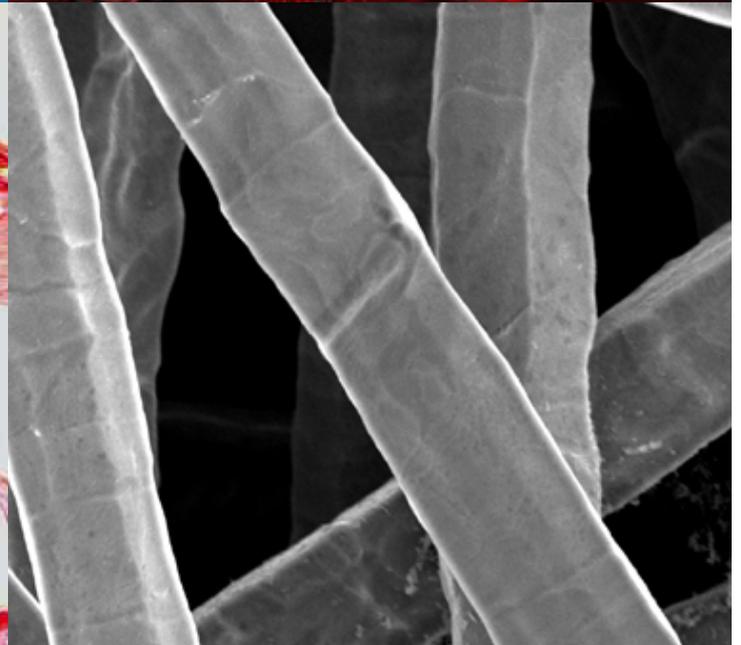
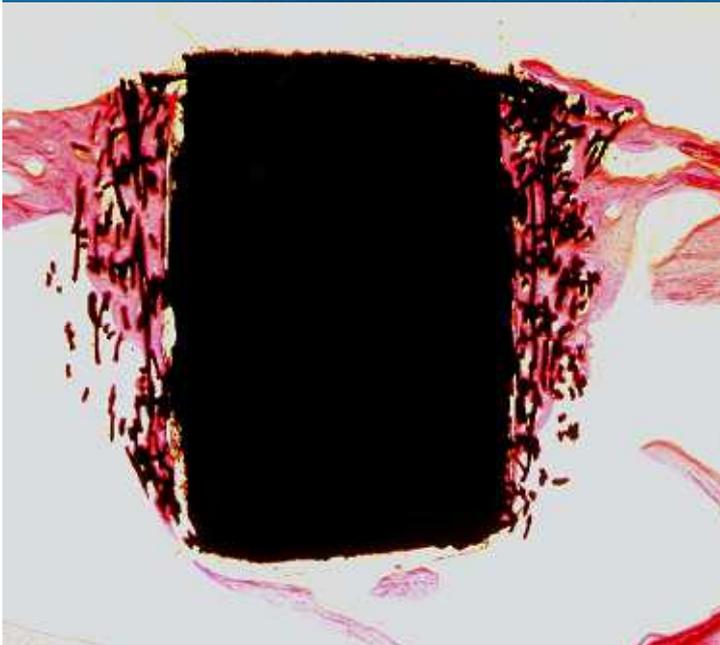
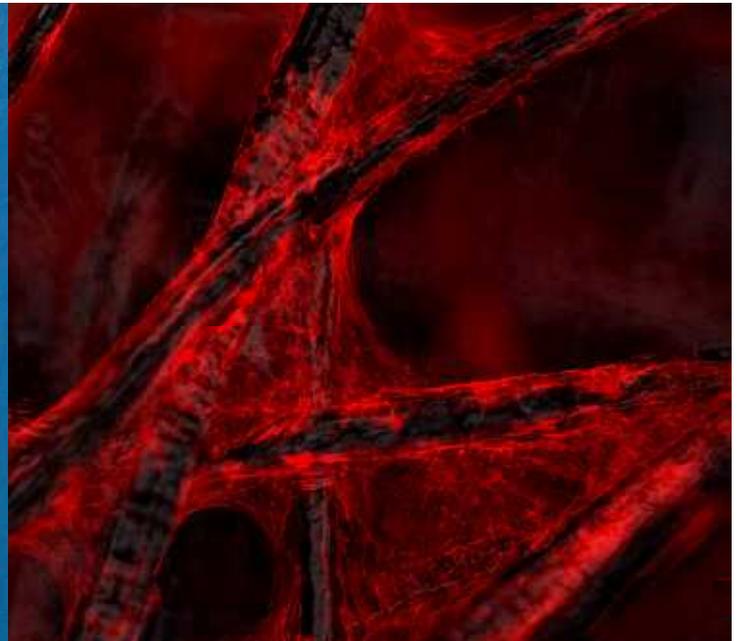


zellez™

チタン製3次元細胞培養用スキャフォールド



* zellez はドイツ語の細胞を意味する zell からの由来、ツェレットツと読みます。

HI-LEX CORPORATION

ツェレッツとは

3次元培養が求められる理由

現在、多くの研究室では培養皿上での2次元的な培養が行われています。培養皿上に拡がった2次元的に培養された細胞は生体内に存在する細胞とは形態的に異なり、生体内での本来の機能を再現できていない例が知られています。¹ それは、この培養方法では細胞の外部環境を再現できていないことが要因であると考えられます。培養細胞を用いて生命現象を可能な限り再現するため、実験に使用される動物への負担を減らすため、そして、細胞から組織を作る再生医療の実現のために3次元培養法の確立が求められています。

3次元培養の現状

3次元培養を実現するための多種にわたる3次元培養スキャフォールドが開発されています。これらは樹脂、ゲル、セラミックスなどの合成分子により構成されていますが、まだ課題が残っています。3次元培養を実現するには、細胞、細胞外基質(Extracellular matrix, ECM)、制御因子が必要であると言われています。ツェレッツは、北海道大学 名誉教授 久保木芳徳先生が人工ECMの幾何学的性質について研究を重ねた結果、生体内で組織を再生するには適切な空隙を持った人工ECMが必要であることを見出し、その要素を高い生体親和性と強度を持ったチタンで実現した細胞培養スキャフォールドです。²⁻³ 実際にツェレッツを用いたインプラントを使用することで細胞がチタン繊維内に侵入して増殖し、インプラントの早期安定性を示す結果が得られています。⁴⁻¹⁰ これらの結果は細胞培養プレートに置いたツェレッツ内で細胞を培養することにより生体内に近づいた状況で培養を行うことが可能になると期待され、実際にツェレッツ上で培養した細胞は多層構造を形成することが知られています。チタン繊維を用いているので、それぞれの細胞、培養目的に合わせた繊維径、空隙率、直径、厚み等を変化させた製品を作製可能です。また、ハイドロキシアパタイトやコラーゲンなどの生体分子によるコートも可能です。

ツェレッツを使用する利点

ツェレッツを構成するチタンは生体親和性に優れていることが知られており、人工骨、人工歯根など生体内に移植する医療器具の材料として用いられています。ハイレックスコーポレーションが提供するツェレッツは組織再生に最適な人工ECMの幾何学という概念をもとに開発され、医療機器の素材としても使用可能な新しいタイプの細胞培養スキャフォールドです。生体内の環境に近い細胞培養、将来的に医療につながる細胞培養を行いたい研究者の方々に適した細胞培養用基材です。

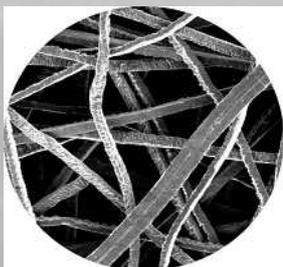
参考文献

1. Abbot A. et. Al., Nature 424:870 (2003)
2. 久保木芳徳 他, ティッシュエンジニアリング: 24(2006)
3. 久保木芳徳 他, 再生医療 3:20(2006)
4. Li Dong et. Al., J Hard Tissue Biology 14: 333 (2005)
5. Vehof JW et. Al., Plast Reconstr Surg 108:434(2001)
6. Vehof JW et. Al., J Biomed Mater Res 61:440(2002)
7. Takita H et. Al., J Biomed Mater Res A 71:181(2004)
8. Kuboki Y et. Al., Arch Biocera Res 5:146(2005)
9. Nakade T et Al., Arch Biocera Res 5:277(2005)
10. Jansen JA et. Al., J Control Release 101: 127 (2005)

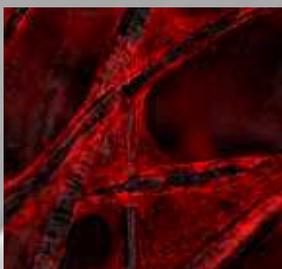
ツェレッツは、チタン繊維の不織布からなる新規培養細胞支持体です。3次元的に培養することにより生体に近い状態での培養を可能にし、各種細胞の増殖、分化を誘導し、コラーゲンなどの有機物質の生産を促進いたします。生体親和性の高いチタンを用いているので、*In Vivo* への応用も可能です。



ツェレッツ外観
(外径 13mm×厚み1.5mm)



ツェレッツ拡大図(線径:50μm)



ツェレッツ内で増殖する骨芽細胞のアクチン染色像

ツェレッツを用いた実験例

ツェレッツ上に播種した線維芽細胞、骨芽細胞の *In Vitro* 解析

ツェレッツ上で Mouse Embryonic fibroblast を培養し、細胞の増殖を計測しました。また、ヒト間葉系幹細胞をプラスチックディッシュとチタンウェブ上で培養し、培養物の抽出から抽出されたコラーゲンの量を測定しました。また、細胞内のアルカリホスファターゼの活性を測定しました。直径5 mmのツェレッツ上に播種された線維芽細胞は播種後6日には同面積の96 well上の細胞数と比較して2倍以上の細胞が存在することが明らかになりました(図1)。また、間葉系幹細胞の培養物中に存在するコラーゲンの量は約5倍に上昇していました(図2)。骨形成の活性の指標となるアルカリホスファターゼ活性は約2倍に上昇していました(図3)。これらの結果は、ツェレッツが細胞に良好な環境を提供し、増殖、分化を促進させていることを示唆しています。

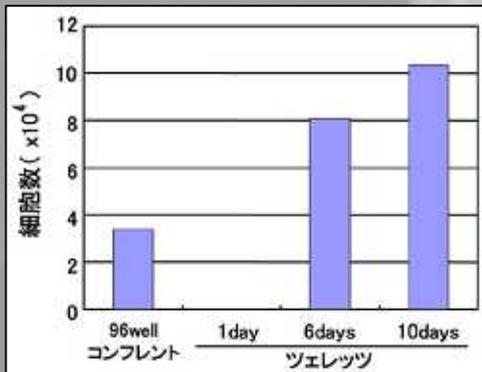


図1. マウス線維芽細胞をツェレッツ上に4,000個播種した。1, 6, 10日後のツェレッツ上の細胞から抽出したDNA量を測定し、その値からツェレッツ上に存在する細胞の数を計算した。また、ほぼ同面積の96wellプレート上の細胞数も計測した。

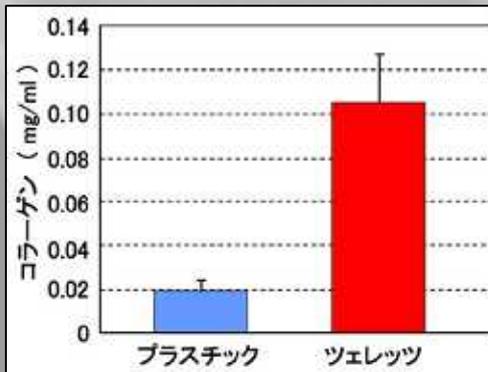


図2. 間葉系幹細胞の分化を評価するためにプラスチックディッシュとツェレッツ上で培養した細胞培養物から抽出したコラーゲンの量を測定した。

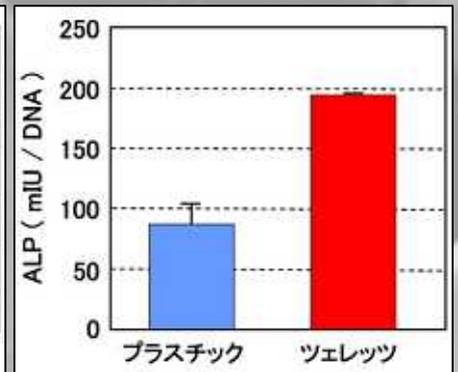


図3. 間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化を評価するためにアルカリホスファターゼの活性を測定した。

ツェレッツ上で培養した細胞の実例と人工歯根への応用例

ツェレッツにMC3T3-E1骨芽細胞を播種し、14日後の状態を観察したところ、骨芽細胞はチタン線の隙間を充填するように塊を形成している様子が観察されました(図4)。この結果は、細胞がツェレッツの中で3次元的に培養されることを示しています。

ツェレッツと同質のチタン不織布をチタン基幹(チタンロッド)に巻いて作成した人工歯根モデル(インプラント)を、ウサギの頭蓋骨に埋め込みました。移植後6週間後の骨の切片写真を観察すると、チタン不織布の内部に骨組織が形成され、インプラントと骨が強固に癒合している様子が観察されました(図5)。この結果から、ツェレッツを構成するチタン不織布は、良好な生体親和性を示し、組織再編の基材として適していることを示しています。これらの結果は、ツェレッツを用いて細胞を培養することで生体内の組織に近い状態での細胞培養を実現できる可能性を示唆しています。



図4. ツェレッツに骨芽細胞を播種し、14日後の細胞の形態を観察した。

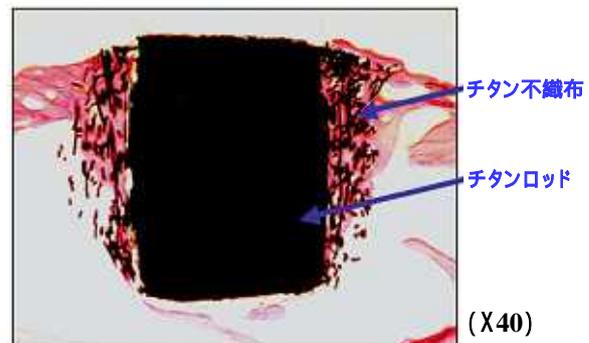


図5. チタン基部をチタン不織布で覆って作成した人工歯根モデルをウサギの頭蓋骨に埋め込んだ。6週後に取り出した患部をHE染色で染色した。

線径と空隙サイズおよび空隙率との関係

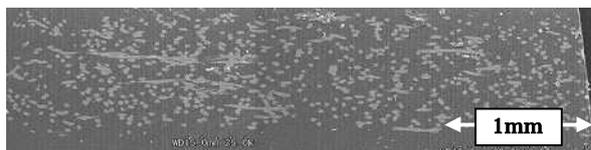
線径	50 μ m	20 μ m
平均空隙サイズ(下図参照)	面方向:260 μ m, 厚み方向:150 μ m	面方向:110 μ m, 厚み方向:80 μ m
空隙率	87%	87%

チタン線幅と空隙サイズとの関係



チタン線幅50 μ mで空隙率87%のTWの断面SEM像

* 線径および空隙サイズは相談可能です。



チタン線幅20 μ mで空隙率87%のTWの断面SEM像

製品仕様

	仕様	備考
材質	純チタン	純チタンJIS第1種
線径	50 \pm 10 μ m	線維断面検査により換算
	20 \pm 10 μ m	線維断面検査により換算
寸法	13 \pm 0.2mm	デジタルノギスで測定
	5 \pm 0.2mm	デジタルノギスで測定
空隙率	87%	寸法、厚さ、重量より計算

表面処理

表面処理として、ハイドロキシアパタイトコーティング、陽極酸化処理を開発中です。表面処理を希望される方は、別途、ご相談ください。

製品形態

製品番号	線径	形態	滅菌
TW0001	50 μ m	13mm	未滅菌
TW0002	50 μ m	5mm	未滅菌
TW0003	20 μ m	13mm	未滅菌
TW0004	20 μ m	5mm	未滅菌

* 本製品は洗浄済み、未滅菌製品です。滅菌方法としては乾熱滅菌、高圧蒸気滅菌が可能です。弊社としましては乾熱滅菌を推奨いたします。

* 本製品は現在のところ、研究用です。医療用・診断用には使用できませんのでご注意ください。

改訂日:2012.10.22

(株)ハイレックスコーポレーション
医療機器事業部

〒665-0845 兵庫県宝塚市栄町1-12-28
URL: <http://www.hi-lex.co.jp/>

製品に関するお問い合わせ/カタログ・価格表のご請求
TEL 0797-85-2571
FAX 0797-85-2990
webmed@hi-lex.co.jp