

K316

超臨界二酸化炭素中での超音波を用いた再生医療用細胞外マトリックスの生成

(福岡大工)○(正) 三島健司*・(正) 松山清・
(福岡大薬) 入江圭一・三島健一・藤原道弘

1. 緒言

再生医療の分野では、細胞を増殖させ組織とするために、細胞増殖の足場(スキャフォード)の製造方法が求められている。生体に害がなく圧力操作による溶媒特性の制御が容易であることから、超臨界二酸化炭素は、種々の生化学プロセスでの利用が検討されている。本研究グループでもCO₂を機能性溶媒として利用することで、再生医療に利用できる細胞外マトリックスの製造法について検討している^{1,2)}。そこで本研究では、超臨界二酸化炭素中で超音波を用いて豚およびラットの組織から核などの生体移植拒絶反応因子を除去し、細胞外マトリックスを生成する方法について実験的に検討した。

2. 実験

2.1 試薬 超臨界流体として、福岡酸素(株)製の液化炭酸ガス(純度99.9%以上)をそのまま使用した。生物軟組織として、豚およびラットの組織を使用した。有機溶媒には、和光純薬工業(株)製のエタノール(純度99.5%以上)を使用した。

2.2 実験方法 超臨界二酸化炭素中で超音波照射実験には、Fig.1の耐圧石英窓を有する高圧用装置を使

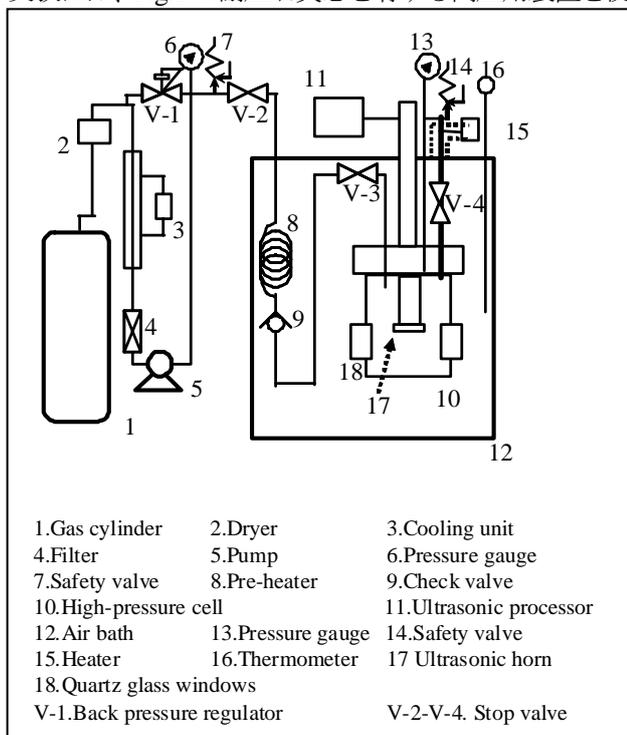


Fig.1 超臨界二酸化炭素中での超音波照射装置

用した。超音波発生装置には、ソニックアンドマテリ

アル(株)製の超音波プロセッサVC-750を使用した。超音波照射用ホルンと観察用の石英製耐圧窓を設置した高圧セル内に、既知量の生物軟組織を入れ、超臨界二酸化炭素で高圧セル内を満たし、所定の温度・圧力に設定した。超音波照射による系の温度の急上昇を防ぐために、超臨界二酸化炭素存在下で、2秒間隔で5秒間20kHzの超音波(制御出力70%)照射を行った。超音波ホルンは、クーリングジャケットを用いて冷却した。その後、バルブを開き、高圧容器内の圧力を開放した。このときのCO₂の減圧速度は、0.22MPa・min⁻¹とした。処理した組織については、組織検査用薄片試料を常法により調製し、ヘマトキシリン・エオシン染色した後、光学顕微鏡にて観察した。

3. 実験結果および考察

超音波を照射することなく超臨界二酸化炭素処理のみの組織と超臨界二酸化炭素存在下で超音波照射処理した組織をFig.2に示す。

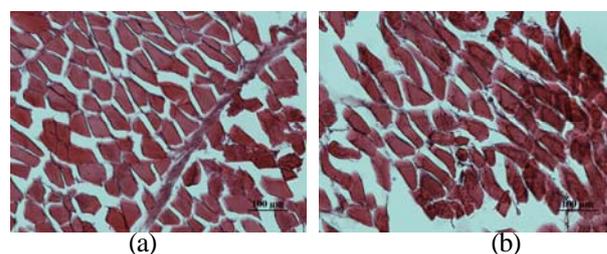


Fig. 2. (a) 超臨界二酸化炭素処理のみの細胞, (b) 超臨界二酸化炭素存在下での超音波照射処理の細胞

ヘマトキシリン・エオシン染色した薄片試料の顕微鏡写真(Fig.2)から、超音波照射処理した場合は、細胞核がより多く除去されており、核の黒い部分が減少していることがわかる。このことから、超臨界二酸化炭素存在下での超音波照射処理が、細胞の核除去に有効であることがわかる。

4. 結言

超臨界二酸化炭素存在下での超音波照射処理が、生物軟組織から細胞外マトリックスを生成するために有効であることが示された。

引用文献 1)K.Mishima, Adv. Drug Del. Rev., 60, 411-432(2008), 2)K.Matsuyama, K.Mishima, Ind.Eng.Chem. Res., 46, 6244(2007) 2) 特願2009-70301
*TEL:092-871-6631 内線 6428 FAX 092-865-6031,
E-mail mishima@fukuoka-u.ac.jp