

早稲田大学 理工学術院／ナノ・ライフ創新研究機構
武田直也 教授

高分子を主体としたバイオマテリアルの開発を行う。これら高分子材料の修飾や微細加工を施したソフト界面を作製し、培養器材に応用して細胞挙動の制御の研究も実施している。さらに、細胞から三次元の生体組織を構築し再生医療への応用を目指すなど、さまざまな研究を横断的に行う。

研究成果に対して第66回高分子討論会の高分子学会広報委員会パブリシティ賞(2017年)、教育面では早稲田大学ティーチングアワード(2014年、2017年)などを受賞する。



高機能な細胞培養用器材の開発: 足場材料のみで細胞挙動をコントロールする

我々の体は、200種類以上のおよそ37兆個の細胞から形成されています。これら細胞は、1個の大きさがおよそ10 μmであり、独立して生命活動を営む最小単位です。また、細胞同士や周囲の基質(微小環境と呼ばれます)に接着して、多くの情報を受け取りながらより大きく複雑な組織・臓器・個体を形成し、様々な機能を発揮します。この接着能のため、細胞を体の外で人工的に培養する際にも器材(足場と呼ぶこともあります)に接着させる手法が一般的なのですが、周囲の情報を検知する能力を上手く活用し、接着する材料を上手に設計して硬さや柔らかさなどの物性さらにはマイクロ・ナノスケールの微細な形状などを適宜加工することで、細胞の挙動を積極的に制御しようとする研究が近年大きな注目を集めています。

対象とする細胞挙動には、例えば接着や剥離回収、遊走、極性変化、分化誘導などがあります。これらの制御は、これまでに生理活性因子を用いた生物学的手法が一般的でした。しかし、生物が産生する生理活性物質を単離精製するにはコストがかかり、ヒトの細胞に他動物由来の生理活性物質を用いる場合は細胞が汚染されるおそれもあります。これに対して、材料表面の特性で細胞の挙動を制御する手法では、安全に大量の細胞を安価に処理できます。将来、再生医療などにも貢献できる大きな可能性を秘めているのです。

私の研究室でも、様々な高分子材料を基盤とした培養器材を開発して、細胞の接着性や分化を制御する研究を進めています。これらの器材では、ガラス基材表面に高分子をわずか数～数十nmの厚さで修飾したものが多く、このような微小な高分子の層で細胞の挙動を制御できるのは面白く驚異的です。さらに、光に応答して表面物性やナノスケールの微細構造を動的に変化させられる高分子を用いた器材も開発しています。^{1,2}このような培養器材では、光をあてるタイミングや場所を任意に設定することで、細胞挙動のON/OFF制御も実現できます。すなわち、細胞挙動の時空間制御が可能となります。

一例をあげると、UV光を照射すると細胞が接着できるようになり、接着した一部の細胞に可視光を照射すると可逆的かつ部位特異的に剥離回収できる高分子表面があります(図1)。²細胞を剥がした部位に再びUV光を照射して、今度は異なる種類の細胞を接着させること

で、異種の細胞を精緻に配置した複雑な生体組織を作製することも考えています。また、UV光を照射して表面に修飾した高分子の運動性を変化させられる器材もあります。この器材では、間葉系幹細胞(Mesenchymal Stem Cell: MSC)の分化挙動の制御を行っています。⁵MSCは、ES細胞やiPS細胞ほど万能ではありませんが、骨、軟骨、筋、脂肪、神経などの細胞に分化する能力を持っており、その分化挙動の制御は再生医療に応用できると考えています。

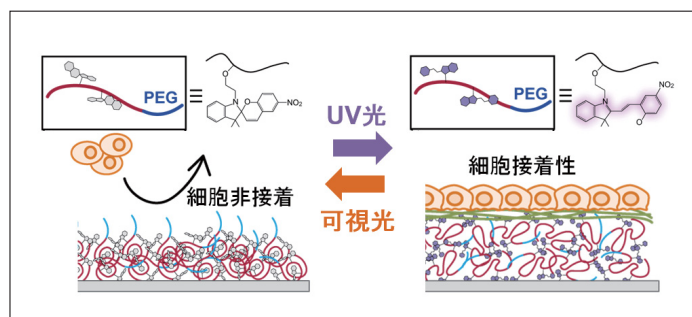


図1 光刺激で可逆的に細胞の接着・剥離を制御できる培養器材の模式図²

“紙”を使った培養器材の開発: あらたな灌流培養システムの構築

細胞培養では細胞に必要な栄養分などを含んだ培養液を与える必要がありますが、灌流培養とは、体内の血流のようにこの培養液を流動させて培養する方法です。このような液体の流れによる物理的なストレス(ずり応力)は、血管の発生など生物の体を形作る上で重要な役割を担っていることが分かってきました。そこで、灌流培養による細胞への流れストレスの付与も、積極的に活用されています。一方で、従来の灌流培養のシステムは、半導体チップ生産用の微細加工技術を応用した、高度なナノテク施設で作製された装置(マイクロ流体デバイスと呼ばれる)が一般的です。微細加工で作製するため、培養部位の面積が小さく閉鎖系であるなどの制限も問題でした。

そこで、誰もが利用できる低コストな灌流培養系を作れないかと考えた末、思いついたのが“紙”を使ったシステムの開発です。このシステムは、培養液灌流層にペーパータオル、細胞培養層に細胞の接着性



に優れたゼラチンで作製したマイクロファイバーを用いた二層構造の培養器材が基盤となります。ただし、通常、ペーパータオルは毛細管現象で一度培養液を吸収したら、それ以上は培養液が循環しません。そこで、培養液を満たし高低差をつけた二つのチャンバーを二層培養器材で橋掛けし、サイフォン原理を利用して連続的に培養液が流れるように工夫しました(図2)。³紙が送液の主体ですので、送液のためのポンプも不要です。二つの培養液の高低差を適切に変えることで、培養液の流れる速度も調節できます。

このシステムで血管の元になる細胞を培養し、流れに沿って細胞の配向性を制御することを達成しています。さらに、物理的なストレスを上手く利用して、様々な組織を効率的に作製する研究も進めています。この二層培養器材を用いた灌流培養システムは、一見ローテクにみられがちですが、様々な優れた機能を有します。低コストで比較的簡単に作れる利点の他に、微細加工の場合とは逆に、培養部位の面積を大きくかつ開放系にできる点でも優れています。現状で面積はA4サイズの紙の約2枚分まで大きくでき、開放系であるため、体と同サイズの厚い大きな三次元再生組織を作れる可能性もあります。組織作製の研究もすでに開始して、成果も得られてきており、近く発表の予定です。

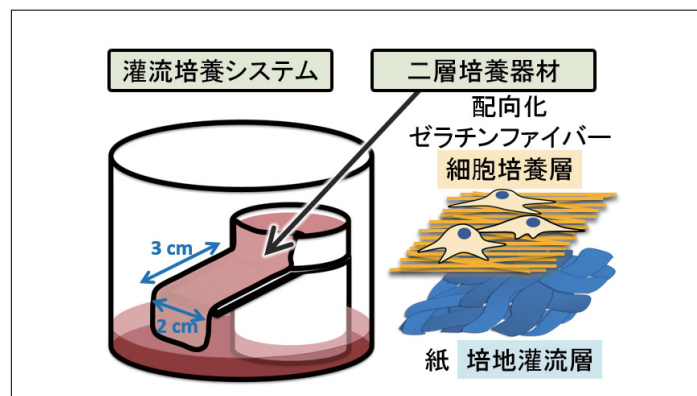


図2 紙とマイクロファイバーの二層器材を基盤とした灌流培養システムの模式図³

ファイバーを用いた様々なバイオマテリアル開発: 細胞から筋肉や血管組織の作製に成功

先にお話したように、私の研究は、バイオマテリアルを用いた「細胞の挙動制御」と「細胞からの生体組織の構築」という大きな二本の柱があります。後者の組織作製については、高分子からなる直径が数マイクロメートルサイズのファイバー(二層基材のマイクロファイバーと同じエレクトロスピニングという技術で作製します)を“ハーブの弦”のように配向させて足場とし、各“弦”の間の空間も上手く利用しながら筋芽細胞を高密度に接着・配向させて、束状の筋組織の作製に成功しています(図3)。⁴この筋組織は生体組織と同じ横紋構造を持っており、収縮する能力があります。

さらに、材料と使い方が異なる、より太いファイバー培養場の開発

も進めています。このファイバー培養場の太さは約200 μm で、長さは数十cmからその気になればm(メートル)まで長くすることもできます。二層器材のところでお話した、(機構は異なりますが)マイクロ流体デバイスを用いて作製します。マイクロ流体デバイスは、ナノ理工学専攻の庄子習一教授との共同研究です。ファイバー培養場の材料はやはり高分子なのですが、ハイドロゲルというゼリー状の形態とし、ファイバーの中心軸に連続的に細胞を埋め込んで三次元的に培養をします。これら細胞には、我々の体と同じ三次元環境に置かれると自律的に組織を形づくる能力を持っているものを用います。特に、長さは数十cm以上の訳ですから、筋線維や血管のような細長い組織の作製に適しています。実際に、筋組織や中空構造を持つ血管組織を安定的に作製することにも成功しています。

ハイドロゲルを形成する高分子材料にも工夫を施しています。論文発表前ですので詳細は省きますが、非常にユニークな物性をもつ高分子材料を用いており、学会などでも注目を頂いています。産学連携の研究でもあり、今後さらに積極的に展開していく予定です。そして、移植治療に使える実用的な生体組織を作製し、再生医療に貢献していくことを夢見て、今後も励んでいきます。

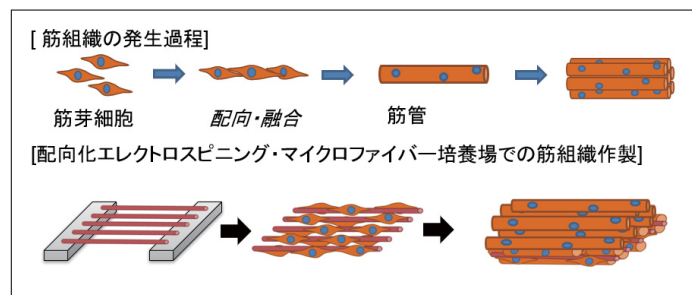


図3 筋芽細胞からの筋組織作製技術の模式図⁴

参考文献

- [1]Kazuho Nagata, Tetsuya Kurebayashi, Keiichi Imato and Naoya Takeda*, Photoresponsive Fiber Scaffolds with a Core-Sheath Nanostructure For Regulating Cell Behaviors, *J. Mater. Chem. B*, 2018, 6:2052-2056 (Back Cover). DOI: 10.1039/c8tb00469b
- [2]Di He, Yoshinori Arisaka, Kenichi Masuda, Mitsuya Yamamoto, Naoya Takeda*, A Photoresponsive Soft Interface Reversibly Controls Wettability and Cell Adhesion by Conformational Changes in a Spiropyran-Conjugated Amphiphilic Block Copolymer, *Acta Biomaterialia*, 2017, 51:101-111. DOI: 10.1016/j.actbio.2017.01.049
- [3]Ai Ozaki, Yoshinori Arisaka, Naoya Takeda*, Self-Driven Perfusion Culture System Using a Paper-Based Double-Layered Scaffold, *Biofabrication*, 2016, 8:035010. DOI: 10.1088/1758-5090/8/3/035010
- [4]Naoya Takeda*, Kenichi Tamura, Ryo Mineguchi, Yumiko Ishikawa, Yuji Haraguchi, Tatsuya Shimizu*, Yusuke Hara, In Situ Cross-linked Electrospun Fiber Scaffold of Collagen for Fabricating Cell-dense Muscle Tissue, *J. Artif. Organs*, 2016, 19(2):141-148. DOI: 10.1007/s10047-015-0871-8
- [5]Yoshinori Arisaka, Yuka Nishijima, Shin-ichi Yusa, Naoya Takeda*, Photo-induced In Situ Crosslinking of Polymer Brushes With Dimethyl Maleimide Moieties for Dynamically Stimulating Stem Cell Differentiation, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2016, 27(13):1331-1340. DOI: 10.1080/09205063.2016.1196531