



三次元培養筋の評価と生理学的応用



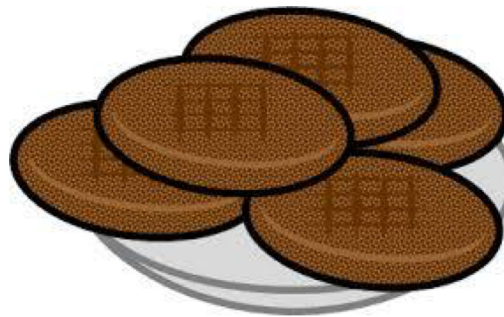
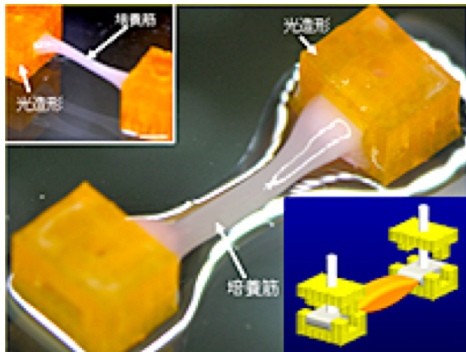
2019.9.13

工学部 総合人間学系教室

教授 中村 友浩

組織工学を利用した三次元培養筋の開発

- 腫瘍の摘出や事故により欠損した骨格筋の再生
- 先天性遺伝子疾患の治療
- マイクロマシーンのアクチュエータ
- 食肉（培養筋ハンバーグ等）



生理学的モデルとしての三次元培養筋

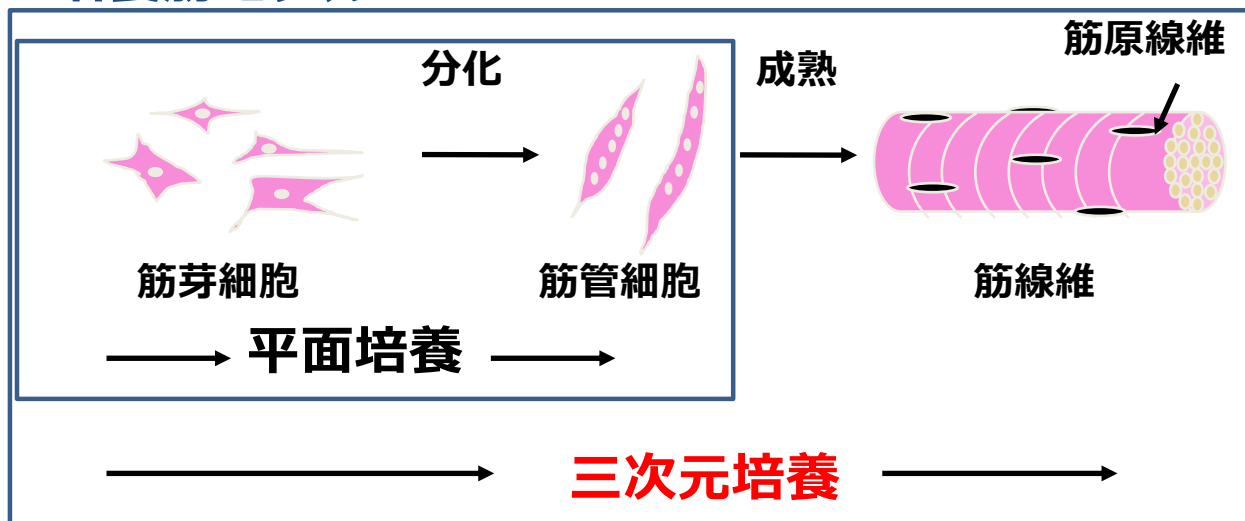
骨格筋を対象とした
生理,生化学的アプローチ



ヒト、実験動物を用いた
生理学的なモデル

筋細胞に対しての直接的な作用効果を検証することが困難
動物愛護の観点からも問題を抱えている

培養筋モデル

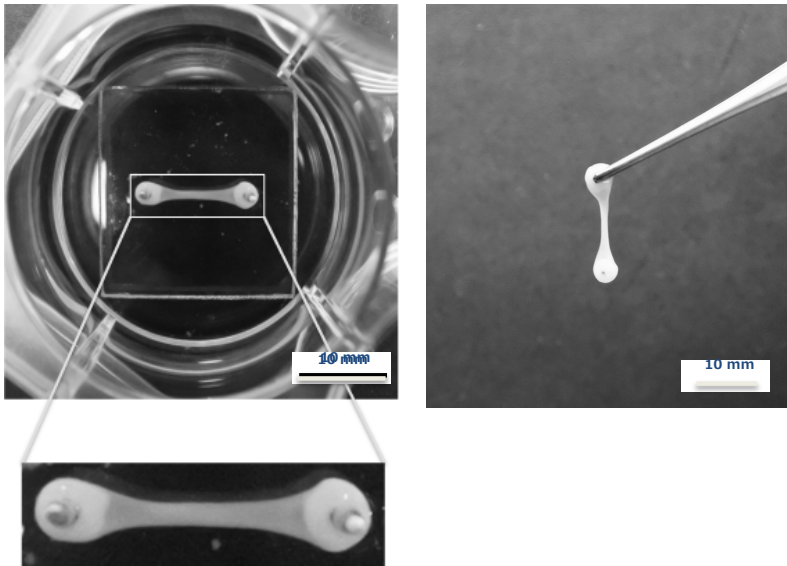


平面培養モデルは、分化熟度
が低く、機能的評価も困難



分化熟度の高い
三次元培養筋モデルが必須

人工腱を有する三次元培養筋の開発に成功



生命工学科 バイオマテリアル研究室
(藤里俊哉教授) との共同開発

大阪工業大学で開発された三次元培養筋

O I T em

(**O**saka **I**nstitute of
Technology
Tissue
engineered **m**uscle)

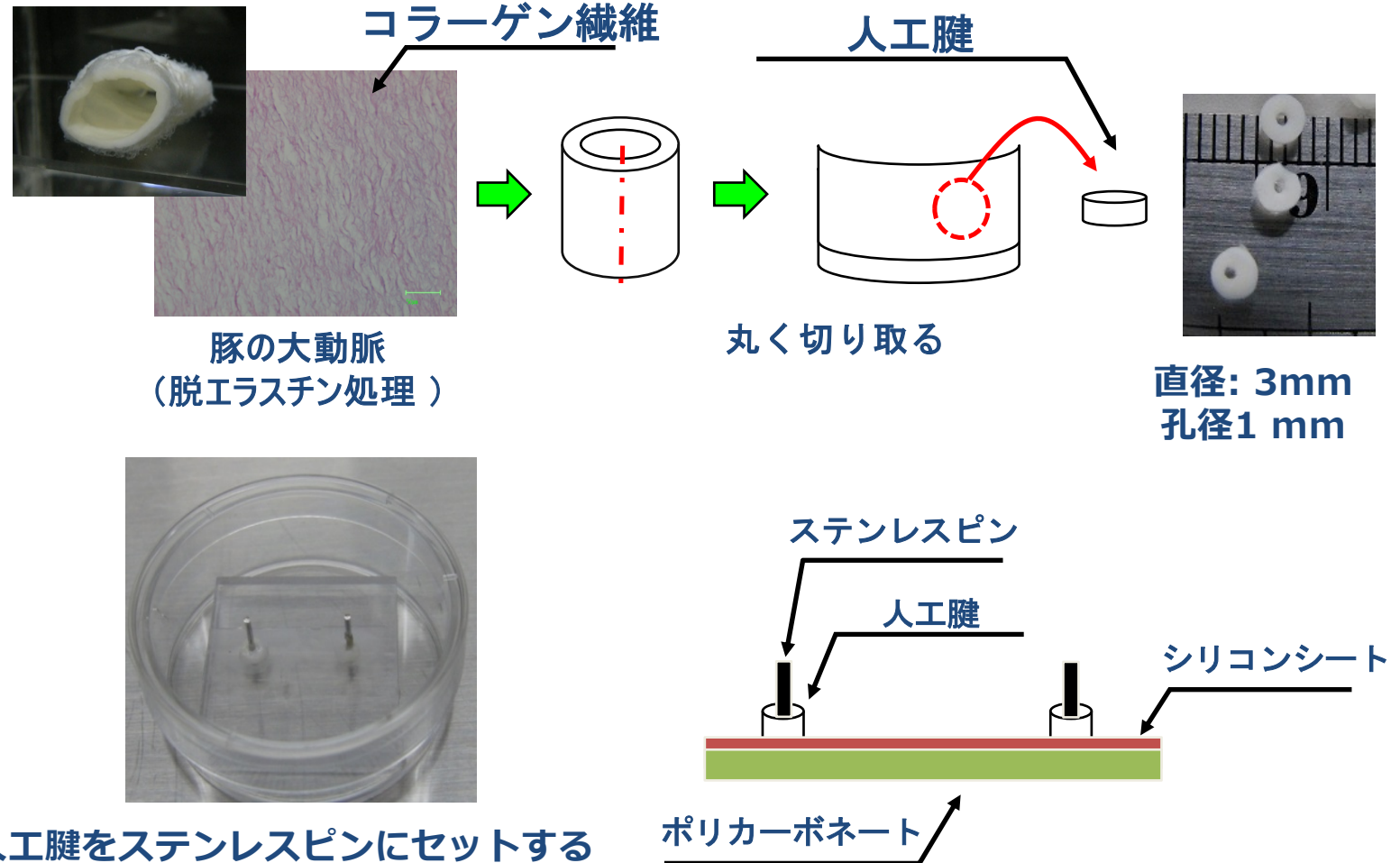
両端の人工腱に細胞が付着しながら
三次元的に構築されていく
生体外骨格筋モデル

三次元培養筋OITemの構築

ユニークな
培養
プラットフォーム



ブタの大動脈を
利用した人工腱を
培養足場に設置

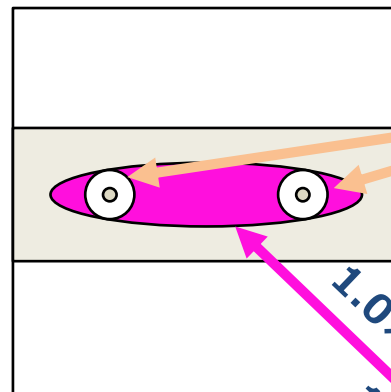


三次元培養筋OITemの構築

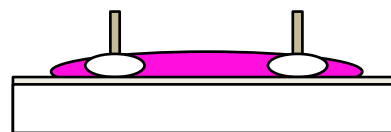
C2C12細胞
マウス骨格筋由来細胞株



コラーゲンゲルに細胞を
一定濃度で懸濁して、人
工腱を含む培養台に
播種する



上面図



側面図

人工腱

脱エラスチン処理したブタの大動脈

1.0×10^7 cells/ml
100μl

C2C12細胞

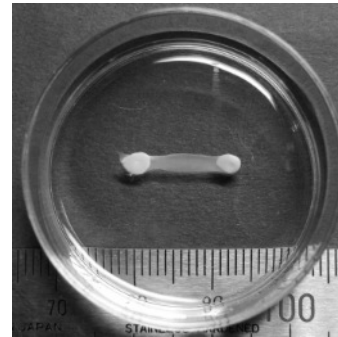
+

コラーゲンゲル

- Cellmatrix typeI-A(新田ゼラチン) 80%
- 10×MEMハंकス(新田ゼラチン) 10%
- 再構成用緩衝液(新田ゼラチン) 10%

三次元培養筋OITemの培養と自己組織化

人工腱に接着し、
縮みながら、
シリコンシート
から離れ、
三次元化する。



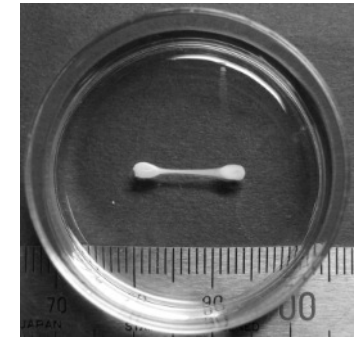
増殖培地 2日目



分化培地 2日目

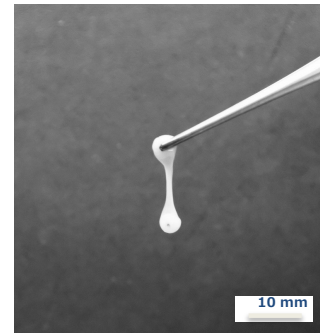
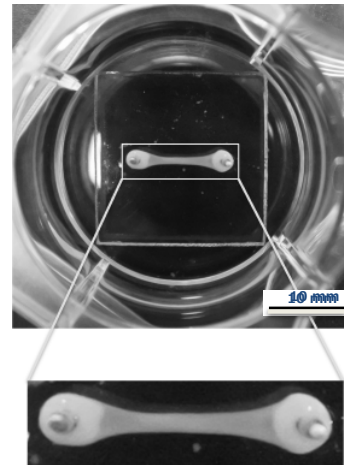


分化培地 5日目



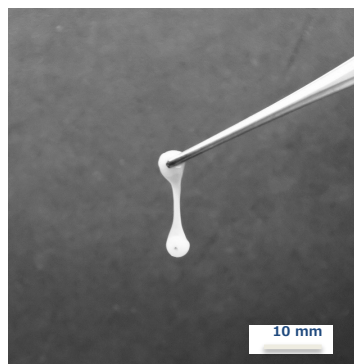
分化培地 8日目

自己組織化

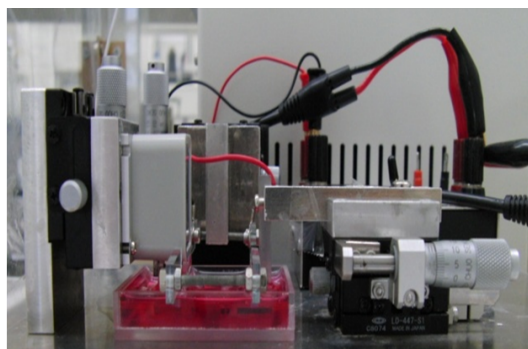
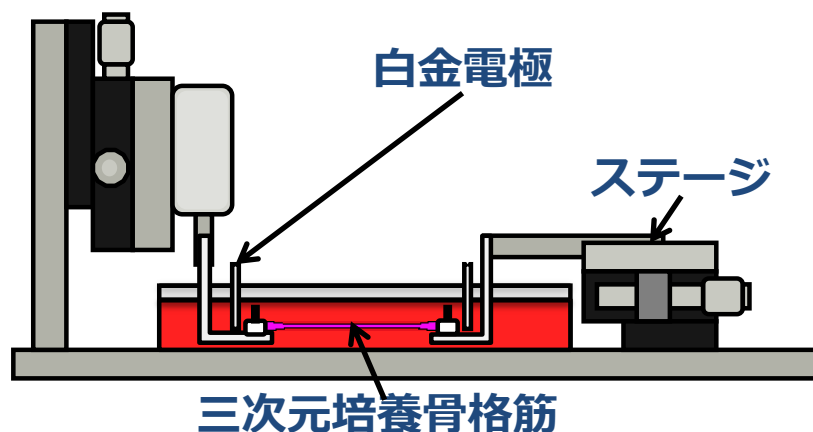


ピンセットで外して保持
することが可能

三次元培養筋OITemの機能評価

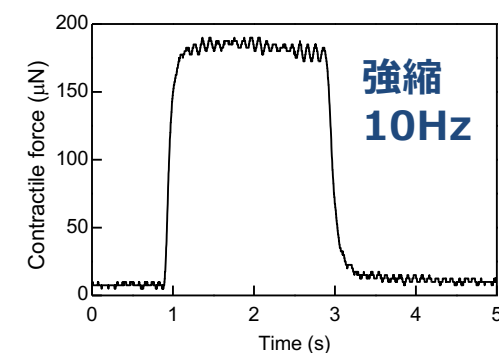
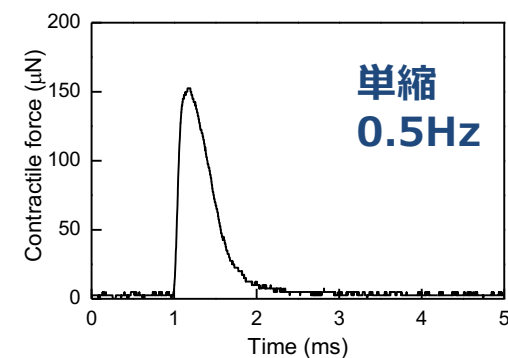


三次元培養筋OITem



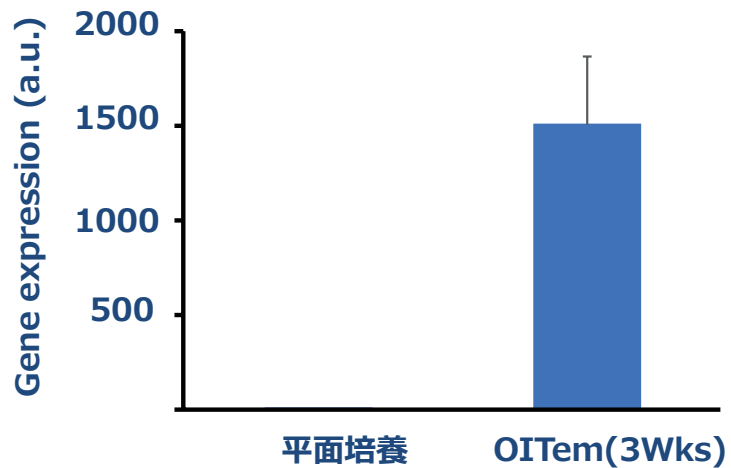
張力測定機（自作）

電気刺激	単極性パルス
センサー	ロードセル ($2.5 \mu\text{N}$)
培地温度	$37 \pm 1^\circ\text{C}$
培養液	HEPES+GM
サンプリング周波数	500 Hz



生体筋と類似した収縮特性
培養期間とともに増大する

三次元培養筋OITemの生化学的,組織学的評価

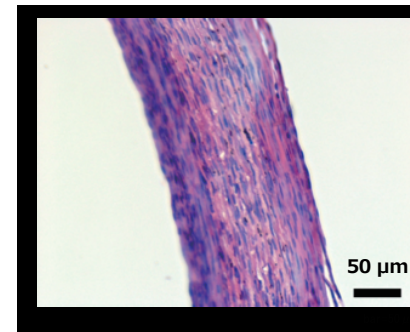


ミオシン遺伝子の発現

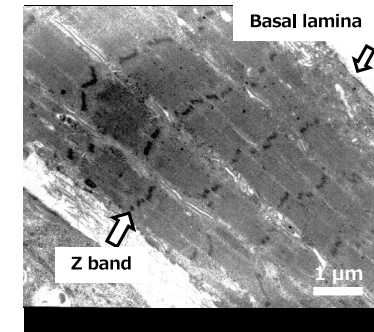


ミオシンタンパク質発現

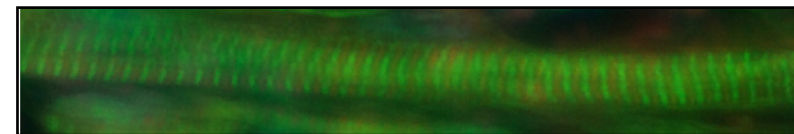
Mb:筋芽細胞
Mt:筋管



H&E 染色



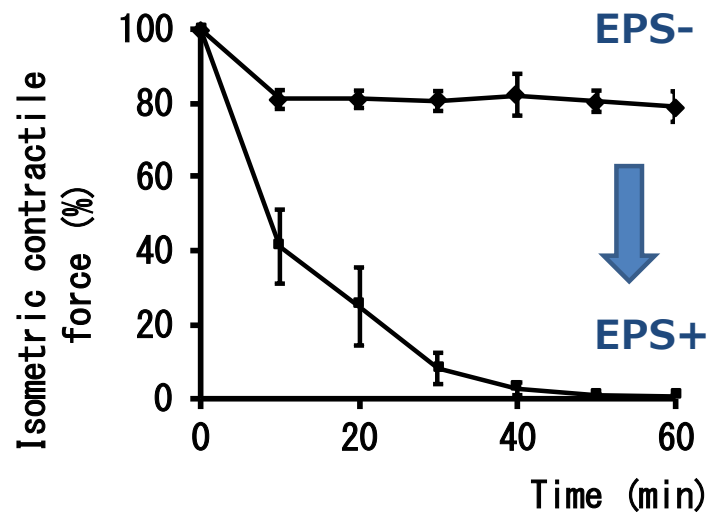
透過電顕像



免疫染色像

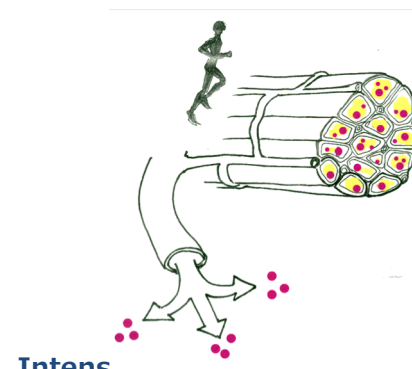
三次元培養筋OITemは、長軸配向性が高く、分化熟度の高い生化学および組織学的特性を有している。

三次元培養筋OITemの生理学応用

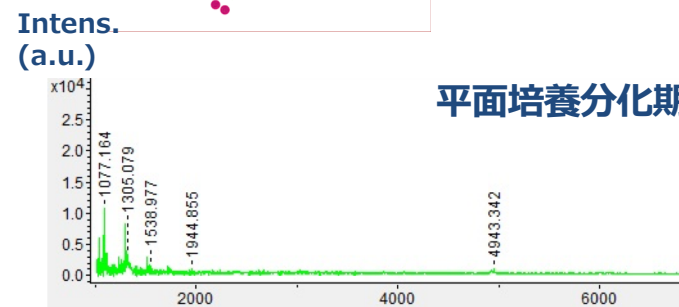


電気刺激による収縮機能の低下

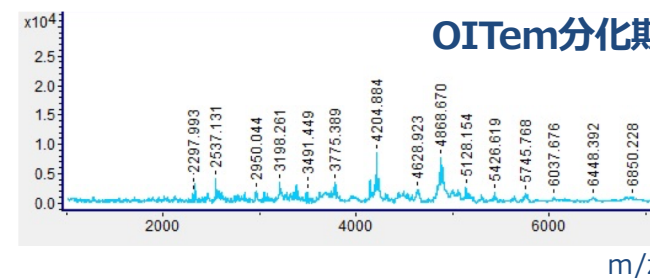
✓筋疲労、
筋損傷モデル



マイオカイン
の分泌



平面培養分化期



OITem分化期

✓マイオカインの網羅的な探索モデル

廃用性筋萎縮モデルとしての可能性



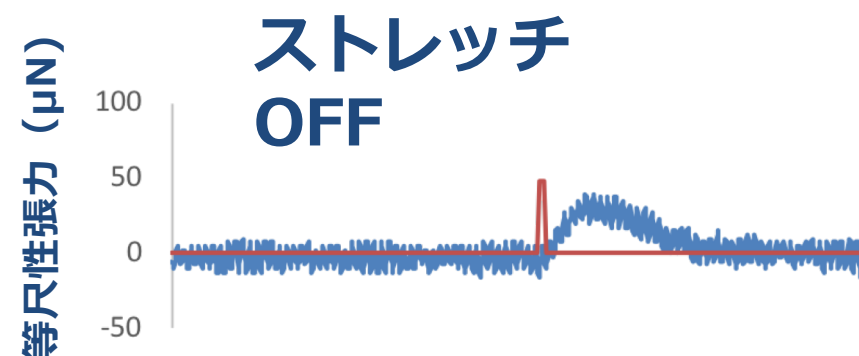
ストレッチ On

ストレッチ Off

培養期間途中で容易に張力を解放状態にできる



✓ 簡便な廃用性筋萎縮
モデルとして活用できる可能性



分化誘導 2 週間、1 週間張力解放

デバイス開発(生体) グループ

文部科学省 平成 29 年度
私立大学研究ブランディング事業に選定



● デバイス開発(生体)グループ

生命支援デバイスとしての
三次元培養筋の応用



藤里 俊哉

工学部 生命工学科 教授



三次元培養筋を用いた廃用
性筋萎縮モデルの開発



中村 友浩

工学部 総合人間学系教室 教授



高度な筋組織の培養やアッ
セイを実現に導くバイオブ
ロセスの開発 -筋スマート
社会の実現にむけて-



長森 英二

工学部 生命工学科 准教授



マイクロ流体デバイスを用いた高品質・高効率な
細胞培養技術の開発



横山 奨

工学部 機械工学科 講師



デバイス開発 (生体)
グループ

三次元培養筋を用いた廃用性筋萎縮モデルの開発

問い合わせ >

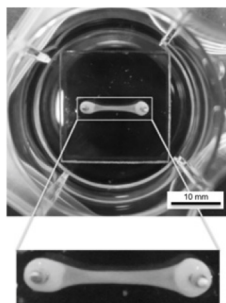
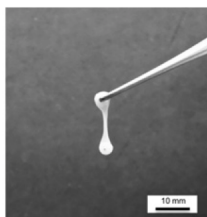


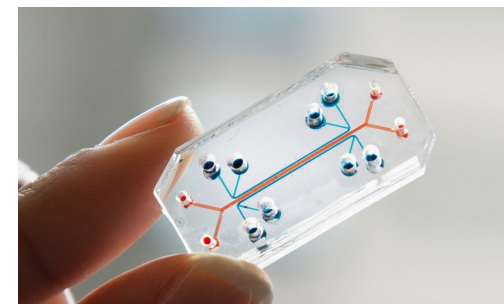
図1.人工関節を持つ三次元培養筋



ストレッチ On

ストレッチ Off

図2.三次元培養筋を活用した廃用性筋萎縮モデル



Organs on a chip

身体活動効果の生体外評価
筋萎縮予防のための薬効試験