

補助事業番号 2023M-253

補助事業名 2023年度 進化分子工学が拓くバイオDxに基づく生体由来材料の  
3Dプリンティング技術の革新 補助事業

補助事業者名 東北大学・教授・山本 雅哉

## 1 研究の概要

本研究の目的は、生体活性を保持した生体由来材料の3Dプリンティング技術をSDGsに配慮して創成することである。このため、生体由来材料と特異的に相互作用する分子を利用して、この特異的な相互作用を介して形状を維持するバイオDxに基づく3Dプリンティングを目指した。本研究では、生体由来材料として、再生医療に対する展開が進められてきた小腸などの臓器から細胞を除去した「脱細胞化マトリックス」を利用した。当初、環境負荷の少ない方法として進化分子工学に基づき、生体由来材料と特異的に相互作用するペプチド分子を設計することを考えていたが、より簡便かつ環境負荷なく脱細胞化マトリックスを利用することができる方法として、コラーゲンと混合する方法を検討した。脱細胞化マトリックスを酵素処理により可溶化させ、これをコラーゲンと混合することによりゲル化させることができた。これにより形状を維持させることができた。次に、これをバイオインクとして、がん細胞塊と混合させたゲルを作製し、その力学特性を評価した。最後に、これらを用いて3Dプリンティングを試みた。

## 2 研究の目的と背景

画像情報に基づき患者に適合するインプラントを設計するテーラーメイド医療から病気を特徴づける情報に基づき生体組織の微細構造を体外で再現する微細加工技術など、医学におけるDx（バイオDX）が注目されている。その実現のための機械工学的アプローチとして、3Dプリンティング技術が研究されている。一方、3Dプリンティングした材料の形状を維持するためには、多くの場合、化学反応による固定化が必要である。しかし、高い生体活性が期待される生体由来材料に対し化学反応を行うことにより、その生体活性が消失することが課題である。本研究が目指す姿は、生体由来材料や細胞の生体活性を損なうことのないバイオDxに基づく3Dバイオプリンティング技術を、SDGsに配慮して創成することである。得られる研究成果は、再生医療や医学や環境問題の基礎研究への応用を通じて、国民に対して広く貢献することが期待できる。このため、本研究の社会的・学術的波及効果の高いことは疑いない。

## 3 研究内容

### (1)進化分子工学に基づく生体由来材料に高親和性をもつ分子の設計

ブタの小腸や血管などの生体組織を超高圧処理することにより脱細胞化マトリックスを調製した。得られた脱細胞化マトリックスを凍結乾燥後、破碎することにより、粒径の異なる脱細胞化マトリックス粉末を得た。さらに、この脱細胞化マトリックス粉末を室温・酸性条件（pH3.0）でペプシン処理することにより溶解させた。一方、ファージ

ディスプレイ実験はPh.D.-12 Phage Display Peptide Library Kit (New England BioLabs) を用いて同社提供のプロトコルに従った。溶解させた脱細胞化マトリックスについて SDS電気泳動を行ったところ、生体組織に最も多く含まれているコラーゲン以外の生体分子も含まれていた。このため、ファージディスプレイを行っている過程で複数の物質を含む条件での選別を進めるよりも、より多く含まれているコラーゲンを利用する方が、既に、医療応用されていることに加えて、本研究の目的のひとつである環境負荷を低減することができる方法であると判断した。

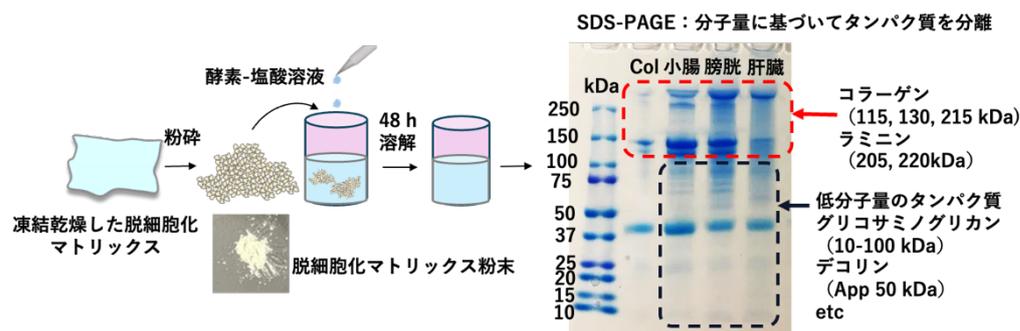


図1 脱細胞化マトリックスの調製

次に、得られた脱細胞化マトリックス溶解物とコラーゲンを混合することによりハイドロゲルを作製した。レオメーター測定に基づき、得られたハイドロゲルの動的粘弾性を評価した。その結果、コラーゲン単独と比べて、脱細胞化マトリックス溶解物を加えたハイドロゲルの貯蔵弾性率が増加することがわかった。このことは、生物由来材料である脱細胞化マトリックスがコラーゲンとの混合により、より安定化されることを示唆している。

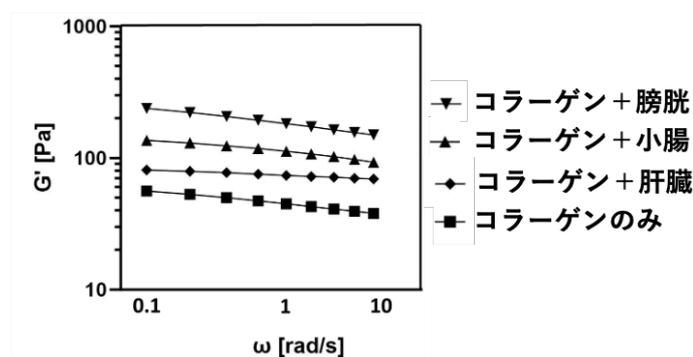


図2 コラーゲンでゲル化させた脱細胞化マトリックスの貯蔵弾性率

## (2) 生体由来材料の3Dプリンティングと固定化

様々な条件での3Dプリンティングを可能とする、セルインク社のBIO Xを利用した。まず、細胞と脱細胞化マトリックスとを組み合わせる方法として、脱細胞化粉末とがん細胞とからなる細胞塊を

作製した。小さくした粉末(平均粒径約40  $\mu\text{m}$ )とがん細胞とを混合することにより複合体を形成させることができた。これを3Dバイオプリンターで印刷した。一部のがん細胞塊は印刷工程で崩れてしまったが、脱細胞化マトリックス粉末を含んだゲル中では、コラーゲンゲル中のがん細胞塊と比較して、がんの浸潤・転移に関わる細胞外マトリックス分解酵素(MMP2)の発現量が高い傾向にあった。がん細胞が周辺環境に応じて、がん細胞特有の反応を示したと考えられる。

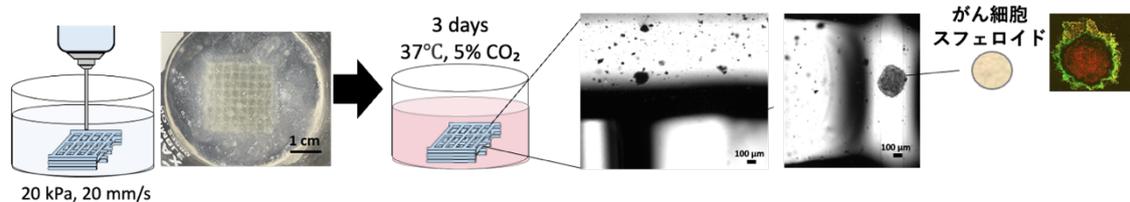


図3 がん細胞塊を含む生体由来材料の3Dプリンティング

#### 4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

本研究で用いた生体材料としての実績があるコラーゲンを活用する方法は、コラーゲンと生体由来材料との相互作用に基づいており、高い生体活性を維持したまま生体由来材料を3Dプリンティングできる方法である。さらに、細胞や細胞塊を組み込むことも可能であり、同時にバイオインクがこれらの細胞の足場材料として機能する。また、従来材料の活用により、コストや開発のための環境負荷も低減できる。開発したく生体由来材料の3Dプリンティングは、再生医療から基礎研究まで、幅広く応用すること期待できるため、学術的・社会的波及効果が極めて高い。

#### 5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

細胞機能を調節することを目的としたハイドロゲルに関する研究を行ってきた。これまでは、材料から細胞、すなわち生き物へ働きかけるベクトルに主眼を置いて研究を進めてきた。すなわち、形づくりについても、大枠は決めるものの、細胞が自発的に形成する仕組みを利用してきた。一方、今回研究は、3Dプリンティングを用いて、より細胞が自発的に形成する部分にも介入する技術を開発した。その結果、細胞が自発的に形成する細胞塊や生体由来材料からなるゲルなどを活用して、より高次の構造を形成させる技術の開発に取り組むことができた。

#### 6 本研究にかかわる知財・発表論文等

なし(投稿論文準備中)

#### 7 補助事業に係る成果物

##### (1)補助事業により作成したもの

なし

(2)(1)以外で当事業において作成したもの  
なし

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名： 東北大学大学院工学研究科  
(トウホクダイガクダイガクインコウガクケンキュウカ)

住 所： 〒980-8579  
宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉6-6-02

担 当 者： 教授 山本 雅哉(ヤマモト マサヤ)

担 当 部 署： 材料システム工学専攻(ザイリョウシステムコウガクセンコウ)

E - m a i l: masaya.yamamoto.b6@tohoku.ac.jp

U R L: <http://www.material.tohoku.ac.jp/~seitai/>