の対話を行った。



写真 1. サイエンスカフェの様子。

以上より、当該年度はおおむね順調に研究を進展できたと考えられる。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 11 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 8 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Y. Amemiya, K. Kawano, M. Matsusaki, M. Akashi, N. Nakamura, C. Nakamura, Formation of nanofilms on cell surfaced to improve the insertion efficiency of a nanoneedle into cells, <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 420, 662 (2012). 2. K. Kadowaki, M. Matsusaki, M. Akashi, Control of Cellular Inflammation by Layer-by-Layer Nanofilms through Different Driving Forces, <i>Chem. Lett.</i> 41, 523 (2012). 3. H. Hosoya, K. Kadowaki, M. Matsusaki, H. Cabral, H. Nishihara, H. Ijichi, K. Koike, K. Kataoka, K. Miyazono, M. Akashi, M. R. Kano, Engineering Fibrotic Tissue in Pancreatic Cancer: A Novel Three-dimensional Model to Investigate Nanoparticle Delivery, <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 419, 32 (2012). 4. M. Matsusaki, H. Ajiro, T. Kida, T. Serizawa, M. Akashi, LbL Assembly Through Weak Interactions and Their Biomedical Applications, <i>Adv. Mater.</i> 24, 454 (2012). (IF2010=10.857) 5. M. Matsusaki, Development of Three-Dimensional Tissue Models Based on Hierarchical Cell Manipulation Using Nanofilms. <i>Bull. Chem. Soc. Jpn.</i> 85, 401 (2012). Award Account. 6. M. Matsusaki, K. Kadowaki, E. Adachi, T. Sakura, U. Yokoyama, Y. Ishikawa, and M. Akashi, Morphological and Histological Evaluations of 3D-Layered Blood Vessel Constructs Prepared by Hierarchical Cell Manipulation Technique, <i>J. Biomater. Sci.: Polymer Edn.</i> 23, 63 (2012). 7. M. Matsusaki, S. Amemori, K. Kadowaki, and M. Akashi, Quantitative 3D-Analysis of Nitric Oxide Diffusion in a 3D-Artery Model Using Sensor Particle. <i>Angew. Chem. Int. Ed.</i> 50, 7557 (2011). (IF2010=12.730) 8. A. Nishiguchi, H. Yoshida, M. Matsusaki, and M. Akashi, Rapid Construction of Three-dimensional Multilayered Tissues with Endothelial Tube Networks by the Cell-accumulation Technique. <i>Adv. Mater.</i> 23, 3506 (2011). (IF2010=10.857) <p>(掲載済み一査読無し) 計 3 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 松崎典弥, 白方裕司, 平川聡史, 橋本公二, 明石 満, 皮膚細胞の三次元組織化技術と血管・リンパ管の再現, <i>バイオインダストリー</i>, シーエムシー出版, 29(1), 46-51 (2012). 2. 松崎典弥, 白方裕司, 平川聡史, 橋本公二, 明石 満, 血管およびリンパ管を有するヒト皮膚モデルの構築, <i>FRAGRANCE JOURNAL</i>, フレグランスジャーナル社, 39(8), 55-58 (2011). 3. 松崎典弥, 明石 満, ナノ薄膜を用いた細胞の界面制御によるハイブリッド血管組織の創製, <i>高分子</i>, 高分子学会, 60(10), 749-750 (2011). <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 21 件</p>	<p>専門家向け 計 19 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 松崎典弥、“ナノ構造制御高分子材料による細胞操作と生体組織モデルの構築”、日本化学会第 92 春季年会、慶應大学日吉キャンパス、2012 年 3 月 25 日 2. 松崎典弥、“細胞とタンパク質の三次元統合制御に基づく革新的ハイブリッド組織の創製と医薬品評価への応用”、平成 23 年度野口遵研究助成金授与式、如水会館、2012 年 3 月 13 日 3. 松崎典弥、“Development of Vascularized 3D-Human Tissue Models for Biomedical Applications”、日本フランス先端工学シンポジウム (JFFoE)、京都国際会館、2012 年 2 月 28 日 4. 松崎典弥、“3 次元組織構造が誘導する特異的な細胞機能”、放射線医学総合研究所セミナー、放射線医学総合研究所、2012 年 1 月 25 日 5. 松崎典弥、“Development of 3D-Vascularized Tissue Models Fabricated by Layer-by-Layer Nanofilm Coating”、PACCON2012、Chaing Mai, Thailand、2012 年 1 月 12 日 6. 松崎典弥、“高分子薄膜を活用した細胞積層技術とその応用”、第 28 回医用高分子研究会講座、東京医科歯科大学歯科外来事務棟 4 階特別講堂、2011 年 11 月 24 日 7. 松崎典弥、“3D Quantitative Analysis of Nitric Oxide Diffusion in a 3D Artery Model Using Sensor Particles”、BIT’s 1st Annual Symposium of Drug Delivery System 2011、Shenzhen convention & exhibition center、2011 年 11 月 5 日 8. 松崎典弥、“細胞界面に形成したナノ薄膜によるダイナミックな三次元組織化制御”、新学術領域「ソフトインターフェースの分子科学」ワークショップ、パレプラン高志会館、

様式19 別紙1

	<p>2011年11月3日</p> <p>9. <u>松崎典弥</u>、“Three-dimensional Tissue Models Prepared by Layer-by-Layer Assembly of Cells and Proteins”、BIT’s 1st World Congress of Nano-S&T 2011、Dalian World EXPO Center、2011年10月26日</p> <p>10. <u>松崎典弥</u>、“Cell and Protein Assembly for 3D-Living Tissue Models”、Department Seminar in College of Electronic Science and Engineering、Jilin University、2011年10月24日</p> <p>11. <u>松崎典弥</u>、“細胞積層法による生体組織モデルの構築と薬剤評価への応用”、JACI ライフサイエンス技術部会・材料分科会講演会、新科学技術推進協会（JACI）会議室、2011年10月19日</p> <p>12. <u>松崎典弥</u>、“Biomedical Application of 3D-Tissue Models Prepared by Hierarchical Cell Manipulation Using Polymer Nanofilms”、14th Asian Chemical Congress 2011、Bangkok Thailand、2011年9月8日</p> <p>13. <u>松崎典弥</u>、“ナノ薄膜による細胞界面の制御と生体組織モデルの構築”、東京大学大学院工学系研究科化学生命専攻 2011年度第一回談話会、東京大学、2011年7月23日</p> <p>14. <u>松崎典弥</u>、“細胞積層技術による生体外での血管モデルの構築と血管機能評価への応用”、第89回日本生理学会大会、信州大学松本キャンパス、2012年3月31日</p> <p>15. <u>松崎典弥</u>、“ナノ薄膜による細胞の三次元操作と生体組織モデルの構築”、日本機械学会第24回バイオエンジニアリング講演会、大阪大学豊中キャンパス、2012年1月7日</p> <p>16. <u>松崎典弥</u>、坂上佳代、明石 満、“インクジェットプリントによるヒト肝組織チップの作製と薬物評価試験への応用”、第60回高分子年次大会、大阪国際会議場、2011年5月25日</p> <p>17. <u>松崎典弥</u>、西口昭広、門脇功治、明石 満、“Rapid Construction of 3D-Tissue Constructs by Controlling 3D-Intercellular Adhesion Using Extracellular Matrix Nano-Films”、Gordon Research Conference, Biomaterials&Tissue Engineering、Holderness, USA、2011年8月1日</p> <p>18. <u>松崎典弥</u>、西口昭広、明石 満、“単細胞表面へのナノ薄膜コーティングによる細胞集積制御と血管網を有する三次元組織の構築”、第40回医用高分子シンポジウム、関大100周年記念館ホール、2011年7月26日</p> <p>19. <u>松崎典弥</u>、門脇功治、明石 満“Three-dimensional Tissue Models Fabricated by Controlling Cell Interface Using a Layer-by-Layer Nanofilm”、242nd American Chemical Society National Meeting、Denver USA、2011年8月28日</p> <p>一般向け 計2件</p> <p>1. <u>松崎典弥</u>、“若手研究者たちと考える、君たちの、そして日本の未来”、科学・技術フェスタ in 京都 2011、京都国際会館、2011年12月17日</p> <p>2. <u>松崎典弥</u>、“生体組織モデルを作る”、第7回カフェ・オンザエッジ・ネクスト、アートエリア B1、2011年11月30日</p>
<p>図書 計3件</p>	<p>1. <u>松崎典弥</u>、明石 満、第5編、第2章、2-4. テーラーメイド型三次元細胞複合組織、未来医療を支える先端バイオマテリアル～生体分子から有機・セラミック・金属まで～、エヌ・ティ・エス、2012年5月発刊予定。</p> <p>2. <u>松崎典弥</u>、明石 満、第2編、第5章、生体材料－細胞間の相互作用、ものづくり技術からみる再生医療－細胞研究・創薬・治療－、シーエムシー出版、133-141 (2011)。</p> <p>3. <u>松崎典弥</u>、西口昭広、門脇功治、明石 満、第1編 第3章 4 ナノ薄膜による細胞の三次元操作、ナノ融合による先進バイオデバイス、シーエムシー出版、123-132 (2011)。</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計1件</p>	<p>(取得済み) 計1件(国内)</p> <p>1. 特許第4919464号 発明者：明石 満、澤 芳樹、<u>松崎典弥</u>、中原佳夫 発明の名称：三次元組織の製造方法およびそれに用いる細胞外マトリックスの製造方法 出願人：国立大学法人大阪大学、住友ベークライト株式会社 登録日：2012年2月10日</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>大阪大学・最先端・次世代研究開発支援プログラム http://www.osaka-u.ac.jp/ja/research/program_next 大阪大学大型教育研究プロジェクト支援室・最先端・次世代研究開発支援プログラム</p>

様式19 別紙1

	<p>http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/index_jisedai.html</p> <p>大阪大学大型教育研究プロジェクト支援室・最先端・次世代研究開発支援プログラム・松崎典弥</p> <p>http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/jisedai2010/michiya_matsusaki/</p>
国民との科学・技術対話の実施状況	<p>1. 2011年11月30日に一般市民向けのサイエンスカフェを行い、「生体組織モデルを作る」という演題で研究内容を紹介した。場所：カフェアートエリア B1 なにわ橋駅地下1階コンコース、参加人数：約40名</p> <p>2. 2011年12月17日に「科学・技術フェスタ in 京都 2011」にて一般市民向けの「若手研究者たちと考える、君たちの、そして日本の未来」というシンポジウムに参加した。場所：国立京都国際会館、参加人数：約50名</p>
新聞・一般雑誌等掲載計0件	
その他	

4. その他特記事項

1. 本研究の成果に係る特許を2012年6月までに2件出願する予定である。

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	107,000,000	43,726,000	14,999,000	48,275,000	0
間接経費	32,100,000	13,117,800	4,499,700	14,482,500	0
合計	139,100,000	56,843,800	19,498,700	62,757,500	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	43,716,000	14,999,000	0	58,715,000	58,650,961	64,039	0
間接経費	13,117,800	4,499,700	0	17,617,500	9,459,257	8,158,243	0
合計	56,833,800	19,498,700	0	76,332,500	68,110,218	8,222,282	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	50,661,976	共焦点レーザー顕微鏡 他
旅費	3,201,678	高分子学会年次大会 研究成果発表 他
謝金・人件費等	0	
その他	4,787,307	施設借料 他
直接経費計	58,650,961	
間接経費計	9,459,257	
合計	68,110,218	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
倒立型レーザー蛍光 顕微鏡	IX71N- 22TFL/PH	1	3,000,000	3,000,000	2011/4/25	大阪大学
インジェクション他、	IX71用取付アダプ タ	1	1,249,000	1,249,000	2011/5/18	大阪大学
共焦点レーザー顕微 鏡	FV-10i	1	14,994,000	14,994,000	2011/6/13	大阪大学
ハイオサード対策用 キャビネット	SCV-1307EC II AB	2	1,260,000	2,520,000	2011/6/27	大阪大学
ハルスインジェクター装 置	DskViewer	1	5,889,500	5,889,500	2011/7/27	大阪大学
Step One Plusリアル タイムPCRシステム	Step One Plus-G	1	3,780,000	3,780,000	2011/7/27	大阪大学
中央実験台(試薬 棚付)	LCU-3600PS2	1	564,287	564,287	2011/8/4	大阪大学
フローサイトメーター	guava easyCyte 8HT Baseシステム	1	9,093,000	9,093,000	2011/11/30	大阪大学
Experion タンパク質/ 核酸分析PCシステム	米国バイオ・ラッド・ラ ボラトリス社製	1	2,100,000	2,100,000	2012/2/28	大阪大学

