

再生医療の鍵となる多層培養細胞シート

民部 裕洋・田中 孝明*

未来の医療を考えるにあたって、再生医療はきわめて魅力的である。外傷や腫瘍だけではなく、内科的疾患や老化などにより、身体の機能の一部が失われることがある。それらが内科的にも外科的にも治療できなかった場合に自分の細胞から作られた組織や臓器を移植できたなら！それが再生医療である。異種移植・同種他家移植と異なり、拒否反応が起こらない点が大きな利点である。

しかし、再生医療にはさまざまな課題が存在する。その一つは平面的な細胞培養では単層の細胞シートしか得られないことである。生体組織は細胞が多層構造を形成して機能している。しかし、培養細胞の多層化を行うためには栄養分・酸素の供給や老廃物・二酸化炭素の排出が課題となる。

酸素の供給に関しては酒井らによって高酸素透過膜を用いて細胞シートの裏面から酸素を直接供給する培養方法が提案されている¹⁾。一般にはポリスチレン製の培養皿で培養する細胞を、高酸素透過性のポリジメチルシロキサン膜上で培養する方法である。この培養方法により、肝細胞の多層培養が可能になっただけでなく、高度な自

己組織化も達成された。

足場材料の内部構造を工夫することにより、多層に細胞を培養する方法も検討されている。たとえば、生体吸収性高分子を、指状に連結した孔を有する多孔質膜に加工すると膜の内部にまで栄養分の供給が可能となる(図1(a))。この指状の連結孔を有する生体吸収性ポリエステル製多孔質膜を用いて、骨芽細胞様細胞を内部にまで増殖させたシートを得ることも可能になっている²⁾。

また、足場材料を含まない多層培養細胞シートの作製研究も進められている。その一つが温度応答性培養皿を用いる方法である。その培養皿は37°Cにおいては疎水性であり、細胞が培養皿に接着するため、単層培養が可能となる。増殖後、培養皿を32°C以下に冷却すると親水性となり、単層培養細胞シートを回収できる。この単層培養細胞シートを積層し、多層培養細胞シートを作製できる。しかし、多層構造になると細胞への酸素・栄養分の供給が問題となる。笹川らは、単層培養筋細胞シートの積層の際に血管内皮細胞を播種し、多層培養筋細胞シート内に血管系前駆体構造(図1(b))の形成に成功している³⁾。

温度感受性培養皿を用いた積層型多層培養細胞シートの作製については、自動化システムの研究も進められている⁴⁾。このシステムでは無菌的な空間で産業用ロボットを用いて、冷却による単層培養細胞シートの剥離とプランジャーによる回収を行い、100分間で5層の細胞シートを重ねることができる。細胞シート回収用のプランジャーに塗布するコーティング材料(ゼラチンやフィブリンなど)も重要な要素である。コーティング材料を変えることで異なる種類の細胞シートの積層もでき、より生体組織に近い多層培養細胞シートも作製可能である。また自動化することで、人為的なミスや汚染を防げるため、安全かつ効率的な多層培養細胞シート作製が期待されている。

患者自身の細胞から作製した多層培養細胞シートは、組織再生にあたって、重要な役割を果たす。移植用多層培養細胞シート(可能ならば、多層培養細胞シートを組み合わせた移植用臓器)の作製方法の開発は、再生医療の大きな進歩につながる。

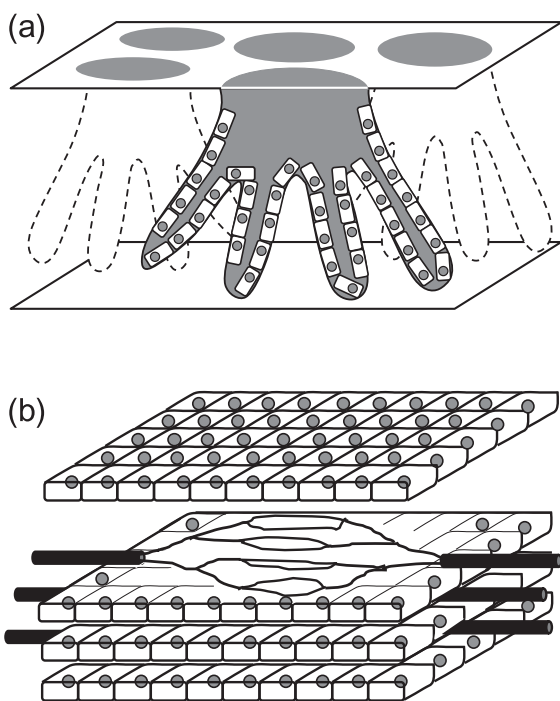


図1. 指状連結孔型多孔質膜 (a) と血管系形成型多層培養細胞シート (b)

- 1) 酒井康行ら：膜, **37**, 119 (2012).
- 2) 民部裕洋ら：膜, **40**, 124 (2015).
- 3) Sasagawa, T. et al.: *Biomaterials*, **31**, 1646 (2010).
- 4) Kikuchi, T. et al.: *Biomaterials*, **35**, 2428 (2014).